

УДК 547.269.1+547.298.4+577.112.384+546.172.6

ТІОНІТРИТИ: БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ВИКОРИСТАННЯ В МЕДИЦИНІ

А.М.Борисевич, В.М.Брицун, М.О.Лозинський

Інститут органічної хімії НАН України,
02660, м. Київ, вул. Мурманська, 5. E-mail: bvn1967@rambler.ru

Ключові слова: тіонітрити (S-нітрозотіоли); RSNO; монооксид азоту

Розглянуті і проаналізовані методи синтезу, біологічні властивості тіонітритів та використання їх у медицині.

THIONITRITES: BIOLOGICAL PROPERTIES AND APPLICATION IN MEDICINE

A.N.Borisevich, V.N.Britsun, M.O.Loizinsky

The synthetic methods, biological properties and application of thionitrites in medicine have been considered and analysed.

ТИОНИТРИТЫ: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ

А.Н.Борисевич, В.Н.Брицун, М.О.Лозинский

Рассмотрены и проанализированы методы синтеза, биологические свойства и использование в медицине тионитритов.

Тіонітрити (S-нітрозотіоли, RSNO, S-нітрозопохідні тіолів), за деякими винятками, є малостійкими реакційноздатними сполуками, існування яких підтверджується за допомогою спектральних [1] і біохімічних методів [2, 3]. Ряд представників тіонітритів відноситься до природних сполук, які зустрічаються в живих організмах, у зв'язку з чим були розроблені аналітичні методи вилучення та ідентифікації тіонітритів у плазмі крові та інших біологічних рідинах [4]. Слід відзначити, що в останні тридцять років відбувався бурхливий розвиток досліджень в області хімії, біохімії та біології природних і деяких синтетичних S-нітрозотіолів. Це пов'язано з встановленням важливості їх ролі в процесах, які перебігають у живих організмах.

У теперішній час у біохімічних та біологічних дослідженнях широко використовуються S-нітрозопохідні цистеїну (CysNO), цистеїнілглутаміну, глутатіону (GSNO) [5], альбуміну [6], гемів [7], а серед синтетичних сполук — N-ацетилпеніциламіну (SNAP) [6]. Вказані природні тіонітрити були виявлені як у внутрішньоклітинному, так і в неклітинному просторі в багатьох тканинах і органах [8].

Багато біологічних функцій S-нітрозотіолів обумовлено наявністю у них однієї або зразу кількох властивостей [8]:

- 1) легке відщеплення монооксиду азоту (II) (як правило, у вигляді іона NO^+);
- 2) участь у реакціях S-перенітрозування та S-тіолювання;
- 3) безпосередня дія S-нітрозотіолів на відповідні рецептори.

Згідно з сучасними уявленнями [9-12] монооксид азоту, який в організмі зустрічається у вигляді

NO^+ , NO^- , NO^\cdot , є головною сигнальною молекулою в серцево-судинній, імунній та нервовій системах. Він відіграє важливу роль у процесах релаксації гладкої мускулатури, а також бере активну участь в інших регуляторних біохімічних процесах.

S-Нітрозотіоли є одними з головних носіїв монооксиду азоту в живих організмах [13], тому їх також відносять до сигнальних молекул [14].

Про важливість і значення досліджень, виконаних в області біології, біохімії та хімії монооксиду азоту і S-нітрозотіолів, свідчить факт присудження в 1998 р. Нобелівської премії в області фізіології і медицини трьом американським ученим професорам Ignarro L.T., Murad F., Furchgott R.F. [9-11], лабораторії яких внесли вагомий вклад у розвиток фундаментальних досліджень у вказаній області.

Необхідно також зазначити, що в цьому напрямку за останні 15 років з'явилося більше 20 тисяч публікацій [9], в тому числі 38 оглядів [1, 9-45]. Слід зазначити, що останнім часом кількість публікацій у цій області становила від 4500 до 5000 робіт щорічно і прослідковується тенденція до її зростання по експоненціальній кривій [9].

Великим позитивним підсумком проведених досліджень є впровадження їх результатів у клінічну практику. Зокрема, останнім часом було запатентовано ряд високоефективних фармацевтичних композицій [46-56]. Крім того, бурхливий розвиток біології і біохімії S-нітрозотіолів сприяв і продовжує сприяти прогресу в області технології їх синтезу, а також стимулює розробки нових, більш ефективних реагентів для S-нітрозування.

Вищенаведені дані свідчать про те, що синтетичний пошук як активаторів, так і інгібіторів

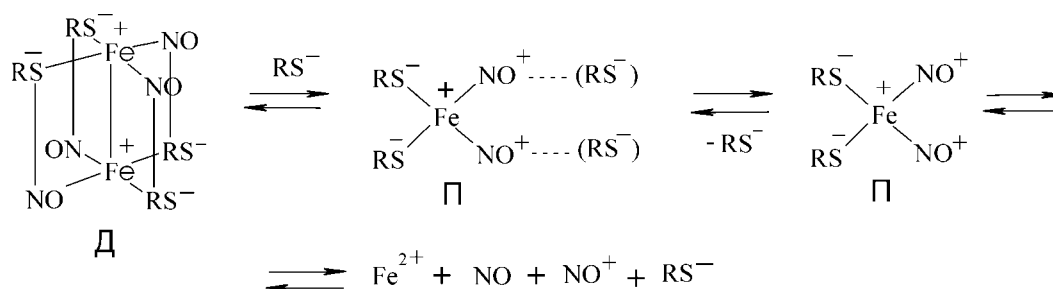


Схема 1

NO-синтази та ендогенного S-нітрузування, нових і безпечних S-нітрузуючих агентів, синтез і вивчення біологічних властивостей нових, стабільних S-нітрозотіолів є одним із актуальних і пріоритетних напрямків хімії біологічно активних речовин.

Мета нашого огляду — дати загальну картину стану досліджень тіонітритів за останні 15 років, зокрема детально розглянути їх фізико-хімічні та біологічні властивості і застосування в медицині. Одна з цілей огляду — привернути увагу хіміків України до одного з перспективних і бурхливо прогресуючих напрямків біології та хімії природних і синтетичних біологічно активних сполук, що має велике теоретичне та практичне значення.

Біологічні властивості та використання в медицині

Вище були описані лише деякі біологічні властивості тіонітритів. Цікавими є також дані по експериментальному вивченню видів біологічної активності вказаних сполук, їх участі в регулятивних процесах у живих організмах і їх практичне використання в терапії різноманітних захворювань.

В оглядах [11, 57] повідомлялось, що релаксація гладкої мускулатури під дією органічних нітратів та нітритів відбувається через реакцію цих сполук з ендогенними тіолами (цистеїном, глутатіоном та ін.), яка перебігає через проміжне утворення тіонітритів. При їх розкладанні виділяється монооксид азоту, що активує фермент гуанілат-циклазу, при дії якого в присутності іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} утворюється циклічний гуанозинмонофосфат (ц-ГМФ), який і активує релаксацію.

Важливі дослідження [58-61] були виконані з метою з'ясування механізму узгодженого транспорту кисню і оксиду азоту (NO) у тканинах і органах людини. Виявилось, що в дихальних шляхах відбувається узгоджене S-нітрузування оксигемоглобіну, дезоксигемоглобіну і метгемоглобіну.

На основі експериментальних даних автори [59, 60] дійшли висновку, що оксигемоглобін існує в двох конформаційних формах — R і T. Частково нітрозований по атому заліза T-гемоглобін (Hb[Fe(II)NO]) потрапляє в легені, де промотується S-нітрузування по його цистеїновому залишку. У присутності кисню цей гемоглобін зазнає конформаційної перебудови в S-нітрозогемоглобін R. Ця R-форма у складі еритроцитів потрапляє в кровеносне русло. При дії передкапілярного спротиву потоку крові R-форма S-

нітрозогемоглобіну віддає кисень. Після цього в R-гемоглобіні відбуваються конформаційні, так звані алостеричні зміни, внаслідок чого утворюється T-форма, яка легко відщеплює монооксид азоту від тіонітритної групи. Монооксид азоту або безпосередньо переноситься на ендотелій гладкої мускулатури судин, або шляхом транснайтрузування глутатіону утворює S-нітрозоглутатіон (GSNO), який, у свою чергу, генерує NO, під дією якого відбувається вазодилатація капілярних судин. У результаті суттєво полегшується подача артеріальної крові в капіляри і наступне насичення тканин киснем.

Згідно з другою моделлю [60] R-форма сприймає кисневий градієнт ($p\text{O}_2$) у тканинах і реагує на нього при гіпоксії, перебудовуючись у конформаційну форму T. Остання легко генерує NO, викликаючи цим розслаблення мускулатури судин, покращення кровотоку і насичення тканин киснем. У випадку коли оксигенація тканин перевищує потребу в кисні, стабілізується R-форма гемоглобіну, яка перешкоджає відщепленню NO від S-нітрозогрупи. Це підвищує тонус судин і погіршує потік крові.

Слід відзначити, що вазодилатація, викликана GSNO, не залежить ні від кисневого потенціалу, ні від дії супероксидної пероксидази [60].

Важливу роль у генеруванні, транспорті і депонуванні NO і RSNO в живому організмі відіграють динітрозильні комплекси заліза (ДНКЗ) з тіолвмісними лігандами та з S-нітрозотіолами [25, 61, 62]. Ці комплекси можуть виникати як на основі неорганічних сполук двовалентного заліза, так і при вилученні іонів Fe^{2+} , які входять до складу гемів, альбумінів та інших білкових молекул [43]. Ендогенним джерелом NO для ДНКЗ є реакція окиснення l-аргініну в l-цитрулін, яка каталізується NO-синтазою і супроводжується виділенням NO [9]. Екзогенними джерелами NO в ДНКЗ можуть бути неорганічні нітрити та синтетичні естери азотистої кислоти [43].

Зраз відомо 2 форми ДНКЗ — димерна (діамагнітна, D) і мономерна (парамагнітна, П) [61, 62] (схема 1).

Форма D утворюється в нейтральному або слабоболужному середовищі при відношенні $\text{Fe}^{2+} : \text{RS}^- = 1 : 2$, а форма П, відповідно, $1 : 20$ [61, 62].

Обидві форми відрізняються як за своїми спектральними властивостями, так і за періодом вазо-

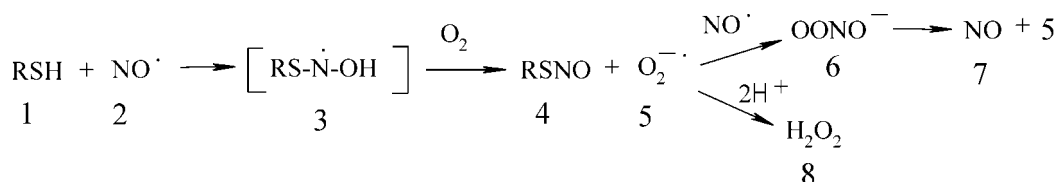


Схема 2

дилататорної дії. Залежно від концентрації тіолів ці форми можуть переходити одна в іншу.

При розкладенні форми П вивільнюється нейтральний NO і утворюється RSNO, який, у свою чергу, розкладається з виділенням іону NO^+ і тіоляту. Із схеми витікає, що ДНКЗ можуть знаходитися у взаємозв'язку з іншою формою стабілізації NO, а саме з RSNO, які утворюються при розпаді ДНКЗ або синтезуються при взаємодії іонів NO^+ з тіолами в координаційній сфері комплексу. Таким чином, тип S-нітрозотіолів може визначати стабільність ДНКЗ. Дійсно, висока стійкість ДНКЗ з глутатионом (GSH) знаходиться у відповідності з міцністю S-нітрозоглутатіону (GSNO), тоді як швидке розпадання ДНКЗ з цистеїном корелює з низькою стабільністю S-нітросоцистеїну [61].

Слід відзначити, що GSNO завдяки своїй відносній стабільності є своєрідним депо для збереження і транспортування NO. Однак роль депо для NO в плазмі крові та в еритроцитах виконують переважно S-нітросогемаглібін, S-нітросовані протеїни та S-нітросоцистеїнілглутатин [14].

Раніше повідомлялось, що S-нітрозотіоли можуть утворюватися в організмі реакцією іона нітронію з тіолами. Досліджувалась також можливість синтезу S-нітрозотіолів взаємодією відповідних тіолів з NO. Було показано [3], що реакція цистеїну з NO в аеробних умовах має другий порядок до монооксиду азоту і перший — по цистеїну, причому в присутності Cu, Zn-супероксидної дисмутази вдалось зафіксувати утворення перекису водню 43 у реакційній суміші [3]. Цей факт вказує на те, що акцептором електронів у цій взаємодії виступає кисень, який відновлюється до супероксиду $\text{O}_2^{\cdot-}$, що приводить до утворення перекису водню і пероксинітриду [3] (схема 2).

Факт утворення перекису водню вдалось зафіксувати за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (детектор — хемілюмінесцентна лампа) при вивченні S-нітросування глутатіону (GSH) пероксонітридом в аеробних і анаеробних умовах [63]: $\text{GSH} + \text{NO}_3^- = \text{GSNO} + \text{HO}_2^-$.

Як і в попередньому випадку, ця реакція відбувається при наявності акцептора електронів кисню.

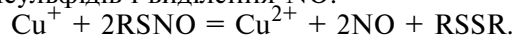
Повідомлялось також про участь N_2O_3 в S-нітросуванні тіолів як при фізіологічних, так і при нижчих значеннях pH [2].

Поряд з вивченням методів синтезу тіонітридів в організмі людини паралельно досліджувався шлях їх розпаду, а також фактори, що промотують цей розпад.

При вивченні кінетичної моделі розпаду S-нітрозотіолів у біологічних системах було показано

[64], що на стабільність S-нітрозотіолів впливають як електронні, так і просторові фактори. Встановлено, що в кислому середовищі S-нітрозотіоли утворюються швидко, а їх розпад є реакцією нульового порядку з дуже низькою константою швидкості. З'ясувалось, що утворення при розпаді RSNO дисульфідів з переважно третинною структурою, а також вплив електронних факторів здатні пришвидшувати відщеплення NO, яке в фізіологічних умовах може відігравати роль пускових механізмів [64].

Багато досліджень проводилось для вивчення механізмів розпаду S-нітрозотіолів *in vivo*. Недавно [65, 66] повідомлялось, що розкладання S-нітросопохідних глутатіону та цистеїну і деяких їх аналогів у присутності аскорбінової кислоти відбувається за двома механізмами. Так, при низьких концентраціях аскорбінової кислоти цей розпад пришвидшується іонами Cu^+ , які утворюються при відновленні Cu^{2+} аскорбіновою кислотою. У кінцевому підсумку це приводить до утворення дисульфідів і виділення NO:



Цей розпад негайно закінчується при додаванні до реакційного середовища етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА). Однак, якщо концентрацію аскорбінової кислоти збільшити в десять разів, то надлишок ЕДТА не впливає на швидкість розкладання S-нітрозотіолів. Імовірно, N-атом в RSNO при вказаній концентрації аскорбінової кислоти зазнає атаки аскорбат-іона, наслідком чого є утворення проміжної сполуки RO-NO, яка гомолітично розкладається з виділенням NO і дигідроксіаскорбату [65].

Інтенсивно досліджувалась також вплив іонів міді та заліза на розпад S-нітрозотіолів [67-70].

У дослідах *in vitro* у водному буферному розчині (pH=7,4) було встановлено каталітичну дію мізерної кількості іонів Cu^{2+} і Fe^{2+} на розкладання ряду тіонітридів, який перебігає з утворенням дисульфідів і NO, причому швидкість процесу була вищою у випадку тіонітридів, які мали два бідентатних центри для комплексоутворення з іонами металів [67]. Присутність кисню позитивно впливала на швидкість цього розпаду.

У той же час *in vivo*, як це було показано в роботах [68, 69], розкладання S-нітрозотіолів каталізується іонами Cu^+ , які з'являються при відновленні тіолами мідьвмісних ди- і трипептидів. Як витікає з роботи [70], іон Cu^+ є ефективнішим каталізатором розпаду, ніж іон Cu^{2+} .

У роботі [5] було показано, що відсоток конверсії тіонітриду в монооксид азоту і дисульфід залежить від хімічної будови S-нітрозотіолу та

його концентрації в розчині. Так, у випадку S-нітроцистеїну та його дипептиду — S-нітрозоцистеїнілгліцину при концентраціях 10^{-3} М у присутності Cu^{2+} (10^{-5} М) конверсія складає 100%, а її швидкість на декілька порядків вища, ніж у випадку GSNO та його дипептиду S-нітрозоглутамілцистеїну (SNOGluCys). При менших концентраціях реагентів (10^{-6} М) швидкості розкладення і відсоток конверсії приблизно однакові.

У роботі [71] наведені дані вивчення кінетики розкладення GSNO і S-нітрозотіомолочної кислоти в присутності гідратних комплексів Cu^+ та її комплексів з ацетонітрилом.

Автори статті [72] на основі отриманих даних з синтезу та розпаду RSNO в присутності іонів міді з використанням таких субстратів як альбумін бичачої крові, гемоглобін людини і глутатіон обґрунтували відповідний механізм утворення S-нітрозотіолів *in vivo*.

Недавно [73] було проведено порівняльне вивчення впливу іонів Cu^{2+} і Fe^{2+} на синтез і розпад S-нітрозотіолів *in vivo*. Поряд з вивченням впливу на метаболізм тіонітритів відносно простих сполук міді досліджувалась також дія мідьвмісних ензимів [74]. Було показано, що серед цих ензимів церулоплазмін найбільш активно стимулював виробку RSNO на культурах клітин RAW 264 і Hep 92.

Вплив іонів міді на релаксуючі та нейромедіаторні властивості S-нітрозотіолів вивчалися у роботі [75]. З цією метою було проведено паралельне вивчення релаксації шлункового дна у щурів під дією S-нітрозотіолів, екзогенного NO і при стимуляції електричним струмом у присутності і за відсутності хелаторів міді — неокупроїну та неокупризону. Після опрацювання експериментальних даних автори [75] дійшли висновків, що тіонітрити не є нейропередавачами в нітратній нервовій системі та що іони міді позитивно впливають на релаксаційні властивості S-нітрозотіолів.

Впливають на розкладення тіонітритів не тільки іони міді та заліза, а й селенові похідні цистеїну та цистеаміну, які каталізують розкладення RSNO в присутності деяких тіолів [76].

Окремі ферменти також сприяють розкладенню S-нітрозотіолів. Так, у цитоплазматичній фракції аорти свині був знайдений ензим, який викликає гетеролітичне розкладення RSNO [77]. Важливі дані про регуляцію ектоензимом — γ -глутамілтранспептидазою (GGT) — антипроліферативної дії GSNO на людські T- і B-лімфоцити наведено в роботі [78]. Показано, що клітини, які експресують цей ензим, викликають швидку метаболізацію GSNO, яка супроводжується виділенням NO. Останній інгібує синтез ДНК, причому одночасно зменшується концентрація внутрішньоклітинних дезоксирибонуклеотидів.

Є дані і про зворотний процес, а саме — пригнічення активності ферментів S-нітрозотіолами, яке відбувається внаслідок реакцій транс-

нітрозування. Такий механізм був запропонований в [79] для пояснення інгібування ферменту глутатіонредуктази, яке супроводжується зниженням рівня глутатіону (GSH) і посиленням окиснювального стресу.

У роботі [80] було встановлено, що завдяки S-нітрозуванню S-нітрозо-L-цистеїном тіольної групи цистеїнового фрагменту ферменту ендотеліальних клітин людини — caspase-3 — попереджувалась загибель (апоптоз) цих клітин.

Авторами [81] було показано, що витримування гранулозно-лютеальних клітин людини, які містять фермент ароматазу, разом з S-нітрозо-N-ацетилпеніциламіном (SNAP) через 16 годин зменшувало активність цього ферменту на 26%, що стало наслідком S-нітрозування цього ферменту по цистеїновому залишку.

У процесі S-транснаїтрозування інгібувалась ринновірусна 3с-протеаза людини [82] та протеїновмісна тирозинова фосфатаза [83].

Було показано [84], що Na/K-АТФаза мозку та нирок людини слабо інгібується за допомогою GSNO, але набагато сильніше при дії ДНКЗ, які містять RSNO.

У випадку креатинкінази [85] було встановлено, що блокада тіольної групи цього ензиму при дії SNAP відбувається в результаті реакції S-перенітрозування, тоді як у випадку з GSNO перебігає S-тіолювання.

Ряд досліджень був присвячений вивченню відповідних реакцій організму на вплив зовнішніх несприятливих факторів і ролі S-нітрозотіолів у цих процесах.

У роботі [6] було встановлено, що при попередній обробці венозних ендотеліальних клітин GSNO, SNAP або S-нітрозоальбуміном (S-NOalb) і подальшому зараженню їх ліпосахаридами пухлинний некротичний фактор α суттєво знижувався в порівнянні з контролем. Спостерігалась також стимуляція відщеплення O_2^- від нейтрофілів і збільшення їх акумуляції спільно з гуанозинфосфатом. З'ясувалося, що S-нітрозоальбумін виявився на порядок сильнішим модулятором, ніж GSNO і SNAP. S-NOalb, на відміну від останніх, відщеплював NO повільно, поступово і з постійною швидкістю. Це дозволяє вважати його перспективним лікарським препаратом [6].

Авторами [86] було показано, що введення кроликам рекомбінантного фактора людини (rhG-CSF) разом із SNAP значно підвищувало концентрацію сировоткового гранулоцитарного колоностимулюючого фактора і збільшувало кількість лейкоцитів. Цей ефект не спостерігався, коли одночасно зі SNAP вводилась пастка для NO, так звана карбокси-PTIO [86].

У роботі [87] вивчався розвиток ендотоксемії у щурів після введення їм ліпосахаридів, добутих із грамнегативних бактеріальних клітин. Було встановлено, що при цьому відбувається експресія NO-синтази і різке збільшення продукування нею

NO. В цих же умовах активується зв'язування NO високомолекулярними тілами — альбуміном і гемоглобіном, що супроводжується утворенням S-нітросопохідних як своєрідних сховищ NO. Цікаво, що низькомолекулярні тіла — цистеїн та глутатіон у цих процесах участі не беруть.

У циклі робіт [88-91] досліджувалась захисна функція NO і S-нітрозотіолів у процесах адаптації організму до гіпоксії. В статті [88] повідомлялось, що при важкому гіпоксичному стані ($pO_2 < 2$ мм рт. ст.) спостерігається суттєве посилення активності ферменту оксигенази ендотеліального гена (HO-1). На думку авторів [88], збільшення внутрішньоклітинних взаємодій NO з тілами, зокрема з GSH, приводить до утворення GSNO, що сприяє збудженню HO-1 при помітному зниженні рівня кисню в тканинах.

Важливі дані про захисну дію тіонітритів і NO при адаптації шурів до фізичних навантажень та гіпобаричної гіпоксії в барокамері (розрідження повітря — як на висоті 5 км над рівнем моря) наведені в статтях [89-91].

Було показано, що при адаптації до фізичних навантажень має місце двофазна зміна в продукуванні NO: перша фаза — збільшення і друга — зменшення його продукування [89]. Вказане збільшення продукування NO, зокрема в печінці, може лежати в основі антигіпоксичного ефекту цієї адаптації. Це підтверджує той факт, що введення дослідним шурам ДНКЗ, які містять CysNO, збільшувало стійкість тварин до гострої гіпоксії, тоді як введення блокатора NO-синтази (L-NNA) зменшувало цю стійкість.

У роботах [90, 91] на відповідних моделях вивчалось співвідношення процесів продукування та депонування NO під час адаптації до помірної гіпоксії. Автори [90, 91] встановили, що між цими процесами існує прямий взаємозв'язок, який підтверджується суттєвою кореляцією між співвідношенням нітритів та нітратів у плазмі крові та кількістю NO, що акумулюється у стінках судин. Ця адаптація викликає ряд процесів в організмі, які дають змогу, з одного боку, відвернути надмірну релаксацію і зменшити гіпотензивну характеристику інфаркту міокарда, а, з іншого — запобігти зростанню артеріального тиску і збільшити релаксацію у шурів, які знаходяться в стані нападу гіпертензії [91].

Таким чином, у процесі адаптації до помірної гіпобаричної гіпоксії спостерігалось як збільшення продукування NO в умовах його дефіциту шляхом стимуляції синтезу і (або) вивільнення зі сховищ, так і швидкості депонування NO у стінках судин, що перешкоджало розвитку цитотоксичного та гіпотензивного ефектів при дії надлишкового NO [90, 91].

Одержані дані можуть бути основою для використання в клініці методу гіпобаричної гіпоксії у хворих на гіпертензію, тому що після звичайного курсу лікування не завжди відновлюється ендотеліально-залежна вазодилататорна здатність.

Роботи [92, 93] присвячені вивченню наслідків відхилення від норми в той або інший бік вмісту S-нітрозотіолів у тканинах, впливу цих явищ на перебіг патологічних процесів і деяких способів їх коригування.

У статті [92] було показано, що в синовіальній і серозній рідині, які оточують хрящі хворих на остеоартрит, відмічається підвищена концентрація RSNO і нітритів. З метою нормалізації хворобливого стану досліджувалась дія субстанції “Rhein” (активна форма лікарського препарату “Diacerein”) і диклофенаку. З'ясувалося, що “Rhein” повністю інгібував підвищене продукування RSNO і нітритів, тоді як диклофенак був неактивним.

Зменшення вмісту S-нітрозотіолів нижче норми також негативно відображається на здоров'ї людини. У роботі [93] було знайдено, що в дихальних шляхах дітей, хворих на цистичний фіброз, у порівнянні з контрольною групою здорових дітей вміст RSNO і нітритів помітно нижчий. Одночасно фіксувалося зменшення кількості біохімічних реакцій, які зазвичай ініціюються тіонітритами.

На думку авторів [94], суттєвий вплив на розвиток патологічного процесу у дітей, хворих на важку форму астми, виявляє зниження рівня GSNO в гладкій мускулатурі дихальних шляхів. Ця робоча гіпотеза експериментально моделювалась на трахеях гвінейських свиней, яким вводили сенсibilізовану овальбуміном протеїнову фракцію легеневої тканини, здатної розкладати GSNO. Виявилось, що ця процедура суттєво інгібувала релаксацію кілець трахеї. Це підтверджує висновок, що підвищене розкладання GSNO негативно впливає на патофізіологію астми.

У роботі [95] показано, що існує зв'язок між захворюваннями на гіпертензію і мішенеподібну клітинну гемолітичну анемію (таласемію). Вважається, що це викликано S-нітросуванням гемоглобінів A і H за допомогою NO. При цьому знижується рівень NO в крові та ендотеліальній тканині судин, що й призводить до негативних наслідків. Ймовірно, зниження рівня NO сприяє розвитку гіпертензії і таласемії, але сумнівною є концепція необоротного S-нітросування вказаних гемоглобінів, що ніби-то є причиною дефіциту NO в організмі.

Недавно повідомлялось [7], що S-нітросування гемоглобіну є швидкою і оборотною реакцією. Треба також мати на увазі, що монооксид азоту може зв'язуватися комплексами ДНКЗ, як про це повідомлялося вище, але й тут процес є рівноважною реакцією. Так що конкретна причина зниження рівня NO в тканинах судин потребує подальших досліджень.

Авторами [96] вивчалась можливість трансляційного впровадження гомоцистеїну (Hcy) у протеїн за допомогою транспортної РНК (*m*-РНК). Встановлено, що сам по собі Hcy упровадити не вдається, але після його S-нітросування набагато полегшується його зв'язування з *m*-РНК і подаль-

ше впровадження в протеїн бактерії *Escherichia coli*. Було також показано, що S-NO-Hcy-PHK сприяє трансляції матричної ДНК в ретикулоцитну систему кролика. Автори [96] зробили висновок, що здатність цього S-NO-Hcy влаштуватися в протеїнові структури може бути причиною розвитку патогенетичного атеросклерозу.

Важливі дані про механізми релаксації гладкої мускулатури препаративних смужок баранячої уретри наведені в роботі [97]. Зокрема була досліджена релаксація при дії нітропрусида Na(SNP), нітроглицерину (GTN), S-нітрозо-L-цистеїну (CySNO), SNAP, S-нітрозо-N-ацетил-L-цистеїну і GSNO. Було встановлено, що повнота і швидкість відщеплення NO його донорами не завжди корелює з їх релаксуючою здатністю. Реєструвались випадки метаболічної активації субстратів по відношенню до NO в цитоплазмі, пряме перенесення NO на компоненти клітин і реакції нітрозування на клітинних мембранах [97].

Авторами роботи [98] були синтезовані нові S-нітрозотіоли — N-(S-нітрозо-N-ацетилпеніциламіно-2-аміно-2-дезоксид-1,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-α-глюкопіраноза (RIG-200) і S-нітрозо-N-валерил-α-пеніциламін. Було проведено порівняльне вивчення стійкості стегнових артерій до дії цих RSNO і нітроглицерину. Показано, що при дії останнього на артерії, попередньо звужені дією фенілефрину, у присутності інгібітора NO-синтази ефект вазодилатації тривав від 2 до 20 год, а при введенні нових тіонітритів у ті ж артерії в тих же умовах вазодилатація продовжувалась безперервно протягом 20 год. Таким чином, толерантність до дії нових S-нітрозотіолів не спостерігалась.

Цікаве дослідження, яке має практичне значення при лікуванні хворих, уражених вірусом ВІЧ-1, виконали автори [99]. Ними було встановлено, що тіонітрити і внутрішньоклітинний NO інгібують реплікацію цього вірусу в мононуклеарних клітинах периферичної крові, ураженої гострою формою хвороби, і виявляють адитивну інгібуючу дію в комбінації з 3'-азидо-3'-дезокситимідилатом. У той же час у клітинах, хронічно уражених вірусом ВІЧ-1, як NO, так і RSNO діють як реактиватори вірусу. Автори [99] зробили висновок, що не тільки NO і RSNO, але й синтетичні нітроестери з обмеженою токсичністю, які використовуються для лікування коронарної хвороби, можуть застосовуватися з метою інгібування вірусу ВІЧ-1, а також для його реактивації або одночасно в обох випадках.

Не можна не відзначити роботу [100], в якій показано, що в міоцитах правого шлуночка серця тхора S-нітрозотіоли стимулюють базальні токи в Ca²⁺-каналах L-типу. Цей ефект не залежить від клітинної проникності, модуляції секреції RSCa²⁺, активації кіназ, інгібування фосфатаз і зміни рівнів циклічного ГМФ (цГМФ). Крім того, спостерігалась схожа активація цГМФ S-нітрозотіолами і зворотна дія тіольних відновлювачів. Це під-

тверджує наявність тіольного “редокс-вмикача” на комплексі субодиниці Ca²⁺-каналу L-типу.

На додаток до вищесказаного потрібно зупинитися на даних з вивчення в ряду тіонітритів залежності структура — біологічні властивості. Потрібно відзначити, що нині таких даних відомо небагато [52, 97, 98, 101-104]. Головний висновок, який випливає з робіт [97, 102], полягає в тому, що сила і тривалість біологічної дії тіонітритів залежить в основному від особливостей їх хімічної будови.

У роботі [102] було синтезовано вісім нових тіонітритів і досліджена їх стійкість та релаксуюча здатність на гладкій мускулатурі аорти кроля та трахеї гвінейської свині. Автори статті [102] з'ясували, що біологічна активність тіонітритів залежить тільки від їх структури. Зроблено також висновок, що природа радикалу R впливає на індивідуальну селективність RSNO до тієї чи іншої тканини організму.

Однак є окремі випадки [62, 101], коли стійкість тіонітритів у водному розчині корелює з їх біологічною дією. Зокрема, було показано, що комплекси ДНКЗ (1 : 2), які вміщували GSNO, за своєю вазодилаторною дією були на порядок ефективніші, ніж аналогічні комплекси ДНКЗ з CysNO. Цей факт автори роботи [62] пов'язують з більшою стійкістю GSNO у водному розчині в порівнянні з CysNO. За даними статті [101] тіонітрит RIG-200 в буфері Кребса виявився стійкішим, ніж вихідна сполука SNAP. У відповідності з цим вазодилаторна дія RIG-200 на стегнових артеріях щурів виявилася тривалішою, ніж дія SNAP.

З огляду на вищенаведені факти можна вважати, що дані про стійкість різних типів тіонітритів у розчині будуть корисними для хіміків, зокрема для синтезу нових сполук цього ряду з потенційними біологічними властивостями. Відповідні відомості наведені в табл. 1.

Як впливає з табл. 1, час напіврозкладення ацетилюваного по аміногрупі S-нітрозоцистеїну (сполука 2) суттєво більший, ніж у найменш живучого S-нітрозоцистеїну (сполука 1). Збільшення часу напіврозкладення відбувається також при подовженні ланцюга CySNO на одну метиленову групу (сполука 3), при введенні залишка цистеїну в трипептид (сполука 4) і наступному S-нітрозуванні [25, 62].

При наявності вторинного та особливо третинного вуглецю в α-положенні до групи SNO (сполуки 2, 5, 7, 8, 10-12) тривалість напіврозкладення вказаних тіонітритів помітно зростає. Значно більший час напіврозкладення спостерігається у тіонітритів 12 та 13, які мають у своїй структурі гідроксильні групи. У зв'язку з цим досить продуктивним виявився синтез нових тіонітритів, які містять залишки моносахаридів, завдяки чому помітно збільшується період напіврозкладення цих сполук і полегшується їх транспортування через мембрани клітин [17].

Таблиця 1

Період напіврозкладення деяких тіонітритів

№	Структура	Назва	Період напіврозкладення	Посилання
1		S-нітрозоцистеїн (CysNO)	1 хв	[43]*
2		S-нітрозо-N-ацетил-L-цистеїн (NAC-SNO)	декілька діб	[43]*
3		S-нітрозогомоцистеїн (HcyNO)	1 год	[43]*
4		S-нітрозо-L-γ-глутаміл-L-цистеїнілгліцин (GSNO)	1 тиждень	[62]*
5		S-нітрозо-N-ацетилпеніциламін (SNAP)	137,2±13,8 хв	[101]**
6		N-(S-нітрозо-N-ацетилпеніциламін)-2-аміно-2-дезоксi-1,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-α-глюкопіраноза (RIG-200)	216,2±26,7 хв	[101]**
7		Гідрохлорид 2-аміноетилтіонітриту	4 хв	[104]***
8		Гідрохлорид 2-аміно-1,1-диметилетилтіонітриту	12 хв	[104]***
9		Пропілтїонітрит	51 хв	[104]****
10		1-Метилпропілтїонітрит	96 хв	[104]****
11		1,1-Диметилпропілтїонітрит	303 хв	[104]****
12		2-Гідроксіетилтіонітрит	44 год	[104]***
13		2,3-Дигідроксипропілтїонітрит	280 год	[104]**

* у нейтральному водному розчині;

** в буфері Кребса;

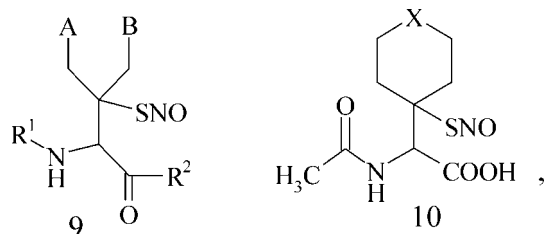
*** в буферному розчині з фосфатом калію;

**** в толуолі в огляді [13].

Необхідно також відзначити, що природні S-нітрозотіоли та S-нітрозогомоглобіни, як це було показано вище, містять у своїх структурах цистеїнові залишки, нітровані по вільних тіольних групах.

Таким чином, можна вважати, що одним із перспективних напрямків синтетичного пошуку в

області біологічно активних RSNO є включення цистеїнових залишків у більш складні, в тому числі і пептидні структури, які містять ароматичні, гетероциклічні та інші фрагменти. Сказане можна проілюструвати прикладом синтезу сполук **9**, **10**, які за вазодилаторною дією в 2 і більше разів перевищують GSNO [105].



де: A = B = Ph; R¹ = ацил; R² = OH або гліцил;
X = O, S, NR³.

Схема 3

Поряд з узагальненням і обговоренням даних експериментальних робіт безумовний інтерес становить тематика вищезгаданих оглядів.

В огляді [8] представлені біохімія, біологічні властивості і потенційне клінічне використання S-нітрозотіолів.

Лауреат Нобелівської премії F. Murad присвятив свою Нобелівську лекцію [9] відкриттю і вивченню біологічних властивостей NO, його ролі в клітинній сигналізації, характеристиці NO-синтази, її модифікацій та ізоформ, а також можливому використанню NO як пролікарського препарату.

Нобелівський лауреат R. F. Furchgott у своїй оглядовій лекції [10] зосередив увагу на відкритті і дослідженні ролі ЕРФ у живому організмі.

Темою доповіді [11] Нобелівського лауреата L. G. Ignarro була роль NO як унікальної ендогенної молекули в біології судин. У ній були розглянуті механізми відщеплення монооксиду азоту від нітрогліцерину і S-нітрозотіолів, активації гуанілатциклази, інгібування агрегації тромбоцитів і майбутні перспективні напрямки досліджень значення NO в біохімії судин.

Оглядова стаття [12] присвячена з'ясуванню ролі NO-синтази, яка підтримує базальний (тональний) рівень NO у тканинах, та її впливу на регуляцію процесів в імунній, серцево-судинній і нервовій тканинах.

Взаємозв'язок між NO[•], NO⁻, NO⁺, NO₃⁻ в живому організмі, біологія і реакції нітрокислого іона з тіолами, киснем і залізовмісними центрами гемів детально обговорені в огляді [13].

Роль реакцій S-нітразування в регуляції функцій протеїнів, у проведенні нітрозативного стресу, а також значення S-нітрозотіолів в нейропередачах грудинної залози, у функціях іонних осередків, внутрішньоклітинної сигналізації та в антимікробному захисті організму висвітлені в огляді [14].

В оглядовій роботі [15] обговорено вплив рН біологічного середовища на процеси S-нітразування тіолів, нітразування окси- і дезоксигемоглобінів і висунута ідея про те, що нітрит-іон є модулятором ЕРФ.

В огляді [16] докладно розписані літературні дані щодо S-нітразування інгібітора α₁PI-протеази по його цистеїновому залишку як *in vivo*, так *in vitro*. Подана інформація про корисні біологічні властивості цього S-нітрозованого інгібітора — антиагрегаційні, бактеріостатичні, релаксаційні і гемодинамічні.

В оглядовій статті [17] основна увага була сфокусована на останніх відкриттях в області біологічних функцій тіонітритів, прогресі у вивченні їх хімічних властивостей та потенційному медичному використанні. Розкладення тіонітритів та їх біологічні функції в організмі за даними роботи [17] наведено на схемі 4.

Аналізу та обговоренню літературних даних про участь у реакціях S-нітразування системи пероксинітрит/пероксиазотиста кислота *in vivo* присвячений огляд [18], в якому наведені також дані про генерування NO із RSNO в присутності іона Cu⁺.

Біохімічні ефекти впливу NO на гладку мускулатуру кровоносних судин, які включають регуляцію тонуусу судин, утворення RSNO, інгібування проліферації клітин гладкої мускулатури судин і цитотоксичну дію, розглянуті в монографії [19].

В огляді [20], присвяченому хімії S-нітрозотіолів, окремий розділ відведено перетворенням вказаних сполук *in vivo*.

Концепція регуляції функцій протеїнів шляхом S-глутатіювання їх цистеїнових залишків у відповідь на окиснювальний і нітрозативний стреси, а також роль цих процесів у сигналізаціях і адаптаційної клітинної відповіді висвітлені в огляді [21].

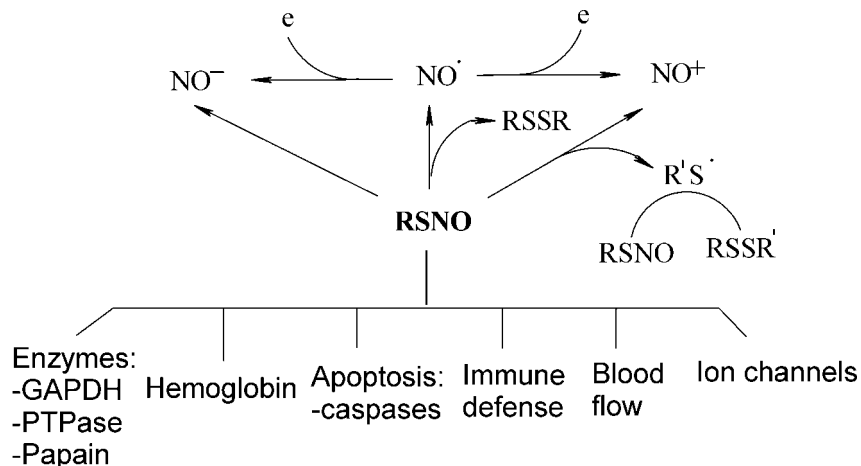


Схема 4

Значення зв'язування NO з гемами і з реактивними тиольними групами гемоглобіну, вплив конформаційного фактора на ці процеси, а також розпад RSNO в периферичних судинах у процесі дихального циклу представлені в оглядовій статті [22].

Виясненню ролі вазоактивних речовин — аденозину і NO в регуляції кровообігу скелетної мускулатури при фізичних тренуваннях присвячена робота [23]. Питання синтезу NO в організмі та його роль у функціонуванні серцево-судинної системи розглянуті в публікації [24].

Фізико-хімічні властивості, механізми синтезу і розпаду динітрозильних комплексів заліза (ДНКЗ) з тиоловмісними лігандами, S-нітрозотіоли і потенційна роль цих сполук у збереженні і транспорті NO в організмі докладно обговорені в роботі [25].

Молекулярні механізми, які лежать в основі регулятивних властивостей NO в серцево-судинній системі, та перспективні фармакологічні дослідження в цій області з метою впровадження їх результатів у терапевтичну практику представлені в оглядовій статті [26].

Огляд [27] присвячений хімії, біології та біологічній дії S-нітрозотіолів.

У роботі [28] основну увагу сконцентровано на хімії зворотних процесів, які включають реакції деяких протеїнів (особливо тирозинової фосфатази) з реактивними N-частинками та з H_2O_2 .

Деталізації механізму реакцій NO та його метаболітів з тиолами мітохондрій і впливу цих реакцій на функції клітин і мітохондрій присвячено огляд [29].

В оглядовій статті [30] обговорені питання, пов'язані з загальним гомоцистеїном плазми крові, реакціями тіолів з NO, оксидативним стресом, із пригніченням метилтрансферази та з S-нітרוуванням гомоцистеїну.

Важлива роль тіолів та тиоловмісних речовин у клітинних редоксигнальних процесах, в яких беруть участь O- та N-реактивні частинки (ROS і RNS), висвітлена в огляді [31].

У роботі [32] описані методи синтезу S-нітрозотіолів, їх хімічна та фотохімічна реакційна здатність, представлені механізми реакцій і кінетичні дані, спектральні властивості тіонітритів та їх участь у біохімічних комплексах в якості лігандів, а також напрямки їх застосування в медичній практиці.

Автори [33] у своїй оглядовій статті підсумували останні літературні дані щодо модифікації активних тиольних груп гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) та caspase-3 монооксидом азоту та навели власні дані, які підтверджують потенційну роль S-нітרוування та утворення змішаних дисульфідів у загальному сигнальному механізмі сприймання нітрозативного стресу.

Молекулярний механізм біологічного S-нітרוування, який є однією з найважливіших фізіологічних та патофізіологічних функцій тіонітритів, а також роль RSNO у внутрішньоклітинній та

позаклітинній трансдукції і транспорті NO детально обговорено в огляді [34].

Стаття [35] є коментарем оглядового характеру на роботу Мінінга щодо здатності гемоглобіну аскарід поглинати кисень. Пропонується механізм цієї реакції, який містить гем, тіол і NO в редокс-триаді.

В огляді [36] розглянуті біологічні процеси S-нітרוування цистеїнових залишків рецептора мозку — N-метил-D-аспарагіату (NMDAR) та ферменту caspase як альтернативний шлях захисту нейронів від загибелі при локальних інсультах мозку. Визначено індивідуальну роль NO^+ , NO^- , $NO\cdot$ у цих захисних реакціях.

Авторами [37] зроблено критичний перегляд існуючих висновків та поглядів щодо розвитку толерантності при довготривалому лікуванні органічними нітратами, зокрема нітрогліцерином, і визначено напрямки позитивної дії екзогенних тіолів на організм, які сприяють зникненню цієї толерантності.

В оглядовій статті [57] аналізувались питання взаємодії NO-генераторів з тиолами, зокрема наведені дані щодо залежності сили цієї взаємодії від хімічної будови тіолів та розглянуті неензиматичні та ензиматичні шляхи активації органічних нітратів в організмі. Обговорено також можлива участь тіолів у припиненні толерантності до вказаних нітратів під час лікування ними, а також біологічні аспекти взаємодії тиоловмісних лікарських засобів (каптоприлу та еналаприлу) з зазначеними естерами *in vivo* та *in vitro*.

Характерною особливістю огляду [106] є те, що в ньому зроблено короткий огляд класів NO-донорів, найчастіше вживаних для досліджень та їх біотрансформації в організмі. І найголовніше, наведені методи та експериментальні методики, що дають можливість оцінювати релаксантні, антиагрегаційні властивості тіонітритів та інших NO-донорів, а також їх токсичність *in vitro*.

Важливим практичним результатом зазначених фундаментальних досліджень в області тіонітритів є впровадження ряду їх представників в медичну практику. Так, деякі S-нітрозотіоли запатентовані в складі фармацевтичних композицій, які пропонуються для лікування астми [46].

У патенті [47] описані S-нітрозотіоли і деякі інші нітрозопохідні, а також композиції на їх основі, які використовуються для лікування імпотенції у чоловіків та статевих дисфункцій у жінок.

S-нітрозопохідні деяких гемопротеїнів і тканинного плазміногенного активатора були заявлені в складі замітника крові, а також в якості засобів, які проявляють антитромбозну дію [48].

За спеціальною методикою на Ca-каналах L-типу і ринадиновому рецепторі було досліджено і запатентовано ряд тіонітритів і інших сполук як засобів з позитивною інотропною дією, що можуть з успіхом використовуватися для лікування

важких декомпенсаторних і прогресуючих хвороб серця [49].

Розроблений і заявлений метод інгібування розмноження ряду вірусів шляхом введення інфікованим хворим певної кількості NO або еквівалентної кількості RSNO [50].

Деякі S-нітрозотіоли запатентовані як релаксанти скелетних м'язів у хворих, що страждають на самочинне скорочення скелетної мускулатури [51].

Становить інтерес використання RSNO в фармацевтичних композиціях для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту, зокрема, виразкових уражень шлунка та дванадцятипалої кишки [52].

У патенті [53] описані тіонітри в складі лікарських композицій, які використовуються для судинорозширення, підвищення тонуусу вагінального м'яза, протидіжджової дії та лікування жіночої статеві сфери.

На основі S-нітрозопохідних протеїнів запатентовані терапевтично ефективні композиції, які використовуються для лікування порушень циркуляції і мікроциркуляції крові, викликаних міокардальним інфарктом, шоком, проникними пораненнями, тромбозами [54].

Розроблено і запатентовано метод дослідження сполук на гіпотензивну або гіпертензивну дію за

характером їх впливу на периваскулярні нейро-сенсорні Ca-канали [55]. Серед досліджених речовин, яким притаманний як перший, так і другий вид судинної дії, виявлені і запатентовані відповідні тіонітри.

У патенті [56] описані стенти спеціальної конструкції, що генерують при контакті з кров'ю іони Cu^+ , які каталізують розпад GSNO. Зостанній відбувається з виділенням NO, який викликає розширення судин і попереджує утворення тромбів, спричинених агрегацією тромбоцитів.

Синтетичні аналоги S-нітрузоцистеїну за своєю вазодилаторною дією *in vitro* в 2 і більше разів перевищують S-нітрузоглутатон [105].

Деякі тіонітри в комбінації з терапевтичними дозами аргініну є запатентованим засобом для профілактики і лікування захворювань печінки, спричинених надмірним вживанням алкоголю, дією ліків та промислових токсинів [107].

S-нітрозований людський гемоглобін входить до складу фармацевтичних композицій, заявлених у патенті [108] як засоби для лікування ішемічних уражень серця і мозку, а також шоків станів.

Висновки

В огляді проаналізовано та узагальнено застосування тіонітрів у біології та медицині.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bartberger M.D., Houk K.N., Powell S.C. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* — 2000. — Vol. 122. — P. 5889-5890.
2. Kharitonov V.D., Sundquist A.R., Sharma V.C. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270. — P. 28158-28164.
3. Gowt A.T., Buerk D.G., Ischiropoulos H. // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — P. 2841-2843.
4. Welch G.N., Upchurch G.R., Loscalzo J. // *Methods Enzymol.* — 1996. — Vol. 268. — P. 293-298; *C. A.* — 1996. — Vol. 125. — 269785 p.
5. Noble D.R., Williams D.L.H. // *Nitric oxide.* — 2000. — Vol. 4. — P. 392-398; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 318797 v.
6. Gluckman T.L., Grossman J.E., Folts J.D. et al. // *Toxicol. Environ. Health, Part. A.* — 2000. — Vol. 61. — P. 9-26; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 329283 a.
7. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Pannell L.K. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — P. 9943-9948; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 294125 w.
8. Hogg N. // *Free Radical Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28. — P. 1478-1486; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 246674 c.
9. Murad F. // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 1999. — Vol. 38. — P. 1857-1868.
10. Furchgott R.F. // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 1999. — Vol. 38. — P. 1871-1880.
11. Ignarro L.J. // *Angew. Chem., Int. Ed.* — 1999. — Vol. 38. — P. 1883-1892.
12. Stefano G.B., Goumon Y., Bilfinger T.V. // *Prog. Neurobiol.* — 2000. — Vol. 60. — P. 513-530; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 2709 b.
13. Hughes M.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1999. — Vol. 1411. — P. 263-272; *C. A.* — 1999. — Vol. 131. — 166559 n.
14. Gaston B. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1999. — Vol. 1411. — P. 323-333; *C. A.* — 1999. — Vol. 131. — 166562 h.
15. Tian Y.P., Rokicinski M., Betts W.H. // *Shengwu Xuaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao.* — 1999. — Vol. 31. — P. 133-137; *C. A.* — 1999. — Vol. 131. — 54055 p.
16. Miyamoto Y., Akaie T., Maeda H. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2000. — Vol. 1477. — P. 90-97; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 1913 b.
17. Wang K., Zhang W., Xian M. et al. // *Curr. Med. Chem.* — 2000. — Vol. 7. — P. 821-834.
18. Williams D.L.H. // *Acc. Chem. Res.* — 1999. — Vol. 32. — P. 869-876; *C. A.* — 1999. — Vol. 131. — 282728 r.
19. Lang D., Lewis M. 68 IVAB Conference on Haemodyn. Effects on Nitric Oxide. General Rev. — London: Imperial College Press, 1999. — P. 2-3; *C. A.* — 2000. — Vol. 132. — 149354.
20. Williams D.L.H. // *Nitric oxide.* — 1997. — Vol. 1. — P. 522-527; *C.A.* — 1998. — Vol. 128. — 148699 s.
21. Klatt P., Lamas S. // *Eur. J. Biochem.* — 2000. — Vol. 267. — P. 4928-4944; *C. A.* — 2000. — Vol. 133. — 279556 u.
22. Mc Mahon T.J., Stambler J.S. *Thes. of Addres on Conf. on Endothelium, Nitric Oxide and Atherosclerosis.* — Durham (USA), 1999. — P. 57-63; *C. A.* — 2000. — Vol. 132. — 219965 w.

23. Rodegran G., Hellsten Y. // *Acta Physiol. Scand.* — 2000. — Vol. 168. — P. 575-591; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 877 f.
24. Hingorani A.D., Vallance P.J. // *Endothelial Cell. Res. Ser.* — 2000. — Vol. 7. — P. 3-28; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 2716 b.
25. Ванин А.Ф. // *Биохимия.* — 1998. — Т. 63. — С. 924-938.
26. Stocklet J.C., Troncy E., Muller B. // *Expert. Opin. Inv. Drugs.* — 1998. — Vol. 7. — P. 1769-1779.
27. Upchurch G.R., Welch G.N., Loscalzo J. // *Adv. Pharmacol.* — 1995. — Vol. 34 (Nitric oxide). — P. 343-349; C. A. — 1996. — Vol. 124. — 141575 g.
28. Forman H.J., Fukuto J.M., Torres M. // *Amer. J. of Physiol.* — 2004. — Vol. 287 (2, Pt. 1). — P. 246-P256; C.A. — 2004. — Vol. 141. — 152629.
29. Costa N.J., Dahm Ch.C., Hurrell F. et al. // *Antioxidants & Redox Signaling.* — 2003. — Vol. 5(3). — P. 291-305; C.A. — 2003. — Vol. 139. — 274079.
30. Gow A.J., Cobb F., Stamler J.S. // *Homocysteine in Health and Disease.* — 2001. — P. 39-45; C.A. — 2001. — Vol. 136. — 322783.
31. Moran L.K., Gutteridge J.M., Quinlan G.J. // *Current Med. Chem.* — 2001. — Vol. 8(7). — P. 763-772; C.A. — 2001. — Vol. 135. — 72778.
32. Szacilowski K., Stasicka Z. // *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism.* — 2001. — Vol. 26(1). — P. 1-58; C.A. — Vol. 135. — 33236.
33. Brune B., Mohr S. // *Current Protein and Peptide Sci.* — 2001. — Vol. 2(1). — P. 61-72; C.A. — 2001. — Vol. 135. — 1982.
34. Akaike T. // *Free Radical Res.* — 2000. — Vol. 33(5). — P. 461-469; C.A. — 2000. — Vol. 134. — 248369.
35. Taboy C.H., Crumbliss A.L. // *Chemtracts.* — 2000. — Vol. 13(5). — P. 320-325; C.A. — 2000. — Vol. 133. — 204234.
36. Lipton S.A. // *Cell Death and Differentiation.* — 1999. — Vol. 6(10). — P. 943-951; C.A. — 1999. — Vol. 132. — 163813.
37. Boesgaard S., Nielsen-Kudsk J.E., Laursen J.B., Aldershvile J. // *Amer. J. of Cardiol.* — 1998. — Vol. 81 (1A). — P. 21A-29A; C.A. — 1998. — Vol. 128. — 212462.
38. Padgett Ch.M., Whorton A.R. // *Cell Biochem. and Biophys.* — 1997. — Vol. 27(3). — P. 157-177; C.A. — 1997. — Vol. 127. — 259005.
39. Yoshimura T. // *Jap. Saishin Igaku.* — 1997. — Vol. 52 (5). — P. 919-925. C.A. — 1997. — Vol. 127. — 3236.
40. Fukuto J.M. // *Adv. in Pharmacol.* — 1995. — Vol. 34. — P. 1-15; C.A. — 1995. — Vol. 124. — 141573.
41. Bruene B., Mohr S., Messmer U.K. // *Reviews of Physiol., Biochem. and Pharmacol.* — 1996. — Vol. 127. — P. 1-30; C.A. — 1996. — Vol. 124. — 113155.
42. Boesgaard S. // *Danish Med. Bull.* — 1995. — Vol. 42 (5). — P. 473-84; C.A. — 1995. — Vol. 124. — 163885.
43. Girard P., Potier P. // *FEBS Letter.* — 1993. — Vol. 320 (1). — P. 7-8; C.A. — 1993. — Vol. 119. — 3193.
44. Abrams J. // *Amer. J. of Med.* — 1991. — Vol. 91 (3C). — P. 106S-12; C.A. — 1991. — Vol. 116. — 50634.
45. Welch G.N., Upchurch G.R., Loscalzo J. // *Methods in Neurosci.* — 1996. — Vol. 31. — P. 34-40; C.A. — 1996. — Vol. 126. — 3929.
46. Pat. WO 9852,580 (1998); C. A. — 1999. — Vol. 130. — 20568 x.
47. Pat. USA 5958926 (1999); C. A. — 1999. — Vol. 131. — 252588 c.
48. Pat. WO 9630,006 (1996); C. A. — 1997. — Vol. 126. — 37023 f.
49. Pat. WO 9055,317 (1999); C. A. — 1999. — Vol. 131. — 317779 n.
50. Pat. WO 9602,268 (1996); C. A. — 1996. — Vol. 125. — 1364 h.
51. Pat. WO 9602,241 (1996); C. A. — 1996. — Vol. 125. — 1413 y.
52. Pat. WO 0050,037 (2000); C. A. — 2000. — Vol. 133. — 203023 x.
53. Pat. WO 9921,562 (1999); C. A. — 1999. — Vol. 130. — 343052 u.
54. Pat. EP 853944 (1998); C. A. — 1998. — Vol. 129. — 113508 x.
55. Pat. WO 9742,951 (1997); C. A. — 1998. — Vol. 128. — 30396 n.
56. Pat. WO 00/02051 (1999); C. A. — 2000. — Vol. 132. — 113129 m.
57. Nuhn P., Stritzel R. // *Pharmazie.* — 1993. — Bd. 48 (№6). — S. 403-406.
58. Mc Mahon T.J., Stamler J.S. // *Methods Enzymol.* — 1999. — Vol. 301. — P. 99-114; C. A. — 1999. — Vol. 130. — 220126 p.
59. Bonaventura J.L.C., Bonaventura J., Stamler J.S. // *Nature.* — 1996. — Vol. 380 (№657). — P. 2221-2226.
60. Stamler J.S., Jia L., Eu J.P. // *Sci.* — 1997. — Vol. 276. — P. 2034-2037.
61. Vanin A.F. // *NATO AST, Ser. 3.* — 1997. — Vol. 27. — P. 351-363; C. A. — 1997. — Vol. 127. — 2069 u.
62. Ванин А.Ф., Стукан Р.А., Манухина Е.Б. // *Биофизика.* — 1997. — Vol. 42. — С. 11-21.
63. Van Der Vliet A., Hoen P.A., Wong P.S. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — P. 30255-30262; C. A. — 1999. — Vol. 130. — 120605 a.
64. Gabor G., Allon N., Weetal H.H. // *Microchem. J.* — 1997. — Vol. 56. — P. 177-187; C. A. — 1997. — Vol. 127. — 146735 f.
65. Holmes A.J., Williams D.L.H. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2.* — 2000. — Vol. 8. — P. 1639-1644; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 281407 q.

66. Xu A., Vita J.A., Keaney J.F. // *Hypertension*. — 2000. — Vol. 36. — P. 291-295.
67. Askew S.C., Barnett D.J., McAninly L. et al. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*. — 1995. — P. 741-745.
68. Dicks A.P., Williams D.L.H. // *Chem. Biol.* — 1996. — Vol. 3. — P. 655-659; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 214978 y.
69. Williams D.L.H. // *Methods Enzymol.* — 1996. — Vol. 268. — P. 299-308; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 269786 q.
70. Singh R.J., Hogg N., Joseph J. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. — P. 18596-1860.
71. Burg A., Cohen H., Meyerstein D. // *J. Biol. Inorg. Chem.* — 2000. — Vol. 5. — P. 213-217; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 116355 p.
72. Stubauer G., Giufre A., Sarti P. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 28128-28133.
73. Vanin A.F., Malenkova J., Serezhnikov V. // *Portland Press. Proc.* — 1998. — Vol. 15. — P. 306; C. A. — 1998. — Vol. 129. — 189620 y.
74. Jnoue K., Akaike T., Miyamoto Y. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 27069-27075.
75. De Man J.G., Moreels T.G., De Winter B.Y. et al. // *Eur. J. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 381. — P. 151-159; C. A. — 1999. — Vol. 131. — 317688 g.
76. Hou Y., Guo Z., Li G. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1996. — Vol. 228. — P. 88-93; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 321309 c.
77. Sorenson E., Skiles E.H., Xu B. et al. // *Eur. J. Biochem.* — 2000. — Vol. 267. — P. 4593-4599; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 250160 z.
78. Henson S.E., Nichols T.C., Holers V.M. et al. // *J. of Immunol.* — 1999. — Vol. 163. — P. 1845-1852; C. A. — 1999. — Vol. 131. — 270896 f.
79. Butzer U., Wiedenbach H., Gansauge S. et al. // *FEBS. Lett.* — 1999. — Vol. 445. — P. 274-278; C. A. — 1999. — Vol. 130. — 335870 u.
80. Rossig L., Fichtlscherer B., Breitschopf S. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 6823-6826.
81. Snyder G.D., Holmes R.W., Bathes J.M. // *J. Steroid. Mol. Biol.* — 1996. — Vol. 58. — P. 63-69; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 297713 g.
82. Xian M., Wang Q.M., Chen X. et al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2000. — Vol. 10. — P. 2097-2100; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 358905 k.
83. Xiang M., Wang K., Chen X. et al. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 268. — P. 310-314; C. A. — 2000. — Vol. 132. — 247883.
84. Boldyrev A.A., Bulygina R.A., Kramarenko G.G. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1997. — Vol. 1321. — P. 243-251; C. A. — 1997. — Vol. 127. — 343228 u.
85. Konarew F.A., Kalyanaraman B., Hogg N. // *Free Radical Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28. — P. 1671-1678; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 307051 w.
86. Watanabe Y., Utoguchi N., Ishii A. et al. // *J. Drug. Targeting.* — 2000. — Vol. 8. — P. 185-194; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 271506 g.
87. Jourdhueil D., Gray L., Grisham M.B. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 273. — P. 22-26; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 191326 h.
88. Motterlini R., Foresti R., Bassi R. et al. // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. — P. 13613-13620; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 72295 n.
89. Аймашева Н.П., Зенина Т.А., Манухина Е.Б. // *Изв. АН, сер. Биол.* — 1997. — №5. — С. 634-638.
90. Manukhina E.B., Malyshev T.Yu., Smirin B.V. et al. // *Nitric oxide: Biology and Chemistry.* — 1999. — Vol. 3. — P. 393-401; C. A. — 2000. — Vol. 132. — 62230 c.
91. Manukhina E.B., Mashina S.Yu., Smirin B.V. et al. // *Physiol. Res.* — 2000. — Vol. 49. — P. 89-97; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 84657 v.
92. Menkes C.J.B., Digner H., Alain E.O. // *Bull. De l'Acad. Nationale de Medicine.* — 1999. — Vol. 183. — P. 785-786; C. A. — 2000. — Vol. 132. — 18586 z.
93. Graseman H., Gaston B., Fang K. et al. // *J. of Pediatr.* — 1999. — Vol. 135. — P. 770-772; C. A. — 2000. — Vol. 132. — 206308 j.
94. Harrington E.O., Smeglin A., Parks N. et al. // *Amer. J. Physiol.* — 2000. — Vol. 279. — P. 1733-1734; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 361242 x.
95. Reddy P., Bowie L., Callistein S. // *Clin. Chem.* — 1997. — Vol. 43, Pt.1. — P. 1442-1447; C. A. — 1997. — Vol. 127. — 218781 t.
96. Jakubowski H. // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 276. — P. 21813-21816.
97. Garcia-Pascual A.C., Gonsaio L.A., Jimene Z.E. et al. // *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacol.* — 1999. — Vol. 360. — P. 80-91; C. A. — 1999. — Vol. 131. — 267014 m.
98. Miller M.R., Megson I.L., Roseberry M.J. // *Eur. J. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 403. — P. 111-119; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 329310 g.
99. Mannick J.B., Stamler J.S., Teng E. et al. // *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* — 1999. — Vol. 22. — P. 1-9; C. A. — 2000. — Vol. 133. — 305293 c.
100. Gampbell D.L., Stamler J.S., Strauss H.C. // *J. Gen. Physiol.* — 1996. — Vol. 108. — P. 277-293; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 297773 b.

101. Megson I.L., Greig I.R., Gray G.A. et al. // *Br. J. Pharmacol.* — 1997. — Vol. 122. — P. 1617-1624; C. A. — 1998. — Vol. 128. — 149366 t.
102. Mathews W.R., Kerr S.W. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1993. — Vol. 267. — P. 1529-1537; C. A. — 1994. — Vol. 120. — 94778 f.
103. Tullett J.M., Hodson H.F., Gescher H. et al. // *Portland Press Proc.* — 1996. — Vol. 10. — P. 182; C. A. — 1996. — Vol. 125. — 48357 y.
104. Roy B., d'Hardemare A., Fontekave M. // *J. Org. Chem.* — 1994. — Vol. 59. — P. 7019-7028.
105. Pat. WO 0044,714 (2000); C. A. — 2000. — Vol. 133. — 150471 h.
106. Tullett J.M., Rees D.D. // *Mol. Biotechnol.* — 1999. — Vol. 11. — P. 93-100; C. A. — 1999. — Vol. 131. — 155414 k.
107. Pat. WO 94,16,740 (1994); C. A. — 1994. — Vol. 121. — 170568 a.
108. Pat. WO 97,18,000 (1997); C. A. — 1997. — Vol. 127. — 44968 s.

Надійшла до редакції 02.12.2007 р.