



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-180-186>
УДК 616.894-053.8-092.9:547.979.4:615.038

Антиоксидантная активность триметокси-замещенных монокарбонильных аналогов куркумина в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера у крыс Wistar

Д.И. Поздняков^{1,2}, А.А. Вихорь¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России),

357532, Российская Федерация, Пятигорск, пр. Калинина, 11

² Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства» (Пятигорский ГНИИК ФГБУ ФНКЦ МРИК ФМБА России),

357501, Российская Федерация, Пятигорск, пр. Кирова, 30

Аннотация

Введение. Болезнь Альцгеймера (БА) – терминальная форма деменции, лечение которой представляет собой значимую медицинскую проблему, что требует разработки новых лекарственных средств для коррекции данного состояния. Одной из таких перспективных групп могут являться антиоксиданты.

Цель исследования: в условиях экспериментальной БА оценить антиоксидантные свойства монокарбонильных аналогов куркумина.

Материал и методы. БА моделировали у крыс Wistar обоего пола путем введения агрегатов $A\beta_{1-42}$ в СА1 часть гиппокампа животных. Анализируемые соединения (1Е, 4Е)-1,5-бис (3,4,5-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он и (1Е, 4Е)-1,5-бис (2,4,6-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он в дозе 20 мг/кг перорально и донепезил в дозе 50 мг/кг перорально вводили на протяжении 30 дней с момента операции. По истечении указанного времени у крыс в ткани гиппокампа оценивали изменение активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы, определяли изменение концентрации митохондриального пероксида водорода и активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой.

Результаты. В ходе исследования было показано, что применение анализируемых соединений и препарата сравнения способствовало повышению активности антиоксидантных ферментов в ткани гиппокампа у крыс, как у самок, так и самцов. При этом у животных, которым вводили (1Е, 4Е)-1,5-бис (3,4,5-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он и (1Е, 4Е)-1,5-бис (2,4,6-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он, активность супероксиддисмутазы достоверно ($p < 0,05$) увеличилась по отношению к группе животных получавших донепезил. На фоне введения анализируемых веществ было установлено снижение концентрации митохондриального пероксида водорода и активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, которая была достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем в случае применения донепезила.

Заключение. Изучаемые монокарбонильные аналоги куркумина оказывают антиоксидантное действие в условиях экспериментальной БА, превосходя при этом препарат сравнения донепезил. На основании полученных данных можно предполагать актуальность дальнейших исследований, анализирующих монокарбонильные куркуминоиды в качестве средств патогенетической терапии БА.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; окислительный стресс; нейропротекция; куркуминоиды; крысы.

Финансирование: исследование не имело сторонней финансовой поддержки.

Соответствие принципам этики: концепция работы была одобрена локальным этическим комитетом Пятигорского медико-фармацевтического института (протокол № 8 от 07.07.2023 г.), соответствовала положениям Директивы ЕС 2010/63 и принципам ARRIVE 2.0.

Для цитирования: Поздняков Д.И., Вихорь А.А. Антиоксидантная активность триметокси-замещенных монокарбонильных аналогов куркумина в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера у крыс Wistar. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2024;39(4):180–186. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-180-186>.

Поздняков Дмитрий Игоревич, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru.

Antioxidant activity of trimethoxy-substituted monocarbonyl analogues of curcumin in experimental Alzheimer's disease in Wistar rats

Dmitriy I. Pozdnyakov^{1, 2}, Anastasiya A. Vichor¹

¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia (PMPI),
11, Kalinina Ave., Pyatigorsk, 357532, Russian Federation

²Pyatigorsk State Research Institute of Balneology, branch of the Federal Scientific and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia (PSRIB),
30, Kirova Ave., Pyatigorsk, 357501, Russian Federation

Abstract

Introduction. Alzheimer's disease is a terminal form of dementia, the treatment of which is a significant medical problem, which requires the development of new drugs to correct this condition. Antioxidants may be one of such promising groups.

Aim: To assess the antioxidant properties of monocarbonyl analogues of curcumin in the conditions of experimental Alzheimer's disease.

Material and Methods. Alzheimer's disease was modeled in Wistar rats of both genders by injection A β_{1-42} aggregates into the CA1 part of the hippocampus of animals. The analyzed compounds are (1E, 4E)-1.5-bis (3,4,5-trimethoxyphenyl) penta-1,4-diene-3-one and (1E, 4E)-1.5-bis (2,4,6-trimethoxyphenyl) penta-1,4-diene-3-one at a dose of 20 mg/kg orally and the reference donepezil at a dose of 50 mg / kg, orally was administered for 30 days from the moment of surgery. After this time, changes in the activity of endogenous antioxidant defense enzymes: superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase were evaluated in rats in hippocampal tissue, and changes in the concentration of mitochondrial hydrogen peroxide and active products reacting with 2-thiobarbituric acid were also determined.

Results. During the study, it was shown that the use of the analyzed compounds and the reference contributed to an increase in the activity of antioxidant enzymes in hippocampal tissue in rats. At the same time, in animals (both sexes) treated by (1E, 4E)-1.5-bis (3,4,5-trimethoxyphenyl) penta-1,4-diene-3-one and (1E, 4E)-1.5-bis (2,4,6-trimethoxyphenyl) penta-1,4-diene-3-one, the activity of superoxide dismutase was higher ($p < 0.05$), than in animals treated by donepezil. Also, administration of the analyzed substances, a decrease in the concentration of mitochondrial hydrogen peroxide and active products reacting with 2-thiobarbituric acid was found, which was significantly ($p < 0.05$) lower when donepezil were administered.

Conclusion. The study showed that the monocarbonyl analogues of curcumin have an antioxidant effect in the conditions of experimental Alzheimer's disease, while surpassing the reference donepezil. Based on the obtained data, it is reasonable to assume the relevance of further studies analyzing monocarbonyl curcuminoids as a remedies of pathogenetic therapy of Alzheimer's disease.

Keywords:	Alzheimer's disease; oxidative stress neuroprotection; curcuminoids; rats.
Funding:	the study had no outside financial support.
Compliance with ethical standards:	the work was approved by the Local Ethical Committee of the Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute (Protocol No. 8 of 07.07.2023), complied with the provisions of the EU Directive 2010/63 and the principles of ARRIVE 2.0.
For citation:	Pozdnyakov D.I., Vichor A.A. Antioxidant activity of trimethoxy-substituted monocarbonyl analogues of curcumin in experimental Alzheimer's disease in Wistar rats. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2024;39(4):180–186. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-4-180-186 .

Введение

Окислительный стресс представляет собой «универсальный» патофизиологический механизм, лежащий в основе патогенеза многочисленных, в том числе нейро-дегенеративных, заболеваний. В частности было показано, что окислительный стресс играет важную роль в прогрессировании болезни Альцгеймера (БА). Известно, что клетки головного мозга чрезвычайно чувствительны к действию активных форм кислорода (АФК) и, соот-

ветственно, склонны к окислительному повреждению [1]. Такая чувствительность головного мозга к окислительной модификации определяется такими факторами, как высокий уровень метаболической активности (генерация митохондриальных АФК), большое количество полиненасыщенных жирных кислот и окислительно-восстановительных реакций, обеспечивающих нейротрансмиттинг [1].

Митохондриальные АФК образуются как результат делеции электронов на уровне суперкомплексов дыха-

тельной цепи I (НАДН-дегидрогеназа) и III (убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза). В результате образуются митохондриальный пероксид водорода, синглетный кислород, гидроксильный радикал и супероксид-анион радикал. Важно, что дисфункция комплекса III приводит к образованию АФК как в митохондриальном матриксе, так и в межмембранном пространстве. Главным немитохондриальным источником АФК являются ферменты группы НАДФ-оксидаз, прежде всего НАДФ-оксидаза 4 [2].

Несмотря на то, что АФК выполняют множество физиологических функций, включая внутриклеточный мессенджеринг, участие в деполяризации и выживаемости нейронов, прежде всего гиппокампа, их избыток инициирует ряд патогенетических событий, приводящих к нейродегенерации при БА. Так, АФК вызывают выброс глияльными клетками провоспалительных цитокинов и хемокинов, истощают запасы тиоловых групп, вторично вызывают митохондриальную дисфункцию, что истощает резервы АТФ, инактивируют мембранные АТФазы [3]. Также стоит отметить, что снижение ресурсов внутриклеточного АТФ как эндогенного гидротропного соединения способствует самоагрегации патологичных форм белков, прежде всего β -амилоида и тау-протеина, с образованием характерных для БА нейрофибриллярных включений [4].

Однако необходимо подчеркнуть, что высокие патогенные свойства АФК наблюдаются только в условиях нарушения активности системы антиоксидантной защиты клетки представленными ферментами – супероксиддисмутазой (СОД), глутатионпероксидазой (ГП), каталазой. Учитывая, что АФК и окислительный стресс играет существенную роль в патогенезе БА, многие терапевтические стратегии были направлены на коррекцию данного процесса [5].

Было показано, что антиоксидантами свойствами обладают препараты группы ингибиторов ацетилхолинэстеразы (донепезил, галантамин, ривастигмин, такрин), которые были одобрены для лечения БА. Также генерации АФК препятствует применение мемантина, что было доказано серией доклинических исследований. В то же время разработка новых антиоксидантов, предназначенных для терапии БА, ведется постоянно. Например, антиоксидантные свойства были продемонстрированы для ряда препаратов, применение которых при БА можно считать перспективным: α -токоферол, леналидомид, финголид, мелатонин. Полиоксометаллаты на основе церия, марганца и кобальта также проявляли антиоксидантную активность в условиях экспериментальной БА [5].

Ранее было показано, что некоторые монокарбонильные аналоги куркумина могут являться перспективными соединениями для патогенетической коррекции БА [6], в связи с чем при проведении настоящего исследования данные соединения были выбраны в качестве анализируемых.

Цель исследования: в условиях экспериментальной БА оценить антиоксидантные свойства монокарбонильных аналогов куркумина.

Материал и методы

Работа выполнена на 100 половозрелых крысах Wistar обоего пола (самцы и самки) массой тела 220–240 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Россия). Во время эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария в по-

липропиленовых клетках по 5 особей. Полнорационный гранулированный корм и водопроводную воду животные получали *ad libitum*. В качестве подстилки использовали гранулированную фракцию твердых пород древесины, которую меняли не реже одного раза в 3 дня. Условия содержания животных: температура окружающего воздуха – 22 ± 2 °С, относительная влажность – 55–65% при 12 циклах день / ночь. Инвазивные процедуры выполнены под хлоралгидратной анестезией (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата (PanReac Applichem, Испания) в дозе 350 мг/кг). Эвтаназию животных осуществляли после анестезии и забора биоматериала путем цервикальной дислокации. Концепция работы одобрена локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол № 8 от 07.07.2023 г.), соответствовала положениям Директивы ЕС 2010/63 и принципам ARRIVE 2.0.

БА воспроизводили у крыс путем прямого введения фрагментов β -амилоида 1–42 ($A\beta_{1-42}$) в СА1 часть гиппокампа (стереотаксические координаты: переднезадняя – 3,8 мм, медиально-латеральная – 2 мм, дорсально-вентральная – 2,6 мм от брегмы). Агрегаты $A\beta_{1-42}$ (Sigma-Aldrich, Германия) получали путем растворения $A\beta_{1-42}$ в смеси диметилсульфоксида (Вектон, Россия) и фосфатно-солевого буферного раствора (рН 7,4) в соотношении 1 : 10 при температуре 4 °С и непрерывном перемешивании. Агрегаты $A\beta_{1-42}$ вводили анестезированным хлоралгидратом животным при помощи микродозатора с иглой G30 в конечной концентрации 1 ммоль/л в объеме 5 мкл. Игла оставалась в месте инъекции в течение 5 мин, после чего ее извлекали. Рану ушивали и обрабатывали 10% раствором повидон-йода [7].

В ходе эксперимента животных разделяли на 5 равных групп ($n = 20$ каждая группа, 10 самок и 10 самцов): ЛО – ложнооперированные животные, к которым применялись все последовательные операционные манипуляции за исключением введения $A\beta_{1-42}$; НК – негативный контроль (группа с экспериментальной БА, но без лечения); донепезил – группа с экспериментальной БА, получавшая донепезил (Алзепил®, ЗАО Эгис Фармацевтический завод, Российская Федерация) в дозе 50 мг/кг [6]; AZBAX4 – группа с экспериментальной БА, получавшая анализируемое соединение (1Е, 4Е)-1,5-бис (3,4,5-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он в дозе 20 мг/кг [6]; AZBAX6 – группа с экспериментальной БА, получавшая анализируемое соединение (1Е, 4Е)-1,5-бис (2,4,6-триметоксифенил) пента-1,4-диен-3-он в дозе 20 мг/кг [6]. Изучаемые соединения и препарат сравнения вводили перорально через атравматичный зонд в виде тонкодисперсной суспензии на протяжении 30 дней с момента операции.

После указанного времени крыс декапитировали, извлекали головной мозг и отделяли гиппокамп, который гомогенизировали в буферном растворе, состоящем из 1% раствора бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, Германия) + 215 ммоль маннита (Sigma-Aldrich, Германия) + 1 ммоль этиленгликольтетраацетата натрия (Sigma-Aldrich, Германия) + 75 ммоль сахарозы (Sigma-Aldrich, Германия) + 20 ммоль 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты (Sigma-Aldrich, Германия). Гомогенат центрифугировали (центрифуга CM-50, ELMi, Латвия) в течение 2 мин при 1100 g. В полученном супернатанте оценивали изменение активности СОД, ГП, каталазы, концентрации митохондриального пероксида водорода ($MitoH_2O_2$) и активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП).

Активность СОД оценивали спектрофотометрически при 505 нм ксантин-ксантинооксидазным методом, основанном на реакции восстановления 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолия хлорида в формазан и дисмутации супероксидного радикала, образующегося в ходе окисления ксантина [8]. Активность ГП определяли при 340 нм по убыли НАДФН в сопряженной глутатионредуктазной реакции [9]. Активность каталазы оценивали спектрофотометрически по методу Эби путем измерения уменьшения поглощения раствора H_2O_2 при 240 нм [10]. Активность анализируемых ферментов выражали в Ед/мг белка. Содержание белка оценивали по методу Бредфорда, основанному на спектрофотометрической детекции изменения оптической плотности раствора красителя Coomassie brilliant Blue G-250 (Sigma-Aldrich, Германия).

Концентрацию $MitoH_2O_2$ (нмоль/мл) определяли с использованием стандартного набора реагентов Amplex Red (ThermoFisher Scientific, Германия). Содержание ТБК-АП оценивали спектрофотометрическим методом при 532 нм. в реакции конденсации с 2-тиобарбитуровой кислотой и выражали в мкмоль/мг белка [11].

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса StatPlus 7.0 (AnalystSoft Inc., США, лицензия 16887385). Полученные данные проверяли на нормальность распределения по критерию Шапиро – Уилка. Для

сравнения средних значений количественных показателей в независимых группах применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорными парными сравнениями по критерию Ньюмена – Кейлса или критерий Краскела – Уоллиса с апостериорными парными сравнениями по критерию Данна. Парные сравнения показателей в 4 экспериментальных группах и в группе ЛО крыс осуществляли с помощью критерия Даннета. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял $p = 0,05$.

Результаты

Влияние анализируемых соединений и донепезила на изменение про / антиоксидантного баланса в ткани гиппокампа у крыс самцов с экспериментальной БА

В ходе анализа изменения активности СОД (табл. 1) было установлено, что у НК группы крыс самцов данный показатель был достоверно меньше, чем у ЛО животных на 72,5% ($p < 0,05$). Применение донепезила, а также соединений AZBAX4 и AZBAX6 способствовало повышению активности СОД в сравнении с НК группой крыс самцов на 54,4 ($p < 0,05$); 180,9 ($p < 0,05$) и 174,3% ($p < 0,05$) соответственно. При этом активность СОД у животных, получавших AZBAX4 и AZBAX6, была выше по сравнению с аналогичным показателем у крыс, которым вводили донепезил, на 81,9 ($p < 0,05$) и 77,6% ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 1. Влияние анализируемых монокарбонильных аналогов куркумина и донепезила на изменение про / антиоксидантного баланса в ткани гиппокампа у крыс самцов с экспериментальной болезнью Альцгеймера

Table 1. The effect of the analyzed monocarbonyl analogues of curcumin and donepezil on the change in pro / antioxidant balance in hippocampal tissue in male rats with experimental Alzheimer's disease

Группа	ЛО	НК	Донепезил	AZBAX4	AZBAX6
Показатели					
СОД, Ед/мг белка	8,25 ± 0,39	2,27 ± 0,43#	3,5 ± 0,22#*	6,37 ± 0,44#*Δ	6,22 ± 0,37#*Δ
Каталаза, Ед/мг белка	0,73 ± 0,1	0,23 ± 0,09#	0,39 ± 0,07#*	0,46 ± 0,05#*	0,49 ± 0,04#*
$MitoH_2O_2$, нмоль/мг белка	0,75 ± 0,07	1,75 ± 0,2#	1,5 ± 0,10#*	1,11 ± 0,02#*Δ	1,1 ± 0,02#*Δ
ГП, Ед/мг белка	1,04 ± 0,12	0,4 ± 0,04#	0,65 ± 0,04#*	0,68 ± 0,07#*	0,72 ± 0,08#*
ТБК-АП, ммоль/мг белка	0,21 ± 0,05	1,63 ± 0,43#	1,49 ± 0,19#	0,86 ± 0,09#*Δ	0,92 ± 0,10#*Δ

Примечание: # – различия достоверны относительно ЛО группы животных (тест Даннета, $p < 0,05$); * – различия достоверны относительно НК группы животных (тест Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$); Δ – различия достоверны относительно группы животных, получавших донепезил (тест Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$). ЛО – ложнооперированные животные, НК – негативный контроль, СОД – супероксиддисмутаза, $MitoH_2O_2$ – митохондриальный пероксид водорода, ГП – глутатионпероксидаза, ТБК-АП – 2-тиобарбитуровая кислота.

Активность каталазы (см. табл. 1) у НК группы животных была на 68,1% ($p < 0,05$) ниже такового у ЛО крыс. В то же время введение животным донепезила, соединений AZBAX4 и AZBAX6 приводило к повышению активности каталазы по отношению к НК группе крыс самцов на 68,3 ($p < 0,05$); 99,3 ($p < 0,05$) и 112,2% ($p < 0,05$) соответственно.

У НК группы животных наблюдалось уменьшение активности ГП (см. табл.1) по отношению к ЛО крысам самцам на 61,4% ($p < 0,05$), тогда как у животных, получавших донепезил, AZBAX4 и AZBAX6 активность фермента была выше по сравнению с нелечеными крысами на 61,8 ($p < 0,05$); 70,1 ($p < 0,05$) и 78,0% ($p < 0,05$) соответственно.

Также стоит отметить, что у НК группы животных содержание $MitoH_2O_2$ (см. табл.1) было выше аналогичного у ЛО крыс в 2,4 раза ($p < 0,05$). На фоне введения донепезила, AZBAX4 и AZBAX6 концентрация $MitoH_2O_2$

уменьшилась относительно НК группы животных на 14,6; 36,7; 37,5% (для всех показателей $p < 0,05$). При этом у животных, получавших AZBAX4 и AZBAX6, содержание $MitoH_2O_2$ было меньше такового у крыс, которым вводили донепезил, на 25,9 ($p < 0,05$) и 26,8% ($p < 0,05$) соответственно.

Концентрация ТБК-АП (см. табл. 1) у НК группы крыс увеличилась в сравнении с ЛО животными в 7,8 раза ($p < 0,05$). На фоне введения соединений AZBAX4 и AZBAX6 наблюдалось снижение содержания ТБК-АП относительно нелеченых крыс на 47,1 ($p < 0,05$) и 43,8% ($p < 0,05$) соответственно, тогда как применение донепезила не оказало значимого влияния на изменение концентрации ТБК-АП. При этом содержание ТБК-АП у крыс, которым вводили AZBAX4 и AZBAX6, была достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем у животных, получавших донепезил, на 41,9 и 38,3% соответственно.

Влияние анализируемых соединений и донепезила на изменение про / антиоксидантного баланса в ткани гиппокампа у крыс самок с экспериментальной БА

Результаты данного экспериментального блока представлены в таблице 2.

У крыс самок НК группы активность СОД в ткани гиппокампа была ниже, чем у ЛО животных на 72,8% ($p < 0,05$), тогда как на фоне введения животным донепе-

зила, соединений AZBAX4 и AZBAX6 активность данного фермента повысилась в сравнении с НК группой крыс самок на 51,2 ($p < 0,05$); 197,5 ($p < 0,05$) и 201,7% ($p < 0,05$) соответственно. В то же время у крыс самок, которым вводили AZBAX4 и AZBAX6, активность СОД превосходила таковую у животных, получавших донепезил, на 96,2 ($p < 0,05$) и 98,9% ($p < 0,05$) соответственно. Активность СОД у крыс самок НК и ЛО групп была достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем у крыс самцов на 46,4 и 46,6% соответственно.

Таблица 2. Влияние анализируемых монокарбонильных аналогов куркумина и донепезила на изменение про / антиоксидантного баланса в ткани гиппокампа у крыс самок с экспериментальной болезнью Альцгеймера

Table 2. The effect of the analyzed monocarbonyl analogues of curcumin and donepezil on the change in pro / antioxidant balance in hippocampal tissue in female rats with experimental Alzheimer's disease

Группа	ЛО	НК	Донепезил	AZBAX4	AZBAX6
Показатели					
СОД, Ед/мг белка	4,42 ± 0,18 α	1,2 ± 0,28# α	1,82 ± 0,39#*	3,57 ± 0,12#* Δ	3,62 ± 0,15#* Δ
Каталаза, Ед/мг белка	1,04 ± 0,07	0,35 ± 0,05#	0,51 ± 0,03#*	0,59 ± 0,07#*	0,56 ± 0,09#*
MitoH ₂ O ₂ , нмоль/мг белка	0,81 ± 0,23	2,31 ± 0,35#	1,53 ± 0,11#*	1,06 ± 0,06#* Δ	1 ± 0,08#* Δ
ГП, Ед/мг белка	1,69 ± 0,11	0,49 ± 0,11#	0,9 ± 0,11#*	1,22 ± 0,13#*	1,28 ± 0,12#*
ТБК-АП, ммоль/мг белка	0,2 ± 0,07	1,23 ± 0,15#	0,92 ± 0,03#	0,63 ± 0,05#* Δ	0,66 ± 0,03#* Δ

Примечание: α – различия достоверны относительно крыс самцов (тест Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$); # – различия достоверны относительно ЛО группы животных (тест Даннета, $p < 0,05$); * – различия достоверны относительно НК группы животных (тест Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$); Δ – различия достоверны относительно группы животных, получавших донепезил (тест Ньюмена – Кейлса, $p < 0,05$). ЛО – ложнооперированные животные, НК – негативный контроль, СОД – супероксиддисмутаза, ГП – глутатионпероксидаза, ТБК-АП – 2-тиобарбитуровая кислота.

Активность каталазы у самок НК группы снизилась по отношению к ЛО крысам на 45,7% ($p < 0,05$). Применение донепезила способствовало повышению активности каталазы в сравнении с НК группой животных на 45,7% ($p < 0,05$), тогда как при применении AZBAX4 и AZBAX6 активность фермента повысилась на 68,6 ($p < 0,05$) и 60,0% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что достоверных отличий активности каталазы между крысами самцами и самками всех соответствующих экспериментальных групп установлено не было.

Активность ГП у крыс самок НК группы снизилась относительно ЛО животных на 71,0% ($p < 0,05$). На фоне введения крысам самкам донепезила, а также веществ AZBAX4 и AZBAX6 активность ГП увеличилась в сравнении с аналогичным показателем НК группы животных на 83,7 ($p < 0,05$); 149,0 ($p < 0,05$) и 161,2% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что активность ГП при применении соединений AZBAX4 и AZBAX6 на уровне тенденции была выше, чем у крыс самцов.

Анализируя изменение концентрации MitoH₂O₂, было установлено, что у НК группы крыс самок наблюдалось повышение данного показателя относительно ЛО животных в 2,9 раза ($p < 0,05$). В то же время на фоне введения донепезила, соединений AZBAX4 и AZBAX6 содержание MitoH₂O₂ уменьшилось относительно НК группы крыс самок на 25,2 ($p < 0,05$); 51,1 ($p < 0,05$) и 56,7% ($p < 0,05$) соответственно. При этом у крыс самок, получавших AZBAX4 и AZBAX6, концентрация MitoH₂O₂ была ниже таковой у животных, которым вводили донепезил, на 38,7 ($p < 0,05$) и 42,1% ($p < 0,05$) соответственно (см. табл. 2).

Содержание ТБК-АП у крыс самок НК группы было выше по отношению к ЛО животным в 6,5 раза ($p < 0,05$). На фоне применения веществ AZBAX4 и AZBAX6 концентрация ТБК-АП снизилась относительно НК группы крыс самок на 48,8 ($p < 0,05$) и 46,3% ($p < 0,05$) соответственно.

В то же время содержание ТБК-АП у животных, получавших AZBAX4 и AZBAX6, было ниже аналогичного у крыс самок, которым вводили донепезил, на 31,5 ($p < 0,05$) и 28,2% ($p < 0,05$) соответственно. Достоверных отличий в концентрации ТБК-АП между крысами самками и самцами, получавшими AZBAX4 и AZBAX6, установлено не было.

Обсуждение

БА – хроническое нейродегенеративное заболевание с угрожающими темпами распространения и летальности. В антирейтинге Всемирной организации здравоохранения среди 10 главных причин смертности БА занимает 7-е место, превосходя некоторые формы онкологических заболеваний. Высокая медицинская, социальная и экономическая составляющая данного заболевания делает необходимым разработку новых средств для лечения БА. При этом научные изыскания ведутся как в области таргетных иммунотерапевтических средств, нацеленных на А β (адуканумаб), так и в области изучения политаргетных соединений [12].

Одной из перспективных групп малых молекул, которые могут оказывать нейропротекторный эффект, в том числе при БА, являются монокарбонильные аналоги куркумина. Н. Hussain и соавт. (2021) продемонстрировали, что некоторые представители данной группы соединений проявляют антихолинэстеразные свойства, сопровождаемые улучшением пространственной памяти у животных [13]. Ранее проведенные исследования показали, что монокарбонил-замещенные куркуминоиды способствуют восстановлению митохондриальной функции в ткани головного мозга крыс самок с экспериментальной БА спорадического фенотипа [6], а также демонстрируют антиамилоидный потенциал в тесте *in vitro* [14]. Учитывая тесную патогенетическую взаимосвязь амилоидного каскада, митохондриальной дисфункции и окислительно-

го стресса при прогрессировании БА, можно предположить, что данные соединения будут проявлять высокую антиоксидантную активность. В данном исследовании продемонстрировано восстановление про / антиоксидантного баланса ткани гиппокампа крыс обоего пола с БА на фоне введения веществ AZBAX4 и AZBAX6. При этом необходимо отметить, что данные соединения превосходили препарат сравнения донепезил по степени влияния на изменение активности СОД и концентрации прооксидантов – MitoH_2O_2 . Донепезил известен прежде всего как антихолинэстеразное средство, одобренное для терапии БА. В то же время в литературе встречаются сведения о его плейотропных эффектах. Т.О. Obafemi и соавт. (2021) показали, что донепезил проявляет умеренную антиоксидантную активность, тогда как его сочетанное применение с природными антиоксидантами (в данном исследовании с галловой кислотой) кратно усиливает антиокислительные свойства [15]. Аналогично было продемонстрировано синергетическое взаимодействие донепезила и кофеина [16]. Кроме того, важным моментом действия анализируемых соединений является отсутствие значимых гендерных отличий. Так, только на уровне тенденции применение исследуемых монокарбонильных аналогов куркумина способствовало увеличению активности ГП у крыс самок по сравнению с самцами.

Также стоит отметить, что изучение класса монокарбонильных куркуминоидов в качестве потенциально эффективных антиоксидантных средств ведется достаточно давно. В ряде доклинических исследований продемонстрировано, что монокарбонил-замещенные аналоги куркумина способны подавлять окислительный стресс в условиях патологического процесса различной этиологии. В частности, Y. Zhao и соавт. (2021) показали, что курсовое применение гетероциклических куркуминоидов в условиях экспериментального пародонтита способствует уменьшению концентрации малонового диальдегида, что сопровождается повышением активности антиоксидантных ферментов. При этом авторы связывали антиоксидантную активность анализируемых ими соединений с подавлением гемоксигеназы 1 типа и увеличением интенсивности реакций внутриклеточного мессенджеринга, опосредованного эритроидным ядерным белком-фактором 2 [17].

Аналогично Н. Hussain и соавт. (2022) показали, что несколько низкомолекулярных монокарбонильных куркуминоидов проявляют антиоксидантную активность как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*. При этом авторами продемонстрировано, что изучаемые соединения *in vitro* проявляли высокую радикал-сквенджерную активность в DPPH-тесте, тогда как *in vivo* показано повышение активности каталазы, СОД и глутатиона, на фоне снижения перекисного окисления липидов, о чем свидетельствовало уменьшение концентрации малонового диальдегида. Важно отметить, что в данном исследовании антиоксидантные свойства монокарбонильных аналогов куркумина сопровождалось формированием нейропротективного действия, выражаемого в повышении когнитивных способностей животных в условиях экспериментальной БА [18].

Таким образом, результаты проведенного исследования сопоставимы с литературными данными и демонстрируют высокие антиоксидантные свойства монокарбонильных куркуминоидов. Необходимо подчеркнуть, что антиоксидантная активность аналогов куркумина находится в прямой взаимосвязи со структурой соединений. N. Hadzi-Petrushev и соавт. (2018) показали, что для проявления антиоксидантных свойств, в частности СОД-метической активности, в симметричную структуру монокарбонильных куркуминоидов необходимо включение электронодонорных заместителей, например, алкильного заместителя или метокси-группы, что ведет к смещению электронной плотности сопряженной π-системы с образованием стабильных органических радикалов, терминирующих свободнорадикальные процессы [19]. Учитывая, что соединения AZBAX4 и AZBAX6 представляют собой симметричные триметокси-замещенные структуры, высокая антиоксидантная активность данных веществ может быть объяснена положительным мезомерным эффектом метоксильных заместителей, что было описано ранее для группы монокарбонильных аналогов куркумина.

Стоит отметить, что положительный мезомерный эффект, реализуемый посредством электронодонорных химических группировок, оказывает влияние не только на проявление антиоксидантных свойств, но и на наличие противовоспалительной активности монокарбонильных куркуминоидов. Обширный обзор фармакологических свойств монокарбонильных аналогов куркумина, проведенный D. Shetty и соавт. (2015), показал, что бис-симметричные соединения с мезомерными заместителями в своей структуре проявляют выраженные противовоспалительные свойства. Причем данный эффект связан не с классическим механизмом – блокадой ферментов группы циклооксигеназы, а реализуется за счет подавления внутриклеточных сигнальных путей, запускаемых провоспалительными цитокинами и хемокинами, в частности фактором некроза опухоли-α [20]. В данном контексте дальнейшее изучение соединений AZBAX4 и AZBAX6 может быть сосредоточено на изучении их возможного противовоспалительного действия, что будет положительно отражаться на течении реакций нейровоспаления при БА.

Заключение

Проведенное исследование показало, что монокарбонильные аналоги куркумина AZBAX4 и AZBAX6 оказывают антиоксидантное действие у крыс с экспериментальной БА, выражаемое в восстановлении активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты и снижении количества прооксидантов. При этом анализируемые соединения превосходили по выраженности антиоксидантных свойств препарат сравнения донепезил. Принимая во внимание особенности структуры веществ AZBAX4 и AZBAX6, дальнейшее изучение данных соединений может быть сосредоточено на оценке их влияния на течение реакций нейровоспаления в условиях экспериментальной БА.

Литература / References

1. Dewanjee S., Chakraborty P., Bhattacharya H., Chacko L., Singh B., Chaudhary A. et al. Altered glucose metabolism in Alzheimer's disease: Role of mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2022;193(Pt_1):134–157. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.09.032.
2. Dhapola R., Beura S.K., Sharma P., Singh S.K., Hari Krishna Reddy D. Oxidative stress in Alzheimer's disease: current knowledge of signaling pathways and therapeutics. *Mol. Biol. Rep.* 2024;51(1):48. DOI: 10.1007/s11033-023-09021-z.
3. Tang B.L. Glucose, glycolysis, and neurodegenerative diseases. *J. Cell. Physiol.* 2020;235(11):7653–7662. DOI: 10.1002/jcp.29682.

4. Onaolapo O.J., Olofinnade A.T., Ojo F.O., Onaolapo A.Y. Neuroinflammation and oxidative stress in Alzheimer's disease; can nutraceuticals and functional foods come to the rescue? *Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem.* 2022;21(2):75–89. DOI: 10.2174/1871523021666220815151559.
5. Aborode A.T., Pustake M., Awuah W.A., Alwerdani M., Shah P., Yarlagaadda R. et al. Targeting oxidative stress mechanisms to treat Alzheimer's and Parkinson's disease: A critical review. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2022;2022:7934442. DOI: 10.1155/2022/7934442.
6. Поздняков Д.И., Вихорь А.А., Руковицина В.М., Оганесян Э.Т. Коррекция митохондриальной дисфункции триметокси-замещенными монокарбонильными аналогами куркумина в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера. *Фармация и фармакология.* 2023;11(6):471–481. Pozdnyakov D.I., Vikhor A.A., Rukovitsina V.M., Oganessian E.T. Correction of mitochondrial dysfunction with trimethoxy-substituted monocarbonyl curcumin analogues in experimental Alzheimer's disease. *Pharmacy & Pharmacology.* 2023;11(6):471–481. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-6-471-481.
7. Kim H.Y., Lee D.K., Chung B.R., Kim H.V., Kim Y. Intracerebroventricular injection of amyloid- β peptides in normal mice to acutely induce Alzheimer-like cognitive deficits. *J. Vis. Exp.* 2016;(109):53308. DOI: 10.3791/53308.
8. Mohideen K., Chandrasekaran K., Kareema M., Jeyanthi Kumari T., Dhungel S., Ghosh S. Assessment of antioxidant enzyme Superoxide Dismutase (SOD) in oral cancer: Systematic review and meta-analysis. *Dis. Markers.* 2024;2024:2264251. DOI: 10.1155/2024/2264251.
9. Rocha D.F.A., Machado-Junior P.A., Souza A.B.F., Castro T.F., Costa G.P., Talvani A. et al. Lycopene ameliorates liver inflammation and redox status in mice exposed to long-term cigarette smoke. *Biomed. Res. Int.* 2021;2021:7101313. DOI: 10.1155/2021/7101313.
10. Hadwan M.H., Hussein M.J., Mohammed R.M., Hadwan A.M., Saad Al-Kawaz H., Al-Obaidy S.S.M. et al. An improved method for measuring catalase activity in biological samples. *Biol. Methods Protoc.* 2024;9(1):bpae015. DOI: 10.1093/biomethods/bpae015.
11. Aguilar Diaz De Leon J., Borges C.R. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. *J. Vis. Exp.* 2020;(159):10.3791/61122. DOI: 10.3791/61122.
12. Beata B.K., Wojciech J., Johannes K., Piotr L., Barbara M. Alzheimer's disease-biochemical and psychological background for diagnosis and treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(2):1059. DOI: 10.3390/ijms24021059.
13. Hussain H., Ahmad S., Shah S.W.A. Ghias M., Ullah A., Rahman S.U. et al. Neuroprotective potential of synthetic mono-carbonyl curcumin analogs assessed by molecular docking studies. *Molecules.* 2021;26(23):7168. DOI: 10.3390/molecules26237168.
14. Поздняков Д.И., Вихорь А.А., Руковицина В.М., Оганесян Э.Т., Плетень А.П., Прокопов А.А. и др. Аналоги халкона как потенциальные средства патогенетической терапии болезни Альцгеймера: *in vitro*-скрининг. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2024;(2):43. Pozdnyakov D.I., Vikhor A.A., Rukovitsina V.M., Oganessian E.T., Pleten A.P., Prokopov A.A. et al. Halkon analogues as potential means of pathogenetic therapy of Alzheimer's disease: *in vitro* screening. *Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2024;(2):43. DOI: 10.29296/25877313-2024-02-05.
15. Obafemi T.O., Owolabi O.V., Omiyale B.O., Afolabi B.A., Ojo O.A., Onasanya A. et al. Combination of donepezil and gallic acid improves antioxidant status and cholinesterases activity in aluminum chloride-induced neurotoxicity in Wistar rats. *Metab. Brain Dis.* 2021;36(8):2511–2519. DOI: 10.1007/s11011-021-00749-w.
16. Oboh G., Ogunsuyi O.B., Olonisola O.E. Does caffeine influence the anticholinesterase and antioxidant properties of donepezil? Evidence from *in vitro* and *in vivo* studies. *Metab. Brain Dis.* 2017;32(2):629–639. DOI: 10.1007/s11011-017-9951-1.
17. Zhao Y., Zheng Z., Zhang M., Wang Y., Hu R., Lin W. et al. Design, synthesis, and evaluation of mono-carbonyl analogues of curcumin (MCACs) as potential antioxidants against periodontitis. *J. Periodontol. Res.* 2021;56(4):656–666. DOI: 10.1111/jre.12862.
18. Hussain H., Ahmad S., Shah S.W.A., Ullah A., Rahman S.U., Ahmad M. et al. Synthetic mono-carbonyl curcumin analogues attenuate oxidative stress in mouse models. *Biomedicines.* 2022;10(10):2597. DOI: 10.3390/biomedicines10102597.
19. Hadzi-Petrushev N., Bogdanov J., Krajoska J., Ilievska J., Bogdanova-Popov B., Gjorgievska E. et al. Comparative study of the antioxidant properties of monocarbonyl curcumin analogues C66 and B2BrBC in isoproteranol induced cardiac damage. *Life Sci.* 2018;197:10–18. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.01.028.
20. Shetty D., Kim Y.J., Shim H., Snyder J.P. Eliminating the heart from the curcumin molecule: monocarbonyl curcumin mimics (MACs). *Molecules.* 2014;20(1):249–292. DOI: 10.3390/molecules20010249.

Информация о вкладе авторов

Поздняков Д.И. – разработка концепции исследования, проведение эксперимента, подготовка рукописи.

Вихорь А.А. – проведение эксперимента, подготовка рукописи.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Поздняков Дмитрий Игоревич, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; ведущий научный сотрудник, Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии ФМБА России, Пятигорск, <http://orcid.org/0000-0002-5595-8182>.

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru.

Вихорь Анастасия Алексеевна, студентка 5-го курса, лечебный факультет, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, <http://orcid.org/0009-9892-0326>.

E-mail: nastyavichori@gmail.com.

 **Поздняков Дмитрий Игоревич**, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru.

Information on the author's contribution

Pozdnyakov D.I. – development of the study concept, conducting an experiment, preparing a manuscript.

Vikhor A.A. – conducting an experiment, preparing a manuscript.

Conflict of interest: the authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Information about the authors

Dmitriy I. Pozdnyakov, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology with a course in Clinical Pharmacology, PMPI; Leading Research Scientist, PSRIB, Pyatigorsk, <http://orcid.org/0000-0002-5595-8182>.

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru.

Anastasiya A. Vikhor, fifth-year Student, General Medicine Faculty, PMPI, Pyatigorsk, <http://orcid.org/0009-0009-9892-0326>.

E-mail: nastyavichori@gmail.com.

 **Dmitriy I. Pozdnyakov**, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru.

Received 29.03.2024;
review received 13.05.2024;
accepted for publication 14.11.2024.

Поступила 29.03.2024;
рецензия получена 13.05.2024;
принята к публикации 14.11.2024.