

Т.В. Гамма, І.І. Коренюк

## Вплив бензимидазолу та його нових похідних на електричну активність нейронів *Helix albescens* Rossm і поведінку щурів

*Работа посвящена исследованию наличия, направленности, концентрационной зависимости и механизмов действия бензимидазола и некоторых его производных. Установлено, что они обладают психотропными свойствами, направленность действия которых зависит от их химической структуры и типа нейронов. Определены пороговые, оптимальные и токсические концентрации исследуемых веществ. Выявлено, что бензимидазол и 2-трифторметилбензимидазол в концентрациях  $10^3$  и  $10^2$  моль/л у некоторых нейронов приводят к проявлению как возбуждающих, так и тормозных постсинаптических потенциалов на мембране сомы пейсмекерных и непейсмекерных нейронов. Показано, что на мембране пейсмекерных нейронов, по крайней мере нейрона ППа2, имеется как минимум две, пространственно разделенные, с разными механизмами запуска потенциалов действия триггерные зоны. При однократном внутрибрюшинном введении 50 мг/кг растворов веществ на основании полученных эффектов исследуемые вещества были разделены на две группы: вещества, которые угнетают локомоцию и психоэмоциональное состояние крыс, которые активизируют данные показатели. Установлено, что в высоких дозах 100 и 150 мг/кг все исследованные вещества угнетают поведение животных.*

### ВСТУП

Уперше властивості бензимидазолу та його похідних стали обговорюватися в літературі понад 100 років тому [30]. Особливий інтерес до цього класу сполук виник після того, як було встановлено, що одним з компонентів вітаміну  $B_{12}$  є 5,6-диметилбензимидазол [31]. У низки похідних бензимидазолу виявлено різні за силою та напрямком дії психостимулювальні [22, 23], нейролептичні [28], антидепресантні [29], заспокоїливі [8], протисудомні [21] і снодійні [3] властивості. Показано, що дибазол і 5,6-диметилбензимидазол (димедазол, димезол) усувають деякі неврологічні порушення при експериментальній травмі головного мозку та можуть бути використані для профілактики больового шоку [22, 23, 29].

Слід зазначити, що до теперішнього часу передбачається декілька можливих механізмів дії похідних бензимидазолу. Так, за

літературними даними [32] анксиолітична активність деяких похідних бензимидазолу зумовлена їхньою взаємодією з бензодіазепіновими рецепторами, а саме з ГАМК<sub>A</sub>-рецепторами. При стимуляції бензодіазепінових рецепторів спостерігається алостерична активація ГАМК<sub>A</sub>-рецепторів, тому взаємодія бензимидазолів з рецепторами проявляється у вигляді ГАМК-міметичного ефекту. Встановлено також, що деякі похідні бензимидазолу є антагоністами кальцію, тому що мають здатність блокувати повільні кальцієві канали гладеньком'язових клітин кровоносних судин [1, 9, 26]. Передбачається, що в основі механізму дії бемітилу (м'яка психостимулювальна і заспокоїлива) є активація синтезу РНК внаслідок взаємодії препарату з геномом завдяки структурній схожості похідних бензимидазолу з пуриновими основинами нуклеїнових кислот – аденіном і гуаніном [27].

© Т.В. Гамма, І.І. Коренюк

Крім відомих фармпрепаратів групи бензимидазолу нині синтезовано багато інших його похідних, які потребують детального дослідження їхньої фізіологічної активності. Деякі автори передбачають, що модифікація молекули бензимидазолу у другого атому вуглецю може спричинити появу у нових сполук нейро- та психотропних властивостей. Саме цей ряд нових похідних бензимидазолу і привернув нашу увагу. Виходячи з того, що похідні бензимидазолу впливають на ЦНС, то, очевидно, механізми нейротропної дії можуть бути розкриті при вивченні змін характеристик електричних потенціалів нейронів, а наявність і напрямок психотропної дії – при вивченні поведінки тварин.

## МЕТОДИКА

Нейрофізіологічні експерименти були проведені за допомогою стандартної методики внутрішньоклітинного відведення потенціалів на 335 ідентифікованих і 254 неідентифікованих нейронах дорсальної поверхні підглоткового комплексу гангліїв равлика *Helix albescens* Rossm. Ідентифікацію нейронів здійснювали за картою Сахарова [25].

Електричні потенціали відводили внутрішньоклітинно, підсилювали за допомогою передпідсилювача виносної головки (опір зворотного зв'язку 1 ГОм) і підсилювача нейронної активності універсальної фізіологічної установки БКН (смуга пропускання 0–10 кГц). Введення сигналів у комп'ютер здійснювали за допомогою 12-розрядного аналого-цифрового перетворювача і через лабораторний інтерфейс подавали на комп'ютер IBM PC. Реєстрацію часових і амплітудних показників (мембранного потенціалу, частоту генерації імпульсів, критичний рівень деполяризації трансинаптичних потенціалів дії – ПД, амплітуду ПД, тривалість висхідної та низхідної його фаз) потенціалів нейронів забезпечували комп'ютерною програмою „Action poten-

tial” [2]. Розрахунок значень іонних струмів аналізували за методикою Магури [17].

Схема досліджень була такою: спочатку реєстрували висхідні електричні показники, які відображають початковий функціональний стан нейронів (контроль), потім через 0,5, 1, 5 і 20 хв від моменту аплікації речовини та аналогічно від початку відмивання.

Досліджувані хімічні сполуки розводили стандартним розчином Рінгера для холонокровних тварин (в ммоль/л): NaCl – 100, KCl – 4, CaCl<sub>2</sub> – 10, MgCl<sub>2</sub> – 4, тріс-HCl – 10 (рН 7,5) до потрібних концентрацій. Аплікацію виконували заміною розчину Рінгера на розчин досліджуваної речовини в експериментальну камеру. Нерозчинні похідні бензимидазолу переводили в хлориди. З кожною досліджуваною сполукою в концентраціях 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-3</sup> і 10<sup>-2</sup> моль/л було проведено не менше ніж 15 дослідів на різних типах нейронів. Слід зазначити, що при концентрації речовин 10<sup>-6</sup> моль/л не виявлено будь-яких змін електричної активності нейронів.

Дослідження психотропної дії речовин проведено на 90 білих безпородних щурах-самцях п'ятимісячного віку масою 180–220 г. з середнім рівнем рухової активності в тесті “відкрите поле” [16], які переважають в дослідженій популяції і у них розвивається найбільш типова реакція на експериментальні дії [6, 24].

Для дослідження конкретної сполуки використовували дві групи щурів по 10 тварин у кожній. Одній групі тварин внутрішньоочеревинно вводили 0,2 мл фізіологічного розчину (контроль), а другій – 0,2 мл досліджуваної сполуки в дозах 50, 100 і 150 мг/кг. Спочатку одноразово вводили досліджуваний розчин і через 1,5 год від моменту ін'єкції реєстрували показники активності щурів [4]. Потім після тижневої перерви тваринам також одноразово вводили сполуки в дозі 100 і 150 мг/кг. Оцінка впливу досліджуваних речовин на активність тварин здійснена за допомогою тесту

«відкрите поле», який дає змогу оцінити цілісну фізіологічну реакцію тварини на дію речовин [7, 20].

Обробку та аналіз результатів здійснювали за допомогою пакета програм Statistica 5.0 і порівнювали до та після дії речовин за непараметричними критеріями Вілкоксона і Манна–Уїтні (вірогідність різниці середніх значень  $P \leq 0,05$ ). Значення показників окремих нейронів наведено як абсолютні, а в деяких випадках для більш наочного представлення результатів використовували відносні одиниці.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Вплив бензимидазолу та його похідних на електричну активність нейронів молюска.* У цьому розділі роботи встановлено порогові концентрації 2-бензилбензимидазолу (фармпрепарат дибазол), 2-етилтіобензимидазолу (фармпрепарат бемітил), бензимидазолу, 2-метилбензимидазолу, 2-етилбензимидазолу, 2-амінометилбензимидазолу, 2-(1-гідроксиетил)бензимидазолу, 2-(3-гідроксипропіл)бензимидазолу, 2-трифторметилбензимидазолу і 2-циклопропілбензимидазолу, які для 2-бензилбензимидазолу, 2-етилтіобензимидазолу, бензимидазолу, 2-метилбензимидазолу, 2-етилбензимидазолу, 2-амінометилбензимидазолу, 2-(3-гідроксипропіл)бензимидазолу і 2-трифторметилбензимидазолу становлять  $10^{-5}$  моль/л, для 2-(1-гідроксиетил)бензимидазолу і 2-циклопропілбензимидазолу –  $10^{-4}$  моль/л. При цих концентраціях дії досліджених речовин були ледве помітними. У разі високих концентрацій виявлено, що нейрони різних типів специфічно реагують на одні і ті самі, а тим більше на різні досліджувані сполуки. Так, дибазол у всіх застосованих концентраціях пригнічує амплітудні та частотні показники ПД нейронів ППа1 (рис. 1,а), а в концентрації  $10^{-4}$  моль/л – селективно активує електрогенез нейронів ППа2 і ППа7, тобто підвищує амплітуду ПД і частоту генерації

імпульсів, однак при концентраціях  $10^{-3}$  та  $10^{-2}$  моль/л спостерігається пригнічення електричної активності цих нейронів. У зв'язку з цим ми припустили, що дія дибазолу на такі нейрони реалізується внаслідок пригнічення трансмембранних іонних струмів, які забезпечують біоелектричні процеси в нервових клітинах.

Аналіз першої похідної ПД [15, 17] дав змогу з'ясувати іонні механізми дії досліджуваних сполук. Виявлено, що дибазол у концентраціях  $10^{-4}$  і  $10^{-3}$  моль/л значно сповільнює максимальну швидкість підвищення ПД нейрона ППа1 (від  $11,1 \pm 0,35$  у вихідному стані до  $9,1 \pm 1,1$  і  $7,14$  В/с  $\pm 0,25$  В/с відповідно,  $P \leq 0,05$ ; див. рис. 1,б). Оскільки швидкість зростання ПД є показником зниження максимальної швидкості струму, який входить до клітини під час висхідної його фази [17], то, очевидно, дибазол уповільнює вхідний натрієвий струм. Однак відомо, що у нейронів молюска, в тому числі у ППа1, роль переносників вхідного струму відіграють не лише іони натрію, але і кальцію [10–14]. Тому ми вважаємо, що крім натрієвого дибазол гальмує і кальцієвий струм. Разом зі зменшенням швидкості розвитку ПД дибазол у зазначених концентраціях зменшує і максимальну швидкість його спаду (від  $13,35 \pm 1,8$  у вихідному стані до  $10,5 \pm 1,6$  і  $7,2$  В/с  $\pm 1,4$  В/с відповідно,  $P \leq 0,05$ ). Таким чином, дибазол пригнічує і вихідний затриманий калієвий струм, який, як відомо [15, 17], забезпечує низхідну фазу ПД. Отже, дибазол у концентраціях  $10^{-4}$  і  $10^{-3}$  моль/л здійснює пригнічувальну дію, як на вхідні, так і на вихідні струми, які беруть участь у генерації ПД. У нейрона ППа1 у концентрації  $10^{-2}$  моль/л він швидше гальмує як вхідні, так і вихідні сумарні іонні струми, які задіяні в розвитку ПД (див. рис. 1,б).

Кількісний аналіз кривих трансмембранних іонних струмів показав, що дибазол здійснює більш чіткий вплив на вхідні струми, які зменшуються від  $105 \cdot 10^{-9}$  –

$110 \cdot 10^{-9}$  у вихідному стані до  $5 \cdot 10^{-9}$ – $10 \cdot 10^{-9}$  А у відповідь на збільшення концентрації речовини до  $10^{-2}$  моль/л. Вихідні струми при цьому від початкових значень  $40 \cdot 10^{-9}$ – $48 \cdot 10^{-9}$  А знижуються до  $15 \cdot 10^{-9}$ – $20 \cdot 10^{-9}$  А. Отже, дибазол пригнічує вхідні та вихідні трансмембранні іонні струми.

Оскільки 10–20 хв відмивання призводить до відновлення генерації ПД, хоча їхні показники суттєво відрізняються від вихідних, можна вважати, що дія дибазолу є частково зворотною.

Щодо нейронів ППа2 та ППа7 слід зазначити, що дибазол первинно підвищує, а зі збільшенням його концентрації з однако-

вою силою знижує як швидкість зростання вхідних сумарних трансмембранних іонних струмів, так і вихідних.

Результати наших досліджень показують, що дибазол, який містить бензиловий радикал, надає диференційованого нейротропного ефекту, а саме дозозалежно пригнічує електричну активність нейронів ППа1 і в концентрації  $10^{-4}$  моль/л активує електрогенез нейронів ППа2 і ППа7.

Вплив бемітилу за багатьма ознаками був аналогічним дії дибазолу на нейрони ППа1 (див. рис. 2,а,б). Бемітил у концентрації  $10^{-4}$  моль/л не призводить до істотних змін амплітуди ПД, про що свідчить і

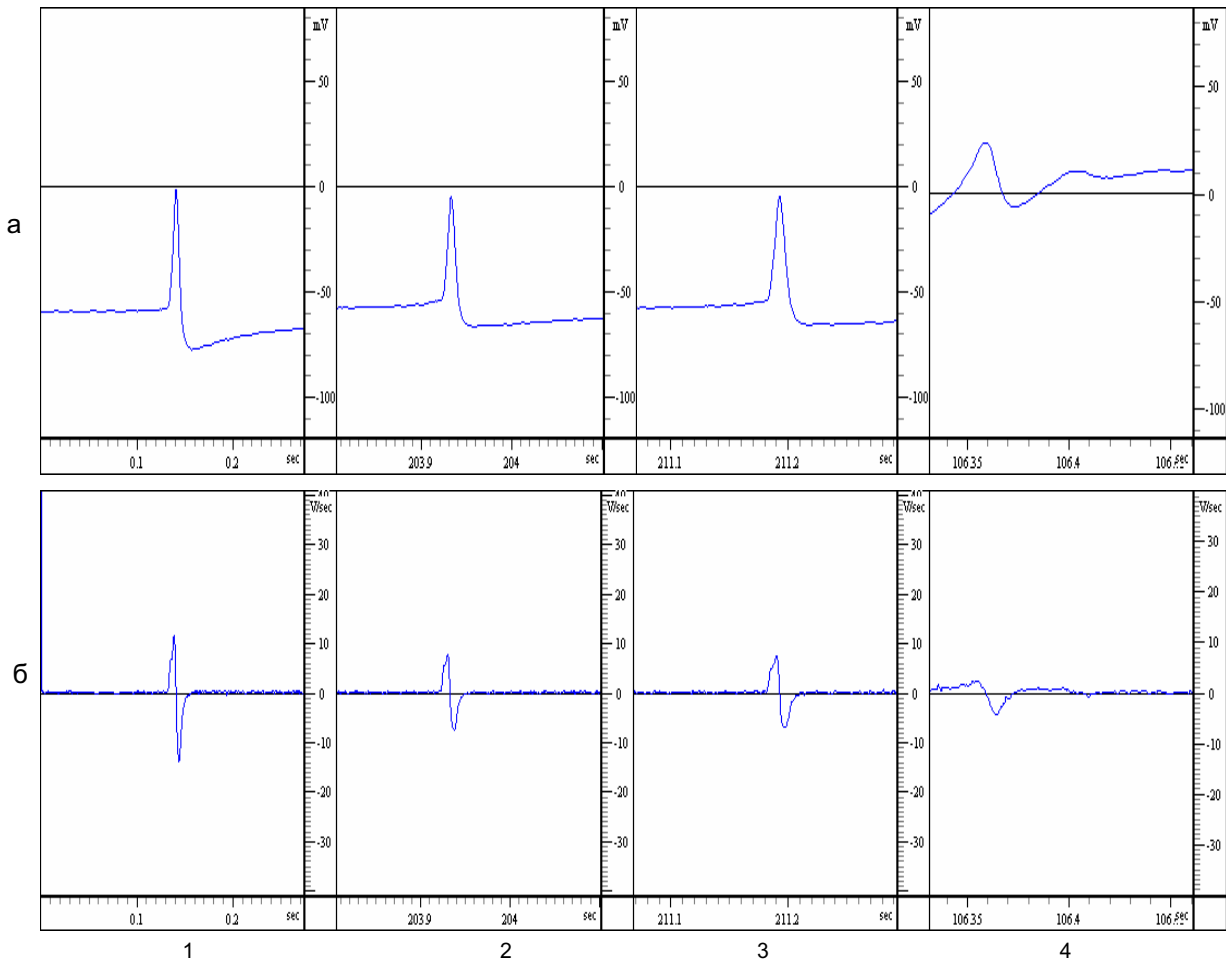


Рис. 1 Вплив дибазолу на електричну активність нейрона ППа1: а – усереднені потенціали дії, б – їхня перша похідна; 1 – вихідний стан, 2, 3, 4 – експозиція дибазолу в концентрації  $10^{-4}$  моль/л (5-та хвилина),  $10^{-3}$  моль/л (5-та хвилина) і  $10^{-2}$  моль/л (перші секунди)

максимум швидкості його розвитку (див. рис. 2,б). При зіставленні вихідних значень ПД і зареєстрованих у разі експозиції бемітилу спостерігається зменшення їх тривалості. При аналізі швидкості спаду вихідних ПД у більшості нейронів ППа1 помітна затримка розвитку низхідної його фази (див. рис. 2,б), яка свідчить про те, що на вихідний калієвий іонний струм накладається протилежний за напрямком вхідний кальцієвий струм [17–19]. Під час експозиції бемітилу затримка згладжується, що вказує на зменшення і/або пригнічення даною сполукою саме вхідного кальцієвого струму. Можливо, цим і поясню-

ється зменшення тривалості ПД при дії речовини. У концентрації  $10^{-3}$  моль/л бемітил призводить до появи повільних коливань мембранного потенціалу і його зміщенню на  $18,4 \text{ мВ} \pm 2,7 \text{ мВ}$  ( $P < 0,01$ ) у бік деполяризації. Через 3–5 хв експозиції мембранний потенціал залишається на тому самому рівні, а його повільні хвилі зникають. При цьому максимум швидкості зростання ПД знижується відносно вихідного стану на  $5,36 \text{ В/с} \pm 0,43 \text{ В/с}$ , що зумовлює збільшення його тривалості.

При концентрації  $10^{-2}$  моль/л бемітил через 2–3 с експозиції призводить до різкого деполяризаційного зсуву мембранного

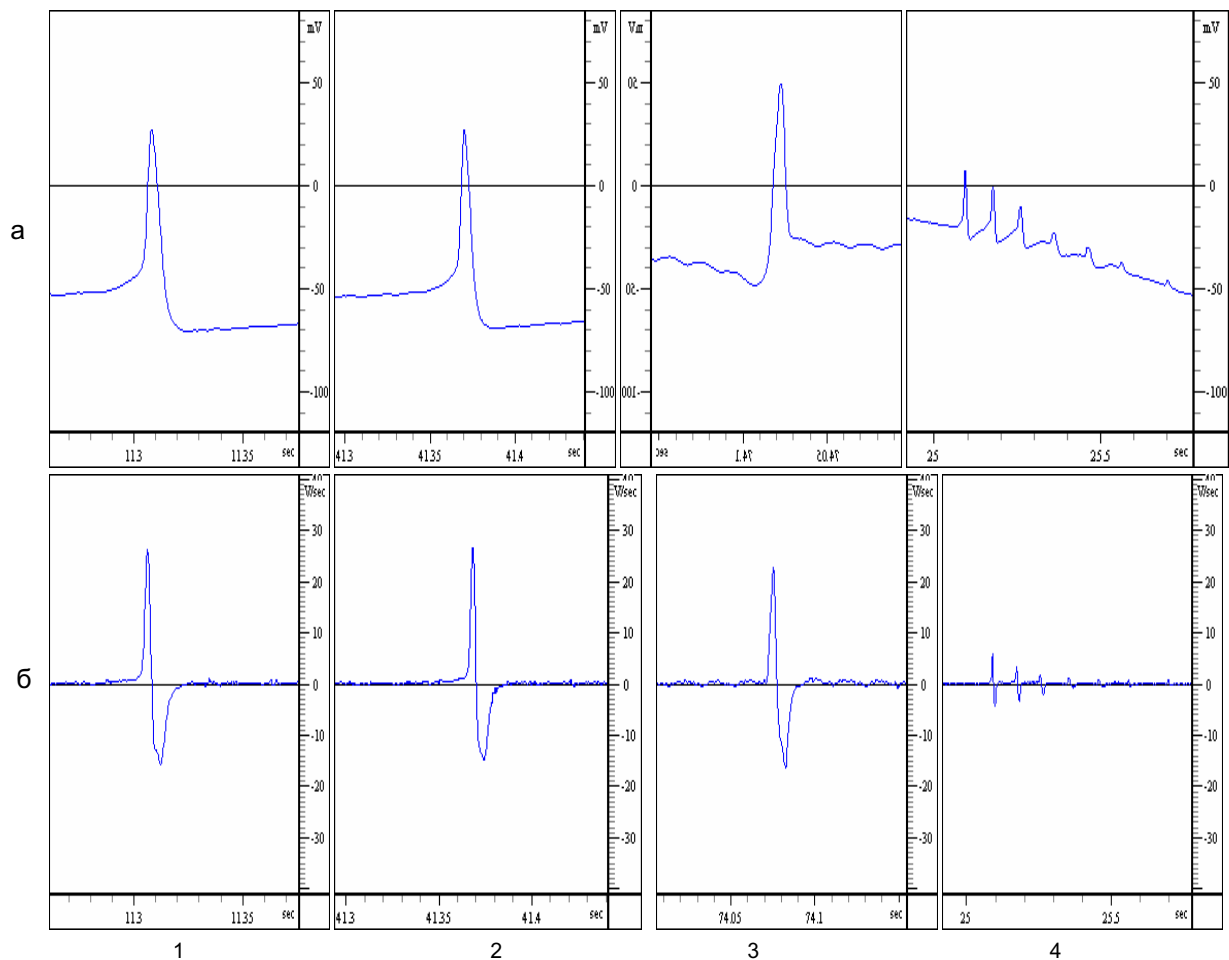


Рис. 2 Вплив бемітилу на електричну активність нейрона Ппа1: а – усереднені потенціали дії, б – їхня перша похідна; 1 – вихідний стан, 2, 3, 4 – експозиція дибазолу в концентрації  $10^{-4}$  моль/л (5-та хвилинка),  $10^{-3}$  моль/л (5-та хвилинка) і  $10^{-2}$  моль/л (перші секунди)

потенціалу (на  $23 \text{ мВ} \pm 5,36 \text{ мВ}$ ,  $P \leq 0,001$ ) і зниженню амплітуди ПД, а через 5-20 с експозиції розвивається гіперполяризація мембрани, припиняється генерація ПД, а потім мембранний потенціал знижується до нуля. Ми припускаємо, що ця гіперполяризація мембрани зумовлена відкриванням хлорних каналів і входом  $\text{Cl}^-$  в клітину. Цікаво, що дія бемітилу проявляються в гіперполяризації мембрани і є незворотною, а дибазолу – в її деполяризації і є частково зворотною. Отже, хоча дибазол і бемітил у високих концентраціях і призводять до припинення ритмічної активності нейронів, однак механізми їхньої дії різні. У разі застосування дибазолу припинення імпульсної активності відповідає класичному уявленню щодо процесу, який розвивається при деполяризації мембрани і пов'язаного з порушенням роботи натрієвих каналів, а бемітил блокує як натрієві канали, так і порушує функціональний стан калієвих і/або хлорних каналів. Не виключено, що дибазол і бемітил впливають і на метаболічні процеси клітин, змінюючи їхній функціональний стан. Слід зазначити, що первинно бемітил призводить до зниження швидкості розвитку ПД (на  $20,3 \text{ В/с} \pm 2,27 \text{ В/с}$ ,  $P \leq 0,05$ ), а потім і швидкості його спаду (на  $12,6 \text{ В/с} \pm 2,04 \text{ В/с}$ ,  $P \leq 0,05$ ). Оскільки при цій концентрації мембранний потенціал, врешті-решт, знижується до нуля і при відмиванні та стимуляції нейронів вхідним деполяризуювальним струмом імпульсна активність не відновлюється, ми вважаємо, що бемітил у концентрації  $10^{-2}$  моль/л є токсичним і це призводить до їхньої загибелі. Аналогічні ефекти бемітилу в дослідженому діапазоні концентрацій відзначені також у нейронів ППа2 і ППа7. Це вказує на те, що бемітил, який містить сірку і вуглеводневий радикал  $-\text{C}_2\text{H}_5$ , на відміну від дибазолу неселективно впливає на біоелектричні процеси нейронів різних типів.

Вплив самого бензимидазолу та його похідних 2-метилбензимидазолу і 2-етил-

бензимидазолу, які містять вуглеводневі радикали  $-\text{CH}_3$  і  $-\text{C}_2\text{H}_5$  на електрогенез нейронів різних типів взагалі був аналогічним бемітилу і виражався у дозозалежному прямопропорційному зниженні швидкості розвитку ПД.

В окремих препаратах у нейронів ППа1 і неідентифікованих нейронів вісцерального ганглія вираженість ефектів бензимидазолу при різних концентраціях суттєво відрізнялася від вищеописаних (рис. 3,а-в). Так, при концентрації  $10^{-4}$  моль/л ефекти речовини аналогічні таким же, як і у всіх нейронів. При концентрації  $10^{-3}$  моль/л у трьох з п'ятнадцяти досліджених нейронів ППа1 дія виражалася в редуції імпульсної активності та прояві гальмівних постсинаптичних потенціалів (ГПСП). Потім поступово розвивалася гіперполяризація мембрани і коли рівень мембранного потенціалу сягає значення рівноважного потенціалу для  $\text{Cl}^-$ , то спостерігається реверсія ГПСП у збуджувальні постсинаптичні потенціали (ЗПСП). Амплітуда таких ЗПСП сягає 10–25 мВ, а їхня тривалість – 20–100 мс (див. рис. 3,а,б). Слід зазначити, що через 3–5 хв експозиції бензимидазолу мембранний потенціал цих нейронів відновлюється і вони починають генерувати повноцінні ПД, поміж яких продовжують розвиватися поодинокі ГПСП або їх серії (див. рис. 3,а,б). Раптове відновлення генерації ПД, можливо, пояснюється гетерогенністю пластичних властивостей хеморецептивної соматичної мембрани нейрона [11, 12]. Після 20 хв відмивання імпульсна активність нейронів відновлюється. Слід зазначити, що на деякі неідентифіковані нейрони вісцерального ганглія (5 з 20 досліджених) з низькою частотою генерації імпульсів у вихідному стані бензимидазол у концентрації  $10^{-4}$  і  $10^{-3}$  моль/л здійснює збуджувальний вплив: спостерігається деполяризація мембрани і підвищується частота генерації імпульсів (див. рис. 3). Не виключено, що пригнічувальний ефект досліджуваної

речовини на нейрон ППа1 може бути опосередкований їх впливом на синаптично пов'язані з ним нейрони ВГ, які збуджуються під впливом бензимидазолу.

При концентрації бензимидазолу  $10^{-2}$  моль/л у нейронів ППа1 первинно спостерігається зсув мембранного потенціалу в бік деполаризації, підвищення частоти генерації імпульсів і різке зниження амплітуди ПД. Потім розвиваються ГПСП і, звичайно, гіперполяризація мембрани. За 20 хв відмивання імпульсна активність цих нейронів не відновлюється.

На наш погляд, поява ГПСП, розвиток гіперполяризації і наступна їхня реверсія на мембрані соми пейсмерних і непейсмерних нейронів при аплікації бензимидазолу свідчить про наявність на ній синаптичних гальмівних входів. З усього наведеного виходить, що дія бензимидазолу на досліджені нейрони може бути як безпосередньою, так і опосередкованою гальмівними нейронами, які збуджуються під його впливом.

Таким чином, ми можемо констатувати, що бензимидазол здійснює неоднакову дію на різні нейрони, селективно запускаючи

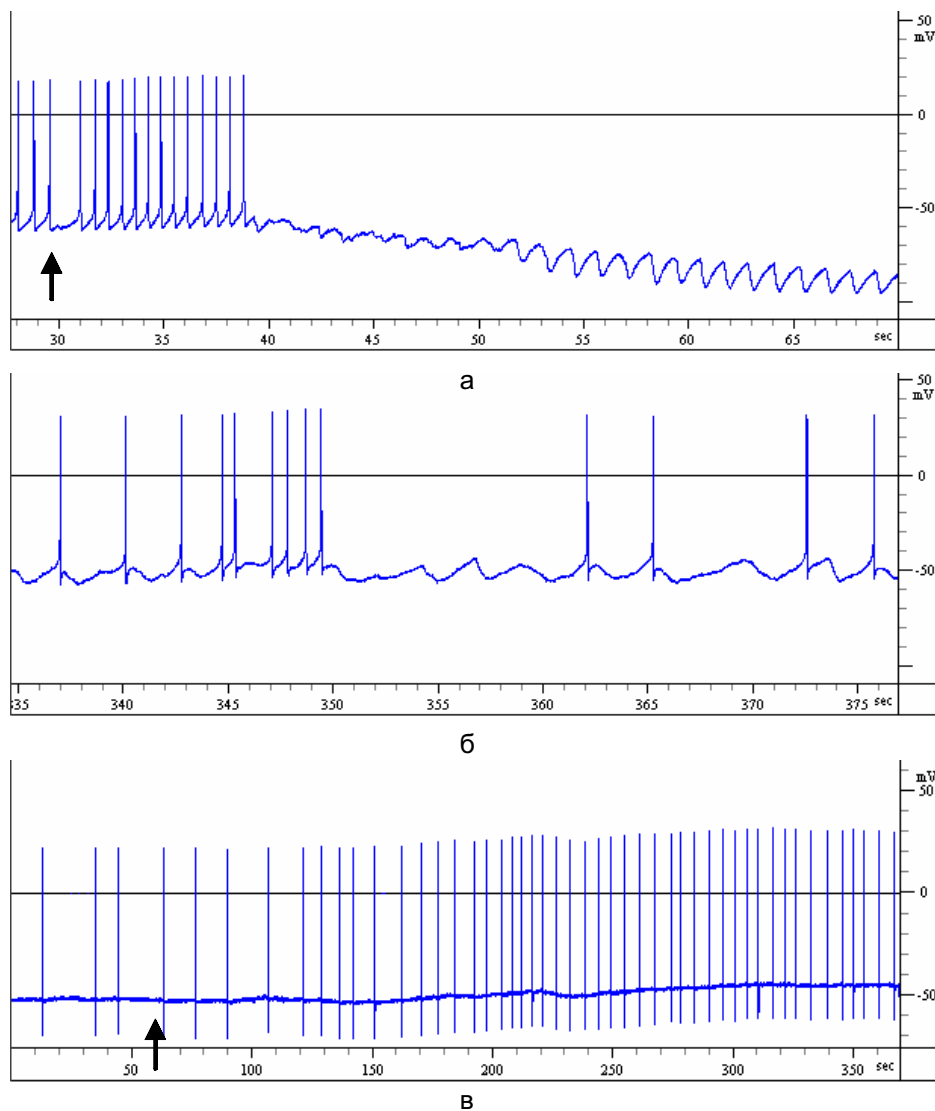


Рис. 3 Вплив бензимидазолу в концентрації  $10^{-3}$  моль/л на нейрон ППа1 (а, б) і неідентифікований нейрон вісцерального ганглія (в). Стрілкою позначено момент аплікації

різні механізми їх електрогенезу. Крім того, селективність цієї сполуки виявляється і в тому, що вона полегшує гальмівні входи на мембрані соми (або активує гальмівні процеси в нервових мережах), про що свідчать чітко виражені ГПСП.

Слід зазначити, що виявлені цікаві особливості ефектів 2-трифторметилбензимидазолу в концентрації  $10^{-3}$  моль/л у 3 з 15 нейронів ППа2 (рис. 4,а-в). Це полягає в тому, що впродовж 3–4 хв експозиції сполуки, під час якої мембрана є деполяризованою, мембранний потенціал різко сягає вихідного рівня і впродовж 10–20 с припиняється генерація ПД (див. рис. 4,б). Потім він знову поступово зменшується і замість нормальних ПД з'являються «швидкі» піки невеликої амплітуди з крутим переднім фронтом (див. рис. 4,б,в). Амплітуда таких потенціалів варіює між 4 і 20 мВ та є кратною найменшому значенню (4 мВ), а їхня тривалість становить 10–30 мс. У міру деполяризації мембрани амплітуда таких піків зростає градуально до певного значення, однак вона не сягає критичного рівня деполяризації. З цього виходить, що 2-трифторметилбензимидазол при зовнішній аплікації пригнічує лавиноподібний розвиток на мембрані соми ПД, які антидромно розповсюджуються з активного локусу аксодендритного дерева. Крім того, на тлі деполяризації мембрани у нейрона ППа2 серед цих швидких піків з'являються і повільні коливання мембранного потенціалу; спостерігаються як ЗПСП, так і ГПСП, амплітуди яких знаходяться в межах 5–15 мВ, а тривалість – 20–100 мс. З часом окремі ЗПСП сягають критичного рівня деполяризації і виникають поодинокі, а потім і групи повномірних ПД (див. рис. 4,в). Слід зазначити, що у вихідному стані такі постсинаптичні потенціали не проявляються. Очевидно, різна вираженість дії 2-трифторметилбензимидазолу зумовлена його бензимидазольною частиною, оскільки прояв ГПСП спостерігається і при аплікації

самого бензимидазолу. Однак поки що ми не знаємо, чому немає таких ефектів при аплікації інших похідних. Виходячи з одержаних результатів ми припускаємо, що у пейсмейкерного нейрона ППа2 можуть бути як ендо-, так і екзогенні ПД. У разі ендогенної природи ПД виникає в тригерній зоні аксодендритного дерева, а екзогенні ПД зумовлені трансинаптичною активацією безпосередньо мембрани аксонного горбика і/або соми. Таким чином, отримані нами результати дають змогу вважати, що на мембрані пейсмейкерних нейронів, а саме нейрона ППа2, є як мінімум дві, просторово розділені, з різними механізмами запускання ПД тригерні ділянки.

У разі аплікації 2-трифторметилбензимидазолу в концентрації  $10^{-2}$  моль/л упродовж 40–55 с спостерігається повне пригнічення генерації ПД у всіх досліджених нейронів, яке також спричинене інгібуванням як вхідних, так і вихідних трансмембранних іонних струмів.

Через 20 хв відмивання 2-трифторметилбензимидазолу у концентраціях  $10^{-4}$  і  $10^{-3}$  моль/л значення мембранного потенціалу і амплітуди ПД у всіх досліджуваних нейронів наближаються до вихідного рівня, а після концентрації  $10^{-2}$  моль/л – ні. Таким чином, ефект досліджуваної речовини в концентраціях  $10^{-4}$  і  $10^{-3}$  моль/л зворотний, а в концентрації  $10^{-2}$  моль/л – для більшості нейронів токсичний, частково зворотний.

Ефекти 2-амінометилбензимидазолу при різних його концентраціях на нейрон ППа1 представлено на рис. 5,а,б. У концентрації  $10^{-4}$  моль/л він підвищує як максимум швидкості зростання, так і швидкості спаду ПД. Однак зі збільшенням концентрації сполуки пригнічуються вхідні та вихідні іонні струми. Подібний вплив 2-амінометилбензимидазолу здійснює і на нейрони ППа2 та ППа7, що вказує на неселективність дії цієї сполуки на такі клітини.

Слід зазначити, що ефекти аплікації 2-(1-гідроксиетил)бензимидазолу, 2-(3-гідрок-



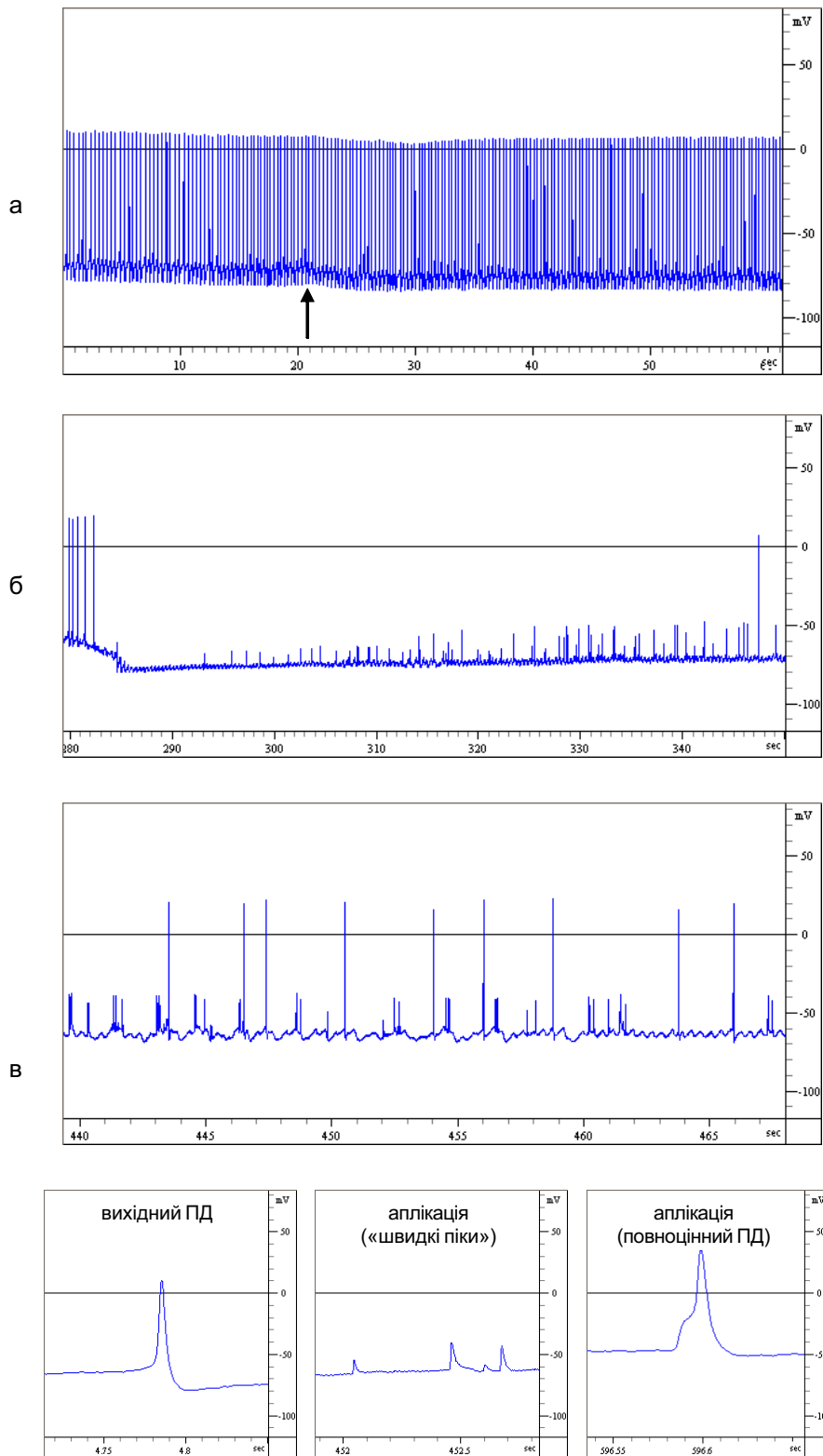


Рис. 4. Вплив 2-трифтометилбензimidазолу в концентрації  $10^{-3}$  моль/л на електрогенез нейрона ППа2 (а-в). Стрілкою позначено початок аплікації

сипропіл)бензимидазолу і 2-циклопропіл-бензимидазолу, які містять –ОН-групу і радикал циклопропіл, у дослідженому діапазоні концентрацій були подібні до дії 2-амінометилбензимидазолу. Це може свідчити про те, що саме заміщення водню в молекулі бензимидазолу призводить до появи у нових сполук активуючого напрямку нейротропної дії.

У цілому, результати цієї частини роботи вказують на те, що навіть у мембрані окремих нейронів відносно «простої» нервової системи равлика є широке різноманіття гетерогенних механізмів їхнього функціонування.

Таким чином, на підставі отриманих нами результатів, бензимидазол і його похідні розділено на дві групи. До першої

віднесено сполуки 2-амінометилбензимидазол, 2-(1-гідроксиетил)бензимидазол, 2-(3-гідроксипропіл)бензимидазол і 2-циклопропілбензимидазол, які активують електрогенез нейронів. Очевидно, саме заміщення водню у другого атомі вуглецю на групи –NH<sub>2</sub> і –ОН та циклопропіл призводить до активувального напрямку дії досліджуваних сполук. До другої групи були віднесені речовини 2-бензилбензимидазол, 2-етилтіобензимидазол, бензимидазол, 2-метилбензимидазол, 2-етилбензимидазол і 2-трифторметилбензимидазол, які пригнічують електричну активність нейронів, що, можливо, зумовлено заміщенням водню на вуглеводневі радикали, бензол, сірку і фтор. Проте слід зазначити, що бензимидазол і дибазол селективно діють на нейрони різних типів.

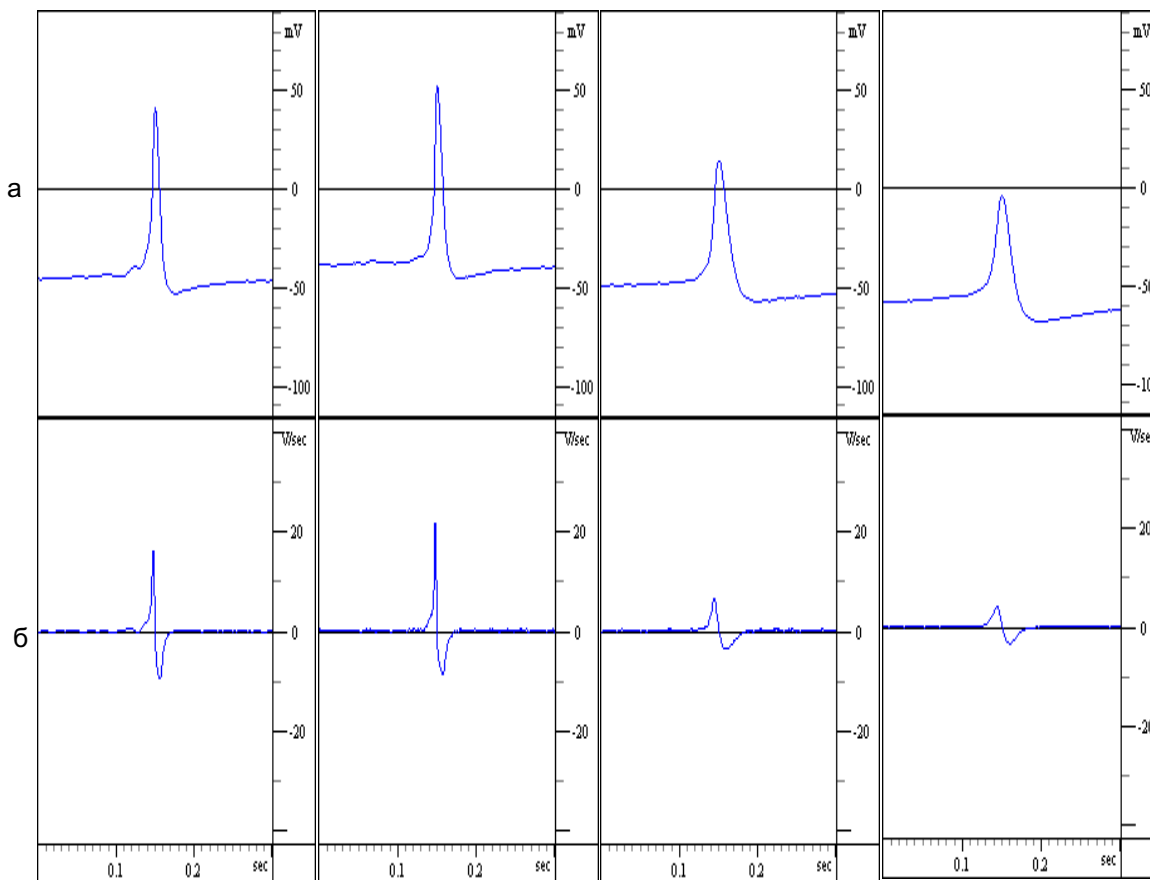


Рис. 5. Вплив 2-амінометилбензимидазолу на потенціал дії (а) і трансмембранні струми (б) нейрона ПП1 в досліджуваних концентраціях: 1 – вихідний стан, 2 –  $10^{-4}$ , 3 –  $10^{-3}$  і 4 –  $10^{-2}$  моль/л

Отже, встановлено, що різного напрямку ефекти сполук залежать від їх хімічної структури, а також функціонального стану та специфіки мембран нейронів.

Оскільки препарат дибазол, який використовується як дуже ефективний гіпотензивний засіб, змінює показники електричних потенціалів, тобто залежно від концентрації пригнічує трансмембранні іонні струми, то очевидно, речовина має і нейроі, можливо, психотропні властивості. В цьому розділі роботи встановлено, що сполуки 2-бензилбензимидазол, 2-етилтіобензимидазол, бензимидазол, 2-метилбензимидазол, 2-етилбензимидазол і 2-трифторметилбензимидазол мають пригнічувальну нейротропну дію, у зв'язку з чим можна очікувати у них проявлення седативних і заспокійливих властивостей. Сполуки 2-амінометилбензимидазол, 2-(1-гідроксипропіл)бензимидазол, 2-(3-гідроксипропіл)бензимидазол і 2-циклопропілбензимидазол, навпаки, в оптимальних концентраціях активують електрогенез нейронів, тому можна передбачити у них наявність психостимулювальних і антидепресантних властивостей. Отже, досліджувані речовини

можуть мати і психотропні властивості, що і спонукало нас до їхнього подальшого тестування на ссавцях, а на шурах.

*Вплив бензимидазолу та деяких його похідних на поведінку щурів при системному введенні.* При системному введенні бемітил у дозах 50, 100 і 150 мг/кг призводить до різкого генералізованого пригнічення поведінки щурів (табл. 1). Так, в умовах контролю середні значення індексу горизонтальної рухової активності, який характеризує локомоторну активність, становлять від  $20,4 \pm 4,3$  до  $25,0 \pm 5,5$ , а після ін'єкцій бемітилу цей показник знижується до  $6,8 \pm 2,6 - 4,3 \pm 1,2$ , тобто до 27–21 % від контрольних значень. Слід зазначити, що при цьому явної залежності інтенсивності гальмування горизонтальної рухової активності від дози препарату не спостерігається. Аналогічні ефекти бемітил здійснює і на вертикальну рухову активність. Контрольні значення індексу цієї активності варіюють від  $8,4 \pm 2,1$  до  $3,4 \pm 1,0$ , а при дії бемітилу цей показник різко знижується до нуля (див. табл. 1). Дослідницька активність і грумінг пригнічуються під впливом бемітилу меншою мірою, але

Таблиця 1. Поведінка щурів при дії бемітилу та бензимидазолу

Показник	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
	50 мг/кг		100 мг/кг		150 мг/кг	
Бемітил						
Рухова активність						
горизонтальна	$20,4 \pm 4,3$	$4,3 \pm 1,2^*$	$25,0 \pm 5,5$	$6,8 \pm 2,6^{**}$	$21,5 \pm 3,8$	$5,0 \pm 2,2^{**}$
вертикальна	$3,4 \pm 1,0$	$0^*$	$4,6 \pm 1,1$	$1,4 \pm 0,5^*$	$8,4 \pm 2,1$	$2,1 \pm 1,4$
Дослідницька активність	$9,4 \pm 2,0$	$3,8 \pm 0,5$	$15,4 \pm 2,7$	$8,2 \pm 1,5^*$	$2,0 \pm 0,8$	$0,6 \pm 0,4^*$
Грумінг	$1,6 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,7$	$0,6 \pm 0,4^*$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$
Дефекація	$1,8 \pm 1,0$	$0,8 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,6$	$0,2 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,5$	$0^*$
Уринація	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0$
Бензимидазол						
Рухова активність						
горизонтальна	$23 \pm 4,7$	$0,4 \pm 0,2^*$	$19,4 \pm 4,5$	$4,5 \pm 1,6^{**}$	$21,3 \pm 2,0$	$0,3 \pm 0,2^*$
вертикальна	$3,4 \pm 0,8$	$1,2 \pm 0,6^*$	$6,0 \pm 1,0$	$0^*$	$2,8 \pm 0,6$	$0,3 \pm 0,1^*$
Дослідницька активність	$5,0 \pm 0,7$	$1,8 \pm 0,3^*$	$16,0 \pm 2,7$	$7,0 \pm 1,5^*$	$5,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,3^*$
Грумінг	$0,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,8$	$0,2 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,1$
Дефекація	$2,2 \pm 0,6$	$1,2 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,6$	$0^*$	$1,7 \pm 0,5$	$0,7 \pm 0,3$
Уринація	$0,8 \pm 0,5$	$0,2 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$0$	$1,0 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,1$

Примітка. Тут і в табл. 2: \* $P > 0,05$ ; \*\* $P > 0,001$  відносно контролю.

також без чіткої залежності від дози. Дозозалежність ефектів бемітилу проявляється лише відносно таких поведінкових феноменів, як дефекація та уринація. Слід зазначити, що середні значення індексів цих поведінкових феноменів у контролі становлять усього від 2,0 до 1,0 і від 0,2 до 0,6 відповідно. Ін'єкції бемітилу в дозі 50 мг/кг призводять до зменшення індексів цих поведінкових проявлень до 44–50 % від початкових значень. При введенні бемітилу в дозі 150 мг/кг такі феномени взагалі відсутні в межах періоду спостереження.

Дія бензimidазолу відносно досліджених поведінкових проявів у цілому аналогічно вищезазначеним ефектам бемітилу. Індекс горизонтальної рухової активності, який в контролі становить від  $23,0 \pm 4,7$  до  $19,4 \pm 4,5$ , після ін'єкцій бензimidазолу зменшується до 23–6 % від початкових значень (див. табл. 1). Приблизно аналогічний вплив бензimidазол здійснює і на вертикальну рухову активність. Пригнічення і зменшення частоти грумінгу після ін'єкцій бензimidазолу загалом теж менш виражене, ніж зменшення інтенсивності вертикальної та горизонтальної рухової активності. Відсутність зниження інтенсивності грумінгу після введення бензimidазолу в мінімальній з використаних доз (50 мг/кг) і, навпаки, значне зменшення цього показника і повне пригнічення вертикальної рухової активності при дозі 100 мг/кг, можливо, пояснюється вищезазначеною випадковою варіабельністю відповідних результатів. Зниження частоти дефекацій і уринацій під впливом бензimidазолу є дуже значним, але на відміну від ефектів бемітилу вираженої дозозалежності в цих випадках не відбувається (див. табл. 1).

Таким чином, введення бемітилу та бензimidазолу у щурів спричинює суттєве зниження значень практично всіх реєстрованих поведінкових показників. При цьому найбільш істотною зміною є розвиток рухового дефіциту. Оскільки бемітил і бензи-

midазол призводять також до зниження індексів, які характеризують рівень емоційного збудження тварин, можна констатувати, що ці речовини у використаних дозах здійснюють потужну седативну дію. Це збігається з даними одних авторів [8], але суперечить іншим [28], які вказують на те, що дія бемітилу при одноразовому введенні не супроводжується седативним ефектом. На підставі отриманих нами результатів можна переконливо стверджувати, що досліджувані речовини в указаних дозах інтенсивно пригнічують локомоцію та орієнтовно-дослідницьку поведінку щурів. Такий висновок збігається з даними про те, що бемітил генералізовано пригнічує електричну активність нейронів молюска [5] і забезпечує зниження інтенсивності епілептичних розрядів [21].

Загалом, результати наших експериментів з одноразовим введенням використаних доз бемітилу та бензimidазолу дають змогу вважати, що ці сполуки здатні зумовлювати генералізоване пригнічення поведінки щурів і здійснювати потужну седативну, анксиолітичну та антистресорну дію.

Вплив дибазолу, 2-метилбензimidазолу та 2-етилбензimidазолу аналогічний бемітилу і бензimidазолу, однак відрізняється силою і вираженістю. Дія цих похідних у досліджуваному діапазоні доз була більш «м'якою» і менш виразною порівняно з вищезгаданими сполуками.

Введення 50 мг/кг похідних бензimidазолу, які містять  $-\text{NH}_2$  і  $-\text{OH}$ -групи призводить, на відміну від усіх вищезазначених речовин, до збільшення індексів горизонтальної, вертикальної і дослідницької активності щурів (див. табл. 2). Виходячи з цього, а також враховуючи напрям їхньої нейротропної дії, можна припустити, що ці сполуки в дозі 50 мг/кг мають м'який психостимулювальний ефект. Однак у дозах 100 і 150 мг/кг вони знижують індекси локомоції, дослідницької активності та психоемоційний стан досліджених тварин

Таблиця 2. Поведінка щурів при дії 2-амінометилбензimidазолу і 2-(3-гідроксипропіл)бензimidазолу

Показник	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
	50 мг/кг		100 мг/кг		150 мг/кг	
2-амінометилбензimidазол						
Рухова активність						
горизонтальна	24,2±4,6	35,6±6,4*	28,6±3,7	12,2±3,0**	32,5±4,3	1,4±0,4*
вертикальна	6,5±0,5	9,5±0,5*	8,0±1,5	1,2±0,3**	7,0±1,0	0*
Дослідницька активність	10,8±1,8	14,6±1,6	10,6±0,7	4,2±1,0**	11,6±0,7	0,3±0,2*
Грумінг	2,0±0,7	0,4±0,1*	1,6±0,6	0,8±0,5*	2,2±0,5	0*
Дефекація	2,0±0,5	1,0±0,1	1,6±0,5	0,2±0,1*	1,8±0,5	0*
Уринація	0,4±0,1	0,4±0,1	0,4±0,1	0	0,8±0,2	0*
2-(3-гідроксипропіл)бензimidазол						
Рухова активність						
горизонтальна	21,0±2,3	29,4±3,1*	26±9,1	15,2±6,6	26,0±7,4	4,1±1,8**
вертикальна	4,6±0,5	8,2±0,4*	3,5±1,2	2,6±1,2	4,3±1,7	1,2±0,3*
Дослідницька активність	9,4±0,3	11,3±1,1	5,3±1,5	3,1±1,2*	6,1±1,1	2,2±0,9**
Грумінг	1,2±0,3	0,6±0,2	0,1±0,1	0	0,3±0,1	0,2±0,1
Дефекація	3,4±1,4	0*	3,3±0,9	0,8±0,5	1,2±0,1	0*
Уринація	0,4±0,1	0	0,8±0,2	0,3±0,3	0,4±0,2	0,2±0,1

(див. табл. 2), проте чіткої дозозалежності нами не виявлено. На підставі цього можна припустити, що 2-амінометилбензimidазол, 2-(1-гідроксиетил)бензimidазол і 2-(3-гідроксипропіл)бензimidазол у високих дозах здатні проявити антистресорні властивості.

У цілому, результати цих досліджень показали, що бензimidазол, 2-бензилбензimidазол, 2-етилтіобензimidазол, 2-метилбензimidазол, 2-етилбензimidазол, 2-амінометилбензimidазол, 2-(1-гідроксиетил)бензimidазол, 2-(3-гідроксипропіл)бензimidазол, 2-трифторметилбензimidазол і 2-циклопропілбензimidазол суттєво впливають на електробиогенез нейронів і поведінку тварин, тобто мають нейро- і психотропні властивості.

**T.V. Gamma, I.I. Korenyuk**

#### EFFECT OF BENZIMIDAZOLE AND ITS DERIVATIVES ON ELECTRICAL NEURONAL ACTIVITY OF *HELIX ALBESCENS* ROSSM. AND RAT BEHAVIOR

We studied concentration dependency and the mechanisms of the effect of bezimidazole and its new derivatives on electrical processes in *Helix albescens* Rossm. neurons. These compounds

appeared to have neurotropic properties dependent on their chemical structure and the types of neurons. We determined the threshold, optimal and toxic concentration values of the tested substances. Benzimidazole and 2-trifluoromethylbenzimidazole at concentrations of 10<sup>-3</sup> and 10<sup>-2</sup> M elicit both excitatory and inhibitory postsynaptic potentials on soma membrane of some pacemaker and non-pacemaker neurons and even cause a strong depolarization. The membrane of pacemaker neurons (namely, neuron RPa2) was found to have at least two spatially separated trigger sites with different trigger mechanism of action potential. After single intraperitoneal injection (50 mg/kg) of the substance solution, the tested compounds based on the discovered effects were separated into two groups. The first group inhibits locomotion and psychoemotional state of rats, the second group elicits the opposite effect. We found that at 100 and 150 mg/kg all tested substances inhibit the animal's activity.

*Tavryyskyi National University, Simferopol*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Анисимова В.А., Спасов А.А., Левченко М.В., Александрова Е.А. 2-арил-1-диалкиламиноалкил-имидазо [1,2,-а]-бензимидазолы и их антагонизм к ионам кальция // Химико-фармакол. журн. – 1995. – №10. – С. 17–19.
2. А. с. № 11642 України, Комп'ютерна програма для реєстрації, обробки і автоматизованого аналізу біоелектричних сигналів / А.А. Замотайлов, І.І. Коренюк (2004).
3. Бугаева Л.И., Спасов А.А., Веровский В.Е., Иежица И.Н. Исследование острой токсичности бемитила и брометала // Эксперим. и клин. фармакология. – 2000. – 63. – №6. – С. 53–57.

4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 268 с.
5. Гамма Т.В., Коренюк И.И., Баевский М.Ю. Функциональное состояние нейронов ППа1 под влиянием дибазола и бемитила // Ученые записки ТНУ, серия «Биология, Химия». – 2003. – **16** (55), №4. – С. 20–27.
6. Грабовская Е.Ю. Реакции крыс с различными индивидуальными особенностями двигательной активности на действие слабого ПемП СНЧ: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Симферополь, 1992. – 23 с.
7. Калуев А.В. Стресс, тревожность и поведение. – К.: Энигма, 1998. – 92 с.
8. Киричек Л.Т., Бобков Ю.Г. Действие бемитила на состояние систем саморегуляции при кратковременной иммобилизации // Фармакология и токсикология. – 1991. – **54**, №6. – С. 42–44.
9. Ковалев Г.В., Гофман С.М., Ивановская С.В. и др. Синтез новых сердечно-сосудистых веществ // Там же. – 1972. – №3. – С. 232–237.
10. Кононенко Н.И. Влияние теофиллина на электрическую активность нейрона ППа2 виноградной улитки // Нейрофизиология. – 1981. – №3. – С. 655–657.
11. Кононенко Н.И., Щербатко А.Д. Влияние синаптической активации и аппликации серотонина на кальциевый ток в нейронах виноградной улитки // Там же. – 1986. – **18**, №1. – С. 77–85.
12. Кононенко Н.И., Щербатко А.Д. Влияние увеличения внутриклеточной концентрации ионов кальция на трансмембранный ток, вызванный ионофоретической инъекцией цАМФ, в нейронах виноградной улитки // Там же. – 1985. – **17**, №1. – С. 78–84.
13. Костюк П.Г. Исследование метаболической зависимости функции ионных каналов в мембране нервной клетки // Там же. – 1984. – **16**, №3. – С. 286–296.
14. Костюк П.Г., Крышталь О.А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. – М.: Наука, 1981. – 204 с.
15. Костюк П.Г., Магура И.С. Исследование электроуправляемых ионных каналов соматической мембраны нервной клетки // Физиол. журн. – 1984. – **30**, №3. – С. 267–277.
16. Кулагин Д.А., Болондинский Б.К. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке // Успехи физиол. наук. – 1986. – №1. – С. 92–110.
17. Магура И.С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны. – К.: Наук. думка, 1981. – 208 с.
18. Магура И.С., Вихрева Л.А. Электроуправляемые калиевые каналы соматической мембраны нейронов моллюска // Нейрофизиология. – 1984. – **16**, №3. – С. 296–307.
19. Магура И.С., Преварская Н.Б., Дуб В.А. термодинамические характеристики воротных механизмов быстрых калиевых каналов соматической мембраны нейронов моллюска // Там же. – 1983. – **15**, №6. – С. 563–570.
20. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля // Журн. высш. нерв. деятельности. – 1981. – **31**, №2. – С. 301–307.
21. Михайлов И.Б., Гузева В.И., Шарф М.Я. Влияние бемитила на экспериментальные судороги. – В кн.: Биоантиоксидант: междунар. симпоз. в рамках междунар. выставки «Мед. и охрана здоровья. Медтехника и аптека». – 1997. – С. 174–175.
22. Розин М.А. Синтез белка и резистентность клеток. – Л.: Наука, 1971. – С. 3–6.
23. Розин М.А. Фармакология патологических процессов. – Л.: Наука, 1951. – С. 269–290.
24. Сантана Вега Леонель. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Симферополь, 1991. – 21 с.
25. Сахаров Д.А. Генеалогия нейронов. – М.: Наука, 1974. – С. 37–70.
26. Симонов А.М., Белоус А.А., Анисимова В.А., Ивановская С.В. Производные имидазо (1, 2-а)бензимидазола и их противоритмическая активность // Химико-фармакол. журн. – 1990. – №3. – С. 7–10.
27. Смирнов А.В. Фармакологические средства повышения работоспособности. – Л.: Изд-во Воен.-мед. академии им. А.В. Кирова. – 1984. – С. 31–35.
28. Спасов А.А., Иёжица И.Н., Бугаева Л.И., Анисимова В.А. Спектр фармакологической активности и токсикологические свойства производных бензимидазола (обзор) // Хим.-фармацевт. журн. – 1999. – **33**, №5. – С. 6–17.
29. Шаймарданова Г.С., Камбург Р.А., Евстигнеева Р.П., Сергеева Н.В. Имидазол и его производные как биологически активные вещества // Там же. – 1992. – №3. – С. 31–37.
30. Hobrecker F. Benzimidazole derivatives // Ber. Dtsch. Chem. Ges. – 1872. – **5**. – P. 920–924.
31. Hodgkin D., Pickworth J., Robertson S. et al. Nature. – 1955. – № 176 (4477). – P. 325–328.
32. Maryanoff B.E., Ho W., McComsey D. et al. The benzimidazoles activated GABA-receptors // J. Med. Chem. – 1995. – **1**, №38. – P. 16–20.