

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.155.16.615.9

© Коллектив авторов

### ПОТЕНЦИРОВАНИЕ NO-ЗАВИСИМОЙ АКТИВАЦИИ РАСТВОРИМОЙ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА 5-НИТРОИЗАТИНОМ И ПРОТИВОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТОМ АРБИДОЛОМ

*И.С. Северина, А.Ю. Щеголев, А.Е. Медведев\**

Учреждение Российской академии медицинских наук,  
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
имени В.Н. Ореховича РАМН, Погодинская ул., 10, 119121 Москва;  
факс: (499)245-0857; эл. почта: professor57@yandex.ru

Изатин (индол-дион) – эндогенный индол, обладающий широким спектром биологической и фармакологической активности. Исследовано влияние производных изатина – 5-нитроизатина и арбидола (противовирусного препарата) на индуцированную спермин NONO активацию растворимой гуанилатциклазы тромбоцитов человека. 5-нитроизатин и арбидол не влияли на базальную активность, но синергично увеличивали концентрационно-зависимым образом индуцированную спермин NONO активацию этого фермента. 5-нитроизатин и арбидол, аналогично YC-1, повышали чувствительность гуанилатциклазы к оксиду азота (NO) и осуществляли сдвиг влево кривой зависимости активации фермента от концентрации спермин NONO. В то же время, использованные соединения не изменяли синергичного увеличения индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы в присутствии YC-1. Это свидетельствует о том, что 5-нитроизатин и арбидол не конкурировали с YC-1. Добавление изатина не изменяло синергичного увеличения индуцированной спермин NONO активации гуанилатциклазы 5-нитроизатином и арбидолом и не влияло на сдвиг влево кривой зависимости активации фермента этими соединениями от концентрации спермин NONO. Эти данные свидетельствуют об отсутствии конкуренции между изатином и двумя использованными его производными.

**Ключевые слова:** растворимая гуанилатциклаза, оксид азота (NO), YC-1, 5-нитроизатин, арбидол, потенцирование активации.

**ВВЕДЕНИЕ.** Изатин – эндогенный индол – обнаруженный в мозге, периферических тканях и биологических жидкостях млекопитающих и человека [1-3]. Изатин входит в состав многих природных веществ. Модифицированная часть молекулы изатина присутствует в целом ряде соединений, которые действуют как ингибиторы апоптоза [4], антиконвульсанты [5] и другие противовирусные [6], антибактериальные и антигрибковые [7] агенты.

\* - адресат для переписки

## ПОТЕНЦИРОВАНИЕ АКТИВАЦИИ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ ПРОИЗВОДНЫМИ ИЗАТИНА

Изатин в физиологических концентрациях (в диапазоне от 1 нМ до 10 мкМ) является ингибитором моноаминоксидазы (МАО) Б [8], эндогенным ингибитором стимулируемой натрийуретическими пептидами мембраносвязанной гуанилатциклазы [9, 10]; он также тормозит индуцированную нитропруссидом натрия активацию растворимой гуанилатциклазы [11].

Растворимая гуанилатциклаза [GTP-пирофосфатлиаза (циклизирующая); КФ 4.6.1.2] - основной физиологический рецептор оксида азота (NO) [12]. NO активирует фермент и усиливает образование вторичного посредника – циклического 3',5'-гуанозинмонофосфата (сGMP) [13]. Последний опосредует широкий спектр физиологических функций через взаимодействие со специфическими сGMP-зависимыми протеинкиназами, ионными каналами и фосфодиэстеразой [14]. Этот путь передачи сигналов лежит в основе большинства физиологических действий сигнальной системы NO-растворимая гуанилатциклаза – сGMP, вовлечённой в регуляцию различных физиологических состояний. Поэтому агенты, которые могут селективно модулировать активность этого фермента, должны обладать значительным терапевтическим потенциалом [15].

Способность изатина ингибировать активацию растворимой гуанилатциклазы NO-донором [11] побудила нас исследовать влияние производных изатина (включая соединения, обладающие терапевтическим эффектом) на функционирование NO-зависимой сигнальной системы. Можно предположить, что эндогенный изатин будет влиять на регуляцию растворимой гуанилатциклазы препаратами, содержащими модифицированную молекулу изатина. В последнее время большое внимание уделяется исследованию соединений, способных аналогично YC-1 (NO-независимому, аллостерическому активатору растворимой гуанилатциклазы), усиливать активацию фермента NO-донорами.

Целью настоящей работы было исследование влияние производных изатина: 5-нитроизатина и арбидола (противовирусного препарата) на стимуляцию растворимой гуанилатциклазы тромбоцитов человека NO-донорами (нитропруссидом натрия (SNP) и спермин NONO) и влияние соединений на индуцированный YC-1 сдвиг влево кривой зависимости активации фермента от концентрации спермин NONO.

**МЕТОДИКА.** В качестве источника растворимой гуанилатциклазы мы использовали тромбоциты человека, которые выделяли из крови здоровых доноров (мужского пола в возрасте от 20 до 45 лет, давших информированное согласие на использование крови для данных экспериментов) [16]. Суспензию отмытых тромбоцитов в 50 мМ Трис-HCl буфере (pH 7,6), содержащем 0,2 мМ дитиотрейтол, озвучивали в ультразвуковом дезинтеграторе MSE-78 (Великобритания) в течение 20 с при 2°C и центрифугировали 1 ч при 105000 g. Супернатант озвученной суспензии тромбоцитов, полученный из 40 мл крови одного донора, использовали в качестве препарата растворимой гуанилатциклазы в одном эксперименте.

Активность гуанилатциклазы измеряли, как описано в работе [17]. Пробы (общий объём 150 мкл) содержали 50 мМ Трис-HCl буфер (pH 7,6), 1 мМ GTP, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 4 мМ креатинфосфат, 20 мкг креатинфосфокиназы, 10 мМ теofilлин, 20 мкг супернатанта 105000 g (по белку) и при необходимости другие добавки. Использованная концентрация теofilлина вызывала полное торможение активности фосфодиэстеразы тромбоцитов человека [16]. Эффекты 5-нитроизатина и арбидола исследовали в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 мкМ используя нитропруссид натрия (SNP, 10 мкМ) в качестве NO-донора. В экспериментах со спермин NONO последний

использовали в диапазоне концентраций от 1 до 20 мкМ, а 5-нитроизатин и арбидол брали в 10 мкМ концентрации. YC-1 во всех опытах использовали в 3 мкМ концентрации, при которой наблюдался максимальный потенцирующий эффект стимуляции фермента 10 мкМ нитропруссидом натрия. При больших концентрациях YC-1 (50 или 200 мкМ) потенцирующий эффект YC-1 отсутствовал. Нами было показано, что индуцированная нитропруссидом натрия (в диапазоне его концентраций от 1 до 100 мкМ) активность гуанилатциклазы тромбоцитов человека в присутствии 50 или 200 мкМ YC-1 была ниже арифметической суммы отдельных активностей. Поэтому, мы не исследовали влияние увеличивающихся концентраций YC-1 (выше 3 мкМ) на усиление потенцирующего действия YC-1. 5-нитроизатин и арбидол сначала преинкубировали (7 мин при 2°C) с препаратом гуанилатциклазы, затем (в экспериментах с YC-1) преинкубировали дополнительно (7 мин при 2°C) с YC-1 до добавления NO-донора. Из-за плохой растворимости 5-нитроизатина и арбидола в буферном растворе соединения сначала растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) с последующим разведением в 50 мМ Трис-HCl буфере (pH 7,6) до требуемой концентрации. Контрольные пробы содержали то же количество ДМСО.

Количество образовавшегося cGMP (15 мин при 37°C) определяли иммуноферментным (ELISA) методом с использованием наборов реактивов для количественного определения cGMP ("Медицина. Аналитика. Ветеринария", Россия). Белок определяли по методу Bradford [18]. Все использованные реактивы максимально доступной чистоты были фирмы "Sigma" (США). Арбидол (этиловый эфир 1-метил-2-фенил-тиометил-4-диметиламинометил-5-окси-6-бромо-индол-3-карбоновая кислота) был синтезирован в научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (г. Москва).

Результаты обрабатывали статистически. Приведены средние значения из трёх-пяти независимых экспериментов ( $\pm$  стандартные отклонения)

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** На рисунке 1 приведены химические структуры 5-нитроизатина и арбидола. 5-Нитроизатин и арбидол в интервале концентраций от 0,1 до 10 мкМ не влияли на базальную активность растворимой гуанилатциклазы тромбоцитов человека, но потенцировали активацию фермента нитропруссидом натрия и спермин NONO. Наибольшее усиление индуцированной нитропруссидом натрия активации фермента достигалось при 10 мкМ концентрации 5-нитроизатина и арбидола (рис. 2). Поскольку SNP не является прямым NO-донором, мы исследовали эффекты обоих соединений (в их оптимальной 10 мкМ концентрации) на стимуляцию активности гуанилатциклазы спермин NONO в диапазоне его концентраций от 1 до 20 мкМ. 10 мкМ 5-нитроизатин или арбидол увеличивали индуцированную спермин NONO активацию гуанилатциклазы с примерно такой же интенсивностью, как и в опытах с YC-1 (3 мкМ) (рис. 3а). Известно, что синергичное увеличение активации растворимой гуанилатциклазы NO-донорами в присутствии YC-1 ассоциируется с взаимодействием YC-1 с аллостерическим центром растворимой гуанилатциклазы [19], усилением сродства NO к нитрозил-гемовому комплексу [20] и ингибированием диссоциации оксида азота от растворимой гуанилатциклазы [21]. Это приводит к сдвигу влево кривой зависимости активации фермента от концентрации NO-доноров. Как показано на рисунке 3б, 10 мкМ 5-нитроизатин и 10 мкМ арбидол вызывают сдвиг влево кривой зависимости активации фермента от концентрации NO-донора, как это наблюдалось в опытах с YC-1.

## ПОТЕНЦИРОВАНИЕ АКТИВАЦИИ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ ПРОИЗВОДНЫМИ ИЗАТИНА

Величины  $EC_{50}$  (концентрация равная половине максимальной, вызывающей наибольшее стимулирование активности гуанилатциклазы) для спермин NONO без, и в присутствии YC-1 (3 мкМ) или 5-нитроизатина или арбидола (по 10 мкМ) составляли 7,5, 3,0, 3,0 и 2,0, соответственно. Величины стимулированных активностей фермента в присутствии YC-1 (3 мкМ) и после добавления 5-нитроизатина или арбидола (по 10 мкМ) равнялись  $337 \pm 27$ ,  $325 \pm 26$  и  $273 \pm 26$  пмоль cGMP/мин на 1 мг белка, соответственно. На рисунке 4а показано, что синергичное увеличение индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы в присутствии YC-1 и после добавления (по отдельности) 5-нитроизатина и арбидола было практически одним и тем же. Добавление 5-нитроизатина и арбидола не влияет на сдвиг влево кривой зависимости активации фермента от концентрации NO-донора в присутствии YC-1 (рис. 4а). Величины  $EC_{50}$  для спермин NONO без и в присутствии YC-1 были равны 7,5 и 3,4 мкМ, а после добавления (по отдельности) 5-нитроизатина и арбидола – 3,6 и 3,4 мкМ, соответственно.

Поскольку 5-нитроизатин и арбидол являются производными изатина (рис. 1) мы исследовали влияние последнего на выявленную нами способность обоих соединений потенцировать индуцированную спермин NONO активацию растворимой гуанилатциклазы. Как показано на рисунке 5а добавление 10 нМ изатина, который тормозил NO-зависимую активацию растворимой гуанилатциклазы [11], не влияет на усиление индуцированной спермин NONO стимуляции гуанилатциклазы в присутствии 5-нитроизатина или арбидола. Изатин (10 нМ) не влияет и на сдвиг влево NO-зависимой концентрационной кривой, вызванный добавлением 5-нитроизатина и арбидола (рис. 5). Величины  $EC_{50}$  для спермин NONO без и в присутствии (по отдельности) 5-нитроизатина и арбидола были равны 7,5, 3,8 и 4,2, а после добавления изатина – 4,2 и 5,0, соответственно.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Открытие YC-1, NO-независимого активатора растворимой гуанилатциклазы, способного усиливать NO-зависимую активацию этого фермента, привлекло к себе большое внимание и стимулировало поиск новых соединений, способных увеличивать стимуляцию гуанилатциклазы физиологическим активатором NO, нитровазодилаторами и другими NO-донорами.

5-Нитроизатин является простейшим производным эндогенного индола изатина. Арбидол содержит в своей молекуле индольное кольцо, составляющее основу молекулы изатина и потому может рассматриваться как соединение, являющееся производным изатина. Арбидол – противовирусный препарат, который оказывает иммуномодулирующее и противогриппозное действие и успешно используется для профилактики и раннего лечения гриппа [22].

Представленные в настоящей работе результаты впервые демонстрируют, что 5-нитроизатин и арбидол (в интервале концентраций от 0,1 до 10 мкМ) не влияют на базальную активность гуанилатциклазы, но потенцируют концентрационно-зависимым образом индуцированную спермин NONO активацию этого фермента. 5-нитроизатин и арбидол (по аналогии с YC-1) повышают чувствительность растворимой гуанилатциклазы к оксиду азота (рис. 3а) и приводят к сдвигу влево кривой зависимости активации гуанилатциклазы от концентрации спермин NONO (рис. 3б). В то же время, 5-нитроизатин и арбидол не влияют на усиление индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы в присутствии YC-1 (рис. 4а) и не изменяют активации фермента YC-1. Таким образом, эффекты 5-нитроизатина и арбидола не аддитивны YC-1. Это позволяет предположить, что соединения действуют аналогично YC-1.

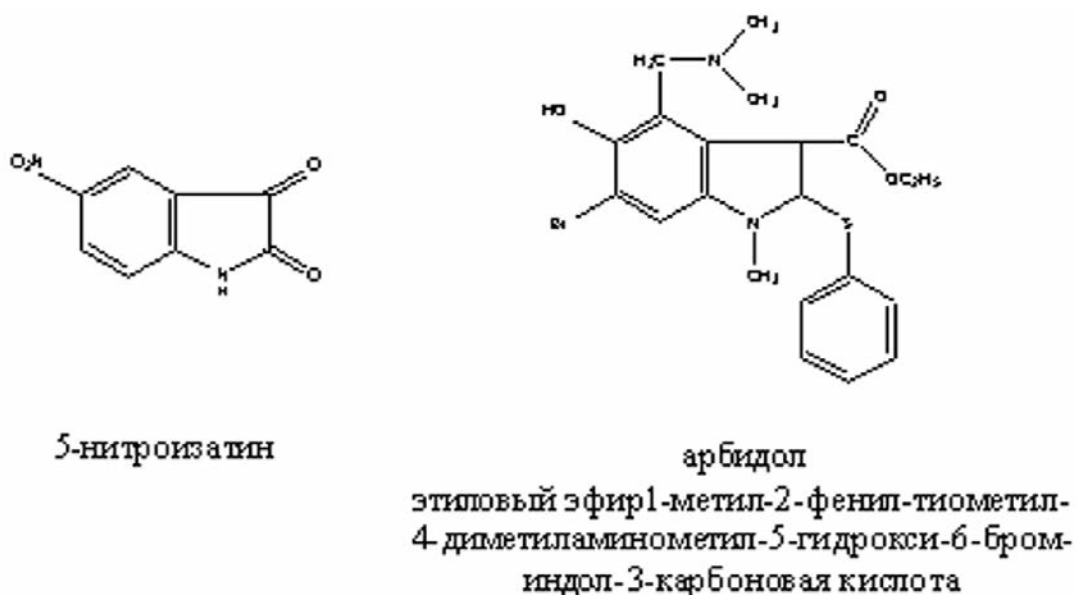


Рисунок 1.

Структурные формулы 5-нитроизатина и арбида.

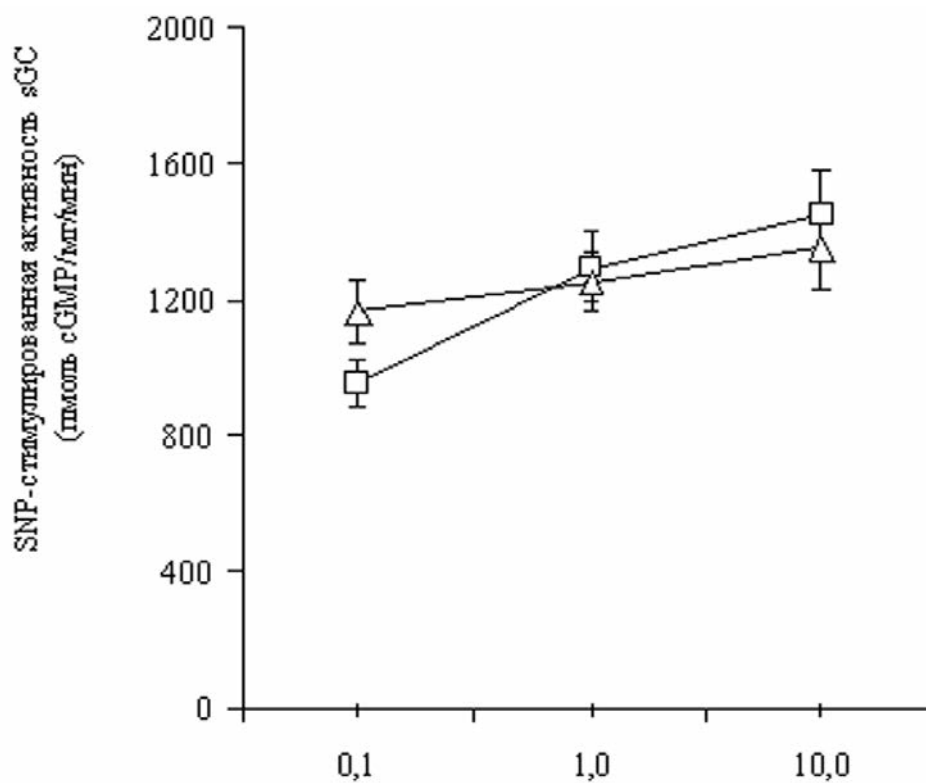


Рисунок 2.

Влияние увеличивающихся концентраций 5-нитроизатина и арбида на активность растворимой гуанилатциклазы (sGC) тромбоцитов человека стимулированную нитропруссидом натрия (SNP).

Стимулированная SNP (10 мкМ) активность sGC в присутствии увеличивающихся концентраций 5-нитроизатина (□) и арбида (△). Ордината: стимулированная SNP (10 мкМ) активность sGC (пмоль cGMP /мин/ мг белка). Абсцисса: концентрация соединений в пробе (-log M). Базальная активность равна  $105 \pm 5$  (пмоль cGMP /мин/ мг белка); стимулированная SNP (10 мкМ) -  $743 \pm 52$  (пмоль cGMP /мин/ мг белка).

Приведены средние значения из трёх независимых экспериментов  $\pm$  стандартные отклонения.



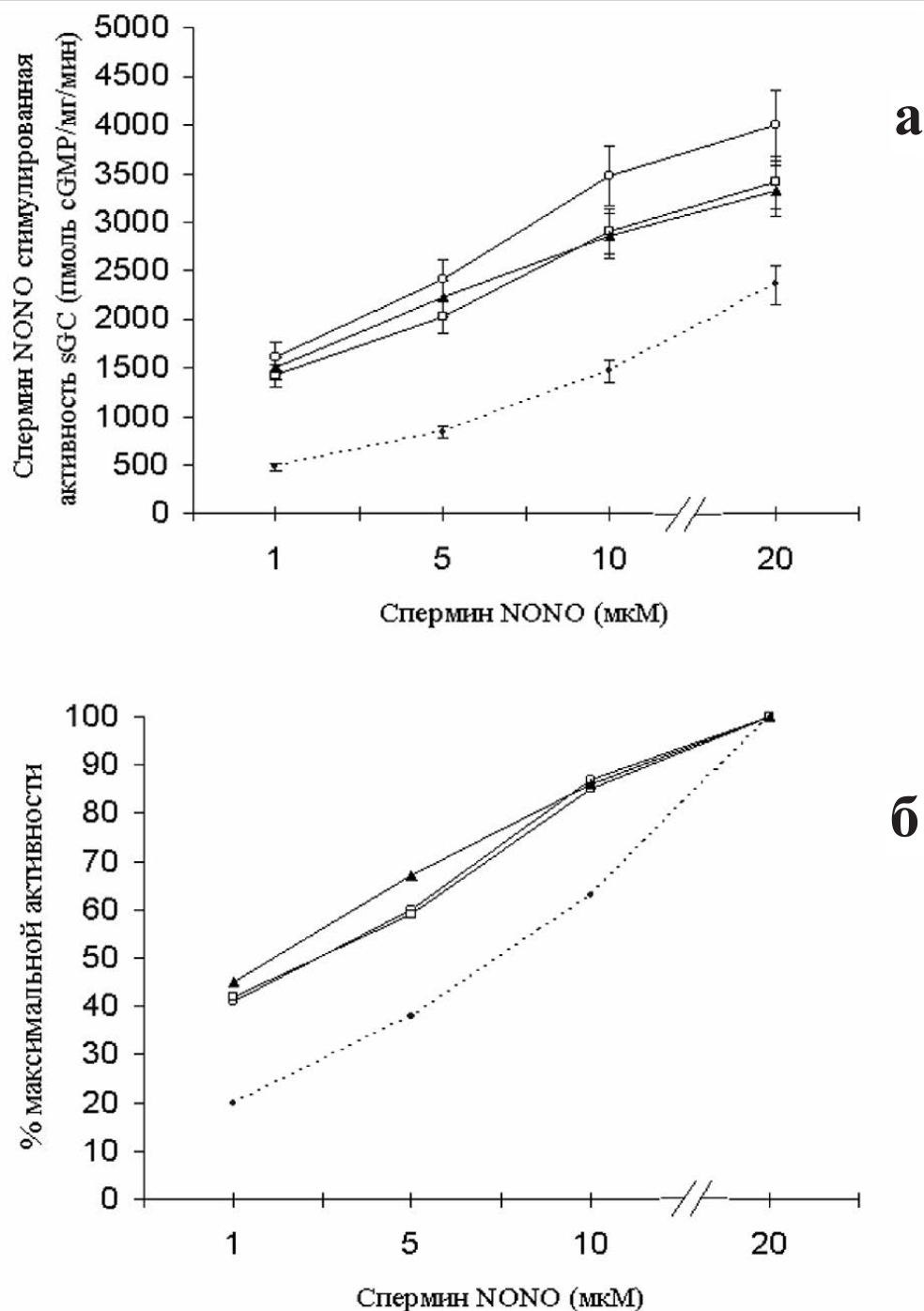


Рисунок 3.

Влияние 5-нитроизатина и арбидола на стимуляцию растворимой гуанилатциклазы (sGC) тромбоцитов человека спермин NONO.

а) увеличивающиеся концентрации NO-донора, спермин NONO добавлены в отсутствии (●) или присутствии YC-1 (○) (3 мкМ) или 5-нитроизатина (□) или арбидола (▲) (по 10 мкМ). Ордината: стимулированная спермин NONO активность sGC (пмоль cGMP/мин/ мг белка).

б) изменение величин EC50 кривых зависимости активации гуанилатциклазы от концентрации спермин NONO в отсутствии (●) и после добавления (по отдельности) YC-1 (○) (3 мкМ), 5-нитроизатина (□) и арбидола (▲) (по 10 мкМ).

Ордината: % максимальной активности. Абсцисса: концентрации спермин NONO (мкМ).

Базальная активность равна  $120 \pm 10$  (пмоль cGMP/мин/мг белка).

Приведены средние значения из 3-4 независимых экспериментов  $\pm$  стандартные отклонения.

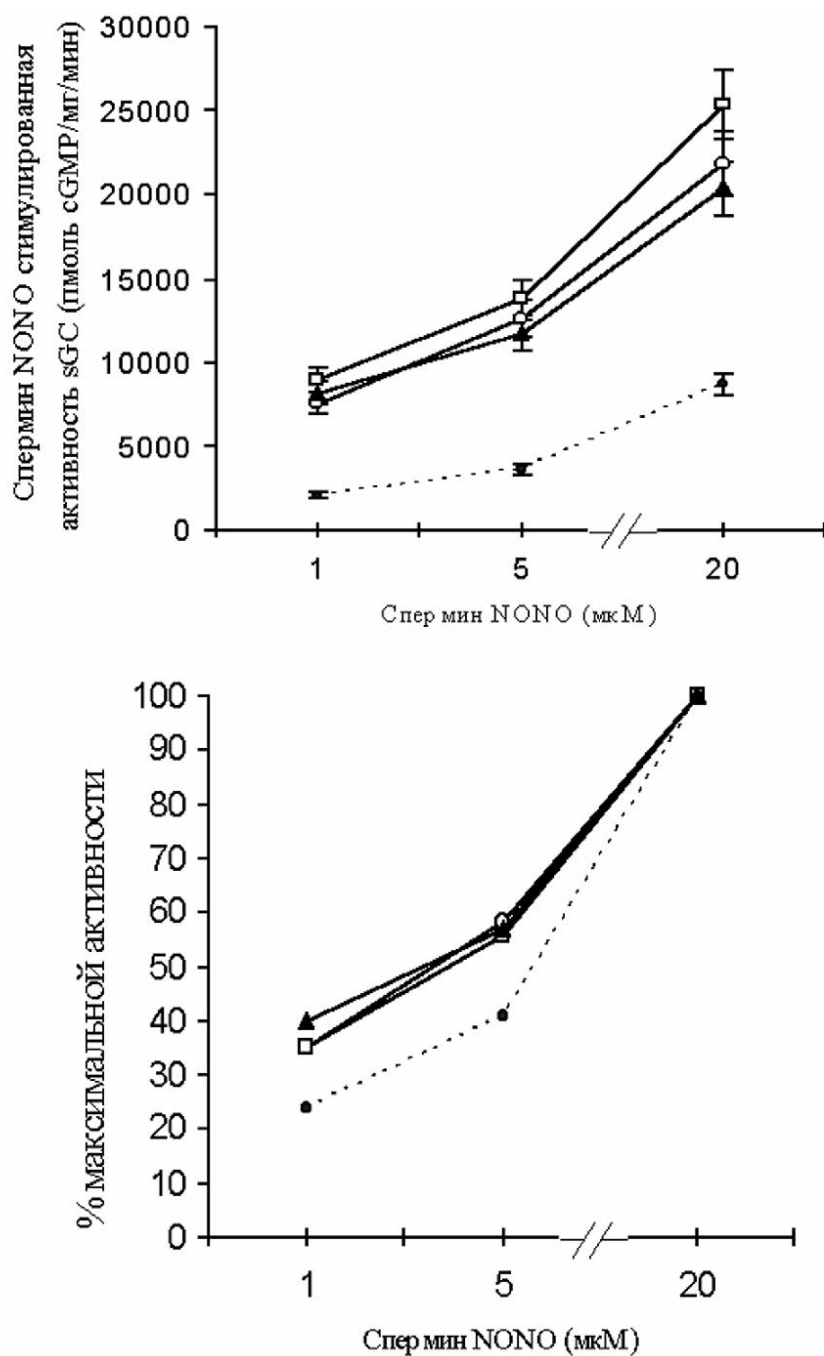


Рисунок 4.

Влияние 5-нитроизатина и арбидола на потенцирование индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы (sGC) тромбоцитов человека YC-1.

а) увеличивающиеся концентрации NO-донора, спермин NONO в отсутствии (●) и в присутствии 3 мкМ YC-1 (○), или 3 мкМ YC-1 после добавления 5-нитроизатина (□), или арбидола (▲) (по 10 мкМ). Ордината: стимулированная спермин NONO активность sGC (пмоль cGMP/ мин/мг белка).

б) изменение величин EC50 кривых зависимости активации гуанилатциклазы от концентрации спермин NONO в отсутствии (●) и в присутствии 3 мкМ YC-1 (○), или 3 мкМ YC-1 после добавления 5-нитроизатина (□) и арбидола (▲) (по 10 мкМ). Ордината: % максимальной активности. Абсцисса: концентрация спермин NONO (мкМ).

Базальная активность равна  $70 \pm 5$  (пмоль cGMP/мин/мг белка).

Приведены средние значения из трёх независимых экспериментов  $\pm$  стандартные отклонения.

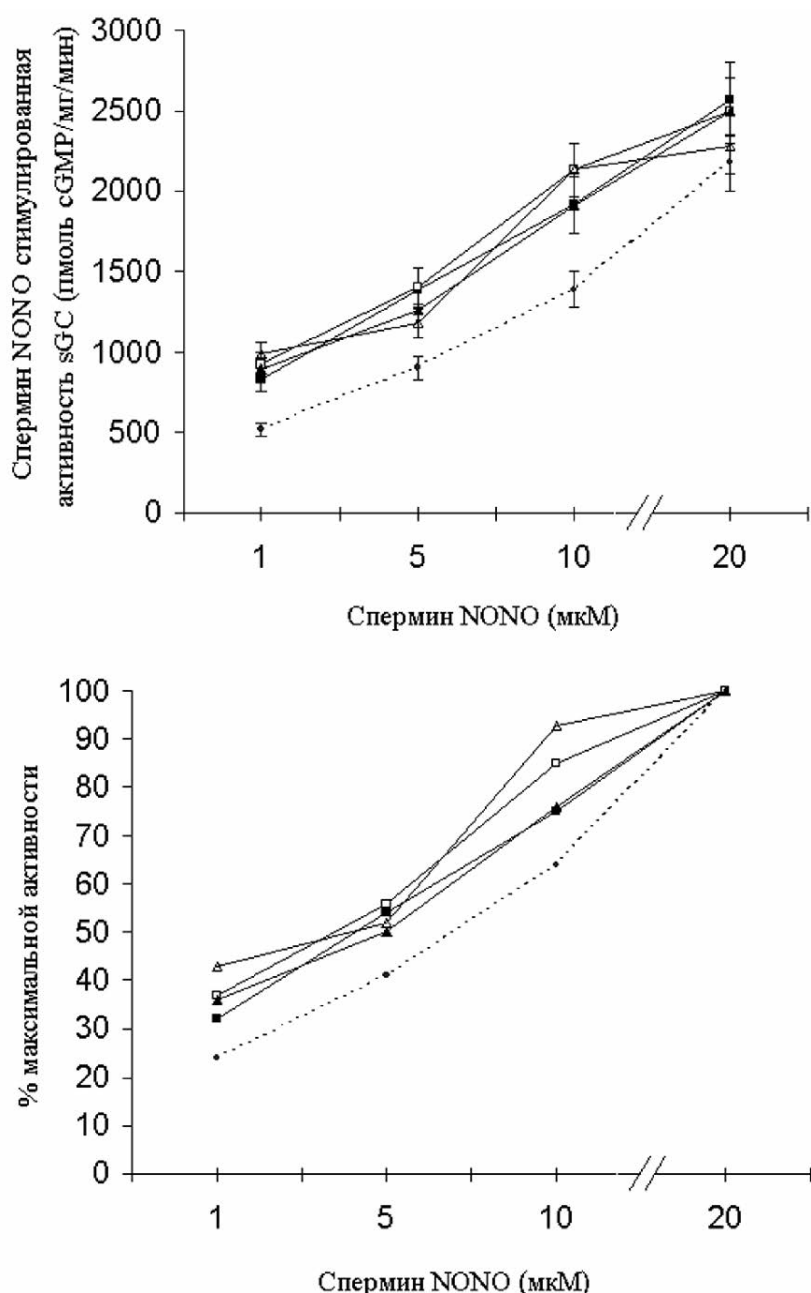


Рисунок 5.

Влияние изатина на потенцирование индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы (sGC) тромбоцитов человека в присутствии 5-нитроизатина и арбидола.

а) увеличивающиеся концентрации NO-донора, спермин NONO в отсутствии (●) и в присутствии 5-нитроизатина (□), или 5-нитроизатина после добавления изатина (■) и арбидола (△), или арбидола после добавления изатина (▲) (по 10 мкМ).

Ордината: стимулированная спермин NONO активность sGC (пмоль сGMP/мин/мг белка).

б) сравнение величин  $EC_{50}$  кривых зависимости активации гуанилатциклазы от концентрации спермин NONO в отсутствии (●) и в присутствии 5-нитроизатина (□), или 5-нитроизатина после добавления изатина (■) и арбидола (△), или арбидола после добавления изатина (▲) (по 10 мкМ).

Ордината: % максимальной активности. Абсцисса: концентрация спермин NONO (мкМ).

Базальная активность равна  $57 \pm 4$  (пмоль сGMP/мин/мг белка).

Приведены средние значения из трёх независимых экспериментов  $\pm$  стандартные отклонения.



Изатин является составной частью различных природных и синтетических соединений, в том числе и лекарственных препаратов, обладающих широким спектром эффектов [4-7]. Поэтому, вполне возможна конкуренция этих терапевтических агентов с эндогенным изатином. Однако, в наших экспериментах изатин практически не влиял ни на усиление индуцированной спермин NONO активации растворимой гуанилатциклазы в присутствии 5-нитроизатина и арбидола (рис. 5а), ни на сдвиг влево кривой зависимости активации фермента от концентрации NO-донора, полученного после добавления 5-нитроизатина и арбидола (рис. 5б). Это позволяет предположить, что эндогенный изатин не будет влиять на регуляцию NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы фармакологическими препаратами, содержащими модифицированную молекулу изатина. Несмотря на то, что арбидол действует на уровне клеточных мембран и препятствует проникновению вирусов в клетку, он тем не менее быстро адсорбируется, распределяется по органам и тканям и обнаруживается в плазме крови [22]. Следовательно, арбидол может взаимодействовать с растворимой гуанилатциклазой. Впервые выявленная способность арбидола усиливать (аналогично YC-1) NO-зависимую активацию растворимой гуанилатциклазы, а также длительное, как правило, лечение этим препаратом может привести к появлению дополнительных побочных эффектов, связанных с усилением NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы. Это обстоятельство следует принимать во внимание.

Данная работа частично поддержана грантом РФФИ (№ 12-04-00942-а).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Watkins P., Clow A., Glover V., Halket J., Przyborowska A.M., Sandler M. (1900) *Neurochem. Int.*, **17**, 321-323.
2. Medvedev A.E., Glover V. (2004) *Neurotoxicology*, **20**, 185-192.
3. Medvedev A.E., Buneeva O.A., Glover V. (2007) *Biologics: Targets and Therapy*, **2**, 1-12.
4. Chapman J.G., Magee W.P., Stukenbrok H.A., Beckius G.E., Mulici A.E., Tracey W.R. (2002) *Eur. J. Pharmacol.*, **456**, 59-68.
5. Verma M., Pandeya S.N., Singh K.N., Stables J.P. (2004) *Acta Pharm.*, **54**, 49-56.
6. Shriram D., Yodeswari T.I., (2004) *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **8**, 565-577.
7. Choan Z.H., Pervez H., Rauf A., Khan K.M., Supuran C.T. (2004) *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **19**, 417-423.
8. Lee D., Long S.A., Murray J.H., Adams J.L., Nuttal M.E., Nadeau D.P. (2001) *J. Med. Chem.*, **44**, 2015-2026.
9. Medvedev A.E., Sandler M., Glover V. (1998) *Eur. J. Pharmacol.*, **384**, 239-241.
10. Medvedev A., Crameyrolle-Arias M., Cardona A., Sandler M., Glover V. (2005) *Brain Res.*, **1042**, 119-124.
11. Medvedev A.E., Bussygina O.G., Pyatakova N.V., Glover V., Severina I.S. (2002) *Biochem. Pharmacol.*, **63**, 763-766.
12. Ignarro L.J., Napoli C., Loscalzo J. (2002) *Circ. Res.*, **90**, 21-28.
13. Lucas K.S., Pitari G.M., Kazerounian S., Ruitz-Stewart I., Park J., Schultz S., Chepenic K.P., Waldman S.A. (2000) *Pharmacol. Rev.*, **52**, 375-413.

14. *Kotz A.Y., Martin E., Sharina I.G., Murad F.* (2009) *Hand Exp. Pharmacol.*, **191**, 1-14.
15. *Hobbs A.J.* (2002) *Br. J. Pharmacol.*, **136**, 637-640.
16. *Чирков Ю.Ю., Тыщук И.А., Балушкина Н.Н., Северина И.С.* (1987) *Биохимия*, **52**, 956-963.
17. *Garbers D.S., Murad F.* (1979) *Adv. Cycl. Nucl. Res.*, **10**, 57-67.
18. *Bradford H.M.* (1976) *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
19. *Lamothe M., Chang Fu-Jung., Balashova N., Shirokov R., Beuve A.* (2004) *Biochemistry*, **43**, 3039-3048.
20. *Russwurm M., Mergia M., Mullershausen E., Koesling D.* (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 24883-24888.
21. *Berends S.* (2003) *Current. Med. Chem.* **10**, 291-301.
22. *Leneva I.A., Russell R.J., Boriskin Y.S., Hay A.J.* (2009) *Antiviral Research*, **81**, 132-140.

Поступила: 18. 01. 2012.

**POTENTIATION OF NO-DEPENDENT ACTIVATION OF SOLUBLE GUANYLYL CYCLASE BY 5-NITROISATIN AND ANTIVIRAL PREPARATION ARBIDOL**

*I.S. Severina, A.Yu. Schegolev, A.E. Medvedev*

Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia; fax: (499)245-0857; e-mail: professor57@yandex.ru

Isatin (indole-dione) is an endogenous indole that exhibits a wide range of biological and physiological activity. The influence of isatin derivatives 5-nitroisatin and arbidol (an antiviral preparation) on spermine NONO-induced activation of human platelet soluble guanylyl cyclase was investigated. 5-nitroisatin and arbidol had no effect on basal activity, but synergistically increased in a concentration-dependent manner the spermine NONO-induced activation of this enzyme. 5-Nitroisatin and arbidol, like YC-1, sensitized guanylyl cyclase towards nitric oxide (NO) and produced a leftward shift of the spermine NONO concentration response curve. At the same time both compounds used did not influence the activation of guanylyl cyclase by YC-1 and did not change the synergistic increase of spermine NONO-induced activation of soluble guanylyl cyclase in the presence of YC-1. This suggests that 5-nitroisatin and arbidol did not compete with YC-1. Addition of isatin did not change the synergistic increase in the spermine NONO-induced guanylyl cyclase activation by 5-nitroisatin and arbidol and did not influence a leftward shift of spermine NONO concentration response curve produced by these compounds. These data suggest lack of competitive interaction between isatin and both its derivatives used.

**Key words:** soluble guanylyl cyclase, nitric oxide, YC-1, 5-nitroisatin, arbidol, potentiation of activation.