

УДК 577.1

ТИМОХИНОН КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ НЕЙРОПРОТЕКТОР ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ФОРМАХ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Обзор

© 2020 Н.К. Исаев^{1,2*}, Н.С. Четвериков², Е.В. Стельмашук¹,
Е.Е. Генрихс¹, Л.Г. Хаспекон^{1*}, С.Н. Иллариошкин¹

¹ Научный центр неврологии, 125367 Москва, Россия;
электронная почта: nisaev61@mail.ru, khaspekleon@mail.ru

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 16.07.2019

После доработки 12.11.2019

Принята к публикации 28.11.2019

Тимохинон является одним из основных биологически активных компонентов эфирного масла, получаемого из семян растения черного тмина (*Nigella sativa*). По современным данным, это вещество обладает широким спектром фармакологической активности, в том числе, и нейропротекторным действием, которое было продемонстрировано при экспериментальном моделировании ишемии/реперфузии головного мозга, болезней Альцгеймера и Паркинсона, черепно-мозговой травмы. Нейропротекторное действие тимохинона опосредуется ингибированием перекисного окисления липидов, снижением уровня провоспалительных цитокинов, поддержанием мембранного потенциала митохондрий, а также предотвращением апоптоза за счёт ингибирования каспаз 3, 8 и 9. Митохондриально-адресованные антиоксиданты, созданные на основе тимохинона, способны накапливаться в митохондриях и проявлять нейропротекторные свойства в наномолярных концентрациях. Имеющиеся в настоящее время данные показывают, что тимохинон является эффективным средством для снижения негативных последствий острых и хронических форм церебральной патологии. Поэтому необходимо более детальное исследование механизмов фармакологического действия тимохинона и его химических производных. В данной работе описана возможность использования для терапии целого ряда нейродегенеративных заболеваний как самого тимохинона, так и создаваемых на его основе препаратов направленного действия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тимохинон, ишемия, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, черепно-мозговая травма, митохондриально-адресованные антиоксиданты, нейропротекция.

DOI: 10.31857/S0320972520020049

Тимохинон (ТQ; 2-изопропил-5-метил-1,4-бензохинон, рис. 1) является фармакологически активным хиноном растительного происхождения, который обнаружен в семенах чернушки посевной или чёрного тмина (*Nigella sativa*, Ranunculaceae), где его содержание составляет от 30 до 48% [1], а также в ряде растений семейства Яснотковые (Lamiaceae), в посконнике коноплевом (*Eupatorium cannabinum*, Asteraceae) и можжевельнике обыкновенном (*Juniperus communis*, Cupressaceae) [2]. Чёрный тмин использовали в медицинских целях с древних времён и его применение приобретает все большую актуальность. В чистом виде ТQ представляет собой ярко-жёлтое кристаллическое соединение, ко-

торое впервые было синтезировано в 1910 г. путём окисления тимола (2-изопропил-5-метил-фенола) перекисью водорода [3].

Согласно современным представлениям, ТQ и его производным свойственна высокая фармакологическая активность, направленная на терапию заболеваний различных органов и систем. В экспериментальных работах последнего десятилетия *in vitro* и *in vivo* описаны противовоспалительные, антиоксидантные [4], антигипертензивные [5], антиастматические [6], антидиабетические [7], противоопухолевые [8] эффекты ТQ. Об этом же свидетельствуют приведенные в недавних обзорных работах сведения о благоприятных терапевтических эффектах соединений на основе ТQ при раковых, инфекционных, сердечно-сосудистых, желудоч-

* Адресат для корреспонденции.

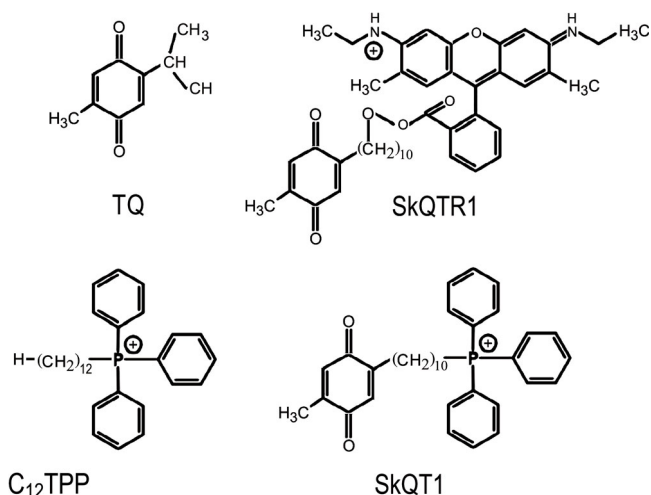


Рис. 1. Структурные формулы тимохинона (TQ), митохондриально-адресованных антиоксидантов на основе TQ: 10-(6'-толукинонил)децилпродамин 19 (SkQTR1), 10-(6'-толукинонил)децилтрифенил фосфоний (SkQT1) и лишеного TQ додецилтрифенил фосфония (C₁₂TPP)

но-кишечных, респираторных заболеваниях, сахарном диабете, гиперлипидемии и других патологических состояниях в клинике и при их экспериментальном моделировании [9, 10]. Авторы на основе анализа литературы указывают на возможные молекулярные механизмы, опосредующие терапевтические эффекты тимохинона при онкологических заболеваниях. В частности, приводятся данные о том, что TQ влияет на экспрессию регуляторов пролиферации и/или активность клеточного цикла, вызывая его торможение, повреждение ДНК и апоптоз как зависимый, так и не зависимый от транскрипционного фактора p53 и других проапоптотических факторов, и препятствуя тем самым неконтролируемому росту и репродукции раковых клеток. Отмечается, что связанный с активацией апоптоза антираковый эффект TQ может быть также обусловлен блокадой антиапоптотических белков и регуляцией каспазного каскада. Избирательно блокируя специфический фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), TQ ингибирует тубулогенез (начальную стадию ангиогенеза) и, как следствие, тормозит разрастание в опухоли кровеносных сосудов, ограничивая доступ к ней кислорода и питательных веществ и препятствуя ее росту и метастазированию. Противовоспалительные эффекты TQ могут быть связаны с его способностью ингибировать экспрессию медиаторов воспаления, таких как COX-2, iNOS, 5-липоксигеназа, TNF- α и активацию сигнальных путей транскрипционного фактора NF- κ B, Akt и ERK. Результаты ряда экспериментальных исследований свидетель-

ствуют о том, что TQ обладает широким спектром нейромодуляторных и нейропротекторных свойств [11]. Так, показана его важная роль в оптимизации процессов обучения и памяти [12, 13]. Обнаружен защитный эффект TQ при эпилепсии [14], нейротоксичности этанола [15], а также воздействию неблагоприятных факторов внешней среды и различных токсинов. В частности, TQ защищал ткани мозга крыс от повреждения, вызванного пероральным введением пищевых консервантов, препятствуя повышению в ней уровней малонового диальдегида (MDA), TGF- β , c-реактивного белка, NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , каспазы-3, которое сопровождалось снижением уровней глутатиона, цитохром c-оксидазы, *Nrf2* и IL-10 [16]. Эти данные позволили авторам сделать заключение, что защитный эффект TQ обусловлен, прежде всего, его антиоксидантными свойствами. В других работах при пероральном введении соединений мышьяка TQ препятствовал снижению в ткани коры, мозжечка и ствола мозга крыс активности Na⁺-K⁺-АТФазы, уровней норадреналина, допамина, ацетилхолинэстеразы, глутатиона, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы и каталазы, также как и повышению уровней малонового диальдегида, нитритов и нитратов, фактора некроза опухоли [17]. Кроме того, TQ ингибировал вызванную токсичностью мышьяка гиперпродукцию активных форм кислорода (АФК) в гиппокампе крыс и восстанавливал сниженный мембранный потенциал митохондрий, ингибируя индуцируемое АФК открытие митохондриальной транзитной поры [18]. В культивируемых клетках линии SHSY-5Y нейробластомы человека, подвергнутых цитотоксическому действию мышьяка, TQ препятствовал усилению генерации АФК, снижал уровни проапоптотического белка BAX, повышал содержание антиапоптотического белка Bcl2, нормализовал трансмембранный потенциал [19]. С антиоксидантной активностью связывают защитный эффект TQ при нейротоксическом действии на кору головного мозга крыс акриламида, введенного внутривентриально [20, 21]. В детальных нейробиологических и ультраструктурных исследованиях показано нейропротекторное действие TQ, опосредуемое его антиапоптотической активностью, при повреждении гиппокампа и фронтальной коры головного мозга крыс, вызываемом хронической ингаляцией толуола. Так, в присутствии TQ иммунореактивность каспазы-3 в цитоплазме нейронов, повышенная под влиянием толуола, снижалась. Кроме того, TQ предотвращал вызванное толуолом увеличение числа TUNEL-позитивных нейронов [22, 23], то

есть предотвращал развитие программированной клеточной гибели.

Особый интерес для неврологической клиники представляют нейропротекторные эффекты TQ при моделировании ишемии головного мозга, черепно-мозговой травмы (ЧМТ), болезнью Альцгеймера (БА) и Паркинсона (БП), а также других форм острой и хронической церебральной патологии [24], в патогенезе которых важную роль играют АФК. Следует отметить, что в этом отношении эффективными и перспективными соединениями, оказывающими в наномолярных концентрациях защитный эффект, являются созданные на основе TQ митохондриально-адресованные антиоксиданты, аккумулируемые митохондриями [25] (рис. 1).

Все выше сказанное определяет перспективность использования не только самого тимохинона для терапии ряда заболеваний, но и его применения в качестве основы для разработки препаратов направленного действия.

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА TQ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Черепно-мозговая травма вызывает комплексное повреждение головного мозга и является одной из наиболее распространённых причин смертности в мире. Считается, что от 64 до 79 млн человек ежегодно подвергаются ЧМТ [26]. Проявления последствий ЧМТ зависят от ее тяжести и могут быть незначительными, умеренными или тяжелыми, варьируя от ультраструктурных повреждений до механического разрушения значительных участков головного мозга. Результатом тяжелой травмы может стать смерть, потеря сознания, утрата способности адекватно реагировать на окружающую действительность, тяжелые моторные, речевые нарушения и психические дисфункции. ЧМТ вызывает в головном мозге комплекс нейродеструктивных биохимических процессов, включая воспаление, увеличение продукции свободных радикалов, оксида азота, перекисного окисления липидов, повышение уровня внутриклеточного кальция [27], что, в конечном счете, приводит к неврологическим нарушениям.

Повышение продукции активных форм кислорода митохондриями после ЧМТ является важнейшим патогенетическим механизмом нейродеструкции, приводящим к селективному перекисному окислению митохондриального кардиолипина [28]. АФК также активируют различные молекулярные сигнальные пути, свя-

занные с гибелью клеток [29]. Кроме того, ЧМТ может вызывать развитие длительных нейро-дегенеративных процессов, связанных с увеличением риска возникновения БА [30, 31]. Это, по-видимому, обусловлено тем, что при серьезных повреждениях головного мозга, как и при БА, снижается концентрация белков GGA1 и GGA3, ответственных за деградацию фермента β -секретазы (BACE1) в лизосомах. В результате происходит накопление BACE1, которая вместе с гамма-секретазным комплексом расщепляет белковый предшественник β -амилоидного белка, что приводит к накоплению самого β -амилоида (A β) [32]. Логично предположить, что такое соединение как TQ, обладающее противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, показанными при моделировании БА (см. ниже), может быть использовано и для лечения нейродегенерации, вызванной ЧМТ.

Действительно, с использованием биохимических и гистологических методов нейропротекторные эффекты TQ были показаны на модели открытой односторонней ЧМТ крыс [33]. В этих экспериментах через 7 дней после ЧМТ плотность нейронов в контралатеральных областях гиппокампа (поля CA1, CA2-3 и CA4), по сравнению с контрольной группой, значительно снижалась, тогда как уровень маркера перекисного окисления липидов, малонового диальдегида в ткани мозга повышался. В то же время TQ в дозе 5 мг/кг, введенный после травматического воздействия, предотвращал снижение плотности нейронов в гиппокампе, уменьшая при этом содержание MDA. Таким образом, одним из механизмов защитного действия TQ при ЧМТ является уменьшение интенсивности окислительного стресса в нейронах. Правда, в настоящее время это единственная работа, демонстрирующая нейропротекторные свойства TQ при ЧМТ. Наряду с этим, показан защитный эффект TQ при моделировании травмы спинного мозга у крыс [34].

Следует отметить, что одним из самых тяжелых последствий ЧМТ является нарушение церебрального сосудистого русла, что ведет к локальной ишемизации отдельных структур головного мозга и вызывает временную дисфункцию или необратимое повреждение нервных клеток в зоне ЧМТ. TQ является эффективным средством защиты различных органов от ишемического повреждения [35], к которому головной мозг наиболее чувствителен. Острые нарушения мозгового кровообращения (инсульты) – вторая, после ишемической болезни сердца, наиболее частая причина смертности населения в мире [36]. В Российской Федерации регистрируется 350–400 случаев инсульта в год на 100

тыс. населения. По данным Научного центра неврологии, двигательные нарушения после инсульта к концу его острого периода наблюдаются у 85% выживших пациентов, а к концу первого года – у 70%, тогда как речевые нарушения (афазия) соответственно у 36 и 18% [37]. Основными факторами, приводящими к гибели нейронов при ишемии, являются гипоксия и гипогликемия, а также связанные с ними окислительный стресс, ацидоз и глутаматная цитотоксичность [38].

TQ при моделировании ишемии, как и при ЧМТ, проявлял выраженные нейропротекторные свойства. При транзиторной ишемии переднего мозга крыс, индуцированной 10-минутной двусторонней окклюзией обеих общих сонных артерий с последующей реперфузией, TQ в дозе 5 мг/кг вводили животным ежедневно в течение 5 дней до ишемического воздействия, а также во время реперфузии, вплоть до вывода животных из эксперимента через 7 дней. Обнаружено, что TQ способствует выживаемости нейронов в поле CA1 гиппокампа, а также снижает уровень MDA и препятствует снижению уровней глутатиона, каталазы и супероксиддисмутазы в ткани мозга [39]. Положительное действие TQ было продемонстрировано и при ишемии головного мозга крыс, вызванной 20-минутной четырехсосудистой окклюзией сонных артерий. TQ вводили животным непосредственно до и в последующие 2 дня после ишемии в концентрации 10 мг/кг, что приводило к достоверному снижению уровня MDA по сравнению с ишемической группой [40].

В одной из работ [1] в модели ишемии/реперфузии у крыс в качестве прототипа нейропротекторного препарата была предложена содержащая TQ интраназальная мукоадгезивная наноэмульсия, полученная способом ионного гелеобразования, которая оказалась более эффективной, чем препараты TQ, вводимые внутривенно. В другой работе [41] при том же методе моделирования ишемии исследованы нейропротекторные свойства наночастиц, оптимизированных комплексом поли(лактид-ко-гликолид)+хитозан (PLGA+chitosan) и нагруженных TQ (TQ-PLGA NPs). Интраназальное введение TQ-PLGA NPs крысам, подвергнутым окклюзии средней мозговой артерии, препятствовало увеличению объема ишемического инфаркта у животных, улучшало их локомоторную активность и повышало силу хватки лап. Биохимический анализ выявил значительное снижение перекисного окисления липидов в ткани мозга под влиянием TQ-PLGA NPs, сопутствующее повышению уровня глутатиона, каталазы и супероксиддисмутазы. Фармакокинетический

анализ показал, что включение TQ в состав PLGA NPs облегчает его доставку к тканям мозга. Полученные данные позволяют считать TQ-PLGA NPs перспективным прототипом создания средств лечения церебральной ишемии (и других форм церебральной патологии), особенно эффективных при включении TQ в наноносители [42, 43].

При моделировании спинальной ишемии TQ также препятствовал повышению уровня продуктов перекисного окисления липидов в ткани спинного мозга, способствовал нормализации содержания в ней антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы), и, кроме того, снижал активность провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1) и защищал мотонейроны от апоптоза [44].

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ТИМОХИНОНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНЕЙ АЛЬЦГЕЙМЕРА И ПАРКИНСОНА

Болезнь Альцгеймера – нейродегенеративное заболевание, распространённость которого с каждым годом увеличивается. По ориентировочным оценкам, в настоящее время в мире от БА страдают ~ 26 млн человек, причем уже к 2030 г. прогнозируется увеличение числа больных вдвое, а к 2050 г. – вчетверо [45]. Популяционная частота БА неуклонно растёт по мере увеличения возраста, что заставляет отнести ее к заболеваниям, накладывающим на общество в развитых странах тяжелейшую финансовую нагрузку [46]. Этиология болезни и механизмы патогенеза изучены недостаточно. В настоящее время предполагается, что основными триггерами нейродегенеративных процессов при БА являются бета-амилоидный пептид и гиперфосфорилированный внутриклеточный белок тау, накопление которых сопровождается дисбалансом вне- и внутриклеточного содержания, и распределения ионов цинка и меди, а, возможно, и железа [47]. Известно, что A β в субмикромольных концентрациях нарушает синаптическую передачу в глутаматергических синапсах, в то время как в микромолярных вызывает нейродегенерацию по апоптотическому типу [48, 49]. Получены данные, указывающие на митохондриальную токсичность A β , связанную, в частности, с усилением продукции АФК [50].

На клеточном уровне для БА характерна потеря нейронов и синаптических связей в коре головного мозга и определённых субкортикальных областях, что сопровождается накоплением амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клуб-

ков. У пациентов происходит постепенное ухудшение церебральных функций (нарушаются когнитивные способности, снижается память), и в течение 3–9 лет наступает летальный исход. В настоящий момент не существует лечения, способного прекратить развитие БА, а препараты, применяемые для фармакотерапии (ингибиторы холинэстеразы, мемантин), лишь сглаживают симптомы и являются, по сути, паллиативной мерой. В связи с этим актуальной задачей остается поиск веществ, способных влиять на патогенез БА, важную роль в котором, как указывалось выше, играет окислительный стресс и в развитие которого вовлечен Аβ. Показано, что при БА вызванная Аβ гиперпродукция митохондриями АФК инициирует каскад процессов, которые вызывают гибель нейронов [51]. Высокая антиоксидантная активность и противовоспалительные свойства TQ создали предпосылки для его тестирования в качестве потенциального нейропротектора при моделировании БА как *in vitro*, так и *in vivo*. Авторы одного из недавних обзоров [52] по результатам анализа литературы с использованием системы CAMARADES (Collaborative Approach to Meta-Analysis and Review of Animal Data from Experimental Studies) продемонстрировали высокий терапевтический потенциал, которым обладает TQ благодаря его антиоксидантным и противовоспалительным свойствам. В частности, в экспериментах *in vitro* было показано, что TQ способен снижать токсичность Аβ в культуре линии недифференцированных клеток феохромоцитомы (PC 12), ингибируя окислительный стресс и сохраняя нормальную работу митохондрий путём поддержания физиологических уровней матричных металлопротеиназ и АФК [53]. Кроме того, TQ защищал клетки нейробластомы человека (SH-SY5Y) от токсичности Аβ путем воздействия на TNF-индуцированный сигнальный каскад, повышая при этом уровень глутатиона и снижая продукцию оксида азота [54]. Положительные результаты были получены и в экспериментах на первичных культурах нейронов коры головного мозга и гиппокампа. Помимо поддержания мембранного потенциала митохондрий и снижения окислительного стресса, TQ уменьшал альфа-синуклеин-индуцированное нарушение рециркуляции синаптических везикул [55, 56]. В культурах клеток-зерен мозжечка TQ не только предотвращал апоптоз, вызываемый Аβ за счёт ингибирования каспаз 3, 8 и 9, но и препятствовал агрегации Аβ, а также способствовал сохранению нормальной морфологии как отдельных клеток, так и нейронной сети в целом [57, 58].

В настоящее время показано позитивное действие TQ при моделировании механизмов

патогенеза БА на клетках человека, полученных методами генной инженерии [59]. В эксперименте использовали холинергические нейроны человека, дифференцированные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). По данным авторов этой работы, Аβ 1–42 вызывал апоптотическую гибель ИПСК, которая эффективно предотвращалась TQ. Кроме того, TQ блокировал снижение уровня глутатиона и повышение генерации АФК, вызванных в нейронах обработкой Аβ. Интересно, что TQ смог уменьшить также синаптические нарушения, развивавшиеся в культурах при их инкубации с Аβ.

Несмотря на сильную гидрофобность, затрудняющую применение TQ в экспериментах *in vivo*, его защитные свойства были продемонстрированы при моделировании БА у животных. Так, при индукции спорадической формы БА путем интрацеребровентрикулярной инъекции стрептозотоцина двухнедельное ежедневное внутрижелудочное введение TQ улучшало память и когнитивные способности крыс [60]. В настоящее время показана тесная взаимосвязь нейровоспаления с нейродегенеративными процессами при БА, причем на ряде моделей нейродегенерации обнаружены противовоспалительные свойства TQ. В частности, он препятствовал нарушениям способности крыс к обучению и запоминанию при нейровоспалении, индуцированном липополисахаридом. Кроме того, эффекты TQ сопровождалось снижением уровней провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-6) и маркеров оксидативного повреждения (монооксид азота, MDA) в гиппокампе [61]. В одной из недавних работ использована модель БА, полученная в результате инъекции Аβ в гиппокамп крыс, после которой в течение 4-х недель внутрибрюшинно вводили TQ в дозах 5 и 10 мг/кг [62]. Выявлен положительный эффект TQ в поведенческом тесте пассивного избегания, а также обнаружено снижение интенсивности формирования включений Аβ в поле CA1 и повышение выживаемости пирамидных нейронов гиппокампа.

Болезнь Паркинсона – еще одно неизлечимое нейродегенеративное заболевание, для которого характерны патологические процессы в экстрапирамидной моторной системе и прогрессирующая гибель дофаминергических нейронов, прежде всего, в чёрной субстанции (*substantia nigra*). Ключевые роли в развитии этой болезни играют агрегация α-синуклеина с образованием телец Леви, индукция нейровоспаления и окислительный стресс [63, 64]. Характерные для БП симптомы (тремор, гипокинезия, мышечная ригидность, постуральная неустой-

чивость) возникают при гибели 60–80% нейронов черной субстанции [65]. В настоящее время действие препаратов, используемых в терапии БП, приводит лишь к облегчению симптомов. К этой группе медикаментов относятся леводопа, агонисты дофаминовых рецепторов и ингибиторы моноаминоксидазы-Б. Самыми распространенными моделями нейродегенеративных процессов при БП *in vivo* являются введение животным 1-метил-4-фенилпиридиния (MPP+), 6-гидроксидофамина или ротенона, а *in vitro* – обработка клеточных культур дофаминергических нейронов этими соединениями, которые оказывают нейродеструктивный эффект, опосредуемый перекисным окислением липидов и прямым ингибированием дыхательной цепи митохондрий [66].

Используя подобную модель *in vitro*, было показано, что TQ в концентрациях 0,01–10 мкМ предотвращает (MPP+)-индуцированную гибель мезенцефалических дофаминергических нейронов, уменьшая высвобождение лактатдегидрогеназы и способствуя поддержанию мембранного потенциала митохондрий. В то же время происходит активация процесса аутофагии, что способствует снижению апоптотической гибели клеток [67]. Аутофагия является естественным механизмом клетки, который устраняет ненужные или поврежденные органеллы и молекулы. Этот процесс может индуцироваться окислительным или токсическим стрессом. Нарушение механизма аутофагии может привести к развитию нейродегенеративных заболеваний. Например, при БА в отростках нейронов наблюдается нарушение аутофагии. Следует отметить, что в настоящее время данные о влиянии TQ на аутофагию несколько противоречивы. В работе, выполненной на клетках линий 786-О и АСНН [68], показано индуцирующее аутофагию действие TQ, тогда как на глиобластоме продемонстрировано ингибирование аутофагии под влиянием TQ [69]. Однако в этих исследованиях использовали довольно высокие (более 40 мкМ) концентрации TQ, которые, по нашим данным, могут быть токсичны и для нейронов [70], тогда как нейропротекторное действие TQ проявляется в концентрациях 1 мкМ и ниже [57, 67], именно тогда наиболее вероятно ожидать активации аутофагии при действии TQ.

Защитное действие TQ было продемонстрировано и при моделировании болезни Паркинсона с помощью ротенона. В этой модельной системе TQ (0,01–1 мкМ) предотвращал гибель первичных дофаминергических нейронов [71]. Особенно интересные результаты были получены при исследовании эффектов TQ в условиях α -синуклеин-индуцированной синаптической

токсичности в культурах нейронов гиппокампа крыс и дифференцированных из ИПСК человека. Оказалось, что в обоих типах культур TQ в концентрации 0,01 мкМ защищает культивируемые нейроны от повреждений синапсов α -синуклеином, повышает уровень синаптофизина (индикатора синаптической плотности), препятствует вызванному мутировавшим геном β -синуклеина P123H ингибированию рециркуляции синаптических пузырьков. Кроме того, используя метод культивирования клеток на мультиэлектродных матрицах, авторам удалось показать, что TQ способствует поддержанию нормальной электрической активности нейронной сети, которая была нарушена действием α -синуклеина [56, 59].

В экспериментах *in vivo* TQ также обнаружил эффекты, способные улучшить течение БП. При моделировании БП на мышах с использованием 1-метил-4-фенил-1,2,3,6 тетрагидропиридина (MPTP), который вызывает развитие окислительного стресса и нейровоспаления в головном мозге, показано, что TQ восстанавливает активность антиоксидантных ферментов, препятствует истощению глутатиона, ингибирует перекисное окисление липидов и снижает уровень провоспалительных цитокинов [72]. В ротенон-индуцированной модели БП TQ предотвращал моторные нарушения, а также изменения содержания белков Parkin и Drp1, падение уровня дофамина в дофаминергических областях черной субстанции и полосатом теле мозга крыс [73]. Положительные данные о нейропротекторном действии TQ были получены и при введении в стриатум 6-гидроксидофамина, приводящем к потере нейронов и нарушению поведения животных [74].

Таким образом, можно заключить, что TQ обладает высоким нейропротекторным потенциалом и может быть в перспективе использован для разработки прототипов терапевтических средств, направленных на снижение риска фатального развития БА и других дегенеративных заболеваний центральной нервной системы.

МИТОХОНДРИАЛЬНО-АДРЕСОВАННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ НА ОСНОВЕ ТИМОХИНОНА

Как было показано выше, нейропротекторное действие TQ обусловлено, прежде всего, его антиоксидантными свойствами. В то же время недостатком препарата является отсутствие направленного действия и высокая гидрофобность. Известно, что митохондрии являются одними из главных компартментов генерации сво-

бодных радикалов в клетке и единственными внутриклеточными органеллами, матрикс которых отрицательно заряжен. В связи с этим были созданы митохондриально-адресованные антиоксиданты, способные электрофоретически транспортироваться в митохондрии и накапливаться в их матриксе [75]. Основой для создания этих соединений явились результаты исследований, выполненных в 1960-х—начале 1970-х гг. группой В.П. Скулачева и Е.А. Либермана и показавших, что липофильные ионы с делокализованным зарядом, экранированными объемистыми заместителями, свободно проникают в митохондрии и субмитохондриальные частицы под действием электрического поля внутренней митохондриальной мембраны [76].

Таким образом, SkQ благодаря своей липофильности хорошо проникает через липидный бислой, а наличие положительного заряда в молекуле этого вещества приводит к его движению по электрическому потенциалу, накоплению и удерживанию в митохондриях за счет наличия отрицательного заряда в их матриксе. SkQ1 так располагается в мембране митохондрий, что остаток пластохинона находится точно около C9 или C13 кардиолипина, который наиболее подвержен действию активных форм кислорода. Таким образом, он может быстро и эффективно нейтрализовать пероксильный радикал кардиолипина [77]. В качестве антиоксидантной части молекулы в синтезированных митохондриально-адресованных антиоксидантах были использованы производные пластохинона и TQ, а в качестве транспортной — проникающий катион тетрафенилфосфоний или родамин 19. TQ — производное пластохинона с одним метильным заместителем в ароматическом кольце. Наибольшей антиоксидантной активностью в ряду митохондриально-направленных антиоксидантов обладают соединения с тимохиноном: 10-(6'-толукинонил) децилродамин 19 (SkQTR1) или смеси 10-(6'-толукинонил)- и 10-(5'-толукинонил)децилтрифенил фосфония в пропорции 1,4:1 (SkQT1) [25] (рис. 1). Антиоксидантная активность осуществляется прямой нейтрализацией АФК за счет окисления TQ. Установлено, что тимохиноновый SkQ проявляет выраженную антиоксидантную активность, снижая продукцию перекиси водорода в митохондриях, а также предотвращая прооксидантно-индуцированный окислительный стресс, фрагментацию митохондрий и апоптоз, тем самым повышая жизнеспособность клеток [78]. Однако следует отметить, что нейропротекторное действие митохондриально-адресованных антиоксидантов может осуществляться не только прямым, но и косвенным способом, посредством выделения

нейропротекторов другими органами и инактивированием апоптотических ферментов. Например, через 24 ч после введения SkQR1 в головном мозге было обнаружено повышение уровня эритропоэтина и фосфорилированной гликогенсинтазы киназы-3b (GSK-3b) [79]. Особенно перспективно то, что содержащие TQ митохондриально-адресованные соединения показали высокую нейропротекторную активность на различных моделях церебральной патологии, таких как ишемия, ЧМТ, БА [80–83].

При моделировании фокальной открытой односторонней ЧМТ зоны сенсомоторной коры крысы установлено, что внутрибрюшинные инъекции наномолярных концентраций SkQT1 или SkQTR1 значительно снижают неврологический дефицит, вызванный травмой. Кроме того, однократное внутрибрюшинное введение SkQT1 крысам предотвращало вызываемое Аβ ингибирование длительной потенциации в срезах гиппокампа этих животных [80]. В настоящее время считается, что длительная потенциация синаптической передачи в гиппокампе является моделью синаптических изменений, лежащих в основе формирования обучения и памяти. Аналог SkQT1 без антиоксидантной части молекулы, C12TPP, был неэффективен в таких экспериментах [80]. Механизм вызываемого Аβ ингибирования длительной потенциации в срезах гиппокампа может быть связан с гиперпродукцией митохондриальных АФК, индуцируемой Аβ [84]. Митохондриально-адресованные антиоксиданты, содержащие TQ, оказывали нейропротекторный эффект и при моделировании у крыс церебральной ишемии, полученной путем окклюзии средней мозговой артерии. Показано, что при введении животным SkQT1 или SkQTR1 сразу после реперфузии снижается неврологический дефицит и отек головного мозга [81].

Таким образом, митохондриально-адресованные антиоксиданты, созданные на основе TQ, являются новой формой нейропротекторов, действие которых направлено на определенные органеллы клетки, а их защитный эффект, показанный на различных моделях нейродегенерации, подтверждает участие митохондриальных АФК в механизмах патологических процессов при ЧМТ, ишемии головного мозга, БА и БП.

Многомерные каскады повреждения нейронов при нейродегенеративных процессах предлагают много потенциальных целей для терапевтических вмешательств, что подразумевает множество точек, на которые могут воздействовать нейропротекторы. Одним из таких веществ, которое можно использовать в мультивалентной терапевтической стратегии, является тимохинон

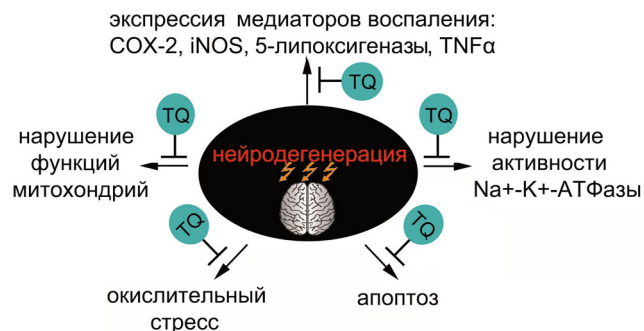


Рис. 2. Потенциальные цели в многомерных каскадах повреждения нейронов при нейродегенеративных процессах для терапевтического вмешательства тимохинона.

С цветным вариантом рис. 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>

(рис. 2). Это заключение подтверждают представленные в настоящее время данные, что нейропротекторное действие тимохинона опосредовано его способностью предотвращать развитие окислительного стресса, а также поддерживать мембранный потенциал митохондрий, активировать процесс аутофагии, понижать уровень провоспалительных цитокинов и в итоге предупреждать апоптотическую гибель клеток.

Вместе с тем, следует признать, что работы, направленные на исследование защитного потенциала как тимохинона, так и модификаций его молекулы, в настоящее время пока немногочисленны. Тем не менее, результаты этих исследований показывают, что тимохинон является эффективным и перспективным нейропротекторным средством при повреждениях, вызванных травмой и ишемией, а также при патологических процессах, характерных для болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. В дальнейшем необходимо не только более детальное исследование механизмов защитного действия тимохинона и его химических производных, но и оценка стабильности оказанного терапевтического эффекта, так как нейродегенеративные процессы в головном мозге человека могут развиваться довольно длительное время.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. В настоящей работе отсутствуют исследования, в которых использовали людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ahmad, N., Ahmad, R., Alam, M.A., Samim, M., Iqbal, Z., and Ahmad, F.J. (2016) Quantification and evaluation of thymoquinone loaded mucoadhesive nanoemulsion for treatment of cerebral ischemia, *Int. J. Biol. Macromol.*, **88**, 320–332, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.03.019.
- Goyal, S.N., Prajapati, C.P., Gore, P.R., Patil, C.R., Mahajan, U.B., Sharma, C., Talla, S.P., and Ojha, S.K. (2017) Therapeutic potential and pharmaceutical development of thymoquinone: a multitargeted molecule of natural origin, *Front. Pharmacol.*, **8**, 656, doi: 10.3389/fphar.2017.00656.
- Myers, A.L., Zhang, Y.P., Kramer, M.A., Bornmann, W.G., Kaseb, A., Yang, P., and Tran, H.T. (2012) A practical synthesis and X-ray crystallographic analysis of dithymoquinone, a photodimer of thymoquinone, *Lett. Org. Chem.*, **9**, 762–766, doi: 10.2174/157017812803901890.
- Ragheb, A., Attia, A., Eldin, W.S., Elbarbry, F., Gazarin, S., and Shoker, A. (2009) The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory agent, against renal injury: a review, *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, **20**, 741–752.
- Jaarin, K., Foong, W.D., Yeoh, M.H., Kamarul, Z.Y., Qodriyah, H.M., Azman, A., Zuhair, J.S., Juliana, A.H., and Kamisah, Y. (2015) Mechanisms of the antihypertensive effects of *Nigella sativa* oil in L-NAME-induced hypertensive rats, *Clinics (Sao Paulo)*, **70**, 751–757, doi: 10.6061/clinics/2015(11)07.
- Keyhanmanesh, R., Boskabady, M.H., Khamneh, S., and Doostar, Y. (2010) Effect of thymoquinone on the lung pathology and cytokine levels of ovalbumin-sensitized guinea pigs, *Pharmacol. Rep.*, **62**, 910–916.
- Vamosa, A.O., Kaatabi, H., Lebdaa, F.M., Elq, A.M., and Al-Sultanb, A. (2010) Effect of *Nigella sativa* seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus, *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **54**, 344–354.
- Kaseb, A.O., Chinnakannu, K., Chen, D., Sivanandam, A., Tejwani, S., Menon, M., Dou, Q.P., and Reddy, G.P. (2007) Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer, *Cancer Res.*, **67**, 7782–7788, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1483.
- Darakhshan, S., Bidmeshki Pour, A., Hosseinzadeh Colagar, A., and Sisakhtnezhad, S. (2015) Thymoquinone and its therapeutic potentials, *Pharmacol. Res.*, **95**, 138–158, doi: 10.1016/j.phrs.2015.03.011.
- Gholamnezhad, Z., Havakhah, S., and Boskabady, M.H. (2016) Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: a review, *J. Ethnopharmacol.*, **190**, 372–386, doi: 10.1016/j.jep.2016.06.061.
- Farkhondeh, T., Samarghandian, S., Shahri, A.M.P., and Samini, F. (2018) The neuroprotective effects of thymoquinone: a review, *Dose Response*, **16**, doi: 10.1177/1559325818761455.
- Beheshti, F., Hosseini, M., Vafae, F., Shafei, M.N., and Soukhtanloo, M. (2015) Feeding of *Nigella sativa* during neonatal and juvenile growth improves learning and memory of rats, *J. Tradit. Complement. Med.*, **6**, 146–152, doi: 10.1016/j.jtcme.2014.11.039.
- Sahak, M.K., Kabir, N., Abbas, G., Draman, S., Hashim, N.H., and Hasan Adli, D.S. (2016) The role of *Nigella sativa* and its active constituents in learning and memory, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2016**, 6075679, doi: 10.1155/2016/6075679.
- Shao, Y.Y., Li, B., Huang, Y.M., Luo, Q., Xie, Y.M., and Chen, Y.H. (2017) Thymoquinone attenuates brain injury via an anti-oxidative pathway in a status epilepticus rat model, *Transl. Neurosci.*, **8**, 9–14, doi: 10.1515/tnsci-2017-0003.

15. Ullah, I., Ullah, N., Naseer, M.I., Lee, H.Y., and Kim, M.O. (2012) Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons, *BMC Neurosci.*, **13**, 11, doi: 10.1186/1471-2202-13-11.
16. Hamdan, A.M., Al-Gayyar, M.M., Shams, M.E.E., Alshaman, U.S., Prabakar, K., Bagalagel, A., Diri, R., Noor, A.O., and Almasri, D. (2019) Thymoquinone therapy mediates elevated brain tissue inflammatory mediators induced by chronic administration of food preservatives, *Sci. Rep.*, **9**, 7026, doi: 10.1038/s41598-019-43568-x.
17. Kassab, R.B., and El-Hennamy, R.E. (2017) The role of thymoquinone as a potent antioxidant in ameliorating the neurotoxic effect of sodium arsenate in female rat, *Egypt J. Basic Appl. Neurosci.*, **4**, 160–167, doi: 10.1016/j.ejbas.2017.07.002.
18. Firdaus, F., Zafeer, M.F., Waseem, M., Ullah, R., Ahmad, M., and Afzal, M. (2018) Thymoquinone alleviates arsenic induced hippocampal toxicity and mitochondrial dysfunction by modulating mPTP in Wistar rats, *Biomed. Pharmacother.*, **102**, 1152–1160, doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.159.
19. Firdaus, F., Zafeer, M.F., Anis, E., Ahmad, F., Hossain, M.M., Ali, A., and Afzal, M. (2019) Evaluation of phyto-medicinal efficacy of thymoquinone against arsenic induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in SH-SY5Y cells, *Phytomedicine*, **54**, 224–230, doi: 10.1016/j.phymed.2018.09.197.
20. Mehri, S., Shahi, M., Razavi, B.M., Hassani, F.V., and Hosseinzadeh, H. (2014) Neuroprotective effect of thymoquinone in acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats, *Iran. J. Basic Med. Sci.*, **17**, 1007–1011.
21. Tabeshpour, J., Mehri, S., Abnous, K., and Hosseinzadeh, H. (2019) Neuroprotective effects of thymoquinone in acrylamide-induced peripheral nervous system toxicity through MAPKinase and apoptosis pathways in rat, *Neurochem. Res.*, **44**, 1101–1112, doi: 10.1007/s11064-019-02741-4.
22. Kanter, M. (2008) *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats, *Neurochem. Res.*, **33**, 579–588, doi: 10.1007/s11064-007-9481-z.
23. Kanter, M. (2011) Protective effects of thymoquinone on the neuronal injury in frontal cortex after chronic toluene exposure, *J. Mol. Hist.*, **42**, 39–46, doi: 10.1007/s10735-010-9305-3.
24. Samarghandian, S., Farkhondeh, T., and Samini, F. (2018) A review on possible therapeutic effect of *Nigella sativa* and thymoquinone in neurodegenerative diseases, *CNS Neurol. Disord. Drug. Targets*, **17**, 412–420, doi: 10.2174/1871527317666180702101455.
25. Severina, I.I., Severin, F.F., Korshunova, G.A., Sumbatyan, N.V., Ilyasova, T.M., Simonyan, R.A., Rogov, A.G., Trendeleva, T.A., Zvyagilskaya, R.A., Dugina, V.B., Domnina, L.V., Fetisova, E.K., Lyamzaev, K.G., Vyssokikh, M.Y., Chernyak, B.V., Skulachev, M.V., Skulachev, V.P., and Sadovnichii, V.A. (2013) In search of novel highly active mitochondria-targeted antioxidants: thymoquinone and its cationic derivatives, *FEBS Lett.*, **587**, 2018–2024, doi: 10.1016/j.febslet.2013.04.043.
26. Dewan, M.C., Rattani, A., Gupta, S., Baticulon, R.E., Hung, Y.C., Punchak, M., Agrawal, A., Adeleye, A.O., Shrimel, M.G., Rubiano, A.M., Rosenfeld, J.V., and Park, K.B. (2017) Estimating the global incidence of traumatic brain injury, *J. Neurosurg.*, **1**, 1–18, doi: 10.3171/2017.10.JNS17352.
27. Juurlink, B.H., and Paterson, P.G. (1998) Review of oxidative stress in brain and spinal cord injury: suggestions for pharmacological and nutritional management strategies, *J. Spinal Cord Med.*, **21**, 309–334.
28. Pointer, C.B., and Klegeris, A. (2017) Cardiolipin in central nervous system physiology and pathology, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **37**, 1161–1172, doi: 10.1007/s10571-016-0458-9.
29. Niizuma, K., Yoshioka, H., Chen, H., Kim, G.S., Jung, J.E., Katsu, M., Okami, N., and Chan, P.H. (2010) Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia, *Biochim. Biophys. Acta*, **1802**, 92–99, doi: 10.1016/j.bbadis.2009.09.002.
30. Gupta, R., and Sen, N. (2016) Traumatic brain injury: a risk factor for neurodegenerative diseases, *Rev. Neurosci.*, **27**, 93–100, doi: 10.1515/revneuro-2015-0017.
31. Shively, S., Scher, A.I., Perl, D.P., and Diaz-Arrastia, R. (2012) Dementia resulting from traumatic brain injury: what is the pathology? *Arch. Neurol.*, **69**, 1245–1251, doi: 10.1001/archneurol.2011.3747.
32. Walker, K.R., Kang, E.L., Whalen, M.J., Shen, Y., and Tesco, G. (2012) Depletion of GGA1 and GGA3 mediates post injury elevation of BACE1, *J. Neurosci.*, **32**, 10423–10437, doi: 10.1523/JNEUROSCI.5491-11.2012.
33. Gülşen, İ., Ak, H., Çölçimen, N., Alp, H.H., Akyol, M.E., Demir, İ., Atalay, T., Balahroğlu, R., and Rağbetli, M.Ç. (2016) Neuroprotective effects of thymoquinone on the hippocampus in a rat model of traumatic brain injury, *World Neurosurg.*, **86**, 243–249, doi: 10.1016/j.wneu.2015.09.052.
34. Üstün, N., Aras, M., Özgür, T., Bayraktar, H.S., Sefil, F., Özden, R., and Yagiz, A.E. (2014) Thymoquinone attenuates trauma induced spinal cord damage in an animal model, *Ulus. Travma Acil. Cerrahi Derg.*, **20**, 328–332, doi: 10.5505/tjtes.2014.05021.
35. Oskouei, Z., Akaberi, M., and Hosseinzadeh, H. (2018) A glance at black cummin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone, in ischemia: a review, *Iran. J. Basic. Med. Sci.*, **21**, 1200–1209, doi: 10.22038/ijbms.2018.31703.7630.
36. Donnan, G.A., Fisher, M., Macleod, M., and Davis, S.M. (2008) Stroke, *Lancet*, **371**, 1612–1623, doi: 10.1016/S0140-6736(08)60694-7.
37. Корчагин В.И., Миронов К.О., Дрибноходова О.П., Максимова М.Ю., Иллариошкин С.Н., Танащян М.М., Платонов, А.Е., Шипулин Г.А., Раскуражев А.А., Пирадов М.А. (2016) Роль генетических факторов в формировании индивидуальной предрасположенности к ишемическому инсульту, *Анналы клин. эксп. неврологии*, **10**, 65–75.
38. Стельмашук Е.В. (2012) *Механизмы повреждения и защита нейронов головного мозга при экспериментальном моделировании ишемии*. Дис. докт. биол. наук, ГУ НИИ морфологии человека РАМН, Москва.
39. Al-Majed, A.A., Al-Omar, F.A., and Nagi, M.N. (2006) Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus, *Eur. J. Pharmacol.*, **543**, 40–47, doi: 10.1016/j.ejphar.2006.05.046.
40. Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Asl, M.N., Sadeghnia, H.R., and Ziaee, T. (2007) Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus, *Phytomedicine*, **14**, 621–627, doi: 10.1016/j.phymed.2006.12.005.
41. Xiao, X.Y., Zhu, Y.X., Bu, J.Y., Li, G.W., Zhou, J.H., and Zhou, S.P. (2016) Evaluation of neuroprotective effect of thymoquinone nanoformulation in the rodent cerebral ischemia-reperfusion model, *Biomed. Res. Int.*, **2016**, 2571060, doi: 10.1155/2016/2571060.
42. Ramachandran, S., and Thangarajan, S. (2018) Thymoquinone loaded solid lipid nanoparticles counteracts 3-nitropropionic acid induced motor impairments and neuroinflammation in rat model of Huntington's disease, *Metab. Brain Dis.*, **33**, 1459–1470, doi: 10.1007/s11011-018-0252-0.
43. Jakaria, M., Cho, D.Y., Ezazul Haque, M., Karthivashan, G., Kim, I.S., Ganesan, P., and Choi, D.K. (2018) Neuropharmacological potential and delivery prospects of thymoquinone for neurological disorders, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2018**, 1209801, doi: 10.1155/2018/1209801.

44. Gökce, E.C., Kahveci, R., Gökce, A., Cemil, B., Aksoy, N., Sargon, M.F., Kisa, Ü., Erdoğan, B., Güvenç, Y., Alagöz, F., and Kahveci, O. (2016) Neuroprotective effects of thymoquinone against spinal cord ischemia-reperfusion injury by attenuation of inflammation, oxidative stress, and apoptosis, *J. Neurosurg. Spine*, **24**, 949–959, doi: 10.3171/2015.10.SPINE15612.
45. Иллариошкин С.Н., Власенко А.Г., Федотова Е.Ю. (2013) Современные возможности идентификации латентной стадии нейродегенеративного процесса, *Анналы клин. эксп. неврологии*, **7**, 39–50.
46. Bonin-Guillaume, S., Zekry, D., Giacobini, E., Gold, G., and Michel, J.P. (2005) The economical impact of dementia, *Presse Med.*, **34**, 35–41.
47. Стельмашук Е.В., Исаев Н.К., Генрихс Е.Е., Амелькина Г.А., Хаспеков Л.Г., Скребицкий В.Г., Иллариошкин С.Н. (2014) Роль ионов цинка и меди в механизмах патогенеза болезни Альцгеймера и Паркинсона, *Биохимия*, **79**, 501–508, doi: 10.1134/S0006297914050022.
48. Selkoe, D.J. (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure, *Science*, **298**, 789–791, doi: 10.1126/science.1074069.
49. Kimura, M., Akasofu, S., Ogura, H., and Sawada, K. (2005) Protective effect of donepezil against Aβ(1–40) neurotoxicity in rat septal neurons, *Brain Res.*, **1047**, 72–84, doi: 10.1016/j.brainres.2005.04.014.
50. Капай Н.А., Исаев Н.К., Стельмашук Е.В., Попова О.В., Зоров Д.Б., Скребицкий В.Г., Скулачев В.П. (2011) Митохондриально-адресованное производное платохинона, антиоксидант SKQR1, введенный *in vivo*, предотвращает нарушение длительной потенциации, вызванное β-амилоидом в срезах гиппокампa, *Биохимия*, **76**, 1695–1699, doi: 10.1134/S0006297911120108.
51. Skulachev, V.P., Isaev, N.K., Kapay, N.A., Popova, O.V., Stelmashook, E.V., Lyamzaev, K.G., Scharonova, I.N., Zorov, D.B., and Skrebitsky, V.G. (2014) Mitochondria-targeted antioxidants and Alzheimer's disease, in *Aging. Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. (V. R. Preedy, ed.) Academic Press, N.Y., pp. 195–201, doi: 10.1016/B978-0-12-405933-7.00019-6.
52. Cascella, M., Bimonte, S., Barbieri, A., Del Vecchio, V., Muzio, M.R., Vitale, A., Benincasa, G., Ferriello, A.B., Azzariti, A., Arra, C., and Cuomo, A. (2018) Dissecting the potential roles of *Nigella sativa* and its constituent thymoquinone on the prevention and on the progression of Alzheimer's disease, *Front. Aging Neurosci.*, **10**, 16, doi: 10.3389/fnagi.2018.00016.
53. Khan, A., Vaibhav, K., Javed, H., Khan, M.M., Tabassum, R., Ahmed, M.E., Srivastava, P., Khuwaja, G., Islam, F., Siddiqui, M.S., and Shafi, M.M. (2012) Attenuation of Aβ-induced neurotoxicity by thymoquinone via inhibition of mitochondrial dysfunction and oxidative stress, *Mol. Cell. Biochem.*, **369**, 55–65, doi: 10.1007/s11010-012-1557-7.
54. Kennedy, K., Tucci, M.A., and Benghuzzi, H.A. (2014) Comparison of potential preventive therapeutic agents green tea, thymoquinone, and dilinoleoylphosphatidylcholine on human neuroblastoma cells, *Biomed. Sci. Instrum.*, **50**, 132–139.
55. Alhebshi, A.H., Gotoh, M., and Suzuki, I. (2013) Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid β-induced neurotoxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **433**, 362–367, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.11.139.
56. Alhebshi, A.H., Odawara, A., Gotoh, M., and Suzuki, I. (2014) Thymoquinone protects cultured hippocampal and human induced pluripotent stem cells-derived neurons against α-synuclein-induced synapse damage, *Neurosci. Lett.*, **570**, 126–131, doi: 10.1016/j.neulet.2013.09.049.
57. Ismail, N., Ismail, M., Mazlan, M., Latiff, L.A., Imam, M.U., Iqbal, S., Azmi, N.H., Ghafar, S.A., and Chan, K.W. (2013) Thymoquinone prevents β-amyloid neurotoxicity in primary cultured cerebellar granule neurons, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **33**, 1159–1169, doi: 10.1007/s10571-013-9982-z.
58. Ismail, N., Ismail, M., Shahid, I., and Latiff, L.A. (2013) Anti-aggregation effects of thymoquinone against Alzheimer's β-amyloid *in vitro*, *J. Med. Plants Res.*, **7**, 2280–2288, doi: 10.5897/JMPR10.852.
59. Alhibshi, A.H., Odawara, A., and Suzuki, I. (2019) Neuroprotective efficacy of thymoquinone against amyloid beta-induced neurotoxicity in human induced pluripotent stem cell-derived cholinergic neurons, *Biochem. Biophys. Res. Rep.*, **17**, 122–126, doi: 10.1016/j.bbrep.2018.12.005.
60. Dalli, T., Beker, M., Terzioglu-Usak, S., Akbas, F., and Elibol, B. (2018) Thymoquinone activates MAPK pathway in hippocampus of streptozotocin-treated rat model, *Biomed. Pharmacother.*, **99**, 391–401, doi: 10.1016/j.biopha.2018.01.047.
61. Bargi, R., Asgharzadeh, F., Beheshti, F., Hosseini, M., Sadeghnia, H.R., and Khazaei, M. (2017) The effects of thymoquinone on hippocampal cytokine level, brain oxidative stress status and memory deficits induced by lipopolysaccharide in rats, *Cytokine*, **96**, 173–184, doi: 10.1016/j.cyto.2017.04.015.
62. Poorgholam, P., Yaghmaei, P., and Hajebrahimi, Z. (2018) Thymoquinone recovers learning function in a rat model of Alzheimer's disease, *Avicenna J. Phytomed.*, **8**, 188–197, doi: 10.22038/ajp.2018.21828.1820.
63. Mosley, R.L., Benner, E.J., Kadiu, I., Thomas, M., Boska, M.D., Hasan, K., Laurie, C., and Gendelman, H.E. (2006) Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease, *Clin. Neurosci. Res.*, **6**, 261–281, doi: 10.1016/j.cnr.2006.09.006.
64. Vēnda, L.L., Cragg, S.J., Buchman, V.L., and Wade-Martins, R. (2010) α-Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease, *Trends Neurosci.*, **33**, 559–568, doi: 10.1016/j.tins.2010.09.004.
65. Davie, C.A. (2008) A review of Parkinson's disease, *British Med. Bull.*, **86**, 109–127, doi: 10.1093/bmb/ldn013.
66. Хаспеков Л.Г. (2018) Клеточные модели заболеваний нервной системы, *Анналы клин. эксп. неврологии*, **12**, 70–78, doi: 10.25692/ACEN.2018.5.9.
67. Radad, K.S., Al-Shraim, M.M., Moustafa, M.F., and Rausch, W.D. (2015) Neuroprotective role of thymoquinone against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced dopaminergic cell death in primary mesencephalic cell culture, *Neurosciences (Riyadh)*, **20**, 10–16.
68. Zhang, Y., Fan, Y., Huang, S., Wang, G., Han, R., Lei, F., Luo, A., Jing, X., Zhao, L., Gu, S., and Zhao, X. (2018) Thymoquinone inhibits the metastasis of renal cell cancer cells by inducing autophagy via AMPK/mTOR signaling pathway, *Cancer Sci.*, **109**, 3865–3873, doi: 10.1111/cas.13808.
69. Racoma, I.O., Meisen, W.H., Wang, Q.E., Kaur, B., and Wani, A.A. (2013) Thymoquinone inhibits autophagy and induces cathepsin-mediated, caspase-independent cell death in glioblastoma cells, *PLoS One*, **8**, e72882, doi: 10.1371/journal.pone.0072882.
70. Stelmashook, E.V., Chetverikov, N.S., Golyshev, S.A., Genrikhs, E.E., and Isaev, N.K. (2020) Thymoquinone induces mitochondrial impairment and death of cerebellar granule neurons, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 239–247, doi: 10.31857/S0320972520020074.
71. Radad, K., Moldzio, R., Taha, M., and Rausch, W.D. (2009) Thymoquinone protects dopaminergic neurons against MPP⁺ and rotenone, *Phytother. Res.*, **23**, 696–700, doi: 10.1002/ptr.2708.
72. Ardah, M.T., Merghani, M.M., and Haque, M.E. (2019) Thymoquinone prevents neurodegeneration against MPTP *in vivo* and modulates α-synuclein aggregation *in vitro*, *Neurochem. Int.*, **128**, 115–126, doi: 10.1016/j.neuint.2019.04.014.
73. Ebrahimi, S.S., Oryan, S., Izadpanah, E., and Hassanzadeh, K. (2017) Thymoquinone exerts neuropro-

- protective effect in animal model of Parkinson's disease, *Toxicol. Lett.*, **276**, 108–114, doi: 10.1016/j.toxlet.2017.05.018.
74. Sedaghat, R., Roghani, M., and Khalili, M. (2014) Neuroprotective effect of thymoquinone, the nigella sativa bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemi-parkinsonian rat model, *Iran. J. Pharm. Res.*, **13**, 227–234.
 75. Коршунова Г.А., Шишкина А.В., Скулачев М.В. (2017) Дизайн, синтез и некоторые аспекты биологической активности митохондриально-направленных антиоксидантов, *Биохимия*, **82**, 998–1017, doi: 10.1134/S0006297917070021.
 76. Liberman, E.A., Topaly, V.P., Tsofina, L.M., Jasaitis, A.A., and Skulachev, V.P. (1969) Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria, *Nature*, **222**, 1076–1078, doi: 10.1038/2221076a0.
 77. Skulachev, V.P., Antonenko, Y.N., Cherepanov, D.A., Chernyak, B.V., Izyumov, D.S., Khailova, L.S., Klishin, S.S., Korshunova, G.A., Lyamzaev, K.G., Pletjushkina, O.Y., Roginsky, V.A., Rokitskaya, T.I., Severin, F.F., Severina, I.I., Simonyan, R.A., Skulachev, M.V., Sumbatyan, N.V., Sukhanova, E.I., Tashlitsky, V.N., Trendeleva, T.A., Vysokikh, M.Y., and Zvyagilskaya, R.A. (2010) Prevention of cardiolipin oxidation and fatty acid cycling as two antioxidant mechanisms of cationic derivatives of plastoquinone (SkQs), *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 878–889, doi: 10.1016/j.bbabi.2010.03.015.
 78. Goleva, T.N., Rogov, A.G., Korshunova, G.A., Trendeleva, T.A., Mamaev, D.V., Aliverdieva, D.A., and Zvyagilskaya, R.A. (2019) SkQThy, a novel and promising mitochondria-targeted antioxidant, *Mitochondrion*, **49**, 206–216, doi: 10.1016/j.mito.2019.09.001.
 79. Silachev, D.N., Isaev, N.K., Pevzner, I.B., Zorova, L.D., Stelmashook, E.V., Novikova, S.V., Plotnikov, E.Y., Skulachev, V.P., and Zorov, D.B. (2012) The mitochondria-targeted antioxidants and remote kidney preconditioning ameliorate brain damage through kidney-to-brain cross-talk, *PLoS One*, **7**, 12, e51553, doi: 10.1371/journal.pone.0051553.
 80. Genrikhs, E.E., Stelmashook, E.V., Popova, O.V., Kapay, N.A., Korshunova, G.A., Sumbatyan, N.V., Skrebitsky, V.G., Skulachev, V.P., and Isaev, N.K. (2015) Mitochondria-targeted antioxidant SkQT1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat and prevents amyloid- β -induced impairment of long-term potentiation in rat hippocampal slices, *J. Drug Target.*, **23**, 347–352, doi: 10.3109/1061186X.2014.997736.
 81. Silachev, D.N., Plotnikov, E.Y., Zorova, L.D., Pevzner, I.B., Sumbatyan, N.V., Korshunova, G.A., Gulyaev, M.V., Pirogov, Y.A., Skulachev, V.P., and Zorov, D.B. (2015) Neuroprotective effects of mitochondria-targeted plastoquinone and thymoquinone in a rat model of brain ischemia/reperfusion injury, *Molecules*, **20**, 14487–14503, doi: 10.3390/molecules200814487.
 82. Isaev, N.K., Stelmashook, E.V., Genrikhs, E.E., Korshunova, G.A., Sumbatyan, N.V., Kapkaeva, M.R., and Skulachev, V.P. (2016) Neuroprotective properties of mitochondria-targeted antioxidants of the SkQ-type, *Rev. Neurosci.*, **27**, 849–855, doi: 10.1515/revneuro-2016-0036.
 83. Stelmashook, E.V., Isaev, N.K., Genrikhs, E.E., and Novikova, S.V. (2019) Mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy for the treatment of traumatic brain injury, *Antioxidants (Basel)*, **8**, 5, 124, doi: 10.3390/antiox8050124.
 84. Ma, T., Hoeffler, C.A., Wong, H., Massaad, C.A., Zhou, P., Iadecola, C., Murphy, M.P., Pautler, R.G., and Klann, E. (2011) Amyloid β -induced impairments in hippocampal synaptic plasticity are rescued by decreasing mitochondrial superoxide, *J. Neurosci.*, **31**, 5589–5595, doi: 10.1523/JNEUROSCI.6566-10.2011.

THYMOQUINONE AS A POTENTIAL NEUROPROTECTIVE DRUG IN ACUTE AND CHRONIC FORMS OF CEREBRAL PATHOLOGY

Review

N. K. Isaev^{1,2*}, N. S. Chetverikov², E. V. Stelmashook¹,
E. E. Genriks¹, L. G. Khaspekov^{1*}, and S. N. Illarionov¹

¹ Research Center of Neurology, 125367 Moscow, Russia; E-mail: nisaev61@mail.ru, khaspekleon@mail.ru

² Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119991 Moscow, Russia

Received July 16, 2019

Revised November 12, 2019

Accepted November 28, 2019

Thymoquinone (TQ) is one of the main biologically active components of the essential oil derived from the black cummin plant (*Nigella sativa*) seeds. According to modern data, TQ has a wide range of pharmacological activity, including neuroprotective action, which was demonstrated in experimental modeling of brain ischemia/reperfusion, Alzheimer's and Parkinson's diseases, traumatic brain injury. Neuroprotective effect of TQ is mediated by the inhibition of lipid peroxidation, reduction of proinflammatory cytokines' level, maintenance of membrane potential of mitochondria, as well as prevention of apoptosis by inhibiting caspases 3, 8, and 9. Mitochondria-targeted antioxidants, derived on the basis of TQ, can accumulate in mitochondria and exhibit neuroprotective properties in nanomolar concentrations. Currently available data show that TQ effectively reduces negative effects of acute and chronic forms of cerebral pathology. Therefore, a more detailed study of the mechanisms of pharmacological action of thymoquinone and its chemical derivatives is necessary. Here, we have identified and formulated the prospects of using TQ itself and TQ-based compounds for therapy of a number of neurodegenerative diseases.

Keywords: thymoquinone, brain ischemia, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, traumatic brain injury, mitochondria-targeted antioxidants, neuroprotection