

Н. Б. Григорьев, Г. В. Чечекин, А. П. Арзамазцев,
В. И. Левина, В. Г. Граник

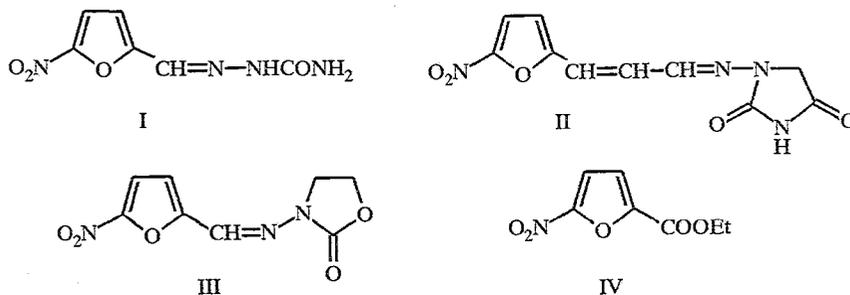
ГЕНЕРАЦИЯ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НИТРОФУРАНОВОГО РЯДА

Методом полярографического детектирования нитропруссид-аниона, образующегося при химическом восстановлении ряда производных нитрофурана, получено доказательство генерации оксида азота в этой реакции. Высказано предположение о механизме образования пероксинитрит-аниона, ответственного за биологическую активность нитрофурановых препаратов в ходе их восстановления.

Среди производных нитрофурана обнаружена большая группа эффективных антибактериальных препаратов [1], определяющую роль в биологической активности которых играет восстановительная трансформация нитрогрупп с участием клеточных ферментов. При этом гипотетический путь распада нитрофуранов под действием аэробных микробов предусматривает на некоторых стадиях раскрытие фуранового кольца с образованием ациклических соединений [2].

В пользу восстановления нитрогруппы, как важного процесса в бактерицидном действии соединений нитрофуранового ряда, свидетельствует наличие определенной корреляции между антибактериальной активностью и энергией низшей вакантной орбитали и тесно связанным с ней потенциалом полярографического восстановления ($E_{1/2}$) [3]. Весьма важная информация о свойствах рассматриваемых соединений получена в работах [4, 5], в которых показано, что в ходе их восстановления генерируется оксид азота. Особое значение это наблюдение приобретает в связи с открытием эндогенного оксида азота, выделяемого различными компонентами иммунной системы, включая макрофаги, из *L*-аргинина под воздействием NO-синтазы и играющего важнейшую роль в качестве нейромедиатора [6, 7].

Целью настоящей работы явилось исследование образования оксида азота при восстановлении лекарственных препаратов фурацилин (I), фурагин (II), фуразолидон (III), а также 2- β -этоксикарбонил-5-нитрофурана (IV).



В качестве восстановителя применяли ферроцианид калия и аскорбиновую кислоту. Детектирование NO проводили полярографически по пику электровосстановления образующегося в результате реакции нитропруссид-аниона на дифференциально-импульсных полярограммах по методу, предложенному нами ранее [8].

Процесс электрохимического восстановления исследованных соединений на ртути характеризуется последовательным восстановлением нитрогруппы в области потенциалов $-0,1...-0,6$ В (насыщ. к. э.) и азометинового фрагмента в положении 2 в области потенциалов $-0,8...-1,0$ В (насыщ. к. э.), в зависимости от рН раствора. Механизм восстановления рассмотрен в работе [9] и не является предметом настоящего исследования.

При полярографировании прогретых при 60°C в течение 15 мин растворов исследуемых соединений в концентрации 10^{-4} и $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л с 10^{-3} моль/л $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ при рН 5 на дифференциально-импульсных полярограммах появляется максимум при $E = -0,35$ В, соответствующий одноэлектронному процессу электровосстановления образующегося нитропруссид-иона (при добавлении в полярографируемый раствор стандартного раствора нитропруссидата натрия в концентрации $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л высота максимума возрастает). Вторая волна восстановления нитропруссид-иона не наблюдается, вероятно, вследствие торможения процесса разряда сильно адсорбирующимися исходными веществами или продуктами их восстановления. С увеличением концентрации исходных нитрофуранов высота пика при $E = -0,35$ В возрастает при уменьшении максимумов, соответствующих непосредственно стадийному процессу электровосстановления исходных соединений. Это является дополнительным подтверждением идентичности получаемого максимума первому пику электровосстановления нитропруссид-иона и указывает на деструктивный характер химического восстановления нитрогруппы.

Величины $E_{1/2}$ первой волны восстановления исследованных соединений в буферном растворе при рН 3,7 [9] и выходов (%) нитропруссидата (средние из трех опытов) при электровосстановлении фероцианидом калия (прогрев при рН 3):

2-β-Этоксикарбонил-5-нитрофуран	0,12*	8,5
Фурагин	0,07	7,2
Фуразолидон	0,12	7,1
Фурацилин	0,10	5,4

* Данные настоящей работы.

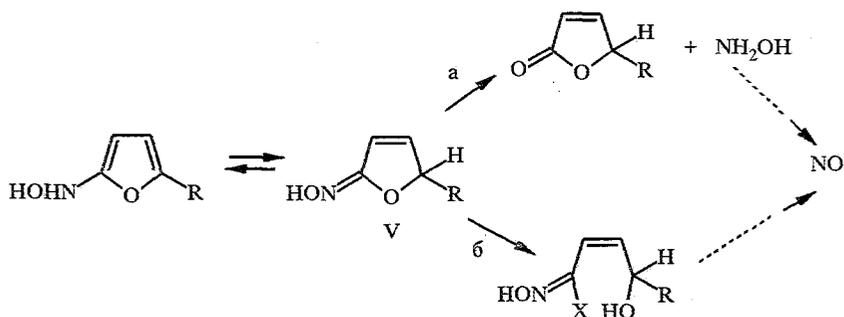
Образование нитропруссид-иона наблюдалось нами на дифференциально-импульсных полярограммах также при химическом восстановлении данных нитрофурановых производных аскорбиновой кислотой. В этом случае вначале соединения выдерживали в течение 15 мин при рН 6,5 (оптимальный режим восстановления в аскорбиновой кислоте), а затем уже добавляли фероцианид для связывания образующегося нитрит-иона*.

Косвенным доказательством образования оксида азота при восстановлении исследуемых нитрофуранов является появление волны электровосстановления нитрит-иона при $E_{1/2} = -1,2$ В в подкисленных растворах. Одновременно с этим уменьшается анодная волна окисления аскорбиновой кислоты с $E_{1/2} = +0,02$ В. Полученные данные позволяют сделать вывод о генерации оксида азота при химическом восстановлении исследованных антибактериальных препаратов в согласии с результатами работ [4, 5].

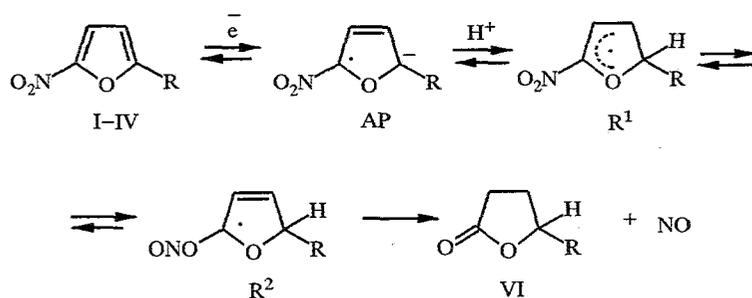
В литературе не приводится объяснений, какова же схема образования оксида азота при восстановлении производных нитрофурана. Возможность выделения NO из оксимного интермедиата типа V по направлениям а и б,

* Нитрит-ион образуется как вторичный продукт при взаимодействии образующегося оксида азота с растворенным в прогреваемом растворе кислородом воздуха по реакциям: $\text{NO} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2$, $\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HNO}_2 + \text{HNO}_3$.

по-видимому, не осуществляется, так как, согласно нашим предшествующим работам [10], для трансформации оксимсодержащих соединений в оксид азота требуется окисление.



В литературе имеются данные о том, что радикалы, образующиеся из 5-нитрофуранов, способны претерпевать нитро→нитрозоэфирную перегруппировку, которая в конечном итоге может приводить к образованию NO [11]. Исходя из этих данных процессы, протекающие при восстановлении нитрофуранов I—IV, можно представить следующим образом:



Согласно этой схеме, при восстановлении соединений I—IV образуется анион-радикал, который протонируется до радикала R¹. Последний далее претерпевает перегруппировку в радикал R², который трансформируется в ненасыщенный лактон VI и оксид азота. Данная схема представляется достаточно правдоподобной, хотя доказательство ее должно предусматривать выделение и идентификацию интермедиата VI.

В заключение хотелось бы высказать некоторые соображения о возможном механизме антибактериального и цитотоксического действия нитрофуранов, связанного с высвобождением оксида азота при восстановлении. В настоящее время считается, что основное цитотоксическое действие оказывает не оксид азота, а пероксинитрит-анион (ONOO⁻), продуцируемый различными клетками иммунной системы (макрофагами, клетками Купфера и нейтрофилами). Пероксинитрит является продуктом взаимодействия двух свободно-радикальных частиц — оксида азота и супероксид-аниона. В ряде работ [12—14] было доказано, что антибактериальное действие пероксинитрит-аниона обусловлено ингибированием цепи электронного переноса в митохондриях, связанного с процессами клеточного дыхания микроорганизмов. Пероксинитрит-анион играет также ключевую роль в нарушении их энергетического метаболизма.

Если учесть, что первой стадией восстановления нитрофуранов (как химического, так и электрохимического и биологического) является образование анион-радикала [НФ]⁻, то в аэробной среде при взаимодействии образующегося анион-радикала с кислородом возможно образование супероксид-иона:

10. Койков Л. Н., Алексеева Н. В., Григорьев Н. Б., Левина В. И., Турчин К. Ф., Филиппенко Т. Я., Машковский М. Д., Каминка М. Э., Никитин В. Б., Енгалычева Г. Н., Калинин М. А., Северина И. С., Ряпосова И. К., Граник В. Г. // Хим.-фарм. журн. — 1997. — № 5. — С. 26.
11. Cogolli P., Testaferri L., Tiecco M., Tingoli M. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. — 1979. — N 18. — P. 800.
12. Denicola A., Rubbo H., Rodriguez D., Radi R. // Arch. Biochem. Biophys. — 1993. — Vol. 304. — P. 279.
13. Radi R., Rodriguez M., Castro L., Telleri R. // Arch. Biochem. Biophys. — 1994. — Vol. 308. — P. 89.
14. Rubbo H., Denicola A., Radi R. // Arch. Biochem. Biophys. — 1994. — Vol. 308. — P. 96.
15. Peterson F. J. // J. Biol. Chem. — 1979. — Vol. 254. — P. 4009.
16. Dershwitz M., Novak R. F. // J. Biol. Chem. — 1982. — Vol. 257. — P. 175.

ГНЦ РФ НИОПИК, Москва 103787, Россия

Поступило в редакцию 15.05.98