

РОЛЬ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ ОКСИДА АЗОТА И СЕРОВОДОРОДА В РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОК

УДК 577.3.043.577.35'3.053.013

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛ-СОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ КАК ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНАЯ, “РАБОЧАЯ” ФОРМА СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ (ОБЗОР)

© 2023 г. А. Ф. Ванин*

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук,
Москва, 119991 Россия

*e-mail: vanin@polymer.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 31.03.2023 г.

После доработки 22.05.2023 г.

Принята к публикации 22.05.2023 г.

Суммированы экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами можно рассматривать в качестве эндогенной “рабочей формы” системы оксида азота (NO), функционирующей в живых организмах. Эти комплексы могут служить донорами как молекул NO, ответственных за позитивное регуляторное действие системы оксида азота на различные физиологические и биохимические процессы в организме животных и человека, так и катионов нитрозония (NO^+), ответственных в основном за проявление негативной цитотоксической активности этой системы. Особое внимание уделено способности динитрозильных комплексов железа, особенно в комбинации с производными дитиокарбамата, подавлять коронавирусную инфекцию SARS-CoV-2 у сирийских хомячков.

Ключевые слова: оксид азота, динитрозильные комплексы железа, катионы нитрозония, S-нитрозотиос

DOI: 10.31857/S0026898423060204, **EDN:** QLHGFC

В настоящее время установлено, что в клетках всех представителей живого мира — человека и животных, растений и микроорганизмов, непрерывно ферментативным путем продуцируется простейшее химическое соединение — монооксид азота, или оксид азота (NO), который функционирует и как положительный, и как отрицательный регулятор практически всех метаболических процессов [1–3]. Положительное действие оксида азота на эти процессы проявляется в активации метаболических процессов, тогда как негативное приводит к их подавлению и развитию цитотоксических эффектов.

Ясно, что время жизни NO в живых организмах как активной свободно-радикальной молекулы в свободном (несвязанном) состоянии не может быть достаточно длительным для реализации как паракринного, так и аутокринного действия NO. Поэтому Природа для реализации такого действия “прибегает” к включению NO в такие его эндогенные соединения, как S-нитрозотиолы (RS-NO) и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с низко- и высокомолекулярными (белки) тиол-содержащими лигандами, обеспечивающими перенос NO на значительные расстояния до соответствующих мишеней его биологического действия с последующим высвобождением,

необходимым для взаимодействия с этими мишенями [4–9].

Как показано в публикациях нашей группы, в организме RS-NO и ДНКЖ могут взаимно превращаться, что делает их существование взаимозависимым — ДНКЖ могут превращаться в RS-NO, тогда как RS-NO в присутствии двухвалентного железа переходит обратно в ДНКЖ. Тем не менее, решающая роль в системе ДНКЖ–RS-NO как компонента, определяющего появление самой этой системы, отводится ДНКЖ [6, 8].

Результаты последних исследований ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами показывают, что в живых организмах эти комплексы могут выступать не только в качестве доноров нейтральных молекул NO, но и катионов нитрозония (NO^+) [10–12]. Именно эта способность ДНКЖ может быть ответственной за цитотоксическую активность этих комплексов. Появление этих катионов в составе ДНКЖ обеспечивается, по нашему мнению, механизмом образования этих комплексов, важнейшей стадией которого является реакция диспропорционирования молекул NO, попарно связывающихся с ионом двухвалентного железа [13]. В результате этой реакции молекулы NO превращаются в анион нитроксила (NO^-) и катион нитрозония (схема 1). Анионы нитроксила,

связываясь с протонами, превращаются в нейтральные молекулы нитроксила (HNO), выходящие из лигандного окружения железа. В освободившееся место включается другая (третья) молекула NO, что приводит к образованию моноядерной формы ДНКЖ (М-ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами, описываемой в соответствии со схемой 1 резонансной структурой — $[(RS^-)_2Fe^{2+}(NO)(NO^+)]$. Что касается сохранения в комплексе катиона нитрозония, который, связываясь с анионом гид-

роксидила, мог бы превратиться в азотистую кислоту, выходящую из комплекса, то этого не происходит из-за переноса на катион нитрозония, как сильного электрофила, электронной плотности с нуклеофильных компонентов ДНКЖ — атомов серы тиол-содержащих лигандов. Этот перенос нейтрализует положительный заряд на катионе нитрозония, предотвращая тем самым его взаимодействие с анионом гидроксидила и обеспечивая сохранение ДНКЖ.

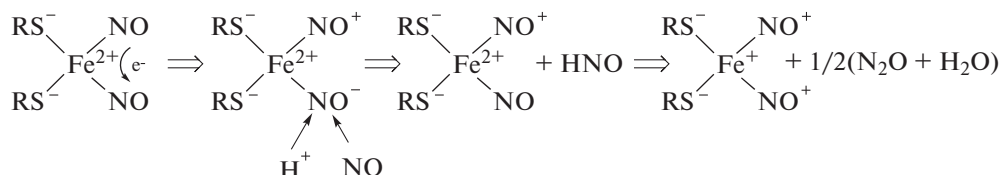


Схема 1. Механизм образования моноядерной формы ДНКЖ в реакции NO с Fe^{2+} и тиол-содержащими соединениями (RS^-) [12].

Реакция диспропорционирования молекул NO, т. е. одноэлектронного взаимного окисления-восстановления этих молекул, обеспечивает превращение исходного диамагнитного железо-динитрозильного $[Fe^{2+}(NO)_2]$ фрагмента (ЖДНФ) с четным числом электронов в парамагнитное состояние с $S = 1/2$, характеризующееся сигналом ЭПР с $g_{cp} = 2.03$ — сигналом 2.03. Именно по этому сигналу эти комплексы впервые были обнаружены и идентифицированы в живых организмах еще в 60-е годы прошлого столетия [14–16].

При снижении концентрации тиол-содержащих соединений парамагнитные М-ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами обратимо димеризуются в биядерные диамагнитные ДНКЖ (Б-ДНКЖ, резонансная структура $[(RS^-)_2Fe_2^{2+}(NO)_2(NO^+)_2]$), преимущественно (по сравнению с М-ДНКЖ) представленные в тканях животных [17]. Диамагне-

тизм этих комплексов — результат спаривания спинов двух ЖДНФ по серным мостикам, связывающим в Б-ДНКЖ эти фрагменты. Характерный показатель — приведенный на рис. 1 спектр оптического поглощения с двумя основными полосами на 310 и 360 нм с коэффициентами экстинкции (ϵ), равными соответственно 4600 и $3700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ в пересчете на один ЖДНФ в Б-ДНКЖ [17]. На том же рис. 1 приведен спектр оптического поглощения S-нитрозотиола с основной полосой на 334 ($\epsilon = 0.94 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и слабой полосой на 540 нм [18].

М- и Б-ДНКЖ с резонансной структурой ЖДНФ $[Fe^{2+}(NO)(NO^+)]$ могут возникать также и в реакции Fe^{2+} , тиолов и молекул S-нитрозотиолов (RS^-NO^+), попарно связывающихся, как и молекулы NO на схеме 1, с ионом Fe^{2+} с последующим их диспропорционированием (схема 2):

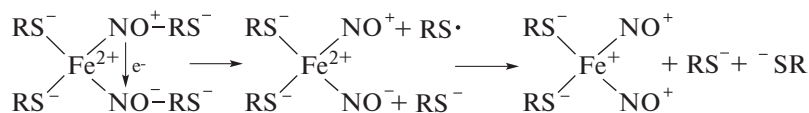


Схема 2. Механизм образования М-ДНКЖ в реакции $RS-NO$ с Fe^{2+} и тиол-содержащими соединениями (RS^-) [12].

Диспропорционирование молекул $RS-NO$ переводит их в неустойчивое состояние — в $(RS^\cdot-NO^+)$ и $(NO-RS^-)$, соответственно, с последующим распадом этих аддуктов и высвобождением из комплексов тиольного радикала и ионизованного тиола (тиолят-аниона) и сохранением в составе комплексов NO и NO^+ , что и приводит к образованию ДНКЖ с резонансной структурой

$[(RS^-)_2Fe^{2+}(NO)(NO^+) = (RS^-)_2Fe^+(NO^+)(NO^+)]$, такой же, как при образовании ДНКЖ в реакции NO с Fe^{2+} и тиол-содержащими соединениями, приведенной на схеме 1.

Очевидно, что химическое равновесие между М-ДНКЖ с представленной на схемах 1 и 2 резонансной структурой и составляющими этот комплекс компонентами описывается реакцией, приведенной на схеме 3:

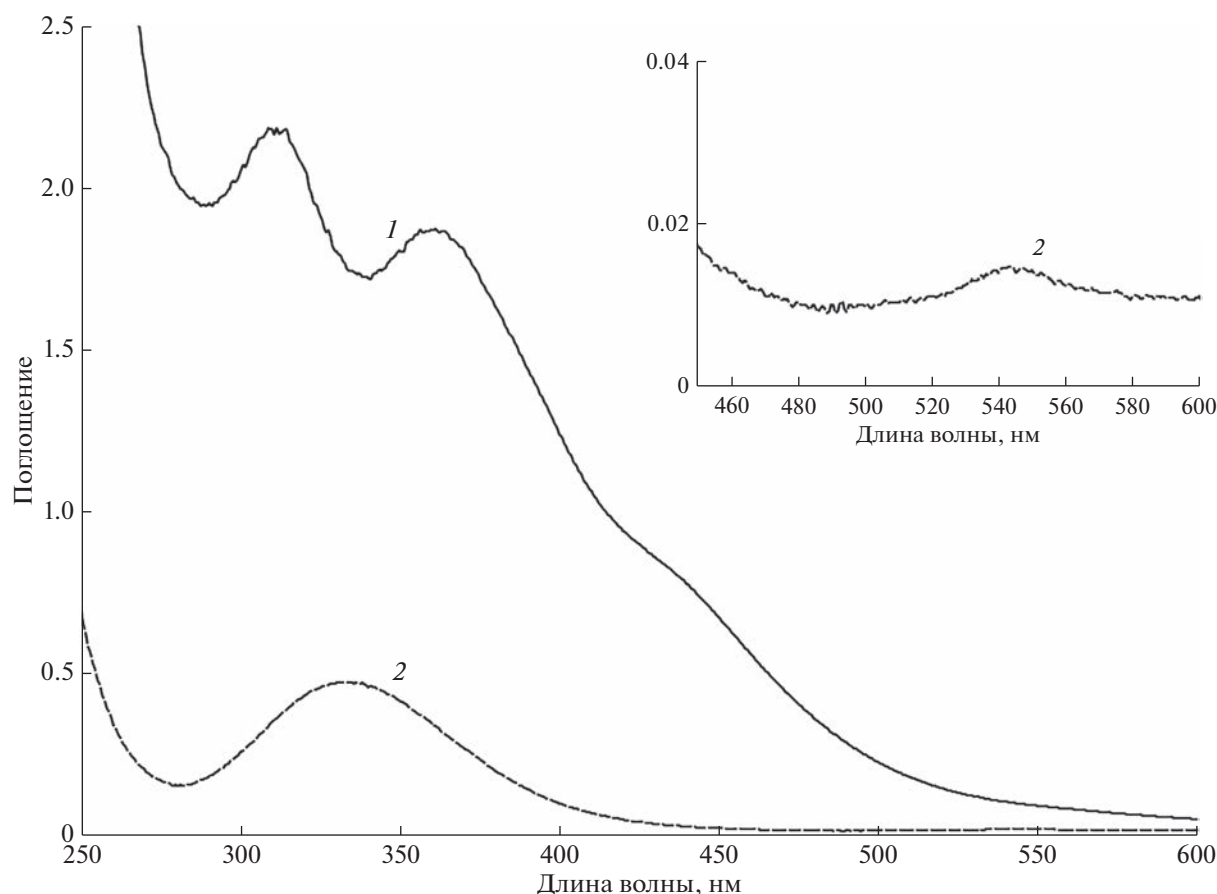


Рис. 1. Спектры поглощения Б-ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами (кривая 1) и S-нитрозотиолов (кривая 2). Во вставке показано слабое оптическое поглощение S-нитрозотиолов в области 540 нм.

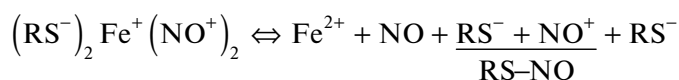


Схема 3. Химическое равновесие между М-ДНКЖ с составляющими этот комплекс компонентами — тиолами, ионами Fe^{2+} , молекулами NO и катионами нитрозония [12].

В соответствии с этой схемой М-ДНКЖ нитрозильные лиганды могут высвобождаться из этих комплексов как в форме нейтральных молекул NO, так и в форме катионов нитрозония, причем в одинаковом соотношении. Такое высвобождение невозможно в случае резонансной структуры ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами — $[(\text{RS}^-)_2\text{Fe}^-(\text{NO}^+)_2]$, которой придерживаются многие исследователи этих комплексов. Резонансная структура действительно может быть справедливой для кристаллической формы этих комплексов, но, по-моему, в соответствии с аргументами, приведенными в наших работах [11, 12, 14], она не характеризует эти комплексы в растворенном состоянии. При установлении химического равновесия ДНКЖ с резонансной структурой $[(\text{RS}^-)_2\text{Fe}^-(\text{NO}^+)_2]$ нитрозильные лиганды

могут высвобождаться из этих комплексов только в форме NO и NO^- , но не в форме катионов нитрозония [11, 12, 14].

Представление о том, что ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами выступают в качестве стабилизатора, переносчика и донора оксида азота, является сейчас общепринятым [7, 9]. Что же касается цитотоксического действия этих комплексов, то большинство исследователей, полагающих, что ДНКЖ могут высвобождать только молекулы NO, естественно считают, что цитотоксическая активность этих комплексов может определяться только этими молекулами, точнее продуктом их реакции с анионами супероксида — пероксинитритом (ONOO^-) [7, 9]. При протонировании пероксинитрит распадается на сильнейшие цитотоксины — гидроксильный радикал и диоксид азота [19, 20].

Что же касается катионов нитрозония, как эффективных цитотоксичных агентов, высвобождающихся из ДНКЖ, то такое предположение впервые было высказано в работе группы российских и немецких исследователей [21], изучавших цитотоксическое действие М-ДНКЖ с тиосульфатом (М-ДНКЖ-ТС) на культуру опухолевых клеток Jurkat. Оказалось, что такое действие полностью сохранялось после разрушения использованных комплексов одним из производных дитиокарбамата — *N*-метил-D,L-глукаминдитиокарбамата (МГД).

По мнению авторов, этот результат однозначно свидетельствовал о том, что цитотоксическое

действие М-ДНКЖ-ТС на клетки Jurkat обусловлено высвобождением из комплекса катиона нитрозония. Это заключение следует из приведенного на схеме 4 механизма разрушительного действия МГД как производного дитиокарбамата на М- и Б-ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами. Это разрушение вызывается перехватом молекулами МГД (дитиокарбамата) железо-мононитрозильной группы из ЖДНФ с образованием мононитрозильного комплекса железа (МНКЖ) с МГД и сопутствующим высвобождением из М- и Б-ДНКЖ катиона нитрозония.

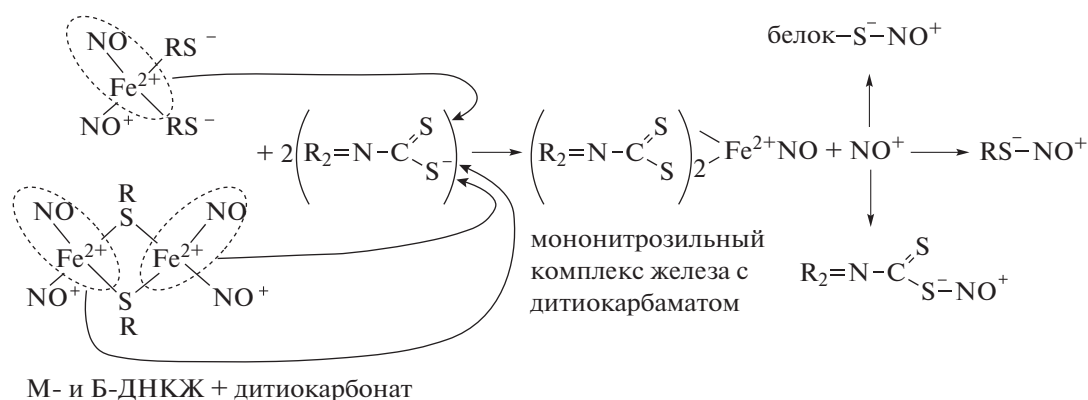


Схема 4. Механизм разрушительного действия дитиокарбамата на М- и Б-ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами [22].

В результате молекулы NO включаются в устойчивые МНКЖ с МГД и тем самым “выходят из игры” — они уже не влияют на клетки и ткани, тогда как катионы нитрозония, будучи свободными, становятся единственными в своем действии на эти биосистемы.

Характерно, что проапоптотическое действие М-ДНКЖ-ТС усиливалось при добавлении к нему МГД [21]. Сами по себе М-ДНКЖ-ТС и МГД инициировали апоптоз, особенно М-ДНКЖ-ТС, так что если бы при совместном введении они не влияли друг на друга, то, судя по данным, приведенным в [21], они могли инициировать переход в апоптотическое состояние 45% клеток. В реальном эксперименте при их совместном введении в клеточную культуру в состояние апоптоза переходило более 60% клеток [21].

Усиление действия М-ДНКЖ-ТС было, по-видимому, обусловлено распадом всех комплексов с выделением из них максимального количества катионов нитрозония, вызывавших апоптоз. Интересно, что добавление глутатиона к М-ДНКЖ-ТС ослабляло его проапоптотическое действие [21]. По-видимому, это было связано с превращением М-ДНКЖ-ТС в более стабильные комплексы Б-ДНКЖ с глутатионом (Б-ДНКЖ-GSH), кото-

рые сами по себе высвобождали существенно меньшее количество катионов нитрозония, чем М-ДНКЖ-ТС.

Способность другого производного дитиокарбамата — диэтилдитиокарбамата (ДЭТК) — разрушать М-ДНКЖ-ТС в соответствии со схемой 4, использовалась нами при изучении гипотензивного действия этих комплексов как доноров NO на животных (рис. 2) [23]. ДЭТК значительно подавлял это действие при его внутривенном (в/в) введении животным до М-ДНКЖ-ТС (рис. 2, кривая 3). Если же ДЭТК вводили после М-ДНКЖ-ТС, то у животных наблюдалось кратковременное резкое снижение артериального давления (АД), обусловленное, по-видимому, восстановлением до NO катионов нитрозония в составе $RS-NO$, образующихся (в соответствии со схемой 4) при распаде ДНКЖ с последующим выходом NO в окружающую среду (рис. 2, кривые 4 и 5). Слабое влияние ДЭТК на уже пониженное АД у этих животных (кривые 4 и 5) могло быть обусловлено отсутствием контакта между ДЭТК и ДНКЖ, локализованных внутри клеток [23].

Также МГД был способен резко усиливать гибель культуры клеток MCF-7, вызванную инкубацией с Б-ДНКЖ с меркаптосукцинатом (Б-ДНКЖ-МС)

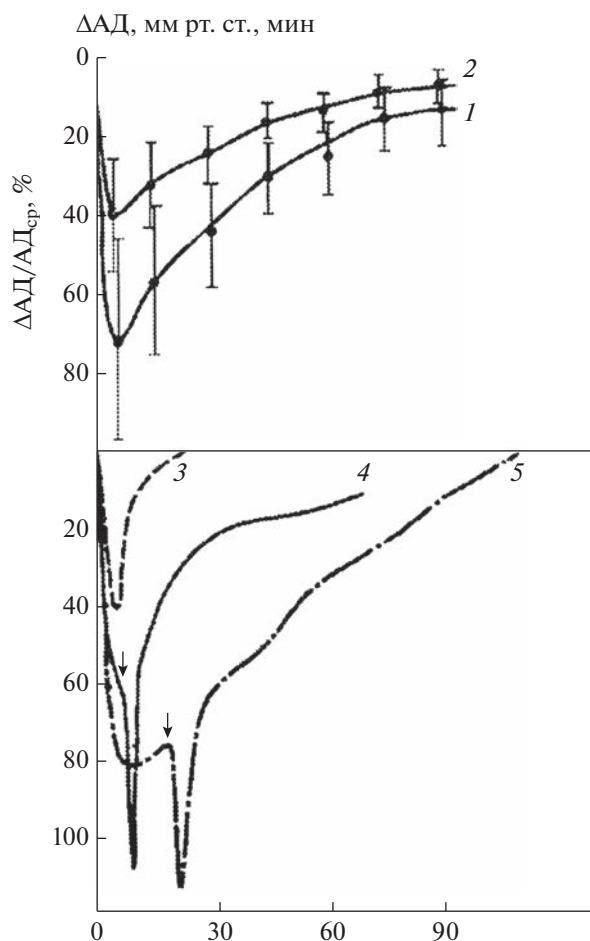


Рис. 2. Изменение артериального давления (АД и ААД) у бодрствующих крыс после в/в введения им М-ДНКЖ-ТС в дозе 10 мкмоль/кг веса (кривые 1 и 2); М-ДНКЖ-ТС введен через 1 мин после в/в введения диэтилдитиокарбамата (ДЭТК) в дозе 30 мг/кг (кривая 3); ДЭТК вводили животным после М-ДНКЖ-ТС в моменты, указанные стрелками (кривые 4 и 5) [23].

[22]. Снижение выживаемости этих клеток (их гибель) оценивалось по двумерной диаграмме, полученной методом проточной цитофлуориметрии. Эта диаграмма характеризует степень апоптоза (по флуоресценции аннексина V-FITC) и степень некроза (по флуоресценции пропидия йодида).

Как следует из рис. 3, при одновременном введении в культуру клеток Б-ДНКЖ-МС и МГД содержание погибших клеток достигало 80% (столбик 4), тогда как при сложении действия каждого из них без какого-либо влияния друг на друга (столбики 2 и 3) гибель клеток не превышала бы 50% (столбик 5). Очевидно, что синергический эффект Б-ДНКЖ-МС и МГД при их одновременном введении в культуру клеток был обусловлен повышением (в соответствии со схемой 4) уровня катионов нитрозония, высвобождавшихся под действием МГД из Б-ДНКЖ-МС.

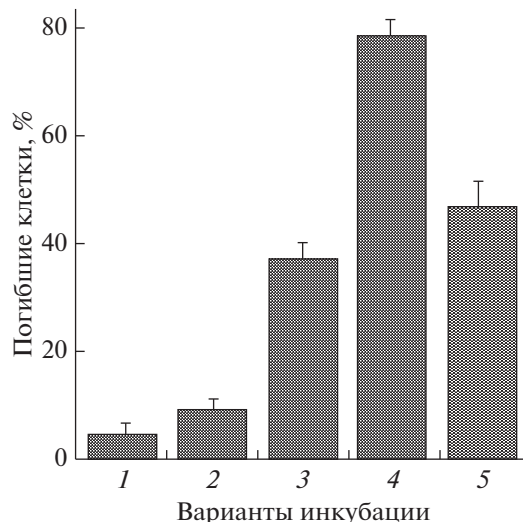


Рис. 3. Гибель опухолевых клеток человека MCF-7 (%): столбик 1 – контроль, 2 – инкубация с 0.5 мМ Б-ДНКЖ-МС, 3 – инкубация с 1.0 мМ МГД, 4 – инкубация со смесью этих соединений, 5 – сумма эффектов М-ДНКЖ-МС и МГД (столбики 2 + 3) при отсутствии взаимодействия между ними [22].

Аналогичный результат получен нами при изучении сочетанного влияния ДЭТК и Б-ДНКЖ-GSH на выживание бактерий *Escherichia coli* TN350 (интактность клеток оценивали по колониеобразующей активности) (рис. 4). Как и в уже рассмотренных примерах, при одновременном введении ДЭТК и Б-ДНКЖ-GSH уровень интактных клеток снижался до 5%, а при введении ДЭТК через 40 мин после Б-ДНКЖ-GSH погибали все клетки. В этом случае ДНКЖ переходили внутрь клеток, так что при дальнейшем контакте этих комплексов с ДЭТК все катионы нитрозония, высвобождавшиеся из ДНКЖ, оказывались внутри клеток, оказывая на них цитотоксическое действие.

Как показывают наши последние исследования, распад ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, приводящий к высвобождению из них катионов нитрозония, можно обеспечить обработкой комплексов супероксид анион-радикалами или хелаторами двухвалентного железа. В соответствии с данными [25], анионы супероксида могут реагировать в ДНКЖ с молекулами NO, входящими в состав этих комплексов в качестве нитрозильных лигандов в ЖДНФ. Как упоминалось выше, одна половина этих лигандов может быть представлена в резонансных структурах ДНКЖ в форме нейтральных молекул NO, а другая – в форме катионов нитрозония. Согласно [26], взаимодействие анионов супероксида с молекулами NO приводит к появлению в лигандной сфере железа в ДНКЖ пероксинитрита с последующей его изомеризацией в составе ДНКЖ в

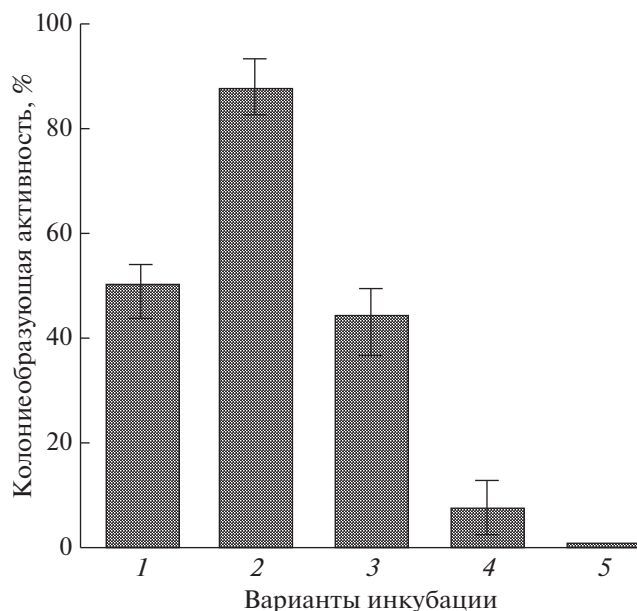


Рис. 4. Влияние ДЭТК и Б-ДНКЖ-GSH на колониеобразующую активность бактерий *E. coli* TN350. В среду инкубации клеток добавляли: 1 – 2.5 мМ ДЭТК; 2 – 0.5 мМ Б-ДНКЖ-GSH; 3 – суммарное действие ДЭТК + Б-ДНКЖ-GSH (1 + 2) при отсутствии взаимодействия между ними; 4 – одновременное воздействие ДЭТК + Б-ДНКЖ-GSH; 5 – Б-ДНКЖ-GSH добавляли через 40 мин после ДЭТК [24].

нитрат, что и приводит к распаду этих комплексов с высвобождением из них катионов нитрозония. Что касается разрушительного действия хелаторов железа, то высвобождение катионов нитрозония из ДНКЖ в ходе их разрушения (а оно действительно имеет место [26]) очевидно определяется заменой всех лигандов в окружении двухвалентного железа в ДНКЖ этими хелаторами. Не исключено, что именно этот механизм лежал в основе обнаруженного [27] цитотоксического действия Б-ДНКЖ-GSH на клетки HeLa, вызванного добавлением к этим клеткам хелаторов железа – батофенантролиндисульфоната или этилендиаминтетраацетата (EDTA).

Оказалось, что высвобождение из Б-ДНКЖ-GSH катионов нитрозония, как цитотоксических агентов, резко усиливающееся под действием ДЭТК, можно использовать для подавления размножения коронавируса SARS-CoV-2 в организме модельных животных (сирийских хомячков). Таким образом, открывается возможность создания на основе ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами и производными дитиокарбамата (не исключено, что и на основе только ДНКЖ), лекарств, эффективных при COVID-19!

Опыты на сирийских хомячках, зараженных коронавирусом SARS-CoV-2, проводили сотрудники Государственного научного центра вирусологии

и биотехнологии “Вектор” Роспотребнадзора РФ (Кольцово, Новосибирская область). Животным, помещенным в закрытую камеру, подавали воздух и распыленные растворы сначала Б-ДНКЖ-GSH в течение 30 мин, а затем (через 30 мин) раствор ДЭТК также на 30 мин. В распылитель растворов вводили 10 мл 10 мМ растворов Б-ДНКЖ-GSH или ДЭТК. Эти соединения вводили указанным способом сирийским хомячкам, зараженным коронавирусом, в течение 4 суток дважды в сутки. После этого животных забивали с последующим забором тканей носовой полости и легких, гомогенизировали и определяли в них количество РНК вируса методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени через показатель *Ct* (число циклов) и методом титрования на культуре клеток Vero 6 ($\lg \text{TCID}_{50}/\text{мл}$) [28].

В табл. 1 приведены полученные методом ОТ-ПЦР результаты определения вирусной нагрузки у сирийских хомячков. Показано, что аэрозольное введение животным только Б-ДНКЖ-GSH, статистически значимо снижало вирусную нагрузку только в тканях носовой полости – в 16 раз по сравнению с контрольными животными (плацебо). При этом не обнаружено значимого снижения вирусной нагрузки по инфекционному титру ($\lg \text{TCID}_{50}/\text{мл}$) ни в ткани носовой полости, ни в тканях легкого.

Лечебный эффект использованных препаратов повышался при последовательном введении животным сначала Б-ДНКЖ-GSH, а затем ДЭТК. Хотя по данным ОТ-ПЦР (*Ct*) накопление РНК в тканях носовой полости снижалось, как и при использовании только Б-ДНКЖ-GSH, в те же 16 раз, однако лечебный эффект начинал проявляться и в тканях легкого: уровень РНК вируса снижался в них по сравнению с плацебо в 20 раз. Еще более выраженный результат получен при оценке эффективности лечения методом титрования вируса – титр вируса снижался, по крайней мере в тканях носовой полости, в 200 раз по сравнению с плацебо, тогда как в тканях легкого снижение было практически таким же, как при определении вирусной нагрузки методом ОТ-ПЦР (снижение в 20 раз).

Результаты, полученные после аэрозольного введения зараженным хомячкам только ДЭТК или ДЭТК с последующим введением Б-ДНКЖ-GSH, показали полное отсутствие лечебного эффекта этих препаратов при таком способе их введения.

Интересно, что не удалось обнаружить образования (хотя бы в легких) МНКЖ-ДЭТК, вызванного аэрозольным введением хомячкам сначала Б-ДНКЖ-GSH, а затем ДЭТК, методом ЭПР по характерному для этих комплексов триплетному сигналу ЭПР с центром при $g = 2.04$ [28]. В соответствии со схемой 4 эти комплексы должны возникать при взаимодействии Б-ДНКЖ-GSH с

Таблица 1. Вирусная нагрузка в тканях носовой полости и легкого сирийских хомячков, интраназально инфицированных вирусом SARS-CoV-2, с последующим аэрозольным лечением препаратами Б-ДНКЖ-GSH и Б-ДНКЖ-GSH + ДЭТК

Соединение	Вирусная нагрузка SARS-CoV-2 в тканях			
	носовая полость		легкое	
	lgTCID ₅₀ /мл	Ct	lgTCID ₅₀ /мл	Ct
Б-ДНКЖ-GSH	4.1 ± 0.5	23.83 ± 1.27	4.4 ± 0.8	20.67 ± 2.13
Б-ДНКЖ-GSH + ДЭТК	2.7 ± 0.4	27.28 ± 3.44	2.4 ± 0.4	30.33 ± 1.18
Плацебо	5.0 ± 0.5	19.80 ± 2.19	3.7 ± 0.4	25.96 ± 1.60

* Более низкие пороговые значения числа циклов (Ct) указывают на более высокую вирусную нагрузку.

ДЭТК, что должно было приводить и к высвобождению из Б-ДНКЖ катионов нитрозония. Последние, как цитотоксические агенты, должны были, по нашему мнению, оказывать лечебное действие на зараженных хомячков — подавлять размножение в их организме коронавируса SARS-CoV-2.

Неудача с регистрацией в тканях легких МНКЖ-ДЭТК, вероятнее всего, была обусловлена разрушительным действием супероксида на эти комплексы. Такое действие продемонстрировано в работе [29], в которой этот эффект объясняется связыванием аниона супероксида в МНКЖ-ДЭТК с молекулой NO. Об этой реакции я уже говорил выше при обсуждении распада ДНКЖ под действием анионов супероксида. Отмечу, что в легких, находящихся в непосредственном контакте с воздухом — с кислородом воздуха — уровень анионов супероксида должен быть достаточно высоким, по крайней мере достаточным, для разрушения МНКЖ-ДЭТК.

Главное свойство катионов нитрозония, определяющее их функциональную роль у живых организмов — способность этих катионов S-нитрозировать тиолы как низкомолекулярной, так и белковой природы. Поэтому есть основание предполагать, что именно инициируемая катионами реакция S-нитрозирования разнообразных вирусных белков — протеаз, белков оболочки, обратных транскриптаз, факторов транскрипции, а также протеаз хозяина, обеспечивала снижение продукции вируса в организме хозяина, будучи эффективным средством защиты организма животных и человека от вирусной инфекции, в том числе, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2.

Встает вопрос, можно ли получить ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, способные сами без разрушительного воздействия на них других соединений, например, производных дитиокарбамата, высвободить значительное количество катионов нитрозония, обеспечивая тем самым противовирусный эффект и излечивая, например, COVID-19?

Подобная возможность существует! Но она, по-видимому, может реализоваться для растворов ДНКЖ, характеризующихся низким содержанием свободных (не включенных в ДНКЖ) тиолов. Об этом свидетельствуют результаты следующих, проведенных нами опытов (Ванин А.Ф. — материал готовится к печати). Используя разработанный нами метод синтеза ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, механизм которого приведен на схеме 2, мы синтезировали препараты Б-ДНКЖ-GSH, характеризующиеся соотношениями свободного глутатиона : Б-ДНКЖ-GSH, равными 2 : 1 и 0 : 1. Эти препараты мы использовали для проверки обнаруженной ранее способности Б-ДНКЖ-GSH высвобождать катионы нитрозония на воздухе в сильно кислой среде (при pH 1–2) и температуре 80°C [30].

Оказалось, что оба эти препарата способны равно эффективно высвобождать в этих условиях катионы нитрозония, последнее обнаружено по характерным для продуктов связывания этих катионов с GSH — молекулам GS-NO, имеющим максимумы оптического поглощения при 334 и 540 нм (рис. 1). Однако появление NO⁺ при распаде Б-ДНКЖ-GSH в аэробных условиях могло быть обусловлено не только высвобождением NO⁺ из этих комплексов, но и окислением высвобождающегося при этом NO до диоксида азота (NO₂) с последующим образованием триоксида диазота (N₂O₃), способного S-нитрозировать тиолы. Для проверки такой возможности такие же опыты с растворами Б-ДНКЖ-GSH проведены и в отсутствие воздуха — в анаэробных условиях. В этих условиях обнаружено, что только растворы Б-ДНКЖ-GSH, в которых все молекулы глутатиона включены в эти комплексы, т.е. при молярном соотношении свободного глутатиона и Б-ДНКЖ-GSH, равном 0 : 1, катионы нитрозония действительно высвобождаются из Б-ДНКЖ, причем в концентрации, большей концентрации комплексов (рис. 5, панель а, кривая 2). Это превышение могло быть обусловлено тем, что не все молекулы GS-NO включались в Б-ДНКЖ-GSH

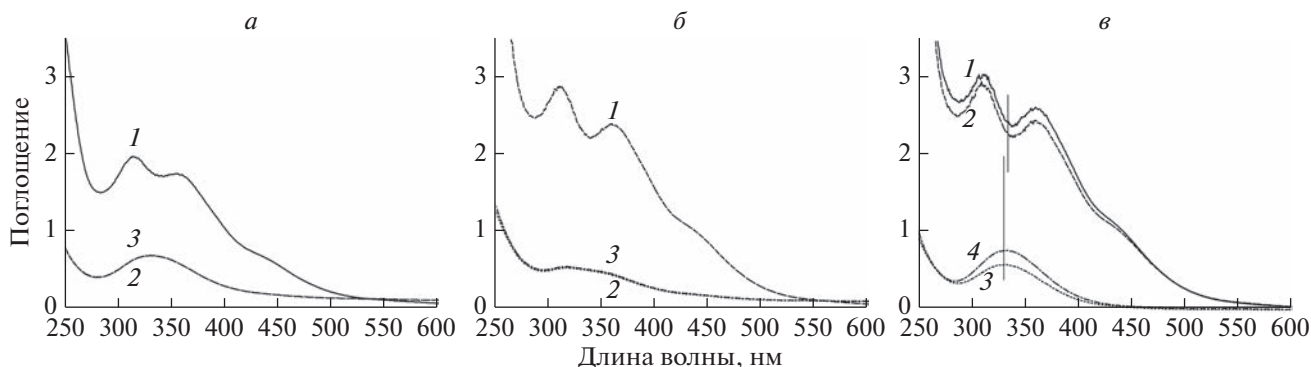


Рис. 5. Эволюция спектров поглощения Б-ДНКЖ-GSH, синтезированных при соотношении MS : Fe^{2+} : нитрит, равном 20 : 20 : 20 мМ (панель а) или 40 : 20 : 20 мМ (панели б и в), с последующей инкубацией растворов этих комплексов после их подкисления до pH 1.0 при 80°C в анаэробных (панели а и б) или в аэробных условиях (панель в). 1 – Исходные растворы Б-ДНКЖ-GSH; 2 и 3 – через 5 мин после прогрева растворов при pH 1.0 с последующим добавлением избытка глутатиона (панели а и б). Панель в: кривые 2–4, соответственно, через 1 мин после подкисления раствора, последующего прогрева в течение 1 мин при 80°C и добавления избытка глутатиона. Спектры зарегистрированы для растворов Б-ДНКЖ-GSH, разбавленных в 20 раз. На панели в вертикальные полосы проведены на 330 и 334 нм.

при образовании этих комплексов. Они и могли давать вклад в GS-NO, высвобождающийся из Б-ДНКЖ. Это предположение согласуется с тем, что уровень Б-ДНКЖ-GSH в этом случае был ниже, чем в растворах с двукратным превышением свободного глутатиона на Б-ДНКЖ (рис. 5, панели б и в, кривые 1).

В растворах с двукратным избытком свободного глутатиона по сравнению с содержанием комплексов, комплексы распадались без заметного образования GS-NO (рис. 5, панель б). Этот же раствор при прогреве в кислотной среде, но в аэробных условиях, обнаруживал появление оптического поглощения GS-NO, причем в концентрации, равной концентрации Б-ДНКЖ. Она возрастала при последующем добавлении к раствору избытка глутатиона (рис. 5, панель в, кривые 2 и 3).

Эти результаты позволяют сделать следующие выводы и предположения. Во-первых, катионы нитрозония действительно представлены в Б-ДНКЖ-GSH и могут высвобождаться из этих комплексов, но при низком уровне (а лучше в отсутствие) свободного тиола (GSH) в растворе. Во-вторых, при повышенном содержании свободного тиола в растворе этих комплексов может происходить восстановление высвобождающихся катионов нитрозония до молекул NO, очевидно, свободными тиолами. Поскольку тиолы сами по себе из-за нарушения закона сохранения спина в химических реакциях не могут осуществлять такое восстановление, этот процесс может реализовываться при включении в него ионов железа как спиновых катализаторов [31]. Предположение о высвобождении всех нитрозильных лигандов из Б-ДНКЖ-GSH в форме NO при соотношении свободный глутатион : Б-ДНКЖ-GSH = 2 : 1 под-

тверждается результатами наших измерений NO, высвобождающегося в газовой фазе из растворов этих комплексов [11].

Ранее мы наблюдали высвобождение NO^+ из раствора Б-ДНКЖ-GSH, но неполное, при соотношении свободный GSH : Б-ДНКЖ = 1 : 1 [11]. Вместе с тем, в той же работе показано, что при повышении этого соотношения до 2 : 1 выход NO^+ падал до 0.

В опытах с прогревом растворов с соотношением GSH : Б-ДНКЖ = 2 : 1 в аэробных условиях отмечено появление GS-NO в концентрации, равной концентрации комплексов (рис. 5, панель в, кривая 3), что могло быть обусловлено полным окислением кислородом воздуха свободного GSH в растворе. В результате соотношение GS-NO и Б-ДНКЖ-GSH становилось равным 0 : 1, при котором высвобождающиеся катионы нитрозония не восстанавливались до NO и могли включаться в GS-NO. Повышение уровня последних при последующем добавлении в раствор избытка GSH свидетельствует о появлении дополнительного количества NO^+ , очевидно, в составе триоксида диазота, образующегося в реакции NO и NO_2 – продукта окисления NO кислородом воздуха (рис. 5, панель в, кривая 4). Характерно, что при добавлении в анаэробных условиях избытка глутатиона к растворам с соотношением GSH : Б-ДНКЖ-GSH = 0 : 1, увеличения GS-NO не наблюдалось (рис. 5, панель а, кривая 3).

Впервые данные о цитотоксическом действии катионов нитрозония, полученные в опытах на бактериях *Clostridium sporogenes* и на культуре фибробластов Swiss 3T3, были представлены в [32, 33]. В частности, на культуре фибробластов показано, что в дозовом отношении катионы

нитрозония в 40 раз более цитотоксичны, чем молекулы NO. Доноры NO^+ — ионы нитропруссиды $[(\text{CN})_5\text{Fe}^{2+}\text{NO}^+]^{2-}$ — вызвали апоптоз у 50% фибробластов уже после инкубации этих клеток в течение 2 ч с 20 мкМ нитропруссидом, тогда как аналогичное действие на фибробласты молекулы NO оказывали при концентрации 800 мкМ через 24 ч инкубации клеток с газообразным NO или с его донорами — GS-NO или S-нитрозо-N-ацетилпенициллинами (SNAP) [33]. В исследованиях на бактериях *C. sporogenes* в качестве предполагаемых доноров катионов нитрозония использовали красную и черную соли Руссена. Однако четкого доказательства того, что цитотоксическое действие этих комплексов обусловлено высвобождением из них катионов NO^+ , а не молекул NO, не было приведено [32]. Такое доказательство цитотоксического действия М-ДНКЖ-ТС на клетки Jurkat получено в упомянутой работе [21], в которой показан синергизм суммарного действия этих комплексов и МГД. Наши исследования подтвердили целесообразность использования подобного подхода для доказательства того, что в случае ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами не молекулы NO, а катионы нитрозония ответственны за цитотоксическое действие этих комплексов.

Это заключение позволяет мне утверждать, что полученные ранее нашей группой данные о проапоптотическом действии ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами на клетки HeLa [27], а также о подавлении этими комплексами пролиферации эндометриом в организме крыс с экспериментальным эндометриозом [34, 35], следует рассматривать как пример цитотоксического действия на биосистемы катионов нитрозония. Такое же утверждение можно высказать о наших данных, касающихся подавления под действием ДНКЖ с цистеином фиброза кавернозной ткани пениса крыс, подвергнутой денервации [36], и аналогичного действия Б-ДНКЖ с меркаптоэтанолом на фиброзное перерождение почек, вызванное лигатурой мочеточников [37].

Не исключено, что, используя ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами в качестве доноров катионов нитрозония, оказывающих цитотоксическое действие на клетки и ткани, мы имитируем процесс, который естественным путем происходит в организме животных и человека при реализации клеточного иммунитета. Единственное отличие состоит в том, что природа использует для этого эндогенные ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами как “рабочую форму” оксида азота, а мы — те же комплексы, но экзогенные, т.е. синтезированные в пробирке химическим путем. Если это так, то весьма вероятно, что, используя экзогенные ДНКЖ, можно будет существенно продвинуться в решении проблемы лечения рака,

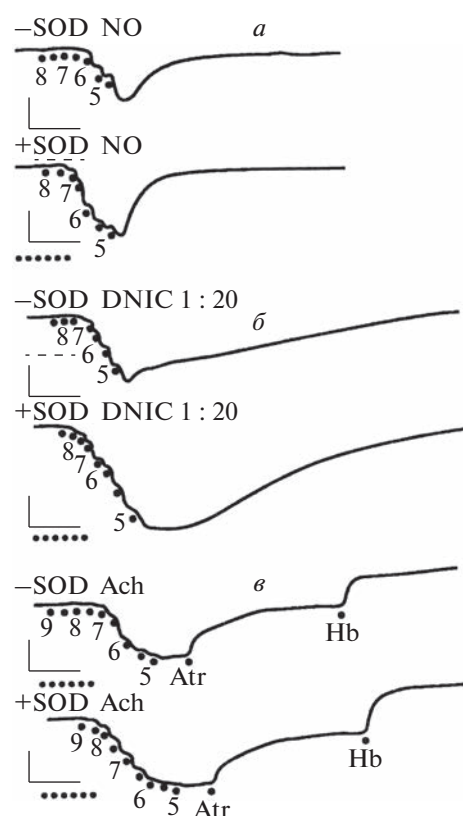


Рис. 6. Вазодилаторное действие NO (а), М-ДНКЖ с цистеином (б) и ацетилхолина (в) в отсутствие и в присутствии супероксид-дисмутазы (–SOD и +SOD) на предварительно сокращенные норэпинефрином (10^{-7} М) изолированные кольцевые сегменты аорты крысы (без удаления эндотелия). Точками указаны моменты введения вазодилаторов (в IgM), атропина (Atr, 10^{-3} М) или гемоглобина (Hb, 10^{-3} М). Вертикальная черта — 1 г, горизонтальная — 5 мин [40].

при условии, конечно, что иммунная система животных и человека устраняет злокачественные клетки и ткани, используя эндогенные ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами. Наша группа уже в течение нескольких лет изучает влияние Б-ДНКЖ с глутатионом и другими тиол-содержащими лигандами на пролиферацию перевитых опухолей в организме мышей. Обещающим результатом в этом направлении является задержка пролиферации опухолей [38, 39].

Как соединения, выступающие в качестве “рабочей формы” эндогенного оксида азота ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами в их экзогенной версии, полностью имитируют позитивное регуляторное действие эндогенного оксида азота в организме человека и животных (последнее лучше назвать системой эндогенного оксида азота). Экзогенные ДНКЖ характеризуются более высокой дозовой эффективностью, например, их сосудорасширяющего и ранозаживляющего действия по сравнению с тем же действием газооб-

Таблица 2. Регуляторное действие ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами на живые организмы

Регуляторное действие	Ссылка
Блокирование агрегации тромбоцитов (тромбоза)	[45]
Повышение эластичности эритроцитов	[46]
Повышение выживаемости животных при значительных кровопотерях	[47]
Мощная пенил-эректильная активность	[36, 48]
Антиапоптотическое действие на клеточные культуры	[49, 50]
Активация/подавление активности ряда генов	[51–53]
Усиление когнитивной активности	[54]
Защита миелиновой оболочки нейронов при воспалительных процессах в мозгу	[55]
Активация синтеза стрессорных белков	[56]
Антиоксидантное действие	[26]
Разрушительное действие на электрон-транспортные железосерные белки	[57]
Стимуляция усвоения железа при заболевании пшеницы ржавчиной	[58]
Регуляция входа и выхода железа из клеток	[59]
Уменьшение некротической зоны при экспериментальном инфаркте миокарда	[60]

разного NO. Первое иллюстрирует рис. 6, на котором приведена дозовая зависимость дилатации изолированных кольцевых сегментов аорты крыс, вызванной газообразным NO, М-ДНКЖ с цистеином или ацетилхолином (Ach) [40].

Как следует из рис. 6, М-ДНКЖ с цистеином в дозовом отношении был столь же эффективным, как эндогенный вазодилатор — ацетилхолин. Добавление гемоглобина, как перехватчика NO, снимало вазодилаторную активность ДНКЖ и ацетилхолина. В присутствии супероксид-дисмутазы (SOD), снижающей уровень супероксида и тем самым предотвращающей гибель NO под действием этого радикала, вазодилаторный эффект ДНКЖ и ацетилхолина усиливался. Аналогичный эффект SOD оказывал на вазодилаторное действие газообразного NO. При этом оно приближалось к аналогичному действию ДНКЖ в отсутствие SOD. Это означает, что включение NO в ДНКЖ обеспечивало его стабилизацию (защищало от действия супероксида), также как SOD обеспечивал аналогичную защиту свободных молекул NO. Атропин стабилизировал действие ацетилхолина.

Детальное сопоставление дозовой зависимости сосудорасширяющего действия NO и ДНКЖ в отсутствие SOD показало, что включение 10^{-8} – 10^{-7} М NO в ДНКЖ с цистеином в 100–300 раз повышало в дозовом отношении вазодилаторный эффект NO, что, очевидно, указывает на защиту последнего от супероксида [40]. В соответствии с приведенными в ранее цитированной работе данными [26], этот защитный эффект, по-видимому, обусловлен связыванием супероксида с молекулой NO в ЖДНФ ДНКЖ с последующей изомеризацией образующегося в составе этого ком-

плекса пероксинитрита в нитрат. Таким образом, ДНКЖ может выступать в качестве перехватчика супероксида, т.е. действовать как антиоксидант.

Сопоставление ранозаживляющего действия NO и Б-ДНКЖ-GSH показывает, что одинаковая эффективность этих агентов достигалась при концентрации Б-ДНКЖ в 25 раз меньшей, чем NO [41].

Высокая вазодилаторная активность ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами лежит в основе их эффективного гипотензивного действия на животных и человека [42, 43]. В связи с этим интересно было сопоставить гипотензивную активность газообразного NO и ДНКЖ. Естественно, что газообразный NO можно было вводить в организм животных и человека, в конечном итоге в кровь, только по дыхательному пути через легкие. При этом не обнаруживается никакого заметного изменения артериального давления (АД), хотя NO в кровь поступает [44]. Об этом свидетельствует регистрация в крови методом ЭПР нитрозильных комплексов гемоглобина [44]. Почему при этом не обнаруживается гипотензивного действия NO (а этот газ, как и кислород, должен доставляться к стенкам сосудов гемоглобином)? Этот вопрос остается пока без ответа. Что касается гипотензивного действия ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, то внутривенное введение в кровь их растворов приводит к выраженному снижению АД: у человека 20%-ное снижение АД достигается при дозе Б-ДНКЖ-GSH 0.2 мкмоль/кг веса, у крыс — 1 мкмоль/кг [43].

В дополнение к приведенным данным о регуляторном действии ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, в табл. 2 суммированы другие, полу-

ченные к настоящему времени, примеры эффекта этих комплексов как доноров NO.

Если же учесть, что система эндогенного оксида азота, а, следовательно, и ее “рабочая форма” — ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами, функционируют практически во всех жизненных процессах, то я уверен, что приведенный в табл. 2 список будет существенно расширен.

Выражаю благодарность моему сотруднику Николаю Ткачеву за компьютерное оформление приведенных в статье рисунков.

Работа получила финансовую поддержку Российского научного фонда (грант № 23-74-00009).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ignarro L.J. (2000) *Nitric Oxide Biology and Pharmacology*. Zurich: Acad. Press.
- Domingos P., Prado A.M., Wong A., Gehring C., Feijo J. (2015) Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants. *Mol. Plant*. **8**, 506–520.
- Stern A., Zhu J. (2014) An introduction to nitric oxide sensing and response in bacteria. *Adv. Appl. Microbiol.* **87**, 187–220.
- Gaston B.M., Carver J., Doctor A., Palmer L.A. (2003) Physiological roles of S-nitrosylation. *Mol. Interventions*. **3**, 253–263.
- Seth D., Hess D.T., Hausladen A., Wang L.W., Wang A.J., Stamler J.S. (2018) A multiplex enzymatic machinery for cellular protein S-nitrosylation. *Mol. Cell*. **89**, 451–464.
- Ванин А.Ф. (2015) *Динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами (Физико-химия, биология, медицина)*. Ижевск—Москва: Институт компьютерных исследований.
- Lu T.T., Wang Y.M., Hung C.H., Chiou S.J., Liaw W.F. (2018) Bioinorganic chemistry of the natural [Fe(NO)₂] motif evolution of a functional model for NO-related biomedical application and revolutionary development of a translation model. *Inorg. Chem.* **57**, 12425–12443.
- Vanin A.F. (2019) *Dinitrosyl Iron Complexes as a “Working Form” of Nitric Oxide in Living Organisms*. Cambridge: Cambridge Scholar Publ., UK.
- Lehnert N., Kim E., Dong H.T., Harland J.B., Hunt A.H., Manikas E.C., Oakley K.M., Pham J., Reed G.C., Alfaro V.S. (2021) The biologically relevant coordination chemistry of iron and nitric oxide: electronic structure and reactivity. *Chem. Rev.* **121**, 14682–14905.
- Vanin A.F., Burbaev D.S. (2011) Electronic and spatial structures of water-soluble dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands underlying their activity to act as nitric oxide and nitrosonium ion donors. *Biophys. J.* **2011**, 878236.
- Vanin A.F. (2020) How is nitric oxide (NO) converted into nitrosonium cations (NO⁺) in living organisms? (Based on the results of optical and EPR analysis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands). *Appl. Magn. Res.* **51**, 851–876.
- Ванин А.Ф. (2020) Свободно-радикальная природа молекул монооксида азота как фактор, определяющий их превращение в живых организмах в ионы нитрозония. *Биофизика*. **65**, 421–438.
- Vanin A.F., Malenkova I.V., Serezhnikov V.A. (1997) Iron catalyzes both decomposition and synthesis of S-nitrosothiols. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **1**, 191–203.
- Vanin A.F. (2023) Research into dinitrosyl iron complexes in living organisms through EPR as an example of applying this method in biology: a review. *Appl. Magn. Res.* **54**, 289–308.
- Ванин А.Ф., Налбандян Р.М. (1965) Свободные радикалы нового типа в дрожжевых клетках. *Биофизика*. **10**, 167–168.
- Vithaythil A.J., Ternberg J.L., Commoner B. (1965) Changes in electron spin resonance signals of rat liver during chemical carcinogenesis. *Nature*. **207**, 1246–1249.
- Vanin A.F., Poltorakov A.P., Mikoyan V.D., Kubrina L.N., Burbaev D.S. (2011) Polynuclear water-soluble dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands: electron paramagnetic resonance and optical studies. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **23**, 136–149.
- Williams D.L.H. (2004) *Nitrosation Reactions and the Chemistry of Nitric Oxide*. Amsterdam: Elsevier.
- Ascenzi P., diMesi A., Sciore A.C., Clementi E. (2010) Peroxynitrite — as ugly biofactor? *Biofactors*. **36**, 264–273.
- Radi R. (2018) Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **115**, 5839–5848.
- Kleschyov A.L., Strand S., Schmitt S., Gottfried D., Skatchov M., Sjakste N., Deiber M., Umansky V., Münzel T. (2006) Dinitrosyl-iron triggers apoptosis in Jurkat cells despite overexpression of Bcl-2. *Free Rad. Biol. Med.* **40**, 1340–1348.
- Vanin A.F., Tronov V.A., Borodulin R.R. (2021) Nitrosonium cation as a cytotoxic component of dinitrosyl iron complexes with thio-containing ligands (based on the experimental work on MCF-7 human breast cancer cell culture) *Cell. Biochem. Biophys.* **79**, 93–102.
- Галаган М.Е., Орановская Е.В., Мордвинцев П.И., Медведев О.С., Ванин А.Ф. (1988) Гипотензивный эффект динитрозильных комплексов железа на бодрствующих животных. *Бюлл. Всесоюзного кардиол. центра*. **2**, 75–79.
- Ванин А.Ф., Телегина Д.И., Микоян В.Д., Ткачев Н.А., Васильева С.В. (2022) Цитостатическое действие динитрозильных комплексов железа с глутатионом на клетки *Escherichia coli* определяется катионами нитрозония, высвобождающимися из этих комплексов. *Биофизика*. **67**, 938–946.
- Ванин А.Ф., Микоян В.Д., Ткачев Н.А. (2022) Высвобождение катионов нитрозония из динитрозильных комплексов железа при их распаде под действием анионов супероксида или этилендиаминтетраацетата. *Биофизика*. **67**, 1045–1053

26. Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., Lobysheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., Vanin A.F. (2008) Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin and methemoglobin-bound dinitrosyl iron complexes. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **18**, 37–46.
27. Giliano N.V., Konevega L.V., Noskin L.A., Serezhenkov V.A., Poltorakov A.P., Vanin A.F. (2011) Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands and apoptosis: studies with HeLa cell culture. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **24**, 151–159.
28. Шиповалов А.В., Ванин А.Ф., Пьянков О.В., Багрянская Е.Г., Микоян В.Д., Попкова В.Я. (2022) Противовирусная активность катионов нитрозония в отношении SARS-CoV-2 на модели сирийского хомячка. *Биофизика*. **67**, 969–981.
29. Vanin A.F., Huisman A., Stroes E.S.G., de Ruiter-Huijstek F.C., Rabelink T.J., van Faassen E.E. (2001) Antioxidant capacity of mononitrosyl-iron-dithiocarbamate complexes: implications for NO trapping. *Free Rad. Biol. Med.* **30**, 813–824.
30. Vanin A.F. (2018) Nitrosonium ions as constituents of dinitrosyl iron complexes with glutathione responsible for their S-nitrosating activity. *Austin J. Analyt. Pharm. Chem.* **5**, 1109–1125.
31. Buchachenko A.L., Berdinsky V.L. (1996) Spin catalysis in chemical reactions. *J. Phys. Chem.* **100**, 18292–18299.
32. Gui X., Joannou C.L., Huges M.N., Cammack R. (1992) The bactericidal effects on transition metal complexes containing NO⁺ group on the food-spoilage bacterium *Clostridium sporogenes*. *FEMS Microbiol. Lett.* **98**, 67–70.
33. Khan S., Kayahara M., Joashi U., Mazarakis N.D., Sarraf C., Edwards A.D., Huges M.N., Mehmet H. (1997) Differential induction of apoptosis in Swiss 3T3 by nitric oxide and the nitrosonium cation. *J. Cell Sci.* **110**, 2315–2322.
34. Vanin A.F., Burgova E.N., Adamyan L.V. (2015) Dinitrosyl iron complexes with glutathione suppress surgically induced experimental apoptosis in rats. *Austin J. Reprod. Med. Infertil.* **2**, 1109–1032.
35. Burgova E.N., Khristidi Y.L., Kurkov F.V., Mikoyan V.D., Shekhter A.B., Vanin A.F. (2019) The inhibiting effect of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands on the growth of endometrioid tumours in rats with experimental endometriosis. *Cell. Biochem. Biophys.* **77**, 69–77.
36. Велиев Е.И., Котов С.В., Шишло В.К., Сerezhenkov V.A., Лозинский В.И., Ванин А.Ф. (2008) Влияние динитрозильных комплексов железа с тиол-содержащими лигандами на состояние кавернозных тел пениса у крыс. *Биофизика*. **53**, 326–353.
37. Lee T.Y., Lu H.H., Chang H.T., Huang H.C., Tsai Y.J., Chang I.H., Tu C.P., Chung C.U., Lu T.T., Peng C.H., Chen Y. (2023) Delivery of nitric oxide with a pH-responsive nanocarrier for the treatment of renal fibrosis. *J. Control. Release.* **354**, 417–428.
38. Ванин А.Ф., Островская Л.А., Корман Д.Б., Микоян В.Д., Кубрина Л.Н., Бородулин Р.Р., Фомина М.М., Блюхтерова Н.И., Рыкова В.А. (2015) Антинитрозативная система как фактор резистентности злокачественных опухолей к цитотоксическому действию монооксида азота. *Биофизика*. **60**, 152–157.
39. Ванин А.Ф., Островская Л.А., Корман Д.Б., Блюхтерова Н.В., Рыкова В.А., Фомина М.М. (2022) Роль катиона нитрозония в механизме противоупхолевого эффекта препаратов динитрозильных комплексов железа. *Биофизика*. **67**, 982–990.
40. Vedernikov Y.P., Mordvintcev P.I., Malenkova I.V., Vanin A.F. (1992) Similarity between the vasorelaxing activity of dinitrosyl iron cysteine complexes and endothelium-derived relaxing factor. *Eur. J. Pharmacol.* **211**, 313–317.
41. Igrunkova A., Fayzullin A., Serejenkova N., Lipina T., Pekshev A., Vanin A., Zaborova V., Budanova E., Shestakov D., Kastyro I., Shekhter A. (2023) Beneficial effect of dinitrosyl iron complexes on wound healing compared to commercial nitric oxide plasma generator. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 4439–4457.
42. Клещёв А.Л., Мордвинцев П.И., Ванин А.Ф. (1985) Роль оксида азота и железа в гипотензивном действии нитрозильных комплексов железа с различными анионными лигандами. *Studia Biophys.* **105**, 93–102.
43. Chazov E.I., Rodnenkov O.V., Zorin A.V., Lakomkin V.L., Gramovich O.V., Vyborov O.V., Dragnev A.G., Timoshin A.A., Buryachkovskaya L.I., Abramov A.A., Massenko V.P., Arzamastsev E.V., Kapelko V.I., Vanin A.F. (2012) Hypotensive effect of “Oxacom” containing a dinitrosyl iron complexes with glutathione: animal studies and clinical trials on healthy volunteers. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **26**, 148–157.
44. Ванин А.Ф., Пекшев А.В., Вагапов А.Б., Шарпов Н.А., Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Тимошин А.А., Капелько В.И. (2021) Газообразный оксид азота и динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами как предполагаемые лекарственные средства, способные купировать COVID-19. *Биофизика*. **66**, 155–163. 155–163).
45. Мордвинцев П.И., Руднева В.Г., Ванин А.Ф., Шимкевич Л.Л., Ходоров Б.И. (1986) Ингибирующее действие динитрозильных комплексов негемового железа с низкомолекулярными лигандами на агрегацию тромбоцитов. *Биохимия*. **51**, 1851–1857.
46. Шамова Е.Б., Бичан О.Д., Дрозд Е.С., Горудко И.В., Чижик С.А., Шумаев К.Б., Черенкевич С.Н., Ванин А.Ф. (2011) Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами NO. *Биофизика*. **56**, 265–271.
47. Remizova M.I., Kochetygov N.I., Kerbout K.A., Lakomkin V.L., Timoshin A.A., Burgova E.N., Vanin A.F. (2011) Effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione on hemorrhagic shock followed by saline treatment. *Eur. J. Pharmacol.* **662**, 40–36.
48. Andreev-Andriyevsky A.A., Mikoyan V.D., Serezhenkov V.A., Vanin A.F. (2011) Penile erectile activity of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands. *Nitric Oxide Biol. Chem.* **24**, 217–223.
49. Сerezhenkov V.A., Калинина Е.В., Глазунова В.А., Саприн А.Н., Ванин А.Ф. (2007) Почему железо устраняет цитотоксическое действие оксида азота на культуры клеток человека и животных? *Биофизика*. **52**, 869–875.

50. Kim Y.M., Chung H.T., Symmons R.L., Billiar T.R. (2000) Cellular nonheme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis, necrosis, and caspase inhibitor. *J. Biol. Chem.* **275**, 10954–10961.
51. Ding H., Demple B. (2000) Direct nitric oxide signal transduction via nitrosylation of iron-sulfur centers in the SoxR transcription activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **97**, 5146–5150.
52. Lo F.C., Chen C.L., Lee C.M., Tsai M.C., Lu T.T., Liaw W.F., Yu S.S.F. (2008) A study of NO trafficking from dinitrosyl-iron complexes to the recombinant *E. coli* transcriptional factor SoxR. *J. Biol. Inorg. Chem.* **13**, 961–972.
53. Demple B. (2002) Signal transduction by nitric oxide in cellular stress response. *Mol. Cell. Biochem.* **2345/235**, 11–18.
54. Wu C.R., Huang Y.D., Hong Y.H., Liu Y.H., Narwane M., Chang Y.H., Dinh N.K., Hsieh H.T., Hsieh Y.J., Wu P.C., Pao C.W., Chan T.S., Hsu I.J., Lu T.T. (2021) Endogenous conjugation of biomimetic dinitrosyl iron complex with protein vehicles for oral delivery of nitric oxide to brain and activation of hippocampal neurogenesis. *J. Amer. Chem. Soc. Au.* **1**, 998–1013.
55. Lepka K., Volbracht K., Bill E., Schneider R., Rios N., Hildebrandt T., Ingwersen J., Prozorovski T., Lillig C.H., van Horssen J., Steinman L., Hartung H.P., Radi R., Holmgren A., Aktas O., Berndt C. (2017) Iron-sulfur glutaredoxin 2 protects oligodendrocytes against damage induced by nitric oxide release from activated microglia. *Glia.* **65**, 1521–1534.
56. Malyshev I.Yu., Malugin A.V., Golubeva L.Yu., Zenina T.A., Manukhina E.B., Mikoyan V.D., Vanin A.F. (1996) Nitric oxide donor induces HSP70 accumulation in the heart and in cultured cells. *FEBS Lett.* **301**, 21–23.
57. Voevodskaya N.V., Serezhenkov V.A., Cooper C.F., Kubrina L.N., Vanin A.F. (2002) Exogenous ferrous iron is required for the nitric oxide-catalyzed destruction of the iron-sulphur center in adrenodoxin. *Biochem. J.* **368**, 633–639.
58. Graziano M., Lamattina L. (2005) Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story. *Trends Plant Sci.* **10**, 4–8.
59. Richardson D.R., Lok H.C. (2008) The nitric oxide-iron interplay in mammalian cells: transport and storage of dinitrosyl iron complexes. *Biochim. Biophys. Acta.* **1780**, 638–651.
60. Писаренко О.И., Серебрякова Л.И., Цкитишвили О.В., Студнева Л.М., Ванин А.Ф., Чазов Е.И. (2008) Кардиозащитное действие динитрозильных комплексов железа с цистеином у крыс *in vivo*. *Изв. РАН, сер. Биология.* **1**, 110–114.

Dinitrosyl Iron Complexes with Thiol-Containing Ligands as a Functionally Active “Working Form” of Nitric Oxide System in Living Organisms

A. F. Vanin*

Semenov Federal Research Center of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: vanin@polymer.chph.ras.ru

The experimental data are summarized which allow to suggest that dinitrosyl iron complexes (DNIC) with thiol-containing ligands can be considered as an endogenous “working form” of nitric oxide (NO) system in living organisms. The complexes can function as donors of both neutral NO molecules as well as nitrosonium cations (NO⁺) which exert respectively positive (regulatory) or negative (cytotoxic) effect on human and animal organisms. A special attention is paid to DNIC capacity to block (especially in combination with dithiocarbamate derivatives) coronavirus SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters.

Keywords: nitric oxide, dinitrosyl iron complexes, nitrosonium cations, S-nitrosothios