

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОАСТЕНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

И. В. Зарубина, Ф. Н. Нурманбетова, П. Д. Шабанов<sup>1</sup>

Производные бензимидазола в эксперименте после черепно-мозговой травмы способствуют быстрому восстановлению нарушенной структуры индивидуального поведения различных по чувствительности к гипоксии животных, препятствуют чрезмерной активации процессов перекисного окисления липидов в головном мозге. Это обуславливает возможность их использования для коррекции свободнорадикальных процессов и психопатологических проявлений при посттравматических церебрастениях.

**Ключевые слова:** бензимидазолы, индивидуальная устойчивость к гипоксии, черепно-мозговая травма, церебрастения, перекисное окисление липидов

#### ВВЕДЕНИЕ

После перенесенной черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у 75 % пострадавших преобладает психопатологический синдром в виде астенических состояний. В отдаленном периоде ЧМТ характер функциональных и метаболических нарушений высших отделов ЦНС и степень гипоксии тесно связаны с глубиной и формой посттравматической астении [9]. При различных формах астении наблюдается либо дыхательный тип гипоксии, либо тканевой. Степень восстановления метаболизма и функций высшей нервной деятельности, в частности, зависит от индивидуальной устойчивости организма к острой гипоксии [4]. После ЧМТ у низкоустойчивых к гипоксии животных наиболее выражены проявления астении, регистрируемые по угнетению ориентировочно-исследовательской активности и подвижности на фоне эмоциональной лабильности и усиления тревожности, а также чрезмерная липопероксидация и снижение активности антиоксидантных систем [3]. Взаимосвязь свободнорадикального реагирования и посттравматической церебрастении у особей с высокой чувствительностью к кислородному голоданию служит основанием для поиска новых фармакологических путей их коррекции. В лечении посттравматических последствий чаще всего применяют средства ноотропного типа действия, отмечая их высокую эффективность в нормализации энергетического обмена, повышении толерантности мозга к различным повреждающим воздействиям [2]. Ноотропы эффективно устраняют психопатологические расстройства личности при достаточно длительном курсе лечения. При тяжелых повреждениях ЦНС, протекающих с на-

рушением интеллекта и памяти, для повышения эффективности ноотропные средства назначают в высоких дозах, вызывающих побочные эффекты. Активация свободнорадикальных процессов при цереброденных астениях предполагает использование антиоксидантов [1]. Однако большей частью антиоксиданты перспективны только при острых травмах ЦНС. Учитывая гипоксическую компоненту ЧМТ и посттравматической церебрастении, в комплексной терапии применяют антигипоксические средства метаболического типа действия с энергостабилизирующим, антиоксидантным и психотропным действием. Подобными свойствами обладают производные бензимидазола, эффекты которых опосредованы через активацию протеинсинтеза, ферментов энергетического обмена и антиоксидантных систем [5]. Влияние бензимидазолов на базальные клеточные процессы обуславливает их применение в качестве лечебно-реабилитационных средств для ускорения восстановительных, репаративных процессов и коррекции нарушений метаболизма. Выраженный противоастенический эффект 2-этилтиобензимидазола (бемитила) установлен при неврастении [7], органических поражениях мозга инфекционного генеза с ведущими астеническими проявлениями [6], астениях в послеоперационном периоде, при развивающихся вследствие переутомления астенических состояниях у здоровых лиц [8].

Целью настоящего исследования явилось сравнительное экспериментальное изучение противоастенического действия производных бензимидазола 5-этоксиди-2-этилтиобензимидазола, 2-аллилтиобензимидазола и 2-этилтиобензимидазола после черепно-мозговой травмы.

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 108 белых беспородных крысах-самцах массой 160 – 180 г, полученных из питомника РАМН Рапполово (Ленинградская область). Всех животных до нанесения травмы разделяли по устойчивости к острой гипоксии, “поднимаемая” их в барокамере на высоту 12 000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией на высоте до возникновения агонального дыхания. Животных, выдерживающих воздействие гипоксии в течение 5 – 10 мин, считали низкоустойчивыми (НУ), более 10 мин — высокоустойчивыми (ВУ). Спустя 24 ч воспроизводили закрытую ЧМТ средней тяжести свободно падающим из полой трубы высотой 80 см и диаметром 1,3 см на теменную область головы грузом массой 64 г [4]. Производные бензимидазола вводили крысам внутрибрюшинно (25 мг/кг) сразу после травмы ежедневно на протяжении 14 сут посттравматического периода.

Противоастеническое действие производных бензимидазола оценивали по поведенческим реакциям животных в тесте “открытого поля” и “приподнятого крестообразного лабиринта” с учетом ориентировочно-исследовательского, эмоционального, стереотипного и двигательного компонентов по поведенческому атласу для грызунов.

О процессах перекисного окисления липидов судили по содержанию гидроперекисей липидов, диеновых и триеновых конъюгатов, малонового диальдегида. О

состоянии антиоксидантной системы — по содержанию восстановленного глутатиона, активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы [10]. Активность ферментов относили к содержанию белка в пробах, определяемого по Lowry.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

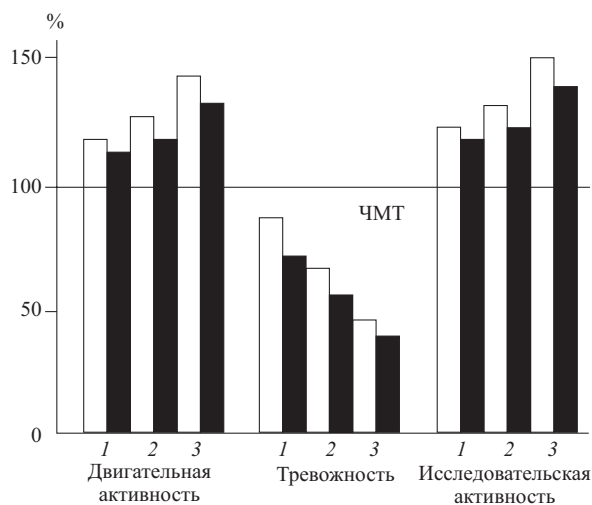
Введение различным по устойчивости к гипоксии животным на протяжении 14 сут после перенесенной ЧМТ производных бензимидазола оказывало психоактивирующее действие, что проявлялось в восстановлении структуры индивидуального поведения особей (рисунок). У высокоустойчивых и особенно у низкоустойчивых крыс восстанавливалось ориентировочно-исследовательское поведение, возрастала сопряженность двигательной и исследовательской активности, уменьшалась тревожность, нормализовались вегетативные проявления эмоциональности. Наибольшую активность проявлял 2-аллилтиобензимидазол.

Применение в посттравматическом периоде производных бензимидазола сопровождалось снижением продуктов липопероксидации в головном мозге крыс. По сравнению с нелечеными животными содержание гидроперекисей липидов достоверно уменьшалось в мозге высокоустойчивых и низкоустойчивых крыс на

**Влияние производных бензимидазола на содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных систем в мозге высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии крыс на 14-е сутки после ЧМТ ( $M \pm m$ ,  $n = 8$ )**

Показатель		Группы животных				
		Интактные	ЧМТ	ЧМТ + 2-этил-тио-бензимидазол	ЧМТ + 5-этокси 2-этилтио-бензимидазол	ЧМТ + 2-аллилтио-бензимидазол
Гидроперекиси липидов, $OD_{480}$	ВУ	0,035 ± 0,001	0,065 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,055 ± 0,002 <sup>ab</sup>	0,038 ± 0,001 <sup>b</sup>	0,032 ± 0,001 <sup>b</sup>
	НУ	0,043 ± 0,002	0,084 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,042 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,066 ± 0,004 <sup>ab</sup>	0,033 ± 0,003 <sup>b</sup>
Диеновые конъюгаты, нмоль/г	ВУ	22,86 ± 1,11	31,18 ± 1,19 <sup>a</sup>	25,31 ± 0,76 <sup>ab</sup>	23,14 ± 0,67 <sup>b</sup>	22,14 ± 0,24 <sup>b</sup>
	НУ	23,45 ± 1,12	33,92 ± 1,14 <sup>a</sup>	23,52 ± 0,77 <sup>b</sup>	27,15 ± 0,49 <sup>ab</sup>	22,23 ± 0,22 <sup>b</sup>
Кето-триеновые конъюгаты, $OD_{275}$	ВУ	0,040 ± 0,004	0,065 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,052 ± 0,002 <sup>ab</sup>	0,038 ± 0,002 <sup>b</sup>	0,037 ± 0,002 <sup>b</sup>
	НУ	0,055 ± 0,005	0,078 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,064 ± 0,001 <sup>b</sup>	0,065 ± 0,001 <sup>ab</sup>	0,042 ± 0,001 <sup>b</sup>
Малоновый диальдегид, нмоль/г	ВУ	7,40 ± 0,11	11,18 ± 0,19 <sup>a</sup>	8,15 ± 0,22 <sup>ab</sup>	7,64 ± 0,21 <sup>b</sup>	7,12 ± 0,19 <sup>b</sup>
	НУ	8,72 ± 0,13	14,27 ± 0,17 <sup>a</sup>	9,00 ± 0,22 <sup>b</sup>	10,00 ± 0,18 <sup>ab</sup>	7,22 ± 0,17 <sup>b</sup>
Супероксиддисмутазы, Ед/мг белка	ВУ	3,27 ± 0,15	1,39 ± 0,14 <sup>a</sup>	2,41 ± 0,16 <sup>ab</sup>	3,28 ± 0,11 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,15 <sup>b</sup>
	НУ	1,77 ± 0,14	0,49 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,11 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,12 <sup>ab</sup>	2,86 ± 0,13 <sup>b</sup>
Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ /мин мг белка	ВУ	3,27 ± 0,15	2,02 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,65 ± 0,13 <sup>ab</sup>	3,24 ± 0,13 <sup>b</sup>	3,87 ± 0,13 <sup>b</sup>
	НУ	2,12 ± 0,11	0,93 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,13 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,64 ± 0,12 <sup>ab</sup>	3,12 ± 0,12 <sup>b</sup>
Восстановленный глутатион, мкмоль/г ткани	ВУ	42,51 ± 0,18	28,17 ± 0,12 <sup>a</sup>	36,17 ± 0,12 <sup>ab</sup>	40,00 ± 0,15 <sup>b</sup>	42,61 ± 0,15 <sup>b</sup>
	НУ	31,32 ± 0,16	12,41 ± 0,13 <sup>a</sup>	30,84 ± 0,12 <sup>b</sup>	28,53 ± 0,18 <sup>ab</sup>	38,64 ± 0,18 <sup>b</sup>
Глутатион-редуктаза, нмоль НАДФН/мин мг белка	ВУ	22,97 ± 0,15	13,65 ± 0,14 <sup>a</sup>	18,12 ± 0,12 <sup>a</sup>	24,21 ± 0,16 <sup>b</sup>	24,57 ± 0,12 <sup>b</sup>
	НУ	18,12 ± 0,22	10,65 ± 0,13 <sup>a</sup>	17,89 ± 0,14 <sup>a</sup>	13,42 ± 0,14 <sup>ab</sup>	21,12 ± 0,13 <sup>b</sup>
Глутатион-пероксидаза, нмоль НАДФН/мин, мг белка	ВУ	6,98 ± 0,06	4,14 ± 0,08 <sup>a</sup>	5,26 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,89 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,11 ± 0,06 <sup>b</sup>
	НУ	3,76 ± 0,07	1,37 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,89 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,02 ± 0,08 <sup>ab</sup>	5,79 ± 0,09 <sup>b</sup>

**Примечание.** <sup>a</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с интактными животными, <sup>b</sup>  $p < 0,05$  по сравнению с ЧМТ.



Влияние производных бензимидазола на поведенческие реакции высоко- и низкоустойчивых к гипоксии крыс на 14-е сутки после черепно-мозговой травмы.

1 — этилтиобензимидазол, 2 — этоксиэтилтиобензимидазол, 3 — аллилтиобензимидазол. Данные достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с животными, перенесшими ЧМТ. Светлые столбики — высокоустойчивые крысы, темные — низкоустойчивые.

фоне действия 2-этилтиобензимидазола на 15 и 50 %, 5-этоксид-2-этилтиобензимидазола — на 42 и 21 %, 2-аллилтиобензимидазола — 51 и 61 % соответственно (таблица). Содержание диеновых конъюгатов снижалось в мозге ВУ и НУ крыс на фоне действия 2-этилтиобензимидазола на 19 и 31 %, 5-этоксид-2-этилтиобензимидазола — на 26 и 20 %, 2-аллилтиобензимидазола — 29 и 34 % соответственно ( $p < 0,05$ ). На фоне действия бензимидазолов в мозге различных по устойчивости к гипоксии крыс также достоверно снижалось содержание кетотриеновых конъюгатов и малонового диальдегида. При этом в группе ВУ крыс, получавших в посттравматическом периоде 5-этоксид-2-этилтиобензимидазол, уровень продуктов перекисного окисления липидов в мозге достоверно не отличался от значений в группе интактных ВУ животных. Эффект 2-этилтиобензимидазола в большей степени проявлялся в группе НУ крыс, поскольку при его применении содержание продуктов липопероксидации соответствовало значениям в мозге интактных НУ животных. Более выраженное действие оказывал 2-аллилтиобензимидазол, на фоне которого процессы липопероксидации нормализовались в обеих группах животных. При этом в мозге НУ животных содержание продуктов перекисного окисления липидов достоверно не отличалось от значений в мозге интактных ВУ животных.

Предупреждение чрезмерной интенсификации процессов перекисного окисления липидов под влиянием производных бензимидазола может быть связано с уменьшением генерации липидных перекисей вследствие их стабилизирующего влияния на антиоксидантные системы. Подтверждением этого предположения

служит достоверное повышение по сравнению с группой нелеченных животных активности супероксиддисмутазы, предотвращающей инициирование свободнорадикального окисления липидов на начальных этапах. Активация на фоне действия бензимидазолов фермента, разрушающего супероксидные радикалы, может приводить к уменьшению образования наиболее агрессивного гидроксильного радикала и снижению перекисидации липидов. На фоне применения 2-этилтиобензимидазола активность супероксиддисмутазы в мозге ВУ животных достоверно увеличивалась на 73 %, а в мозге низкоустойчивых — в три раза. Введение животным 5-этоксид-2-этилтиобензимидазола сопровождалось увеличением активности супероксиддисмутазы в мозге ВУ на 136 %, НУ — на 129 %, при введении 2-аллилтиобензимидазола активность фермента возрастала на 143 % и в пять раз соответственно. Наряду с этим в мозге животных обеих групп производные бензимидазола увеличивали активность каталазы и стабилизировали содержание основного компонента редокс-буфера клетки — восстановленного глутатиона, участвующего в метаболических реакциях, направленных на поддержание клеточного гомеостаза и защиту от окислительного стресса. Применение в посттравматическом периоде 2-этилтиобензимидазола сопровождалось увеличением содержания восстановленного глутатиона в мозге ВУ крыс на 28 %, НУ — на 149 % ( $p < 0,05$ ). На фоне действия 5-этоксид-2-этилтиобензимидазола уровень глутатиона возрастал в мозге ВУ крыс на 42 %, НУ — на 130 %, а на фоне 2-аллилтиобензимидазола — на 51 и 211 % соответственно. Увеличение концентрации восстановленного глутатиона на фоне бензимидазолов может быть связано с уменьшением расходования его в реакциях связывания свободных радикалов и повышением скорости восстановления окисленного глутатиона. Действительно, при введении производных бензимидазола в мозге ВУ и особенно НУ животных достоверно возрастала активность глутатионпероксидазы и “работающей” с ней в паре глутатионредуктазы. Таким образом, на фоне действия бензимидазолов глутатион не только активно включается в пероксидазные реакции по обезвреживанию перекиси водорода и липидных пероксидов, но и активно восстанавливается глутатионредуктазой. Следует отметить, что 2-этилтиобензимидазол в большей степени корригировал активность антиоксидантных систем в мозге НУ, 5-этоксид-2-этилтиобензимидазол — в мозге ВУ, а 2-аллилтиобензимидазол — в обеих группах животных. При этом на фоне 2-аллилтиобензимидазола активность антиоксидантных систем в мозге НУ крыс достоверно не отличалась от значений в мозге интактных ВУ животных. Следовательно, применение в посттравматическом периоде 2-аллилтиобензимидазола способствует увеличению доли высокоустойчивых к гипоксии особей в общей популяции животных. Вследствие структурного сходства производных бензимидазола с пуриновыми

ми основаниями нуклеиновых кислот их позитивное модулирующее действие на естественно протекающие процессы протеинсинтеза, усиление синтеза антиоксидантных ферментов в органах в целом приводит к восстановлению биохимического гомеостаза.

Таким образом, производные бензимидазола после ЧМТ предупреждают развитие посттравматической астении, дезинтеграцию отдельных компонентов целостной поведенческой реакции и способствуют быстрому восстановлению структуры индивидуального поведения как у высокоустойчивых, так и у низкоустойчивых к гипоксии особей. Противоастеническое действие производных бензимидазола находит также проявление в позитивных биохимических изменениях в головном мозге, что обусловлено наличием у них антиоксидантной активности. Назначение в посттравматическом периоде производных бензимидазола препятствует чрезмерной активации процессов перекисного окисления липидов и угнетению антиоксидантных систем, что обуславливает возможность их применения для коррекции свободнорадикальных процессов при посттравматических церебрастениях.

## ВЫВОДЫ

1. В посттравматическом периоде ЧМТ производные бензимидазола (2-этилтиобензимидазол, 5-этокси-2-этилтиобензимидазол, 2-аллилтиобензимидазол) оказывают психоактивирующее действие, восстанавливая нарушенную структуру индивидуального поведения у животных с различной устойчивостью к гипоксии.

2. Наибольшую активность в группе низкоустойчивых к гипоксии животных проявляют 2-этилтиобензимидазол и 2-аллилтиобензимидазол, которые увеличи-

вают долю высокоустойчивых особей в общей популяции животных.

3. Наличие у производных бензимидазола антиоксидантной активности препятствует чрезмерной активации процессов перекисного окисления липидов и угнетению антиоксидантных систем в головном мозге после перенесенной ЧМТ.

4. Производные бензимидазола (2-этилтиобензимидазол, 5-этокси-2-этилтиобензимидазол и 2-аллилтиобензимидазол) перспективны для применения в качестве противоастенических средств как в фармакологии здорового человека, так и в лечебной практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. А. Александровский, М. В. Поюровский, Г. Г. Незнамов, *Неврозы и перекисное окисление липидов*, Москва, Наука (1991).
2. Т. А. Воронина, *Вестн. РАМН*, **11**, 16 – 21 (1998).
3. И. В. Зарубина, А. С. Ходченков, Ф. Н. Нубманбетова, П. Д. Шабанов, *Мед. акад. журн.*, **5**(1), 37 – 43 (2004).
4. И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Рос. физиол. журн.*, **89**(8), 919 – 925 (2003).
5. И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов, *Молекулярная фармакология антигипоксантов*, СПб., Н-Л. (2004).
6. Н. А. Князева, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (1988).
7. Г. В. Морозов, Ю. А. Александровский, Т. В. Серебрякова и др., *Применение препарата беметил в психиатрической практике: метод. рекомендации*, Москва (1987).
8. В. С. Новиков, Е. Б. Шустов, В. В. Горанчук, *Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях*, СПб., Наука (1998).
9. М. М. Одинак, Н. В. Корнилов, А. И. Грипанов и др., *Невропатология контузионно-коммоционных повреждений мирного и военного времени*, СПб. (2000).
10. *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Москва (1977).

Поступила 16.11.04

## EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF THE USE OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES AS ANTI-ASTHENIC AGENTS AFTER CRANIOCEREBRAL TRAUMA

I. V. Zarubina, F. N. Nurmanbetova, and P. D. Shabanov

Department of Pharmacology, St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044 Russia

Experimental administration of benzimidazole derivatives upon model craniocerebral trauma favored rapid normalization of the behavior of hypoxia-sensitive animals and prevented from excess activation of lipid peroxidation processes in the brain. It is recommended to use benzimidazole derivatives for the control of free-radical processes and the correction of psychopathologic disorders in cases of post-trauma cerebroasthenia.