УДК 547.913: 631.811
https://doi.org/10.29296/25877313-2021-10-04
© Д.И. Поздняков, 2021

АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ФОРМИЛХРОМОНА

Д.И. Поздняков
к.фарм.н., доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии, зав. лабораторией живых систем,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Цель исследования. Оценить антихолинэстеразную активность производных 3-формилхромона в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера у крыс.
Материал и методы. Работа выполнена на крысах-самцах Wistar, которым моделировали болезнь Альцгеймера путем инъекции фрагмента $Aß_{1-42}$ в CA_1 часть гиппокампа. Изучаемые соединения и препарат сравнения (ипидакрин, 1 мг/кг, *per os*) вводили на протяжении 60 дней. Далее у крыс проводили оценку сохранности памятного следа в тесте «водный лабиринт Морриса» и активности ацетилхолинэстеразы в гиппокампе фотометрическим методом.
Результаты. Установлено, что в ряду изучаемых восемнадцати веществ наиболее выраженное антихолинэстеразное действие оказывает 3-[(E)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидрокси-фенил)-3-оксо-проп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-он, применение которого в дозе 40 мг/кг (перорально), уменьшало активность ацетилхолинэстеразы гиппокампа на 50,5% ($p<0,05$) и способствовало сохранению пространственной памяти у крыс в равной степени с препаратом сравнения.
Выводы. Проведенное исследование продемонстрировало, что применение производных 3-формилхромона и в большей степени 3-[(E)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидрокси-фенил)-3-оксо-проп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-она способствовало сохранению памятного следа у животных с экспериментально смоделированной болезнью Альцгеймера, что может быть связано с антихолинэстеразным действием данных соединений.

***Ключевые слова*:** *болезнь Альцгеймера, антихолинэстеразная активность, производные хромона.*

Для цитирования: Поздняков Д.И. Антихолинэстеразная активность производных 3-формилхромона. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(10):31–35. https://doi.org/10.29296/25877313-2021-10-04

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой серьезную проблему для современного здравоохранения. Помимо потери социальной адаптации и трудовых навыков при манифестации БА высок риск летальности в силу развития серьезных осложнений [1]. Согласно докладу Ассоциации по изучению болезни Альцгеймера, уровень смертности от терминальных форм деменции и БА к 2015 г. увеличился на 71%, в то время как летальность от инсульта, ишемической болезни сердца и онкологии возросла на 23, 14 и 11% соответственно. Ежегодно на поддержание должного уровня жизни пациентов с БА тратиться более 236 млрд долларов, а трудозатраты медицинского персонала увеличиваются на 18 млн человеко-часов [2].

В терапии БА особое место занимает стратегия повышения холинергической передачи в структурах головного мозга, и прежде всего в гиппокампе. Стоит отметить, что холинергический дефицит развивается на поздних стадиях БА и может быть купирован путем применения антихолинэстеразных средств [3]. Однако с открытием β-амилоидного каскада применение только ингибиторов холинэстеразы считается не целесообразным, поскольку у данных средств практически отсутствует нейропротекторный эффект, достижение которого в настоящий момент признается необходимым фактором успешного лечения БА [4]. Ранее было установлено, что производные 3-формилхромона *in vitro* препятствуют агрегации амилоидных частиц, что подразумевает наличие у данных соединений антиамилоидного потенциала и соответственно нейропротекторного действия [5]. В связи с этим можно предположить, что оценка антихолинэстеразной активности данных соединений позволит расширить спектр нейротропной активности производных 3-формилхромона.

Цель исследования – изучение антихолинэстеразной активности производных 3-формилхромона в условиях экспериментальной болезни Альцеймера.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 200 крысах-самцах Wistar массой 240–260 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово». На время

эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария, соответствующих требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета по защите животных, используемых в научных целях, от 22 сентября 2010 г.

Болезнь Альцгеймера моделировали у наркотизированных хлоралгидратом (350 мг/кг, внутрибрюшинно) крыс путем инъекции фрагмента $Aß_{1-42}$ в конечной концентрации 1 ммоль в CA_1 часть гиппокампа (передне-задний = –3,8 мм, медиально-латеральный = 2,0 мм, дорсально-вентральный = 2,6 мм от брегмы).

В ходе эксперимента были сформированы следующие экспериментальные группы (n=10 в каждой группе): ЛО – ложнооперированные животные; НК – негативный контроль; группа крыс, получавшая препарат сравнения ипидакрин в дозе 1 мг/кг *per os* [6]. Остальным экспериментальным группам вводили изучаемые соединения: хромон-3-альдегид; 6-хлор-4-оксо-4Н-1-бензопиран-3-карбальдегид; 6-фтор-4-оксо-4Н-1-бензопиран-3-карбальдегид; 6-йод-4-оксо-4Н-1-бензопиран-3-карбальдегид; 3-формил-4-оксо-4Н-1-бензопиран-6-ил ацетат; 3-формил-4-оксо-4Н-1-бензопиран-7-ил ацетат; 7-метокси-4-оксо-4Н-1-бензопиран-3-карбальдегид; 2-[метил(фенил)амино]-4-оксо-4Н-1-бензопиран-3-карбальдегида; 3-[(Е)-(гидроксиимино)метил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3Е)-6-фторо-4-оксо-хромен-3-карбальдегид оксим; (3Е)-6-хлор-4-оксо-хромен-3-карбальдегид оксим; 3-[(1Е)-3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(1Е)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(1Е)-3-(2-гидрокси-5-метилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(1Е)-3-(5-фтор-2-гидроксифенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(1Е)-3-(2-гидрокси-3-йод-5-метилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(1Е)-3-(2-гидрокси-4-метоксифенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он; 3-[(Е)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидрокси-фенил)-3-оксо-проп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-он (соединения 1–18 соответственно) в дозе 40 мг/кг, перорально [5].

Изучаемые вещества и препараты сравнения вводили на протяжении 60 дней (ежедневно) с момента инъекции $Aß_{1-42}$. На 61-е сутки эксперимента у животных оценивали изменение памятного следа в тесте «водный лабиринт Морриса» и производили забор головного мозга с выделением гиппокампа для определения активности ацетилхолинэстеразы. Гиппокамп животных гомогенизировали в буферном растворе HEPES с pH 7,4.

Полученный гомогенат центрифугировали при 10 000 g в течение 15 мин. Супернатант удаляли для проведения анализа. Активность ацетилхолинэстеразы определяли спектрофотометрическим методом, основанном на образовании окрашенных продуктов реакции расщепления ацетилхолина в реакции с 5,5′-дитио-бис (2-нитробензойной) кислотой [7].

Полученные результаты статистически обрабатывали, рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку среднего (M±m). Сравнение групп средних осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с пост-обработкой Ньюмена–Кейлса при p<0,05. Статистический анализ выполняли с применением программного обеспечения STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя результаты, полученные в ходе оценки изменения активности ацетилхолинэстеразы (рис. 1) в гиппокампе крыс при экспериментальной БА было установлено, что у НК группы животных активность данного фермента повысилась относительно крыс ЛО группы в 2,2 раза (p<0,05), что в свою очередь свидетельствует об ухудшении холинергической передачи и согласуется с данными литературы [8]. Также у животных НК группы отмечено увеличение времени нахождения площадки в тесте «водный лабиринт Морриса» в 5,1 раза (p<0,05) в сравнении с показателем крыс ЛО группы (рис. 2).

На фоне введения животным ипидакрина наблюдалось снижение (относительно НК группы животных) активности холинэстеразы гиппокампа на 45,2% (p<0,05) при восстановлении пространственной памяти, что подтверждалось снижением латентного времени нахождения площадки в водном лабиринте на 34,4% (p<0,05) по отношению к аналогичному показателю НК группы крыс.

В ряду исследуемых соединений наиболее значимое влияние на активность ацетилхолинэстеразы оказало применение соединений 4, 5, 6 и 12–18, на фоне введения которых активность фермента снизилась по отношению к НК группе крыс на 31,2% (p<0,05); 40,9% (p<0,05); 43,5% (p<0,05); 27,4% (p<0,05); 22,0% (p<0,05); 19,9% (p<0,05); 24,7%(p<0,05); 29,6%(p<0,05); 21,5% (p<0,05) и 50,5% (p<0,05) соответственно (рис. 1).

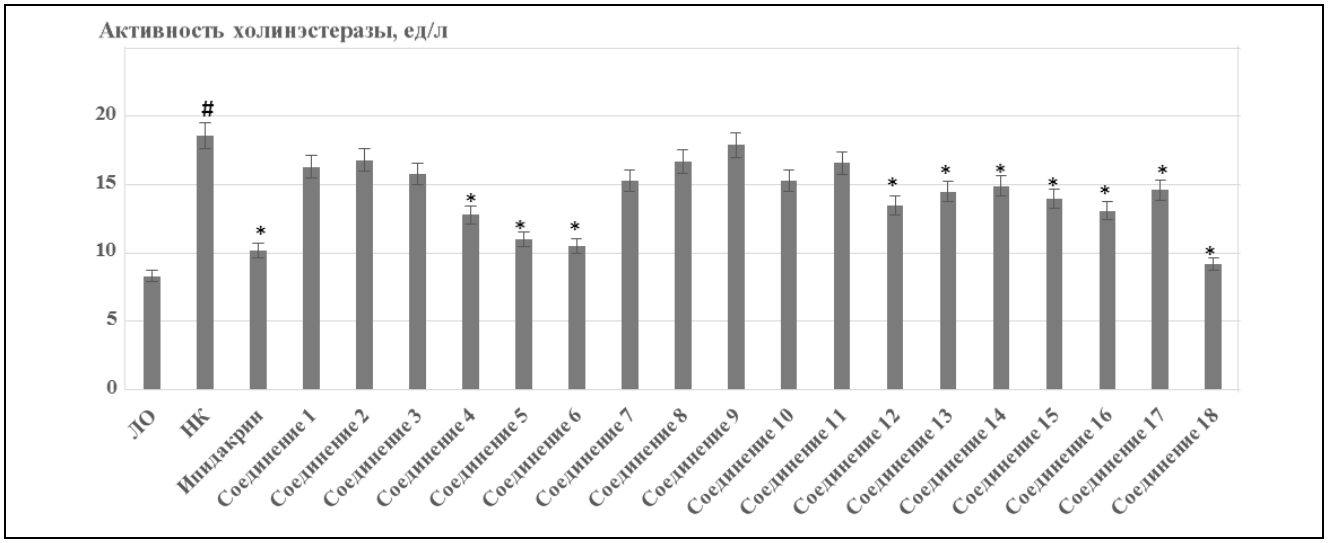

Рис. 1. Влияние исследуемых соединений и ипидакрина на изменение активности ацетилхолинэстеразы гиппокампа у крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера (# – статистически значимо относительно ЛО группы крыс; * – статистически значимо относительно НК группы крыс)

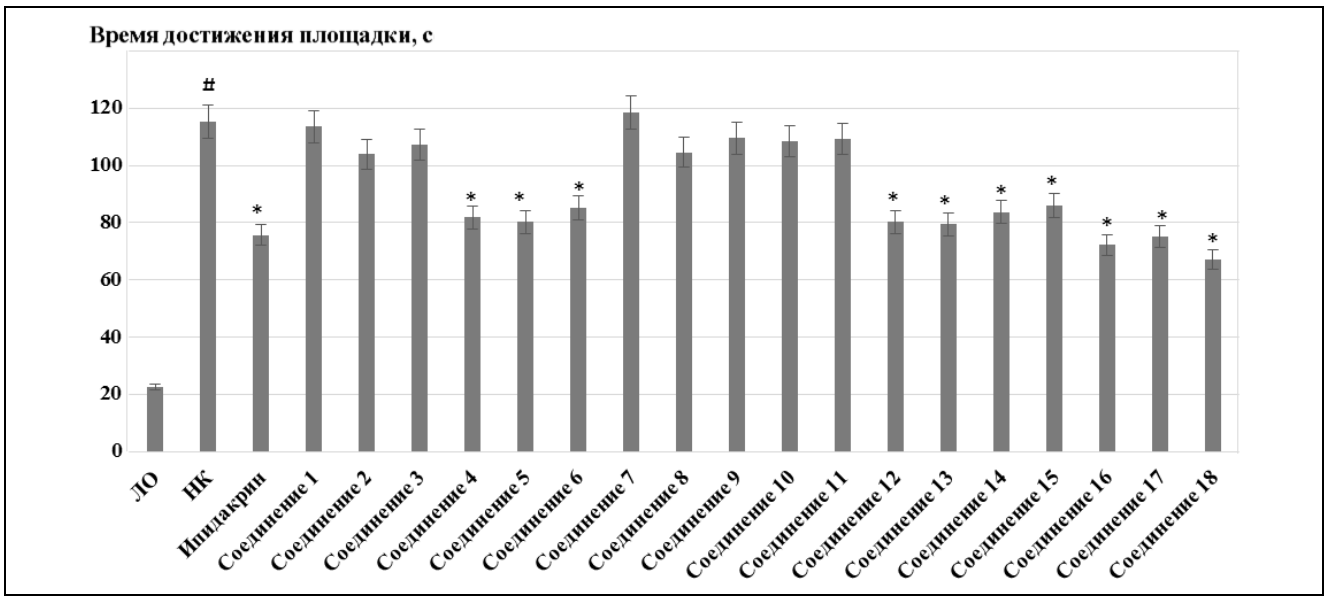

Рис. 2. Влияние исследуемых соединений и ипидакрина на изменение поведения крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера в водном лабиринте Морриса (# – статистически значимо относительно ЛО группы крыс; * – статистически значимо относительно НК группы крыс)

Поведение животных, которым вводили исследуемые вещества, в тесте «водный лабиринт Морриса» изменялось аналогично активности холинэстеразы, а именно при применении соединений 4, 5, 6 и 12–18 латентное время нахождения площадки уменьшилось относительно НК группы животных на 29,1% (p<0,05); 30,5% (p<0,05); 26,1% (p<0,05); 30,4% (p<0,05); 31,6% (p<0,05);27,5% (p<0,05); 25,5% (p<0,05); 37,3% (p<0,05); 34,8% (p<0,05) и 41,8% (p<0,05). При этом следует отметить, что у крыс, получавших соединение 18, как активность ацетилхолинэстеразы, так и время нахождения площадки в водном лабиринте статистически значимо не отличалась от таковых у животных, которым вводили ипидакрин.

В настоящее время установлено, что дегенеративные изменения холинергических нейронов гиппокампа, наблюдаемые при активации амилои-

догенеза, являются основной причиной развития когнитивных нарушений [9]. При этом практически полное отсутствие средств патогенетической терапии, направленной на сохранение нейрональной целостности, предполагает применение препаратов симптоматической терапии, к которым относятся ингибиторы ацетилхолинэстеразы [10].

Современные антихолинэстеразные средства представлены препаратами неконкурентного типа действия, среди которых наиболее высокой терапевтической эффективностью обладают фенрезин, толсерин, ипидакрин и эзеролин. Однако, несмотря на их наличие, целенаправленный поиск ингибиторов холинэстеразы не теряет своей актуальности [11]. Проведенное исследование показало, что в ряду исследуемых восемнадцати производных 3-формилхромона наиболее выраженной антихолинэстеразной активностью обладает 3-[(E)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидрокси-фенил)-3-оксо-проп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-он, применение которого в эквивалентной препарату сравнения степени способствовало снижению активности ацетилхолинэстеразы гиппокампа и восстановлению пространственной памяти у крыс. Несколько меньшую активность проявляли ацетил-замещенные соединения и аналоги халкона (соединения 12–17), что вероятно, связано со смещением электронной плотности карбонильной группы и соответственно меньшим сродством к эстеразному центру фермента [12].

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование показало, что применение производных 3-формилхромна и в частности 3-[(E)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидрокси-фенил)-3-оксо-проп-1-енил]-6-метокси-хромен-4-она в дозе 40 мг/кг (перорально) у крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера в равной степени с ипидакрином способствовало снижению активности холинэстеразы и восстановлению памятного следа у животных. Кроме того, наличие у данного соединения способности подавлять образование Аß делает данное вещество персептивным средством комплексной терапии болезни Альцгеймера.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Wilson R.S., Segawa E., Boyle P.A., Anagnos S.E., Hizel L.P., Bennett D.A*. The natural history of cognitive decline in Alzheimer's disease. Psychol. Aging. 2012; 27: 1008–1017.
2. Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement. 2016; 12(4): 459–509. DOI: 10.1016/j.jalz.2016.03.001. PMID: 27570871.
3. *Catanesi M.* Neuroprotective potential of choline alfoscerate against β-amyloid injury: Involvement of neurotrophic signals. Cell biology international 44.8. 2020: 1734–1744.
4. *Briggs R., Kennelly S.P., O'Neill D*. Drug treatments in Alzheimer's disease. Clin Med (Lond). 2016; 16(3): 247–253. DOI:10.7861/clinmedicine.16-3-247.
5. *Поздняков Д.И., Руковицина В.М., Ларский М.В.* Влияние производных 3-формилхромона *in vitro* на агрегацию частиц р-амилоида и активность тирозиназы. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021; 24(1): 11–15. DOI: 10.29296/25877313-2021-01-02 [Pozdnjakov D.I., Rukovicina V.M., Larskij M.V. Vlijanie proizvodnyh 3-formilhromona in vitro na agregaciju chas-tic r-amiloida i aktivnost' tirozinazy. Voprosy bio-logicheskoj, medicinskoj i farmacevticheskoj himii. 2021; 24(1): 11–15. DOI: 10.29296/25877313-2021-01-02 (in Russ.)]
6. *Onodera K., Kojima J., Wachi M*. Ipidacrine (NIK-247), a novel antidementia, rapidly enters the brain and improves scopolamine-induced amnesia in rats during the Morris water maze task. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi. 1998; 18(2): 33–37.
7. *Dingová D., Hrabovská A*. Metódy stanovenia aktivity cholínesteráz [Methods for determination of cholinesterase activity]. Cesk Fysiol. 2015; 64(2): 79–83. Slovak.
8. *Zhang Y.Y., Yang L.Q., Guo L.M.* Effect of phosphatidylserine on memory in patients and rats with Alzheimer's disease. Genet. Mol. Res. 2015; 14(3): 9325–9333. DOI: 10.4238/2015.
9. *Hampel H., Mesulam M.M., Cuello A.C. et al.* The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. Brain. 2018;141(7):1917-1933. doi:10.1093/-brain/awy132.
10. *Mishra Рю, Kumar Аю, Panda G*. Anti-cholinesterase hybrids as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease (1998–2018). Bioorg. Med. Chem. 2019; 27(6): 895–930. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.01.025.
11. *Sharma K.* Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). Mol. Med. Rep. 2019; 20(2): 1479–1487. DOI:10.3892/mmr.2019.10374
12. *Mughal E.U., Javid A., Sadiq A., Murtaza S., Zafar M.N., Khan B.A., Sumrra S.H., Tahir M.N., Kanwal, Khan K.M*. Synthesis, structure-activity relationship and molecular docking studies of 3-O-flavonol glycosides as cholinesterase inhibitors. Bioorg. Med. Chem. 2018; 26(12): 3696–3706. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.05.050.

Поступила 3 июня 2021 г.

ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF 3-FORMYLCHROMONE DERIVATIVES

© D.I. Pozdnyakov, 2021

D.I. Pozdnyakov
Ph.D. (Pharm.), Associate Professor of Department of Pharmacology with Clinical Pharmacology Course,
Head of Living System Laboratory,
Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute (Pyatigorsk, Russia)
E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

The aim of the study. To evaluate the anticholinesterase activity of 3-formylchromine derivatives in experimental Alzheimer's disease in rats.
Material and methods. The work was performed on male Wistar rats that were modeled for Alzheimer's disease by injecting the fragment $Aß_{1-42}$ into the CA_1 part of the hippocampus. The test-compounds and the reference drug (ipidacrine, 1 mg / kg, *per os*) were administered for 60 days. Further, the preservation of the memorable trace in the Morris water maze test and the acetylcholinesterase activity by photometric method in the hippocampus were evaluated.
Results. In the course of the work, it was found that among the eighteen studied substances the most pronounced anticholinesterase effect provided by 3-[(E)-3-(3,5-ditret-butyl-4-hydroxy-phenyl)-3-oxo-prop-1-enyl]-6-methoxy-chromene-4-one, the use of which at a dose of 40 mg/kg (oral), reduced the activity of hippocampus acetylcholinesterase by 50.5% ($p<0.05$) and contributed to the preservation of spatial memory in rats equally with the reference drug.
Conclusion. The study demonstrated that the use of 3-formylchromone derivatives and to a greater extent 3-[(E)-3-(3,5-ditret-butyl-4-hydroxy-phenyl)-3-oxo-prop-1-enyl]-6-methoxy-chromene-4-one contributed to the preservation of a memorable trace in animals with experimentally modeled Alzheimer's disease, which may be associated with the anticholinesterase effect of these compounds.

Key words: *Alzheimer's disease, anticholinesterase activity, chromone derivatives.*

For citation: Pozdnyakov D.I. Anticholinesterase activity of 3-formylchromone derivatives. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(10):31–35. https://doi.org/10.29296/25877313-2021-10-04

Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Элеутерококк (сухой экстракт, таблетки, покрытые оболочкой) (рег. № № 92/210/3; 92/210/7) – общетонизирующее средство, получаемое из корневищ и корней элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.).

Сабельник болотный (*Comarum palustre*) (экстракт сухой, таблетки, гель) – оказывает противовоспалительное, анальгезирующие действие. Применяется в комплексной терапии воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Флакозид (таблетки) (рег. №№ 90/248/3; 90/248/7) – противовирусное и антигепатотоксическое средство, получаемое из листьев бархата амурского и бархата Лаваля (*Phellodéndron amurénse* и *Phellodendron amurensis* var. Lavallei Spraque). Применяется для лечения вирусных гепатитов.

Эвкалимин (раствор, суппозитории для детей и взрослых) (рег. №№ 90/249/2; 91/194/13; 91/194/12) – антибактериальное и противовоспалительное средство, получаемое из эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45
Fax: 8(495)712-09-18;
e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru