

УДК 616-001.8:615.35

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2025.1.4 EDN: CPKOJE

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ДВУХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА

© Крылова И.Б., Селина Е.Н., Любимов А.В., Воейков А.И., Шабанов П.Д.

*Институт экспериментальной медицины, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12**Резюме*

Цель. Сравнение антигипоксических эффектов 2-этилтиобензимидазола гидробромида и 2-этилтиобензимидазола сукцината в моделях нормобарической гипоксии у мышей.

Методика. Мыши были рандомизированы на 3 группы (n=10-12 мышей в каждой), которых подвергали нормобарической гипоксии: 1 – контроль (гипоксия), 2 – гипоксия + 2-этилтиобензимидазола гидробромид 100 мг/кг и 3 – гипоксия + 2-этилтиобензимидазола сукцинат 100 мг/кг за 1 ч до гипоксии. Острую нормобарическую гипоксию создавали у мышей с помощью герметичной газовой камеры для лабораторных исследований (КГЭЛ-1) производства ООО «НИИ ГЕРОПРО», Санкт-Петербург, Россия. Камера позволяет моделировать гипоксию, изменяя концентрацию кислорода в газовой смеси с 21% до 2% путём вытеснения его азотом.

Результаты. Оба соединения в модели острой нормобарической гипоксии проявили антигипоксический эффект по всем исследуемым параметрам, причем данный эффект был сопоставимым. Так, продолжительность жизни мышей после внутрибрюшинного введения 2-этилтиобензимидазола гидробромида увеличивалась на 58%, а после 2-этилтиобензимидазола сукцината – на 46%, статистических различий между этими значениями не отмечали. Время жизни при критических концентрациях кислорода (6-2 об%) в этих группах соответственно увеличивалась на 135% и 108%. Пороговая концентрация кислорода, при которой выживали мыши, снижалась с 4,56±0,16 об% в контроле до 2,97±0,30 об% после введения гидробромидной соли и до 3,23±0,26 об% – сукцинатной соли 2-этилтиобензимидазола. Наконец, оценка устойчивости к гипоксии в баллах менялась с 4,0±0,5 в контроле до 9,5±0,8 и 8,8±0,7 баллов после введения соответственно гидробромидной и сукцинатной солей 2-этилтиобензимидазола.

Заключение. 2-Этилтиобензимидазола гидробромид и сукцинат оказывают сходный по направленности и величине антигипоксический эффект в модели нормобарической гипоксии у мышей. Степень защиты мышей от острой нормобарической гипоксии составляет 46-135%, что характерно и для других антигипоксантов (амтизол, гипоксен).

Ключевые слова: нормобарическая гипоксия, антигипоксанты, 2-этилтиобензимидазол, сукцинат, гидробромид, мыши

COMPARATIVE STUDY OF ANTIHYPOXIC EFFECTS OF TWO THIOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES
Krylova I.B., Selina E.N., Lyubimov A.V., Shabanov P.D.*Institute of Experimental Medicine, 12, Acad. Pavlov St., 197022, St. Petersburg, Russia**Abstract*

Objective. The most well-known compound of thiobenzimidazole derivatives is 2-ethylthiobenzimidazole, produced by the domestic industry under the name metaprot. 2-ethylthiobenzimidazole is positioned as an actoprotector and antihypoxant and chemically is a hydrobromide salt of 2-ethylthiobenzimidazole.

Objective. To compare the antihypoxic effects of 2-ethylthiobenzimidazole hydrobromide and 2-ethylthiobenzimidazole succinate in models of normobaric hypoxia in mice.

Methods. Mice were randomized into 3 groups (n=10-12 mice each) that were subjected to normobaric hypoxia: 1 – control (hypoxia), 2 – hypoxia + 2-ethylthiobenzimidazole hydrobromide 100 mg/kg, and 3 – hypoxia + 2-ethylthiobenzimidazole succinate 100 mg/kg 1 h before hypoxia. Acute normobaric hypoxia was created in mice using a hermetically sealed gas chamber for laboratory research (KGEL-1) manufactured by GEROPRO Research Institute, St. Petersburg, Russia. The chamber allows modeling

hypoxia by changing the oxygen concentration in the gas mixture from 21% to 2% by displacing it with nitrogen.

Results. Both compounds in the acute normobaric hypoxia model showed an antihypoxic effect for all studied parameters, and this effect was comparable. Thus, the life span of mice after intraperitoneal administration of 2-ethylthiobenzimidazole hydrobromide increased by 58%, and after 2-ethylthiobenzimidazole succinate – by 46%, statistical differences between these values were not noted. The life span at critical oxygen concentrations (6-2 vol%) in these groups increased by 135% and 108%, respectively. The threshold oxygen concentration at which mice survived decreased from 4.56 ± 0.16 vol% in the control to 2.97 ± 0.30 vol% after administration of the hydrobromide salt and to 3.23 ± 0.26 vol% – of the succinate salt of 2-ethylthiobenzimidazole. Finally, the hypoxia resistance score changed from 4.0 ± 0.5 in the control to 9.5 ± 0.8 and 8.8 ± 0.7 points after the administration of 2-ethylthiobenzimidazole hydrobromide and succinate salts, respectively.

Conclusion. 2-Ethylthiobenzimidazole hydrobromide and succinate have an antihypoxic effect similar in direction and magnitude in the normobaric hypoxia model in mice. The degree of protection of mice from acute normobaric hypoxia is 46-135%, which is also typical for other antihypoxants (amtizole, hypoxen).

Keywords: normobaric hypoxia, antihypoxants, 2-ethylthiobenzimidazole, succinate, hydrobromide, mice

Введение

Наиболее известным соединением из производных тиобензимидазола является 2-этилтиобензимидазол, выпускаемый отечественной промышленностью под названием метапрот. 2-этилтиобензимидазол позиционируется как актопротектор и антигипоксикант и химически представляет собой гидробромидную соль 2-этилтиобензимидазола. Показано, что 2-этилтиобензимидазола гидробромид обладает свойствами существенно повышать физическую работоспособность у человека и животных, а также защищать организм от действия факторов внешней среды, таких как кислородное голодание, повышение и понижение температуры, травматическое и стрессовое воздействие и т.д. [3, 5, 6]. Данный препарат широко используется и в фармакологии здорового человека, в основном в условиях чрезвычайных ситуаций и в спорте [5, 7]. Недостатком 2-этилтиобензимидазола гидробромид в спортивной медицине является его сопутствующий, хотя незначительно выраженный тормозный эффект на поведение, по-видимому, за счет молекулы брома, что ограничивает применение препарата в спортивной медицине, и препарат назначают в основном только в период восстановительных тренировок у спортсменов. С целью устранения данного негативного влияния предложен 2-этилтиобензимидазола сукцинат, который предположительно не должен обладать тормозными эффектами, присущими гидробромидной соли 2-этилтиобензимидазола. Однако, прежде всего, нужно доказать, что обе соли 2-этилтиобензимидазола обладают сходными защитными фармакологическими эффектами.

Цель исследования – сравнение антигипоксических эффектов 2-этилтиобензимидазола гидробромид и 2-этилтиобензимидазола сукцината в моделях нормобарической гипоксии у мышей.

Методика

Опыты выполнены на белых беспородных мышах-самцах массой 20-22 г. Животные были рандомизированы на 3 группы по 10-12 мышей в каждой, которых подвергали нормобарической гипоксии: 1 – контроль (гипоксия), 2 – гипоксия + 2-этилтиобензимидазола гидробромид и 3 – гипоксия + 2-этилтиобензимидазола сукцинат. Исследуемые соединения растворяли в физиологическом растворе с добавлением твина-80 и вводили однократно внутривентриально в дозе 100 мг/кг за час до гипоксического воздействия. Дозы соединений выбраны на основе описанных максимальных антигипоксических эффектов 2-этилтиобензимидазола [6, 7]. Контрольным животным вводили равный объем растворителя.

Острую нормобарическую гипоксию (ОНГ) создавали у мышей с помощью герметичной газовой камеры для лабораторных исследований (КГЭЛ-1) в комплекте с блоком автоматического контроля, управления и поддержания состава гипоксической среды в камере (БК ГС «Дупломини») производства ООО «НИИ ГЕРОПРО», Санкт-Петербург, Россия. Камера позволяет моделировать острую нормобарическую гипоксию, изменяя концентрацию кислорода в газовой смеси с 21% до 2% путем вытеснения его азотом с помощью БК ГС. Используя пробу

нарастающей гипоксии, автоматически уменьшали концентрацию кислорода в камере сначала постепенно с 21% до 6%, а затем ступенчато с 6% до 3%, снижая концентрацию кислорода на 1% на последующей площадке. На каждой «площадке» животных подвергали гипоксическому воздействию в течение 5 минут (300 секунд).

В гипоксическую камеру помещали одновременно мышей контрольной и опытных групп. Антигипоксическую активность препаратов оценивали, основываясь на существующих методических рекомендациях [1] и опыте собственных исследований [4], по следующим параметрам: 1) продолжительность жизни – время от помещения животного в камеру до момента его гибели; 2) продолжительность жизни при критических концентрациях кислорода – время от начала пребывания на площадке 6% O₂ до гибели животного; 3) выживаемость мышей при различных концентрациях кислорода; 4) пороговая концентрация кислорода (ПКК) – концентрация кислорода, при которой наступала гибель животного, последнюю высчитывали по формуле: $ПКК = A - (B/300)$, где: А – концентрация O₂ площадки, на которой зафиксировано агональное дыхание животного; В – продолжительность жизни животного на площадке; 300 – длительность нахождения животного на площадке в секундах; 5) устойчивость к гипоксии по критерию ПКК, выраженная в баллах путем присвоения 1 балла каждому временному промежутку пребывания на площадке длительностью 100 секунд (табл. 1).

Таблица 1. Бальная оценка устойчивости к гипоксии по критерию пороговой концентрации кислорода

| Концентрация кислорода на площадке, % | Продолжительность жизни на площадке, с | | |
|---------------------------------------|--|-----|-----|
| | 100 | 200 | 300 |
| 6 | 1 | 2 | 3 |
| 5 | 4 | 5 | 6 |
| 4 | 7 | 8 | 9 |
| 3 | 10 | 11 | 12 |
| 2 | 13 | 14 | 15 |

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 6. Сравнение экспериментальных групп выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и t-критерия Стьюдента. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки ($M \pm SEM$).

Результаты исследований и их обсуждение

Полученные данные показывают (табл. 2), что оба соединения в модели острой нормобарической гипоксии проявили антигипоксический эффект по всем исследуемым параметрам, причем данный эффект был сопоставимым.

Таблица 2. Показатели сравнения антигипоксических эффектов 2-этилтиобензимидазола гидробромида и 2-этилтиобензимидазола сукцината (100 мг/кг) при острой нормобарической гипоксии у мышей

| Показатель | Контроль (гипоксия) | 2-этилтиобензимидазола гидробромид | 2-этилтиобензимидазола сукцинат |
|--|---------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Продолжительность жизни мышей, с | 1142±65 | 1807±131** (158±12%) | 1671±102* (146±9%) |
| Время жизни при критических концентрациях кислорода (6-2 об%), с | 492±65 | 1157±131** (235±27%) | 1021±102* (208±21%) |
| Пороговая концентрация кислорода, об% | 4,56±0,16 | 2,97±0,30** (65±7%) | 3,23±0,26** (71±6%) |
| Оценка устойчивости к гипоксии, баллы | 4,0±0,5 | 9,5±0,8*** (238±20%) | 8,8±0,7** (220±18%) |

Примечание: в скобках представлен % изменений к контрольным значениям. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ по отношению к группе контроля

Так, продолжительность жизни мышей после внутрибрюшинного введения 2-этилтиобензимидазола гидробромида увеличивалась на 58%, а после 2-этилтиобензимидазола сукцината – на 46%, статистических различий между этими значениями не отмечали. Время жизни при критических концентрациях кислорода (6-2 об%) в этих группах соответственно увеличивалась на 135% и 108%.

Пороговая концентрация кислорода, при которой выживали мыши, снижалась с $4,56 \pm 0,16$ об% в контроле до $2,97 \pm 0,30$ об% после введения гидробромидной соли и до $3,23 \pm 0,26$ об% – сукцинатной соли 2-этилтиобензимидазола. Наконец, оценка устойчивости к гипоксии в баллах менялась с $4,0 \pm 0,5$ в контроле до $9,5 \pm 0,8$ и $8,8 \pm 0,7$ баллов после введения соответственно гидробромидной и сукцинатной солей 2-этилтиобензимидазола. Подтверждением этой закономерности стали показатели выживаемости мышей на площадках с различной концентрацией кислорода (табл. 3).

Таблица 3. Выживаемость мышей (%) на площадках с различной концентрацией кислорода в модели острой нормобарической гипоксии

| Концентрация O ₂ , об% | Контроль (гипоксия) | 2-этилтиобензимидазола гидробромид | 2-этилтиобензимидазола сукцинат |
|-----------------------------------|---------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| 6 | 80 | 100 | 100 |
| 5 | 0 | 100 | 100 |
| 4 | 0 | 67 | 50 |
| 3 | 0 | 17 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 |

Таким образом, сравнение антигипоксической активности двух солей 2-этилтиобензимидазола (гидробромидной и сукцинатной) показало, что обе они проявляют таковую в модели острой нормобарической гипоксии на мышах. Степень защиты от гипоксии при разных вариантах подсчета колеблется в пределах +46-135%. 2-Этилтиобензимидазола гидробромид выглядит несколько активнее, чем 2-этилтиобензимидазола сукцинат, хотя статистических различий между этими солями ни по одному показателю не получено.

Ценность данных исследований связана, прежде всего, с возможностью оценки не только разных солей 2-этилтиобензимидазола, но с использованием сукцината как компонента химического соединения. В растворе оба соединения диссоциируют с выделением анионов брома (Br⁻) и сукцината, с которыми также можно связать их основное антигипоксическое действие. Известно, что сукцинат-анион может активировать рецепторы SUCNR1, расположенные на внешней поверхности мембран клеток [2, 5].

Долгое время предполагали, что действие сукцината связано с включением янтарной кислоты в цикл Кребса в качестве одного из активных интермедиатов, однако проникновение сукцината через несколько мембран из крови в митохондрию не доказано, тем более маловероятно, что сукцинат-анион может включаться в цикл трикарбоновых кислот [8, 10]. Однако и для активации SUCNR1 также нужна достаточно высокая концентрация янтарной кислоты. Если бы этот механизм срабатывал, то, по логике вещей, антигипоксическое действие 2-этилтиобензимидазола сукцината было бы больше, чем у гидробромида соединения. Но это не так. Действие у них приблизительно равное, даже у 2-этилтиобензимидазола гидробромида по всем исследованным показателям немного выше, чем у сукцинатного соединения. Значит, антигипоксический эффект обеих солей связан в первую очередь с самой молекулой 2-этилтиобензимидазола.

Для самого соединения доказан механизм действия, который связан с его способностью оптимизировать энергетический обмен в условиях гипоксии, прежде всего, за счет активации глюконеогенеза, альтернативного пути образования глюкозы из недоокисленных продуктов, важного при кислородном голодании [2, 7, 9]. Поэтому на основании полученных данных можно констатировать, что обе соли 2-этилтиобензимидазола (гидробромидная и сукцинатная) оказывают сходный по направленности и величине антигипоксический эффект, характерный для серосодержащих соединений.

Выводы

1. 2-Этилтиобензимидазола гидробромид и сукцинат оказывают сходный по направленности и величине антигипоксический эффект в модели нормобарической гипоксии у мышей.
2. Степень защиты мышей от острой нормобарической гипоксии составляет 46-135%, что характерно и для других антигипоксантов (амтизол, гипоксен).

Источник финансирования

Государственное задание по теме НИР FGWG-2025-0020 «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддитивных и нейроэндокринных нарушениях с целью создания новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

Литература (references)

1. Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств: Методические рекомендации. ФМБА России MR.21.44-2017. – М., 2017 [*Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv: Metodicheskie rekomendacii. FMBA Rossii MR.21.44-2017*. Biomedical (preclinical) study of antihypoxic activity of drugs: Methodological recommendations. FMBA of Russia MR.21.44-2017. – Moscow, 2017 (in Russian)]
2. Воробьева В.В., Левченкова О.С., Ленская К.В. Роль биоэнергетической гипоксии в морфологической трансформации миокарда при вибрационной болезни // *Психофармакология и биологическая наркология*. – 2024. – Т.15, №1. – С. 69-78. [Vorobyova VV, Levchenkova OS, Lenskaya KV. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2024. – V.15, N1. – P. 69-78 (in Russian)]
3. Евсеев А.В., Мосин О.А., Евсеева М.А. и др. Противогипоксический эффект алмидсодержащих металлокомплексных соединений в эксперименте // *Психофармакология и биологическая наркология*. – 2024. – Т.15, №1. – С. 53-60 [Evseev A.V., Mosin O.A., Evseeva M.A. i dr. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2024. – V.15, N1. – P. 53-60. (in Russian)]
4. Каширин А.О., Крылова И.Б., Селина Е.Н. и др. Антигипоксическое действие новых синтетических производных 7-алкоксикумарина и 4-аминокумарина при острой гипобарической гипоксии у крыс // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2021. – Т.19, №4. – С. 413-420. [Kashirin A.O., Krylova I.B., Selina E.N. i dr. *Ozory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2021. – V.19, N4. – P.413-420. (in Russian)]
5. Ким А.Е., Шустов Е.Б., Ганапольский В.П. Патогенетические и фармакодинамические особенности применения производных янтарной кислоты при различных заболеваниях сердечно-сосудистой и нервной систем // *Психофармакология и биологическая наркология*. – 2024. – Т.15, №1. – С. 7-22. [Kim A.E., Shustov E.B., Ganapolsky V.P. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2024. – V.15, N1. – P. 7-22. (in Russian)]
6. Кожурин М.В., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Антиоксидантные эффекты 2-этилтиобензимидазола и комплекса солей янтарной кислоты у предварительно тренированных к гипоксии крыс при остром кислородном голодании // *Психофармакология и биологическая наркология*. – 2024. – Т.15, №3. – С. 179-188. [Kozhurin M.V., Zarubina I.V., Shabanov P.D. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and Biological Narcology. – 2024. – V.15, N3. – P. 179-188. (in Russian)]
7. Шабанов П.Д., Кожурин М.В., Зарубина И.В. Антигипоксические эффекты 2-этилтиобензимидазола и комплекса солей янтарной кислоты у предварительно тренированных к гипоксии крыс при остром кислородном голодании // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2024. – Т.23, №3. – С. 23-32. [Shabanov P.D., Kozhurin M.V., Zarubina I.V. *Vestnik Smolenskoi gosudarstvennoi meditsinskoi akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2024. – V.23, N3. – P. 23-32. (in Russian)]
8. Nagendran J., Michelakis E.D. Mitochondrial NOS is upregulated in the hypoxic heart: implications for the function of the hypertrophied right ventricle // *American Journal of Physiology*. – 2009. – V.296, N6. – P. 1723-1726.
9. Rybnikova E., Samoilo M. Current insights into the molecular mechanisms of hypoxic pre and postconditioning using hypobaric hypoxia // *Frontiers in Neuroscience*. – 2015. – V.9. – P. 388-399.
10. Tanaka T., Kai S., Koyama T. et al. General anesthetics inhibit erythropoietin induction under hypoxic conditions in the mouse brain // *PLoS One*. – 2011. – V.6, N12. – P. e29378.

Информация об авторах

Крылова Ирина Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимической фармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: irinakrylova@mail.ru

Селина Елена Николаевна – научный сотрудник лаборатории биохимической фармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: selina.elena@mail.ru

Любимов Андрей Владимирович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории биохимической фармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: lyubimov_av@mail.ru

Воейков Александр Иванович – аспирант лаборатории биохимической фармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: alexandriv95@gmail.com

Шабанов Петр Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией биохимической фармакологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: pdshabanov@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.01.2025

Принята к печати 20.03.2025