

**УДК 612:159.91:615.3**

## **ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА В СВЕРХМАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ**

*Гамма Т.В.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: tgamma@yandex.ru*

Исследовано влияние 2-аминометилбензимидазола и 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола в сверхмалых концентрациях (СМК) на поведенческие реакции крыс в условиях стресс-тестов. Установлено, что эти соединения в сверхмалых концентрациях способны изменять поведение крыс: 2-аминометилбензимидазол в концентрации  $10^{-12}$  М обладает выраженным антистрессорным и анксиолитическим действием; 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазол в сверхмалых концентрациях, в отличие от 2-аминометилбензимидазола, обладает седативным действием на поведение крыс, а в концентрации  $10^{-13}$  М еще и антидепрессантным эффектом. Таким образом, вещества, содержащие  $-NH_2$  и  $-OH$  группы, в сверхмалых концентрациях обладают разнонаправленными эффектами на поведение животных.

**Ключевые слова:** бензимидазол, поведение крыс, стресс.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В последние годы в научной литературе появилось большое количество сообщений о значительном биологическом эффекте различных химических соединений в СМК в клетке и в организме в целом [1, 2]. Причем, эффекты СМК зачастую сравнимы, а иногда даже и превосходят по величине эффекты тех же воздействий в "обычных" стандартных дозах [3]. Поскольку ранее нами было установлено [4], что бензимидазол и некоторые его производные в стандартных дозах обладают различными по силе и выраженности психотропными свойствами, то целью настоящей работы было определить наличие, направленность и выраженность эффектов двух наиболее биологически активных производных бензимидазола – 2-аминометилбензимидазола (GI) и 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола ( $\alpha$ -OH) – в СМК.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проводились на белых беспородных крысах (самцах) массой 200-240 г, содержащихся в стандартных условиях вивария [5], по 5 животных в пластиковом ящике размером 40×30×20 см. Доступ к воде не ограничивался. Тестирование проводили в утреннее время, после чего кормили крыс. Для экспериментов производили отбор крыс со средней двигательной активностью и средней депрессивностью [6], из которых в последствие были сформированы экспериментальные группы по 10 особей в каждой. Через 30 минут после

внутрибрюшинного введения крысам тестируемого вещества в СМК ( $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  и  $10^{-14}$  М) объемом 0,2-0,25 мл изучали поведение животных.

В работе мы руководствовались предложенной А.В. Калуевым последовательностью тестов [7], где стрессированность животных возрастает в следующем порядке: открытое поле (ОП) [5] – крестообразно-приподнятый лабиринт (КПЛ) [5-7] – вынужденное плавание Порсолта [8] – подвешивание за хвост [5]. Полученные данные обработаны статистически с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

При выполнении экспериментов соблюдали нормы и принципы, утверждённые Постановлением первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001) и Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» от 21.02.2006, с изменениями от 15.12.2009. Проведение исследований одобрено Комитетом по биоэтике Таврического национального университета имени В.И. Вернадского (протокол № 1 от 16.02.2012).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях теста ОП GI во всех используемых СМК приводил к незначительному снижению горизонтальной двигательной активности (ГДА) и груминга (Гр) (рис. 1) по сравнению с контролем. При этом, наблюдалось повышение вертикальной двигательной (ВДА) и исследовательской (ИА) активности (максимально при концентрации  $10^{-12}$  М). Исходя из полученных данных, можно предположить, что GI в концентрации  $10^{-12}$  М может обладать анксиолитическим действием. Поскольку показатели, характеризующие эмоциональность животных (Гр и дефекации (Деф)) изменялись не достоверно, то они не учитывались при анализе.

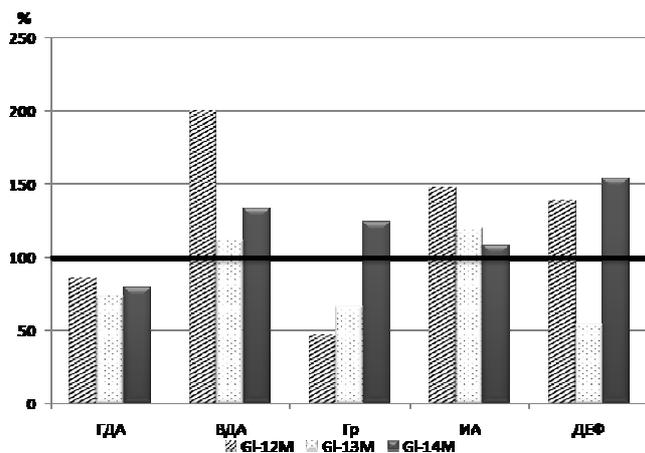


Рис. 1. Влияние 2-аминометилбензимидазола (GI) в сверхмалых концентрациях на поведение крыс в тесте открытое поле: ГДА – горизонтальная двигательная активность, ВДА – вертикальная двигательная активность, Гр – количество актов груминга, ИА – исследовательская активность, Деф – количество актов дефекации. GI – 2-аминометилбензимидазол в концентрациях  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  и  $10^{-14}$  М соответственно. Жирной линией обозначен уровень контроля.

В тесте Порсолта GI в использованных СМК приводил к достоверному прямопропорциональному увеличению времени активного плавания (АП) крыс (рис. 2, А). В концентрации  $10^{-14}$  М у данного соединения наблюдался максимальный эффект, то есть время АП увеличивалось на 25 % ( $p = 0,002$ ) по сравнению с контролем. Латентный период (ЛП) первого зависания при этом достоверно снижался в среднем на 20 % ( $p \leq 0,01$ ). Достоверно увеличивалось количество актов Гр, а также количество выпрыгиваний, то есть попыток освобождения от воды. Следует отметить, что максимально количество выпрыгиваний увеличивалось при применении GI в концентрации  $10^{-13}$  М ( $p = 0,004$ ) по сравнению с контролем. Поскольку данный показатель повышается, то это свидетельствует о снижении депрессии у животных. Однако при незначительном увеличении АП однозначного вывода сделать нельзя.

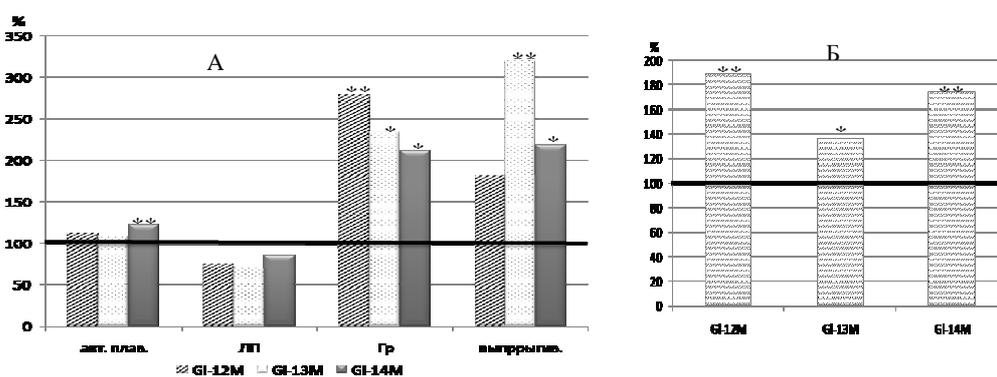


Рис. 2. Влияние 2-аминометилбензимидазола (GI) в сверхмалых концентрациях на поведение крыс в тесте вынужденного плавания Порсолта (А) и подвешивание за хвост (Б). Акт. плав. – активное плавание, ЛП – латентный период, ГР – груминг, выпрыгив. – количество выпрыгиваний. \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$

Для более точной интерпретации активности данного вещества мы провели еще один тест, моделирующий депрессию – тест подвешивание за хвост (рис. 2, Б). Как видно из полученных результатов GI во всех применяемых СМК увеличивает время иммобильности крыс. Так, при концентрации вещества  $10^{-12}$  М ЛП иммобильности увеличивалось на 88,5 %,  $p \leq 0,05$ ; в концентрации  $10^{-13}$  М – на 36 %,  $p \leq 0,05$ ; в концентрации  $10^{-14}$  М – на 73 %,  $p \leq 0,01$ . Таким образом, результаты, полученные в тесте «подвешивание за хвост», показали, что тестируемое соединение в СМК увеличивает уровень депрессии крыс. Из данных литературы известно, что некоторые бензимидазолы могут взаимодействовать со специфическими бензодиазепиновыми рецепторами, расположенными в постсинаптическом ГАМК<sub>A</sub>-рецепторном комплексе (повышать чувствительность ГАМК-рецепторов к медиатору, что обуславливает повышение частоты открытия в цитоплазматической мембране нейронов каналов для входящих токов ионов хлора, в результате происходит усиление тормозного влияния ГАМК и торможение межнейронной передачи в соответствующих отделах ЦНС) в лимбической системе мозга, таламусе,

гипоталамусе, восходящей активирующей ретикулярной формации ствола мозга и вставочных нейронах боковых рогов спинного мозга [9]. Некоторые из этих структур относят к физиологической системе, регулирующей поведение животных [5, 7]. По-видимому, протестированное соединение оказывает влияние именно на эту систему.

Результаты исследования влияния на поведение крыс G1 в СМК в условиях теста КПЛ представлены на рис. 3. Как видно из рисунка, данное соединение в СМК повышало количество выходов животных в открытые рукава лабиринта по сравнению с контролем, причем одинаково во всех использованных дозах (на 46 %). Однако эти изменения были не достоверны. Наряду с увеличением количества выходов в светлые рукава, также недостоверно снижалось время нахождения животных в светлых рукавах. Необходимо отметить, что при действии G1 в концентрации  $10^{-12}$  М достоверно увеличивались показатели ВДА на 133 %,  $p \leq 0,05$ , отражающие в данном тесте ИА. Увеличивалось также количество пересечений центра при использовании G1 в концентрации  $10^{-12}$  и  $10^{-13}$  М. Таким образом, по результатам теста КПЛ G1 в СМК может проявлять анксиолитические свойства, то есть снижать тревожность.

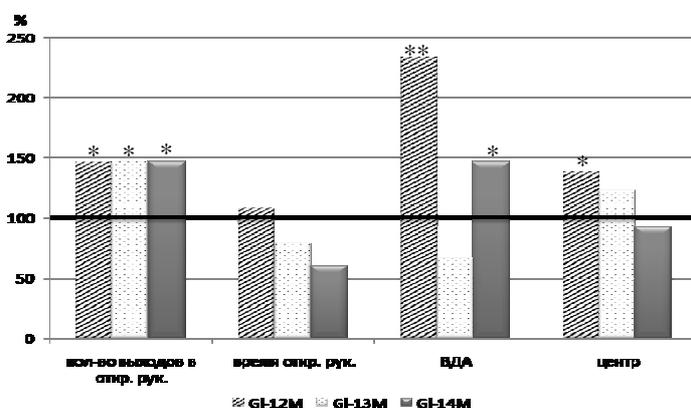


Рис. 3. Влияние 2-аминометилбензимидазола (G1) в сверхмалых дозах на поведенческие реакции крыс в тесте крестообразно-приподнятый лабиринт: кол-во выходов в откр. рук. – количество выходов в открытые рукава, время откр. рук. – время в открытых рукавах, ВДА – вертикальная двигательная активность, центр – количество пересечений центра. \* -  $p \leq 0,05$ ; \*\* -  $p \leq 0,01$ .

В отношении механизма действия данного соединения можно предположить, что оно реализуется, как и действие широко применяемых противотревожных средств гетероциклической природы, за счет уменьшения возбудимости подкорковых областей головного мозга (лимбическая система, таламус, гипоталамус), ответственных за осуществление эмоциональных реакций, торможения взаимодействия этих структур с корой головного мозга, а также

угнетения полисинаптических спинальных рефлексов [9]. Однако для более точного вывода необходимы дополнительные исследования.

Влияние другого производного бензимидазола –  $\alpha$ -ОН – в СМК на поведенческие реакции крыс в условиях теста ОП представлено на рис. 4. Как видно из рисунка,  $\alpha$ -ОН во всех используемых СМК приводил к снижению локомоции, эмоциональности и исследовательского поведения крыс. Так, например, ГДА снижалась на 36 % ( $p \leq 0,01$ ) при действии  $\alpha$ -ОН в концентрации  $10^{-12}$  М; в концентрации  $10^{-13}$  М – на 63 %, ( $p \leq 0,05$ ); в концентрации  $10^{-14}$  М – на 50 % ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контролем. Исходя из полученных данных, можно заключить, что  $\alpha$ -ОН в СМК обладает седативным действием на поведение животных. Можно думать, что в данных концентрациях  $\alpha$ -ОН способен проявлять и противосудорожное действие.

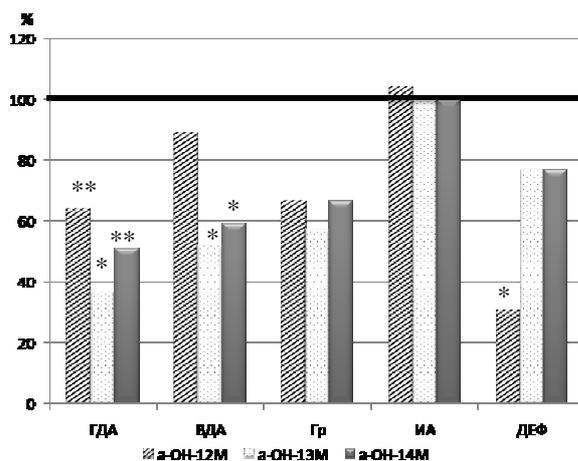


Рис. 4. Влияние 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола ( $\alpha$ -ОН) в сверхмалых концентрациях на поведение крыс в тесте открытое поле.

Примечание: обозначения такие же, как и на рис. 1.

По результатам теста Порсолта оказалось, что  $\alpha$ -ОН в концентрации  $10^{-12}$  М достоверно увеличивал время АП животных на 27 % ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контролем и в концентрации  $10^{-13}$  М – на 16 % ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 5, А). Поскольку в этих концентрациях вещества почти в два раза увеличивалось и количество выпрыгиваний ( $p \leq 0,01$ ), то можно заключить, что  $\alpha$ -ОН в концентрациях  $10^{-12}$  и  $10^{-13}$  М обладает антидепрессантным действием.

В условиях теста подвешивание за хвост  $\alpha$ -ОН только в концентрации  $10^{-13}$  М обладает антидепрессантным эффектом, уменьшая время иммобильности крыс в среднем на 40 %,  $p = 0,05$  (рис. 5, Б).

В тесте КПЛ  $\alpha$ -ОН только в концентрации  $10^{-13}$  М достоверно увеличивал количество выходов животных в открытые рукава на 67,3 % ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с контролем (рис. 6). При этом, снижались показатели Гр и Деф, то есть снижалась эмоциональность животных. Все другие показатели изменялись недостоверно. Таким образом, полученные результаты не позволили сделать объективный вывод о наличии  $\alpha$ -ОН в СМК анксиолитических свойств.

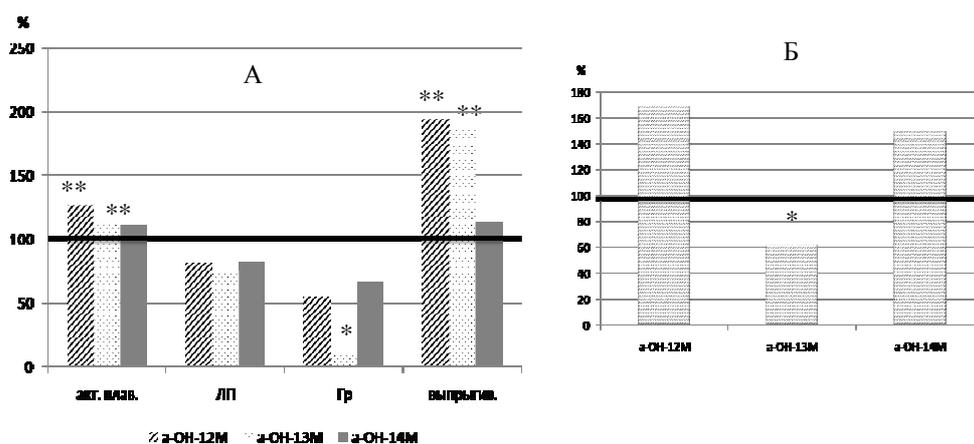


Рис. 5. Влияние 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола ( $\alpha$ -ОН) в сверхмалых концентрациях на поведение крыс в тесте вынужденного плавания Порсолта и подвешивание за хвост.

Примечание: обозначения такие же, как и на рис. 2.

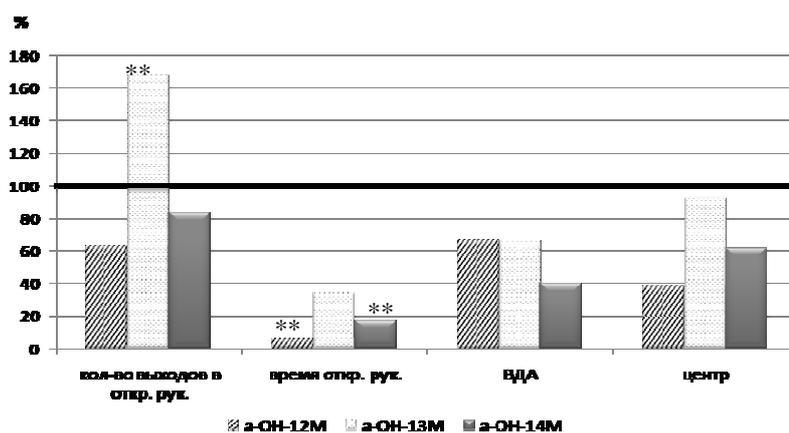


Рис. 6. Влияние 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола ( $\alpha$ -ОН) в сверхмалых концентрациях на поведение крыс в тесте крестообразно-приподнятый лабиринт.

Примечание: обозначения такие же, как и на рис. 3.

## ВЫВОДЫ

1. В условиях тестов открытое поле и крестообразно-приподнятый лабиринт установлено, что 2-аминометилбензимидазол в сверхмалых концентрациях обладает антистрессорным и анксиолитическим действием, а 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазол – седативным действием на поведение крыс.

2. По результатам тестов Порсолта и подвешивание за хвост показано наличие антидепрессантного свойства только у 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола в концентрации  $10^{-13}$  М.

#### Список литературы

1. Бурлакова Е.Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е.Б. Бурлакова, А.А. Конрадова, Е.Л. Мальцева // Химическая физика, 2003. – Т. 22, № 2. – С. 21-40.
2. Славецкая М.Б. Сверхмалые дозы биологически активных веществ как основа лекарственных препаратов / М.Б. Славецкая, Н.А. Капай – М. : Аквариум-Принт, 2011. – 168 с.
3. Пальмина Н.П. Механизм действия сверхмалых доз / Н.П. Пальмина // Химия и жизнь – 2009. – № 2. – С.10-13.
4. Гамма Т.В. Влияние бемитила и бензимидазола на поведение крыс в тесте «открытое поле» / Т.В. Гамма, И.И. Коренюк // Нейрофизиология / Neurophysiology.– 2006. – Т. 38, № 1. – С.71-76.
5. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. / Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. – М. : Высшая школа, 1991. – 399 с.
6. Калуев А.В. Роль ГАМК в патогенезе тревоги и депрессии / А.В. Калуев // Нейронауки. – 2006. – Т. 2, № 4. – С. 29-41.
7. Калуев А.В. Стресс. Тревожность. Поведение./ Калуев А.В. – К. : КСФ, 1998. – 98 с.
8. Porsolt R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // Nature. – 1977. – Vol. 266, No 5604. – P. 730-732.
9. Мосолов С.Н. Основы психофармакотерапии. / Мосолов С.Н. – М., 1996. – 287 с.

**Гамма Т.В. Поведінкові реакції щурів при дії деяких похідних бензимидазолу в надмалих концентраціях / Т.В. Гамма // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 30-36.**

Досліджено вплив 2-амінометилбензимидазолу і 2-(1-гідроксиетил)бензимидазолу у надмалих концентраціях на поведінкові реакції щурів в умовах стрес-тестів. Встановлено, що ці сполуки у надмалих концентраціях здатні змінювати поведінку щурів: 2-амінометилбензимидазол в концентрації  $10^{-12}$  М має виражену антистресорну і анксиолітичну дію, 2-(1-гідроксиетил)бензимидазол у всіх надмалих концентраціях, на відміну від 2-амінометилбензимидазолу, надає седативної дії на поведінку щурів і тільки в концентрації  $10^{-13}$  М – антидепресантну. Таким чином, сполуки, які містять  $-NH_2$  і  $-OH$  групи, у надмалих концентраціях мають різноманітні ефекти на поведінку тварин.

**Ключові слова** бензимидазол, поведінка щурів, стрес.

**Gamma T.V. Behavioral responses of rats exposed to certain benzimidazole derivatives in ultra low concentrations / T.V. Gamma // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 1. – P. 30-36.**

It was investigated the effect of 2-aminometilbenzimidazole and 2-(1-hydroxyethyl)benzimidazole in ultrasmall concentrations on the behavioral responses of rats in the stress tests. It was found that these compounds in ultra low concentrations can to alter the behavior of rats. Thus, it was shown that 2-aminometilbenzimidazole in concentration  $10^{-12}$  M was rendering strongly pronounced antistress and anxiolytic effects. 2-(1-hydroxyethyl)benzimidazole in ultra low concentrations, in contrast to 2-aminometilbenzimidazole, was rendering a sedative effect on the behavior of rats and only in the concentration of  $10^{-13}$  M – was showed an antidepressant effect. Thus, substances containing  $-NH_2$  and  $-OH$  groups in ultra low concentrations was having multidirectional effects on animal behavior.

**Keywords:** benzimidazole, rat behavior, stress.

*Поступила в редакцію 18.02.2013 г.*