

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

---

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ  
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ  
Направление подготовки 06.04.01 Биология  
Профиль «Биоресурсы и биоразнообразие»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
(МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ)

КАЮМОВОЙ РАМИЛИ МАРАТОВНЫ

КОРРЕКЦИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ  
МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА ПРОИЗВОДНЫМИ  
ПИРИМИДИНА

Работа завершена:

« 25 » 05 2021 г.  (Р.М. Каюмова)

Работа допущена к защите:


Научные руководители:

Кандидат биологических наук, доцент

« 28 » 05 2021 г.  (К. А. Петров)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

« 01 » июня 2021 г.  (Р. М. Сабилов)

Казань – 2021

## РЕФЕРАТ

*Ключевые слова:* ацетилхолинэстераза, болезнь Альцгеймера, производные пиримидина.

В ИОФХ имени А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН был синтезирован ряд производных пиримидинов, способных ингибировать ацетилхолинэстеразу в наномолярном диапазоне концентраций. В данной работе была исследована эффективность данных соединений в отношении терапии симптомов болезни Альцгеймера.

Исследуемые соединения с лабораторными С76, С82 и С117 показали способность угнетать активность ацетилхолинэстеразы в наномолярном диапазоне концентраций. Токсичность данных соединений на два порядка ниже токсичности используемых в клинике антихолинэстеразных препаратов.

Было показано, что С76 в дозе 5 мг/кг при внутрибрюшинном способе введения способно купировать симптомы нарушения пространственной памяти в условиях скополаминовой модели болезни Альцгеймера, однако на генетической модели заболевания данное соединение оказалось не эффективно.

Соединения С82 и С117 показали свою эффективность в отношении симптомов нарушения памяти как в условиях фармакологической, так и генетической модели болезни Альцгеймера в дозе 10 мг/кг, достоверно уменьшая при этом количество бета-амилоидных отложений в головном мозге.

Выпускная квалификационная работа состоит из 60 страниц, включает 22 рисунка и 8 таблиц. Список литературы включает 48 источников, из которых 9 - отечественные авторы.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	2
РЕФЕРАТ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Общие сведения о болезни Альцгеймера.....	9
1.2 Наследственная форма болезни Альцгеймера.....	10
1.3 Патогенез.....	11
1.3.1 Холинергическая гипотеза.....	11
1.3.2 Амилоидная гипотеза.....	13
1.3.3 Тау-гипотеза.....	15
1.3.4 Глутаматергическая гипотеза.....	16
1.4 Моделирование болезни Альцгеймера на животных.....	17
1.4.1 Фармакологическая модель болезни Альцгеймера.....	18
1.4.2 Генетическая модель болезни Альцгеймера.....	19
1.5 Лечение болезни Альцгеймера.....	19
1.5.1 Ингибиторы NMDA-рецепторов.....	20
1.5.2 Ингибиторы ацетилхолинэстеразы.....	21
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	23
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	23
2.1 Используемые вещества.....	23
2.2 Биохимическое исследование способности ингибировать активность холинэстераз.....	23
2.3 Экспериментальные животные и их содержание.....	23
2.4 Введение соединений.....	25

2.5	Определение острой токсичности .....	27
2.6	Поведенческое тестирование .....	28
2.6.1	Тест «Т-лабиринт» .....	28
2.6.2	Тест «УРПИ» .....	29
2.7	Гистологический анализ .....	30
2.7.1	Фиксация и приготовление срезов .....	30
2.7.2	Окрашивания срезов Тиофлавином S .....	31
2.7.3	Подсчёт амилоидных отложений .....	31
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	32
3.1	Исследование антихолинэстеразной активности и токсичности соединений	32
3.2	Изучение эффективности исследуемых соединений в условиях модели болезни Альцгеймера.....	33
3.2.1	Исследование эффективности терапии соединением №76 в условиях фармакологической модели на мышах .....	33
3.2.2	Результаты исследования эффективности терапии соединением №76 в условиях генетической модели на мышах.....	36
3.2.3	Результаты исследования эффективности терапии №82 в условиях фармакологической модели на мышах .....	39
3.2.4	Результаты исследование эффективности терапии соединением №82 в условиях генетической модели на мышах.....	42
3.2.5	Результаты исследования влияния №82 на количество амилоидных отложений у мышей с генетической моделью болезни Альцгеймера.....	45
3.2.6	Результаты исследование эффективности терапии соединением №117 в условиях фармакологической модели на мышах.....	46
3.2.7	Результаты исследование эффективности терапии соединением №117 в условиях генетической модели на мышах.....	48

3.2.8 Результаты исследование эффективности терапии соединением №117 в условиях фармакологической модели на крысах .....	49
3.2.9 Результаты исследования влияния С117 на количество амилоидных отложений у мышей с генетической моделью болезни Альцгеймера.....	52
ВЫВОДЫ .....	54
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	55

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в большинстве развитых стран мира наблюдается рост хронических нейродегенеративных заболеваний. Одним из наиболее часто встречающихся заболеваний центральной нервной системы у лиц пожилого возраста является болезнь Альцгеймера (БА). Пока не достигнуто полного понимания причин болезни. Ведущая роль в патогенезе придается гиперпродукции токсического бета-амилоидного пептида (A $\beta$ ), который приводит к гибели нейронов головного мозга. Сокращение продукции A $\beta$  и разрушение его высокотоксичных форм являются наиболее перспективными подходами в разработке новых средств для патогенетической терапии БА. Однако, к сожалению, в настоящее время такие лекарственные средства еще не обнаружены (Semenov *et al.*, 2020).

На данный момент наиболее эффективны подходы, основанные на терапии симптомов БА и направленные на компенсацию холинергического дефицита, который играет ведущую роль в патогенезе нарушений памяти и когнитивных функций при БА. Для этой цели используются ингибиторы фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (Zueva *et al.*, 2019). Существуют предпосылки считать, что ингибиторы фермента АХЭ способны оказывать влияние как на симптоматику, так и на патогенез заболевания, уменьшая агрегацию бета-амилоидного пептида. Однако это справедливо только для соединений, связывающихся с «периферическим анионным сайтом» фермента (Semenov *et al.*, 2020).

В ИОФХ имени А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН среди библиотеки синтезированных производных пиримидинов было выбрано несколько соединений, для которых компьютерное моделирование показало связывание с периферическим анионным сайтом ацетилхолинэстеразы, и способных ингибировать АХЭ в наномолярном диапазоне концентраций. Целью данной работы стало исследование эффективности соединений-лидеров в качестве средств патогенетической терапии в условиях модели болезни Альцгеймера.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Изучить способность исследуемых соединений ингибировать ацетил- и бутирилхолинэстеразу в условиях *in vitro*;
2. Исследовать острую токсичность выбранных соединений;
3. Проверить эффективность данных соединений в условиях модели болезни Альцгеймера на животных;
4. Оценить возможное влияние соединения-лидера на уровень маркеров патологических изменений клеток головного мозга мышей с моделью болезни Альцгеймера.

## ВЫВОДЫ

1. Исследуемые соединения с лабораторными шифрами №76, №82 и №117 показали способность угнетать активность АХЭ в наномолярном диапазоне концентраций, в то время как, активность БуХЭ угнетается данными соединениями миллимолярном диапазоне концентраций.

2. Соединения обладают низкой по сравнению с используемыми в клинике антихолинэстеразными препаратами токсичностью.

3. Соединение №76 в дозе 5 мг/кг при внутривнутрибрюшинном способе введения купирует симптомы нарушения пространственной памяти в условиях скополаминовой модели БА, однако на генетической модели БА данное соединение оказалось не эффективно.

4. Соединение №82 показало свою эффективность как в условиях фармакологической, так и генетической модели БА в дозе 10 мг/кг, а также доказана его способность уменьшать количество бета-амилоидных агрегатов в головном мозге.

5. Соединение №117 в дозах 1 и 10 мг/кг восстанавливает нарушения пространственной памяти у трансгенных мышей с БА в Т-лабиринте, достоверно уменьшая при этом количество бета-амилоидных отложений в головном мозге.

6. При использовании дозы в 10 мг/кг соединение №117 показало способность восстанавливать нарушения пространственной памяти в условиях фармакологической модели БА на крысах в тесте УРПИ.