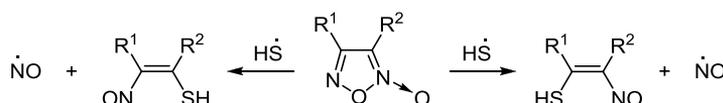


Механизм тиол-индуцированного донирования оксида азота(II) фуроксанами: квантово-химическое изучение

Олег Н. Буров^{1*}, Михаил Е. Клецкий¹, Никита С. Федик¹,
Антон В. Лисовин¹, Сергей В. Курбатов¹

¹ Южный федеральный университет,
ул. Зорге, 7, Ростов-на-Дону 344090, Россия; e-mail: bbole@gmail.com

Поступило 24.10.2015
Принято 19.11.2015



При помощи квантово-химических расчетов в рамках DFT с функционалом UB3LYP в базе 6-311++G** и с учетом эффектов сольватации по методу PCM изучены механизмы тиол-индуцируемой деструкции незамещенного и аннелированных фуроксанов с образованием оксида азота(II). Для всех систем показана предпочтительность образования NO по радикальному механизму атаки сульфанил-радикалом HS• атома углерода, связанного с N-оксидной группой. Анионные механизмы с участием анионов HS⁻ во всех случаях не реализуемы из-за их высокой эндотермичности.

Ключевые слова: оксид азота(II), фуроксаны, DFT-расчеты, тиол-индуцируемый механизм донирования NO.

В современных химических и биохимических исследованиях особое внимание уделяется молекулярным системам, способным генерировать оксид азота(II) (NO) – одну из важнейших сигнальных молекул, запускающих в организме целый каскад реакций. Эта молекула принадлежит к группе так называемых активных азотсодержащих систем, включающей, помимо оксида азота(II), пероксинитрит-анион, ион нитроксила и нитрозилсодержащие соединения.

Радикал NO является высокореакционноспособной частицей как в биологических, так и в химических процессах,^{1–3} и поскольку единственный неспаренный электрон локализован в нем на атоме азота, реакции радикальной рекомбинации или взаимодействия с ионами переходных металлов (в том числе с железом крови) происходят по этому центру.²

Именно оксид азота ответственен за регуляцию кровяного давления через вазодилатацию, то есть за расслабление гладкой мускулатуры кровеносных сосудов.^{4–6} Кроме вазодилатационного эффекта он уменьшает коагуляцию тромбоцитов, предотвращает прилипание нейтрофила к эндотелию, пролиферацию клеток гладкой мускулатуры, регулирует апоптоз и поддерживает барьерную функцию эндотелия. NO, секретируемый нейронами, действует как нейромедиатор, тогда как

NO, выделяемый макрофагами в ответ на вторжение микробов, действует как антибактериальный агент. Таким образом, оксид азота способен противостоять инфекционным и воспалительным заболеваниям и формированию новообразований.^{7–11} Особенно ценно проявление им цитотоксических и цитостатических свойств, что открывает широкие перспективы использования в химиотерапии.¹²

На микроциркуляторном уровне NO – важнейший фактор состояния, интегрирующий работу нейронов, кровеносных сосудов и клеток иммунной системы – ключевых компонентов в регуляции репродуктивной функции.

Физиологически достаточный уровень NO необходим, чтобы поддерживать репродуктивные функции, передачу клеточных сигналов, производство гормонов, акросомальную реакцию и подвижность спермы. В то же время избыток NO (в случае так называемого нитрозирующего стресса) может оказать негативное влияние на репродуктивный потенциал, вызвав тестикулярную дисфункцию, снижение уровня гонадотропина и нарушение характеристик спермы.^{14–25}

Такое разнообразие биологических эффектов позволяет на основе NO-донорирующих систем создавать гибридные препараты, обладающие многофункциональной активностью, что делает их весьма перспективными в лечении сложных многосимптомных болезней.^{26–27}

Создание новых доноров оксида азота, способных стать лекарственными веществами, требует приме-

* Здесь и далее в номере фамилия автора, с которым следует вести переписку, отмечена звездочкой.

нения эффективных методов его определения в живой клетке. Традиционные проблемы детектирования следовых концентраций любых соединений в биологических средах осложняются малым временем жизни, высокой реакционной способностью и радикальным характером самой молекулы. Основные аналитические методы определения NO – флуориметрический, полярографический, ЭПР, хемилюминесцентный, электрохимический, спектрофотометрический – обсуждаются в обзорах^{28–31} и цитированной там литературе. Очевидно, что, помимо детектирования NO, кардинально важными являются структурные (квантово-химические) исследования, позволяющие понять механизмы генерирования и функционирования оксида азота.

Есть два основных способа повышения уровня NO в естественных условиях: стимулируя NO-синтазы (NOS)^{32–33} и с помощью экзогенных источников NO, которые спонтанно ферментативно или неферментативно высвобождают его в организме.¹² Хотя к настоящему моменту известно множество механизмов генерирования NO, выделим лишь два важнейших.

Первый механизм – энзиматический, когда естественная внутриклеточная выработка NO биокатализируется действием группы ферментов NOS. Одним из наиболее значимых субстратов для продуцирования NO при этом является L-аргинин, при ферментативном окислении которого образуется цитруллин.^{34–35} Под ферментативным механизмом генерирования NO также понимают разложение NO-донорующего субстрата действием соответствующих ферментов. В частности, это один из механизмов, по которому реализует свою NO-донорную функцию нитроглицерин.^{36–37}

Второй механизм – тиол-индуцируемый, при котором происходит атака тиолом (или частицей, содержащей активную группу SR), приводящая к деградации экзогенного донора NO и выделению оксида азота(II)*.^{38–39}

В связи с развитием толерантности к экзогенным донорам NO, как к нитроглицерину, так и ко многим другим сосудорасширяющим препаратам, одно из наиболее актуальных направлений в медицинской химии – это поиск и изучение свойств новых NO-активных соединений, не вызывающих привыкания. Сегодня одним из самых перспективных классов доноров NO такого типа являются циклические орто-динитрозосодержащие системы – фуроксаны (рис. 1),^{27,40–42} для которых эксперименты *in vivo* показали в большинстве случаев требуемые фармакологические свойства и отсутствие нитратной толерантности. Кроме того, было доказано, что доноры NO на основе фуроксана реализуют свои функции именно по тиол-индуцируемому механизму.^{34,43}

В последнее время нами было синтезировано большое количество аннелированных фуроксанов, которые обнаружили значительную биологическую активность, связанную с образованием оксида азота(II).⁴⁴ В частности, синтезировано производное динитробензо-

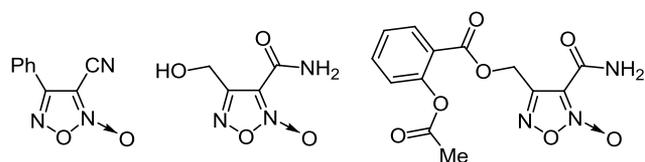


Рисунок 1. Важнейшие NO-активные фуроксаны.

фуроксана, NO-индукция которым при минимальной эффективной концентрации значительно превосходит показатели классического нитроглицерина.⁴² Производные динитробензофуроксана привлекают большое внимание еще и потому, что способны проявлять значительную антибактериальную и противогрибковую активность, что говорит о потенциальной возможности создания на их основе вышеупомянутых гибридных препаратов.^{43,45}

Если тиол-индуцируемые механизмы образования NO из моноциклических фуроксанов в литературе описаны достаточно подробно, для аннелированных с фуроксаном систем сведений такого рода крайне мало.^{12,46,47} Поэтому изучение тиол-индуцируемых механизмов донирования NO аннелированными фуроксанами представляет несомненный интерес – как теоретический, так и практический.

В фокусе настоящей работы сравнение механизмов донирования NO незамещенным фуроксаном (1) и соединениями 2 и 3, в которых оба атома углерода аннелированного гетероцикла являются мостиковыми (рис. 2).

Для гетероциклических систем 1–3 нами впервые предложены и изучены методами квантовой химии радикальные тиол-индуцируемые механизмы образования NO в сравнении в каждом случае с конкурирующими ионными механизмами. Для этого были проведены расчеты в рамках DFT с функционалом UB3LYP в базисе 6-311++G** с учетом эффектов сольватации по методу РСМ. Обоснование выбранной схемы и техника расчетов обсуждаются в экспериментальной части.

Незамещенный фуроксан (1) как донор NO. Первоначально мы проверили предложенный ранее для системы 1 ионный механизм реакции донирования NO (схема 1),^{12,38} проведя расчеты обоих возможных путей при $R = R^1 = R^2 = H$.

Следует отметить, что, по данным экспериментов, в качестве высокорекреационноспособных тиолов могут выступать как сложные по строению молекулы (например, SH-содержащие белки),^{38,48–51} так и простые циклические (ароматические) соединения, например тиофенол.²⁷ Последнее означает, что для атакующей частицы природа заместителя R не является решающим

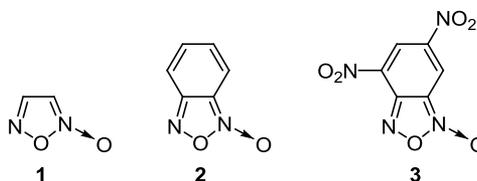


Рисунок 2. Фуроксан и его аннелированные производные.

* Отметим, что конкуренция ферментативного и тиол-зависимого механизмов для ряда доноров NO является дискуссионной.²¹

Схема 1

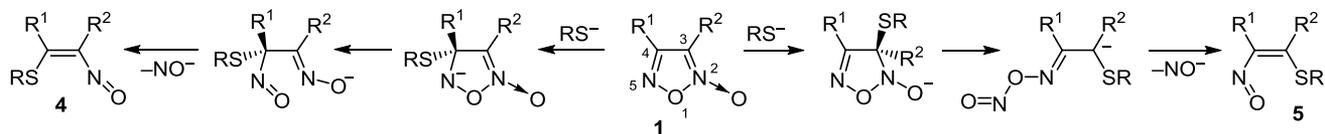
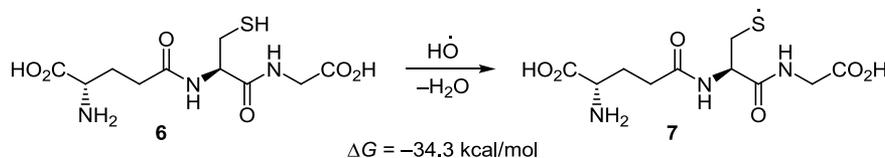


Схема 2



фактором при изучении механизма процесса, и, следовательно, для расчетов можно выбрать анион в виде HS⁻. Для фуросановых систем мы также приняли R¹ = R² = H.

Результаты расчетов показали, что распад фуросана до нитрозоалкенов и NO⁻ по схеме 1 приводит к значительному термодинамическому проигрышу (51.9 ккал/моль для алкена 4 и 53.1 ккал/моль для алкена 5)*. Таким образом, представленный на схеме 1 механизм невозможен по термодинамическим причинам.

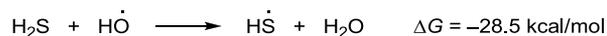
В то же время хорошо известно, что в крови человека содержится глутатион (6), являющийся биологически важным тиолом, непосредственно участвующим в донировании NO.⁴⁰ Изучение NO-активности производного фуросана и ацетилсалициловой кислоты (рис. 1) показало, что скорость его деструкции зависит от внешних агентов: например, образование NO значительно ускоряется в присутствии глутатиона (6) в крови. При концентрации глутатиона (6), равной 3 мМ,⁵² наблюдается максимальная эффективность деструкции (внутриклеточная концентрация соединения 6 варьируется в пределах 0.5–10.0 мМ⁵³).

Важно также отметить, что глутатион (6) выполняет внутри клетки антиоксидантную функцию и легко преобразуется в соответствующий короткоживущий глутатион-радикал (7).⁵⁴ Образование радикала 7 было показано экспериментально для атаки исходного глутатиона (6) гидроксил-радикалом HO[•] по схеме 2 или другими высокореакционными частицами.^{53,55} Известны также многие другие пути формирования глутатион-радикала.^{53,55–57}

Согласно проведенным расчетам, процесс на схеме 2 протекает как экзотермический и приводит к выигрышу

энергии в 34.3 ккал/моль. Итак, совокупность указанных факторов – экспериментальных и расчетных – означает, что внутриклеточная концентрация глутатион-радикала (7) должна быть значительной, что позволяет рассматривать именно его в качестве атакующей фуросаны частицы. В квантово-химических расчетах нами были изучены пути донирования NO (схемы 4–6), где в качестве простейшей модели атакующей частицы фигурирует не сложный глутатион-радикал (7), а сульфанил-радикал HS[•]. Отметим, что по расчетам его образование термодинамически вполне обосновано (схема 3).

Схема 3



Энергетический выигрыш реакции на схеме 3 равен 28.5 ккал/моль, что хорошо коррелирует с термодинамикой аналогичного процесса с участием глутатиона (6) (схема 2) и тем самым аргументирует выбор для дальнейших расчетов радикала HS[•] в качестве атакующей частицы.

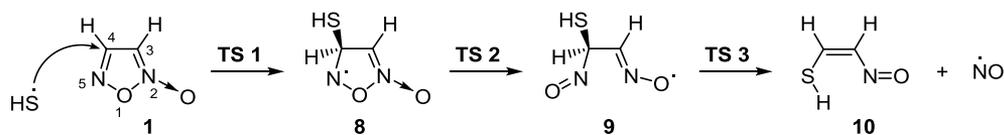
Мы рассмотрели три возможных направления атаки незамещенного фуросана (1) сульфанил-радикалом HS[•]. Оказалось, что атака по положению С-4 фуросана (1) представляет собой трехстадийный процесс (схема 4).

На первом этапе радикал HS[•] присоединяется к фуросану (1), образуя интермедиат 8, который затем трансформируется в ациклический интермедиат 9. Далее система 9 с низким активационным барьером распадается на NO и нитрозоалкен 10 с выигрышем в энергии 15.1 ккал/моль (рис. 3, табл. 1, геометрические характеристики всех стационарных точек минимальных энергетических путей (МЭП) размещены в файле сопроводительных материалов).

Второй возможный путь реакции начинается с радикальной атаки атома углерода С-3 фуросанового

* Здесь и далее приведены значения изменения свободной энергии Гиббса (относительно исходных реагентов) с учетом эффектов гидратации при температуре 37 °С (см. также экспериментальную часть).

Схема 4



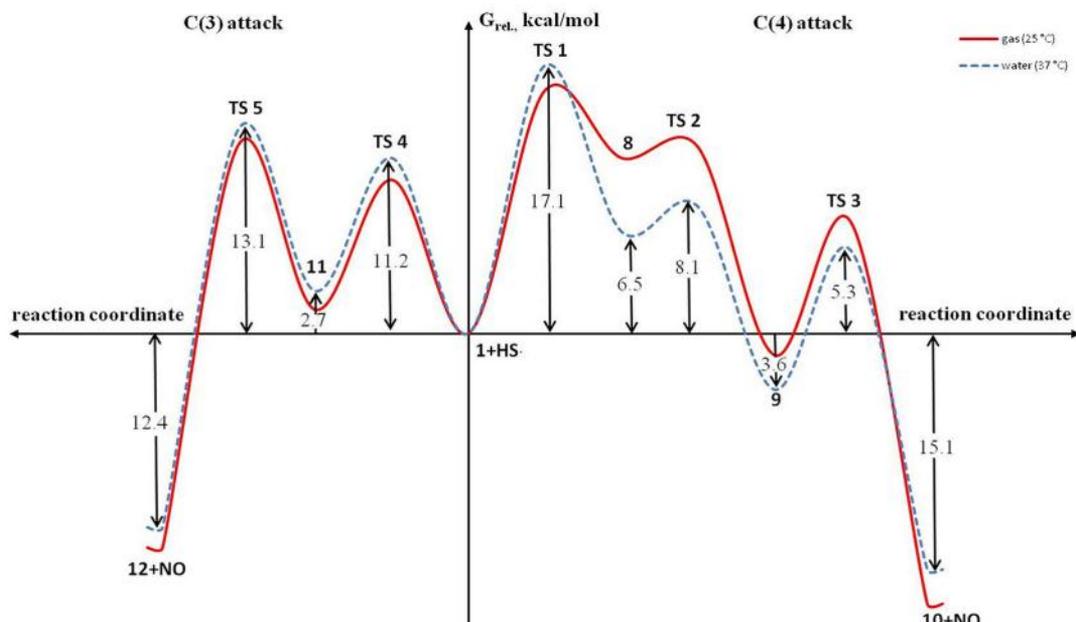
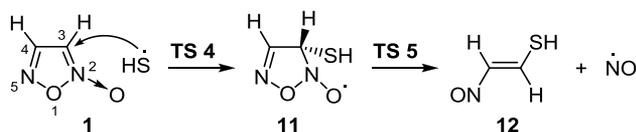


Рисунок 3. Изменение свободной энергии Гиббса (G_{rel}) вдоль МЭП тиол-индуцируемой радикальной деструкции фуруксана (**1**). За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

цикла (схема 5). Далее образующийся аддукт **11** одностадийно и низкобарьерно разрушается до замещенного нитрозоалкена **12** и NO (табл. 1).

Схема 5



Как следует из данных расчетов, второй (двустадийный) путь значительно более выгоден кинетически, чем первый, хотя и приводит к термодинамически менее стабильному, по сравнению с конформером **10**, *транс*-продукту **12**.

Интересно, что при переходе от незамещенного радикала HS^{\bullet} к замещенному MeS^{\bullet} относительная термодинамическая стабильность нитрозоалкенов в *гош*- и *транс*-формах сохраняется (рис. 4), и система **10a** более стабильна, чем система **12a** на 0.9 ккал/моль. Таким образом, изменение заместителя R в сульфанил-радикале RS^{\bullet} не приводит в условиях термодинамического контроля к изменению относительной стабильности продуктов.

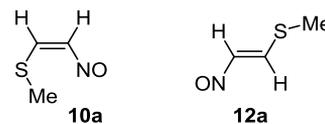


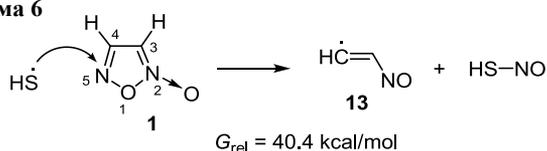
Рисунок 4. *Гош*- и *транс*-формы 1-(метилсульфанил)-2-нитрозоэтена.

Таблица 1. Полные (E), относительные (E_{rel}) энергии, относительные свободные энергии Гиббса (G_{rel}) и относительные полные энергии с учетом поправки ZPE ($E + ZPE$) $_{rel}$, рассчитанные для тиол-индуцируемой радикальной деструкции фуруксана (**1**)*

Система	Газовая фаза				Вода, 310 K			
	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{rel}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{rel}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль
1 + HS[•]	-736.07736	0	0		-736.09012	0	0	0
TS 1	-736.06761	6.1	6.8	15.5	-736.07836	7.4	8.6	17.1
8	-736.07603	0.8	2.4	11.2	-736.09531	-3.3	-2.7	6.5
TS 2	-736.07446	1.8	2.9	11.9	-736.09234	-1.4	-1.4	8.1
9	-736.09229	-9.4	-8.7	-1.4	-736.10832	-11.4	-11.6	-3.6
TS 3	-736.07698	0.2	-0.7	7.1	-736.09198	-1.2	-2.9	5.3
10 + NO	-736.10049	-14.5	-15.5	-17.3	-736.10954	-12.2	-13.3	-15.1
TS 4	-736.07668	0.4	1.4	9.8	-736.08749	1.7	2.5	11.2
11	-736.09202	-9.2	-7.3	1.5	-736.1034	-8.3	-6.5	2.7
TS 5	-736.07218	3.3	3.4	12.1	-736.08414	3.8	3.9	13.1
12 + NO	-736.09284	-9.7	-11.3	-13.7	-736.10386	-8.6	-10.1	-12.4
13 + HSNO					-736.01351	48.1	40.4	44.3

* Все структуры отвечают стационарным точкам на МЭП реакции фуруксана (**1**) с радикалом HS^{\bullet} . За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

Схема 6



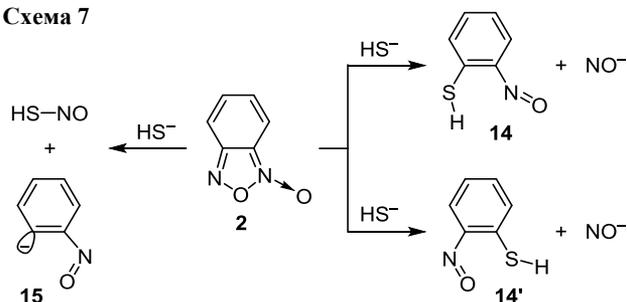
В то же время разница наибольших активационных барьеров обоих процессов на схемах 4 и 5 (5.9 ккал/моль) говорит о предпочтительности механизма образования NO именно по пути, предложенному на схеме 5 (рис. 3, табл. 1).

Однако существует еще одно возможное направление атаки сульфанил-радикалом – по атому азота N-5 фуруксана (1) (схема 6, табл. 1). При этом на конечной стадии реакции должны образоваться, в отличие от процессов на схемах 4 и 5, нитрозотиол и нитрозоалкеновый радикал **13**. Расчеты показали, что такой процесс нереализуем, поскольку является высокоэндо-термическим из-за нестабильности радикального продукта.

Бензофуруксан как донор NO. Необходимо отметить, что в литературе вообще отсутствуют какие-либо, даже предположительные, схемы деструкции аннелированных фуруксанов, однако известно, что образование NO из них происходит под действием тиолов.⁵⁸

На первоначальном этапе мы рассмотрели образование NO по схеме 7, где в качестве атакующей частицы выбран гидросульфид-анион.^{12,38} По расчетам,

Схема 7



для бензофуруксана (2), как и для незамещенного фуруксана (1), анионный механизм деструкции энергетически нереализуем: проигрыш в свободной энергии Гиббса при образовании конформера **14 орто**-нитрозотиофенола и нитроксил-аниона составляет 40.1 ккал/моль, конформера **14'** и нитроксил-аниона – 39.6 ккал/моль, а нитрозобензольного аниона **15** и нитрозотиола – 48.7 ккал/моль.

Для бензофуруксана (2), как и для фуруксана (1), мы рассмотрели возможные радикальные пути образования NO. По расчетам, атака сульфанил-радикалом атома C-3a является четырехстадийным процессом, лимитирующий барьер которого равен 20.2 ккал/моль (схема 8, рис. 5, табл. 2). В результате образуется нитрозотиофенол **14** (геометрические характеристики всех систем размещены в файле сопроводительных материалов).

Схема 8

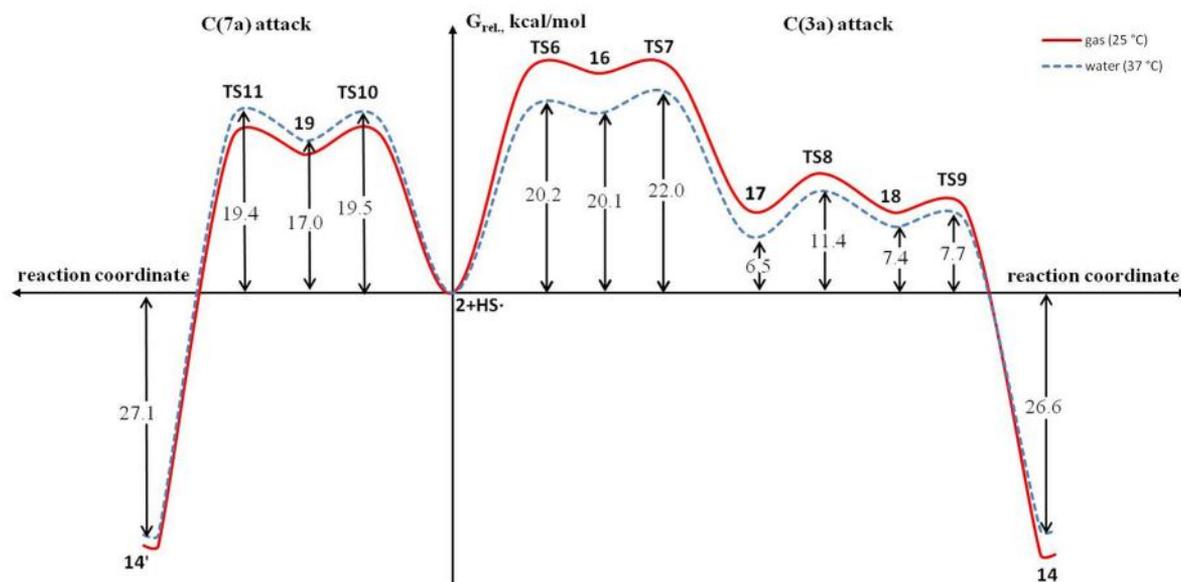
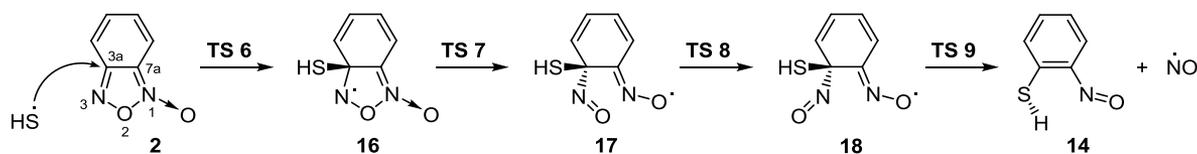


Рисунок 5. Изменение свободной энергии Гиббса (G_{rel}) вдоль МЭП тиол-индуцируемой радикальной деструкции бензофуруксана (2). За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

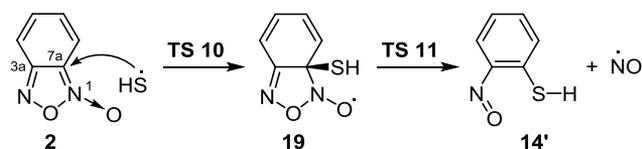
Таблица 2. Полные (E), относительные энергии (E_{rel}), относительные свободные энергии Гиббса (G_{rel}) и относительные полные энергии с учетом поправки ZPE ($E + ZPE$) $_{\text{rel}}$, рассчитанные для тиол-индуцируемой радикальной деструкции бензофуросана (**2**)*

Система	Газовая фаза				Вода, 310 К			
	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{\text{rel}}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{\text{rel}}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль
2 + HS \cdot	-889.74415	0.0	0.0	0.0	-889.75595	0.0	0.0	0.0
TS 6	-889.72018	15.0	15.5	24.6	-889.73798	11.3	10.6	20.2
16	-889.72057	14.8	15.7	24.6	-889.73856	10.9	10.6	20.1
TS 7	-889.71935	15.6	16.0	25.1	-889.73662	12.1	11.3	21.0
17	-889.74201	1.3	1.4	9.4	-889.75748	-1.0	-1.9	6.5
TS 8	-889.7343	6.2	5.6	13.4	-899.74935	4.1	2.8	11.4
18	-889.74166	1.6	1.5	9.0	-889.75514	0.5	-0.5	7.4
TS 9	-889.74147	1.7	1.1	9.1	-889.75423	1.4	-0.7	7.7
14 + NO	-889.78679	-26.8	-27.6	-29.3	-889.79387	-23.8	-24.7	-26.6
TS 10	-889.73106	8.2	8.9	17.9	-889.74105	9.4	10.0	19.5
19	-889.73598	5.1	6.3	15.5	-889.74588	6.3	7.5	17.0
TS 11	-889.72969	9.1	8.7	17.2	-889.73986	10.1	9.9	19.4
14'	-889.7853	-25.8	-26.7	-28.3	-889.79583	-25.0	-25.5	-27.1
20 + HSNO					-889.71151	27.9	25.2	20.8

* Все структуры отвечают стационарным точкам на МЭП реакции бензофуросана (**2**) с радикалом HS \cdot . За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

В то же время атака радикалом HS \cdot атома углерода C-7a бензофуросана (**2**) – это двустадийный процесс, причем с более низкими активационными барьерами (схема 9, рис. 5, табл. 2): например, образование σ -комплекса **19** требует затрат всего в 19.5 ккал/моль.

Схема 9



Разница в свободных энергиях Гиббса конформеров **14** и **14'** нитрозотиофенола составляет 0.5 ккал/моль, причем более стабильным является плоский конформер **14'**. Для того, чтобы оценить термодинамику образования систем **14** и **14'** с помощью замещенных сульфанил-радикалов RS \cdot , нами были дополнительно рассчитаны продукты атаки бензофуросана (**2**) радикалом MeS \cdot (рис. 6).

Из двух конформеров – **14a** и **14a'** – более стабилен (на 3.1 ккал/моль) конформер **14a** с нитрогруппой, повернутой к атому серы. Таким образом, относительная термодинамическая стабильность продуктов процесса не зависит от природы атакующей тиольной частицы (R = H или Alk). В условиях термодинамического контроля, несомненно, предпочтительна атака атома C-7a.

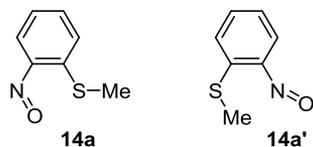
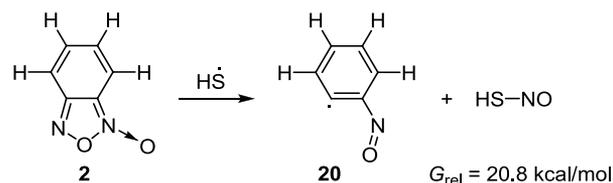


Рисунок 6. Конформеры 1-(метилсульфанил)-2-нитробензола.

Далее мы рассмотрели атаку радикала HS \cdot по атому азота N-3 бензофуросана (**2**). Оказалось, что этот процесс практически нереализуем, поскольку приводит к термодинамически неустойчивым продуктам (нитрозотифенильному радикалу **20** и нитрозотиолу), с проигрышем энергии 20.8 ккал/моль (схема 10, табл. 2).

Схема 10

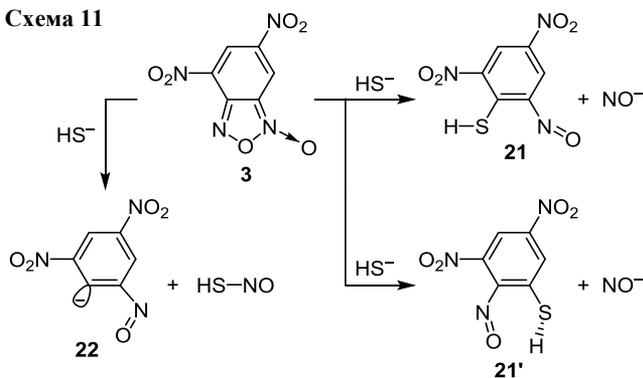


Итак, для бензофуросана (**2**), как и для фуросана (**1**), анионного пути деструкции не существует. В то же время атака сульфанил-радикалом бензофуросана (**2**) протекает с достаточно низкими активационными барьерами, хотя и несколько большими, чем в случае фуросана (**1**). Кинетически более выгодна атака сульфанил-радикалом по атому C-7a бензофуросана (**2**), приводящая в две стадии к образованию оксида азота(II).

4,6-Динитробензофуросан как донор NO. Достаточно разнообразную биологическую активность показали замещенные бензофуросаны, и в частности производные 4,6-динитробензофуросана (**3**).⁴³ Образование NO из динитробензофуросана также происходит с участием тиолов,⁴² хотя о механизме этих процессов, как и в случае бензофуросана (**2**), сведения отсутствуют.

На первом этапе мы рассмотрели анионный механизм атаки динитробензофуросана **3**, ранее предложенный для неаннелированных систем (схема 11).^{12,38}

Схема 11

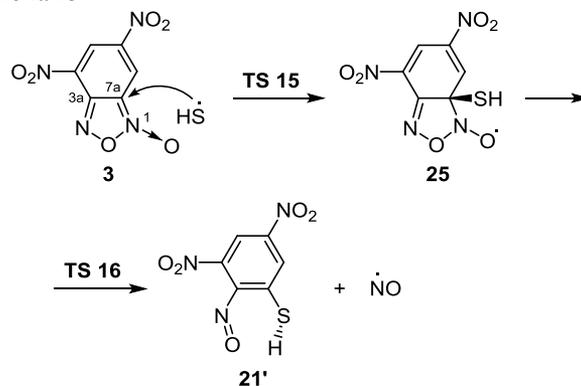


Как и в случаях фуросана (1) и бензофуросана (2), атака аниом HS^- динитробензофуросана 3 нереализуема по термодинамическим причинам. Образование конформера 21 и нитроксил-аниона требует затрат энергии 40.3 ккал/моль, конформера 21' и нитроксил-аниона – 38.8 ккал/моль, а нитрозофенильного аниона 22 и нитрозотиола – 23.0 ккал/моль.

Далее мы исследовали атаку радикалом HS^\bullet атома углерода C-3a динитробензофуросана 3 (схема 12, рис. 7, табл. 3).

По расчетам, атака по атому углерода C-3a происходит как трехстадийный процесс, на первом этапе которого с барьером 20.7 ккал/моль образуется бициклический σ -комплекс 23. Далее происходит раскрытие

Схема 13



фуросанового цикла и образуется моноциклический интермедиат 24, из которого в итоге и происходит отщепление оксида азота(II) с образованием нитрозо-тиофенола 21. Образование продукта 21 и NO приводит к выигрышу в 26.5 ккал/моль (геометрические характеристики всех систем размещены в файле сопроводительных материалов).

В свою очередь, атака сульфанильным радикалом по атому C-7a динитробензофуросана 3 является двустадийным процессом (схема 13), лимитирующий барьер которого равен всего 20.8 ккал/моль (рис. 7, табл. 3).

Атака по атому C-7a приводит к образованию бициклического σ -комплекса 25, в котором, как и в случае бензофуросана (2), раскрытие цикла влечет за

Схема 12

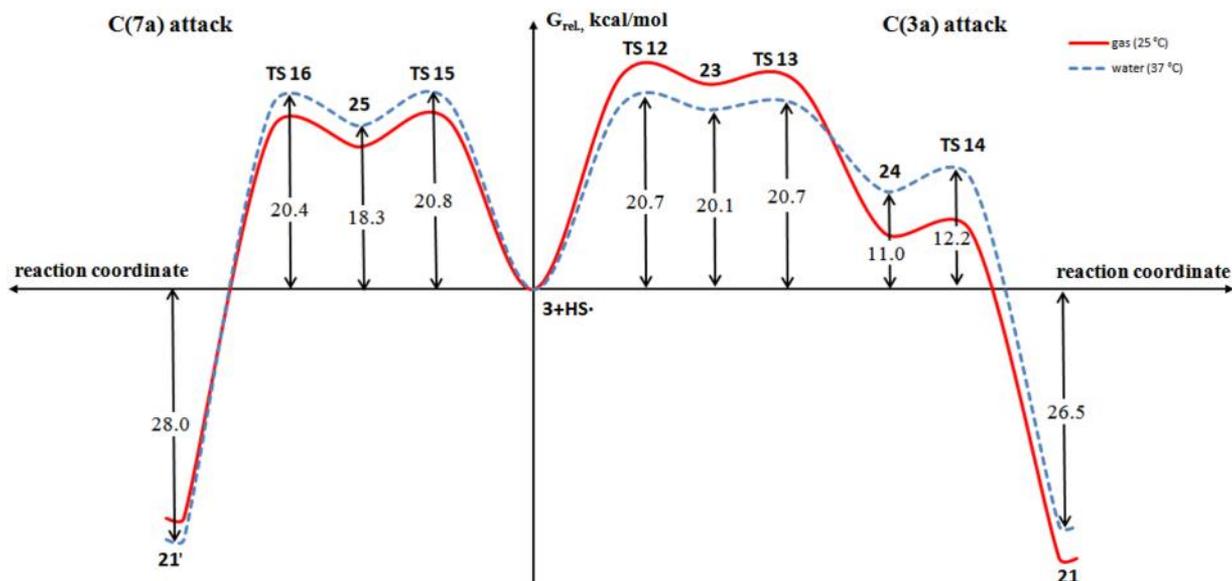
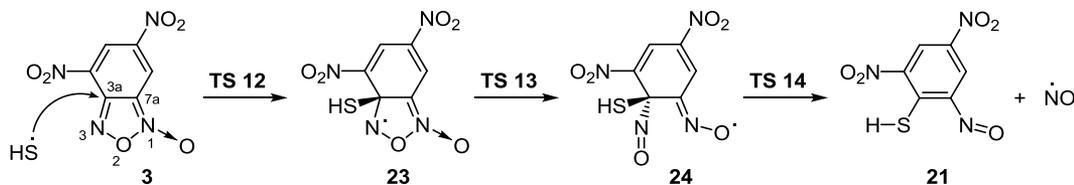


Рисунок 7. Изменение свободной энергии Гиббса (G_{rel}) вдоль МЭП тиол-индуцируемой радикальной деструкции 4,6-динитробензофуросана (3). За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

Таблица 3. Полные (E), относительные (E_{rel}) энергии, относительные свободные энергии Гиббса (G_{rel}) и относительные полные энергии с учетом поправки ZPE ($E + ZPE$) $_{\text{rel}}$, рассчитанные для тиол-индуцируемой радикальной деструкции 4,6-динитробензофуросана (**3**)*

Система	Газовая фаза				Вода, 310 К			
	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{\text{rel}}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль	E , а. е.	E_{rel} , ккал/моль	$(E + ZPE)_{\text{rel}}$, ккал/моль	G_{rel} , ккал/моль
3 + HS [•]	-1298.84643	0.0	0.0	0.0	-1298.8676	0.0	0.0	0.0
TS 12	-1298.82575	13.5	13.9	23.9	-1298.85066	10.6	10.5	20.7
23	-1298.82815	11.5	12.9	22.9	-1298.8527	9.4	9.8	20.1
TS 13	-1298.82766	11.8	12.9	23.2	-1298.85109	10.4	10.3	20.7
24	-1298.85069	-2.7	-2.4	6.3	-1298.86459	1.9	2.1	11.0
TS 14	-1298.85005	-2.3	-2.6	6.3	-1298.86390	2.3	2.3	12.2
21 + NO	-1298.89100	-28.0	-28.8	-30.1	-1298.90569	-23.9	-24.9	-26.5
TS 15	-1298.83239	8.8	9.6	19.1	-1298.85017	10.9	11.7	20.8
25	-1298.83843	5.0	6.5	15.9	-1298.85642	7.0	8.4	18.3
TS 16	-1298.83377	7.9	8.3	17.8	-1298.85049	10.7	10.9	20.4
21' + NO	-1298.88303	-23.0	-23.9	-25.6	-1298.90443	-23.1	-24.9	-28.0
26 + HSNO					-1298.81975	30.0	27.8	23.0

* Все структуры отвечают стационарным точкам на МЭП реакции 4,6-динитробензофуросана (**3**) с радикалом **HS**[•]. За начало отсчета принята сумма полных энергий бесконечно разделенных реагентов.

собой образование продукта **21'** и **NO**. Причем, в физиологических условиях (в воде при 37 °С) *гош*-нитрозотиофенол **21'** термодинамически более стабилен, чем плоский тиофенол **21**.

Для уточнения относительной термодинамической стабильности конформеров **21** и **21'** нами были рассчитаны геометрические и энергетические характеристики их аналогов – продуктов атаки замещенным радикалом **MeS**[•] – конформеров **21a** и **21a'** (рис. 8). В соответствии с расчетами, система **21a'** термодинамически на 2.5 ккал/моль более стабильна, чем система **21a**. Конформации систем **21a** и **21a'** немного отличаются от конформаций систем **21** и **21'** из-за большего размера метильной группы по сравнению с протоном. Так, в молекуле продукта атаки радикалом **MeS**[•] по атому С-3а – конформера **21a** – метильная группа лежит выше плоскости кольца, а в молекуле продукта атаки по атому С-7а – конформера **21a'** – метильная группа отвернута от нитрогруппы, но лежит в плоскости π -системы. Таким образом, нами показано, что атака сульфанил-радикалами **RS**[•] по атому С-7а 4,6-динитробензофуросана (**3**) приводит к более стабильным продуктам, как и в случае бензофуросана (**2**), и не зависит от природы заместителя R.

Мы рассмотрели также атаку радикалом **HS**[•] по атому N-3 4,6-динитробензофуросана (**3**). Как и в случае бензофуросана (**2**), подобный процесс нереализуем, так как приводит к термодинамически неста-

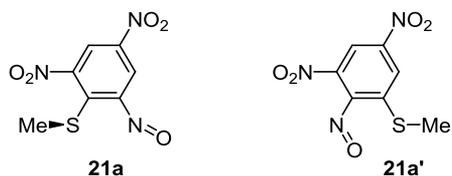
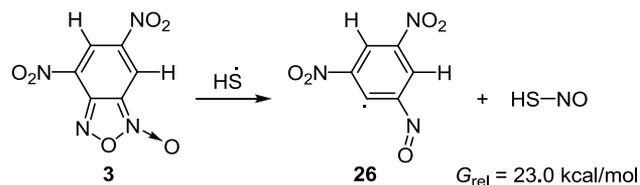


Рисунок 8. Конформеры 2-(метилсульфанил)-1,5-динитро-3-нитрозобензола.

бильным продуктам (нитрозофенильному радикалу **26** и нитрозотиолу) со значительным проигрышем в энергии (23.0 ккал/моль, схема 14, табл. 3).

Схема 14



Следовательно, образование оксида азота(II) из 4,6-динитробензофуросана (**3**) является результатом атаки сульфанил-радикалом по атому С-7а. Из этого следует, что введение в бензольный цикл бензофуросана (**2**) акцепторных заместителей практически не влияет на барьеры деструкции фуросановой части и на последовательность отдельных стадий процесса.

Таким образом, на основании экспериментальных исследований и квантово-химических расчетов предложен термодинамически и кинетически обоснованный радикальный механизм тиол-индуцируемого образования оксида азота(II) (**NO**) из фуросанов – незамещенного и аннелированного с бензольной и динитробензольной системами. Расчеты минимально-энергетических путей обнаружили единый предпочтительный механизм образования **NO** в результате атаки одного и того же положения С-7а для аннелированных систем и структурно аналогичного положения С-3 для неаннелированного фуросана, независимо от природы заместителя в радикале **RS**[•] и с образованием интермедиата в виде σ -комплекса. Далее во всех случаях этот интермедиат в одну стадию переходит в продукты реакции, образуя **NO**.

Расчитанные активационные характеристики реакций согласуются с данными биохимических исследований.⁴⁴ При этом низкий активационный барьер образования NO в атаке фуросана сульфанил-радикалом хотя и возрастает в результате аннелирования с бензолным и динитробензолным циклами, тем не менее по-прежнему достаточно мал и вполне приемлем для практического использования изученных фуросановых систем.

Экспериментальная часть

Расчеты в рамках DFT проведены в трипл-зета базисе 6-311++G** с использованием функционала UB3LYP для открытых электронных оболочек.^{59–61} Ранее трипл-зета базис хорошо зарекомендовал себя в воспроизведении колебательных частот, геометрии и минимальных энергетических путей реакций с участием производных фуросанов.⁶²

Полная оптимизация геометрии молекулярных структур, отвечающих стационарным точкам на поверхности потенциальной энергии, проведена до значения градиента 10^{-7} хартри/бор по программному комплексу Gaussian 03⁶³ на кластере Silver НИИ физической и органической химии ЮФУ.

Природа стационарных точек установлена на основании расчета частот нормальных колебаний (матрицы Гессе).⁶⁴ Минимальные энергетические пути реакций были построены при помощи градиентного спуска из переходных состояний в прямом и обратном направлении переходных векторов. Для поиска переходных состояний использованы методы линейного и квадратичного синхронных транзитов.^{65–66}

Для учета сольватационных эффектов использована модель поляризуемого континуума PCM⁶⁷ при температуре 37 °C.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект 14-13-00103).

Список литературы

- Hughes, M. N. *Methods Enzymol.* **2008**, 436, 3.
- Toledo Jr., H. C.; Augusto, O. *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, 25, 975.
- Mateo, A. O.; De Artiñano, M. A. A. *Pharmacol. Res.* **2000**, 42, 421.
- Cohen, R. A.; Weisbord, R. M.; Gericke, M.; Yaghoubi, M.; Bierl, C.; Bolotina, V. M. *Circ. Res.* **1999**, 84, 210.
- Метельская, В. А.; Гуманова, Н. Г. *Лабораторная медицина* **2005**, 7, 19.
- Miller, M. R.; Megson, I. L. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, 151, 305.
- Stamler, J. S.; Singel, D. J.; Loscalzo, J. *Science* **1992**, 258, 1898.
- Schönafinger, K. *Farmaco* **1999**, 54, 316.
- Wang, P. G.; Cai, T. B.; Taniguchi, N. *Nitric Oxide Donors: for Pharmaceutical and Biological Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, 2005, p. 407.
- Граник, В. Г.; Григорьев, Н. Б. *Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств*; Вузовская книга; Москва, 2004.
- Ignarro, L. J. *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*; Academic Press: San Diego, 2000, p. 1017.

- Граник, В. Г.; Рябова, С. Ю.; Григорьев, Н. Б. *Успехи химии* **1997**, 68, 792.
- Rosselli, M.; Keller, P. J.; Dubey, R. K. *Hum. Reprod. Update* **1998**, 4, 3.
- Sikka, S. C. *Curr. Med. Chem.* **2001**, 8, 851.
- Choudhary, R.; Chawala, V. K.; Soni, N. D.; Kumar, J.; Vyas, R. K. *Pak. J. Physiol.* **2010**, 6, 54.
- Beckman, J. S.; Conger, K. *Methods* **1995**, 7, 35.
- Pacher, P.; Beckman, J. S.; Liaudet, L. *Physiol. Rev.* **2007**, 87, 315.
- Jourd'heuil, D.; Jourd'heuil, F. L.; Kutchukian, P. S.; Musah, R. A.; Wink, D. A.; Grisham, M. B. *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 28799.
- Lee, N. P.; Cheng, C. Y. *Biol. Reprod.* **2004**, 70, 267.
- Baker, M. A.; Aitken, R. J. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **2005**, 3, 1.
- Cornwell, T. L.; Arnold, E.; Boerth, N. J.; Lincoln, T. M. *Am. J. Physiol.* **1994**, 267, C1405.
- Zhang, H.; Zheng, R. L. *Free Radical Res.* **1996**, 25, 347.
- Doshi, S. B.; Khullar, K.; Sharma, R. K.; Agarwal, A. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **2012**, 10, 109.
- Makker, K.; Agarwal, A.; Sharma, R. *Indian J. Med. Res.* **2009**, 129, 357.
- Koppenol, W. H.; Moreno, J. J.; Pryor, W. A.; Ischiropoulos, H.; Beckman, J. S. *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, 5, 834.
- Di Stilo, A.; Fruttero, R.; Boschi, D.; Gasco, A. M.; Sorba, G.; Gasco, A.; Orsetti, M. *Med. Chem. Res.* **1993**, 3, 554.
- Medana, C.; Ermondi, G.; Fruttero, R.; Di Stilo, A.; Ferretti, C.; Gasco, A. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 4412.
- Vanin, A. F.; Serezhenkov, V. A.; Mikoyan, V. D.; Genkin, M. V. *Nitric Oxide: Biol. Chem.* **1998**, 2, 224.
- Kostka, P. *Anal. Chem.* **1995**, 67, 411.
- Bryan, N. S.; Grisham, M. B. *Free Radical Biol. Med.* **2007**, 43, 645.
- Tsikas, D. *Free Radical Res.* **2005**, 39, 797.
- McCarthy, H. O.; Coulter, J. A.; Robson, T.; Hirst, D. G. *J. Pharm. Pharmacol.* **2008**, 60, 999.
- Low, S. Y. *Mol. Aspects Med.* **2005**, 26, 97.
- Kerwin, J. F.; Lancaster, J. R.; Feldman, P. L. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 4343.
- Chiou, C. C. Y.; Liu, S. X. L.; Li, N. P.; Chiang, C. H.; Varma, R. S. *J. Ocular Pharmacol. Ther.* **1995**, 11, 1.
- Ignarro, L. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 7816.
- Chen, Z.; Zhang, J.; Stamler, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, 99, 8306.
- Feelish, M.; Shonafinger, K.; Noak, E. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, 44, 1149.
- Granic, V. G.; Kaminka, M. E.; Grigor'ev, N. B.; Severina, I. S.; Kalinkina, M. A.; Makarov, V. A.; Levina, V. I. *Pharm. Chem. J.* **2002**, 36, 523.
- Gasco, A.; Fruttero, R.; Sorba, G.; Di Stilo, A.; Calvino, R. *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76(5), 973.
- Hecker, M.; Vorhoff, W.; Bara, A. T.; Mordvintcev, P. I.; Busse, R. *N-S. Arch. Pharmacol.* **1995**, 351, 426.
- Bohn, H.; Brendel, J.; Martorano, P.; Shonafinger, K. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, 114, 1605.
- Chugunova, E.; Boga, C.; Sazykin, I.; Cino, S.; Michelette, G.; Mazzanti, A.; Sazykina, M.; Buriolov, A.; Khmelevtsova, L.; Kostina, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 93, 349.
- Prazdnova, E. V.; Kharchenko, E. Y.; Chistyakov, V. A.; Semenyuk, Y. P.; Morozov, P. G.; Kurbatov, S. V.; Chmyhalo, V. K. *Biol. Med. (Aligarh)* **2015**, 7(3), BM-123-15.
- Salomão, D. J.; Palace-Berl, F.; Masunari, A.; Cechinel, C. A.; Ishii, M.; Pasqualoto, K. F. M.; Tavares, L. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 5031.

46. Severina, I. S.; Ryaonosova, I. K.; Volodarsky, L. B.; Mazhukin, D. C.; Tikhonov, A. Yu.; Shvarts, G. Ya.; Granik, V. G.; Grigoriev, D. A.; Grigoriev, N. B. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **1993**, 30, 357.
47. Uterbergerov, D. I.; Khramtsov, V. V.; Vlasenko, L. P.; Markel, A. L.; Mazhukin, D. G.; Tikhonov, A. Ya.; Volodarsky, L. B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, 214, 1023.
48. Ванин, А. Ф. *Биофизика* **1993**, 38, 751.
49. Ванин, А. Ф.; Маленкова, И. В.; Мордвинцев, П. И.; Мюльш, А. *Биохимия* **1993**, 58, 1094.
50. Myers, P. R.; Minor, R. L.; Guerra, R.; Bates, J. N.; Harrison, D. G. *Nature* **1990**, 345, 161.
51. Butler, A. R.; Askew, S. C.; Flitney, F. W.; Megson, I. *Portland Press Proc.* **1994**, 8, 259.
52. Turnbull, C. M.; Cena, C.; Fruttera, R.; Gasco, A.; Rossi, A. G.; Megson, I. L. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, 148, 517.
53. Lushchak, V. I. *J. Amino Acids* **2012**, 26.
54. Roy, B.; d'Hardemare, A. M.; Fontecave, M. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7019.
55. Starke, D. W.; Chock, P. B.; Mieyal, J. J. *J. Bio. Chem.* **2003**, 278(17), 14607.
56. Wood, P. D.; Mutus, B.; Redmond, R. W. *Photochem. Photobiol.* **1996**, 64(3), 518.
57. Kletskii, M. E.; Lisovin, A. V.; Burov, O. N.; Kurbatov, S. V. *Comput. Theor. Chem.* **2014**.
58. Cerecetto, H.; Gonzalez, M. *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, 10, 265.
59. Becke, A. D. *Phys. Rev. A* **1988**, 38, 3098.
60. Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.
61. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, 37, 785.
62. Stevens, J.; Schweizer, M.; Rauhut, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7326.
63. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A.; Vreven, Jr. T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, J. D.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*; Gaussian, Inc.: Wallingford, 2004.
64. Schlegel, H. B. *Theor. Chim. Acta* **1984**, 66, 333.
65. Peng, C.; Schlegel, H. B. *Isr. J. Chem.* **1993**, 33, 449.
66. Peng, C.; Ayala, P. Y.; Schlegel, H. B.; Frisch, M. J. *J. Comput. Chem.* **1996**, 17, 49.
67. Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 2999.