

Ю. А. Медведев (д.м.н., проф., с.н.с.)¹, Г. Е. Чикишева (к.т.н., доц., зам. зав. лаб.)¹,
О. Р. Мухамадеева (к.м.н., доц.)²

ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИГИДРАТА ГИДРОХЛОРИДА И САЛИЦИЛАТА МЕТИЛОВОГО ЭФИРА 2-БЕНЗИМИДАЗОЛИЛКАРБАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПАТОГЕННЫЕ АНТРОПОФИЛЬНЫЕ И АНТРОПОЗООФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ

¹ Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с
опытно-экспериментальным производством Академии наук Республики Башкортостан,
лаборатория сульфонилмочевинных препаратов

450029, г. Уфа, ул. Ульяновых, 65; тел. (347)2428352, e-mail: g.e.chik@eandex.ru

² Башкирский государственный медицинский университет
450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Yu. A. Medvedev¹, G. E. Chikisheva¹, O. R. Mukhamadeeva²

FUNGYCIDAL ACTION OF DIHYDRATE OF HYDROCHLORIDE AND SALICYLATE OF 2-BENZIMIDAZOLE CARBAMIC ACID METHYL ESTERS TO THE PATHOGENIC ANTROPOPHILIC AND ANTROPOZOOPHYLIC FUNGI

¹ Research Technological Institute of Herbicides and Plant Growth Regulators
Bashkortostan Republic Academy of Sciences

65, Ulyanovyykh Str, 450029, Ufa, Russia; ph. (347)2428352, e-mail: g.e.chik@eandex.ru

² Bashkir State Medical University
3, Lenina Str., 450000, Ufa, Russia

Показано, что метиловый эфир 2-бензимидазолилкарбаминовой кислоты (БМК, карбендазим) и его производные – салицилат и дигидрат гидрохлорида БМК, способны оказывать антифунгальное действие на антропо- и зоопатогенные грибы – плесневые и дрожжеподобные возбудители «оппортунистических» микозов и дерматофитий. При этом салицилат и дигидрат гидрохлорида БМК превосходят по антифунгальной активности БМК в 1.5–5 раз.

Ключевые слова: антифунгальная активность; антропо- и зоопатогенные микроскопические грибы; дигидрат гидрохлорида метилового эфира 2-бензимидазолилкарбаминовой кислоты; салицилат метилового эфира 2-бензимидазолилкарбаминовой кислоты.

Важное место в борьбе с микозами и другими заболеваниями, связанными с микроскопическими грибами, отводится поиску и всестороннему исследованию веществ и соединений, способных оказывать на микроскопичес-

It is shown that the 2-benzimidazolecarbamic acid methyl ester (BMK, carbendzim) and its derivatives – BMK salicylate, BMK dihydrate hydrochloride, is possible to show the antifungal activity not only on to phytopathogenic, but and anthropo- and zooanthropopathogenic fungi – mould and yeast agents of opportunistic mycosis and dermatophytes. Besides the antifungal activity of derivatives surpass its a BMK in 1.5–5 times.

Key words: antifungal activity; anthropo- and zooanthropopathogenic fungi; 2-benzimidazolecarbamic acid methyl ester and its derivatives.

кие грибы то или иное биологические действие, в том числе антифунгальное, в различных условиях и вариантах их применений^{1,2}. Антифунгальные препараты и средства могут быть предназначены не только для защиты сельскохозяйственных и промышленных растений, но и для лечения и профилактики микро-

Дата поступления 09.06.18

тических заболеваний людей и животных в медицине и ветеринарии^{3,4}. При этом поиск тех и других является, как правило, предметом самостоятельных, не взаимосвязанных разработок. По этой причине степень универсальности антифунгального действия препаратов и средств в отношении как растений, так и животных или людей, до настоящего времени мало прояснена. С этой точки зрения остается недооцененным известный системный фунгицид – метиловый эфир 2-бензимидазолкарбаминовой кислоты (БМК, карбендазим), который благодаря низкой токсичности используется даже в качестве антигельминтика (медамин)^{5,6}. БМК легко образует соли и комплексы с металлами переменной валентности, которые также обладают значительной фунгицидной активностью^{7–9}.

В литературе имеются данные о фунгицидной активности различных солей БМК, причем наибольший интерес, с нашей точки зрения, представляют дигидрат гидрохлорида БМК (БМК·НСl·2Н₂O) и салицилат БМК (БМК·СК)^{10,11}.

Салициловая кислота, входящая в состав салицилата БМК, была первым препаратом, оказывающим специфическое противовоспалительное действие. В настоящее время она широко применяется при лечении различных кожных заболеваний. Совместно с борной кислотой салициловая входит в состав присыпок, применяемых при повышенной потливости ног и экземе: так, 1–2%-ный спиртовой раствор салициловой кислоты применяется для протирания кожи при себорее, 5–10 % салициловый спирт – для протирания кожи при отрубевидном лишае (пityриазе) здоровых участков кожи вокруг гнойничковой сыпи, а 2%-ная салициловая мазь используется при лечении хронических кожных заболеваний (например, псориаза). Салициловая кислота входит в состав некоторых готовых препаратов сложного состава для наружного применения. Препараты, содержащие салициловую кислоту в высокой концентрации, ввиду их кератолитического действия применяются для размягчения и удаления мозолей^{2,12}. С учетом этих фактов исследование антифунгального действия салицилата БМК в отношении антропопатогенных грибов, представляет несомненный интерес.

Материалы и методы исследования

В исследовании использованы препараты БМК и его производные – гидрохлорид и салицилат.

Салицилат БМК (БМК·СК) получали по ранее описанной методике^{10,11}.

Дигидрат гидрохлорида БМК синтезировали и анализировали как описано^{13,14}.

Фунгицидная активность проверялась путем учета полной задержки роста – минимальной подавляющей концентрации (МПК) в отношении тест-культур грибов на плотной питательной среде Сабуро (селективная), содержащей исследуемые препараты. При проведении исследования порошкообразные препараты предварительно растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), 1 мл раствора БМК или его производных в ДМСО вносили в 100 мл среды (до конечных концентраций веществ 0.1–10.0 мг/мл), разливали по 20 мл в чашки Петри и равномерно перемешивали вплоть до «застывания» среды. Затем на среды с препаратами и контрольные среды (среды без добавления веществ с растворителем – 1% ДМСО) высевали тест-культуры грибов и инкубировали при 28 °С в течение 40 дней. Результаты регистрировали ежедневно визуально по наличию роста типичных колоний грибов^{15,16}.

Для определения фунгицидной активности соединения в отношении фитопатогенных почвообитающих грибов, вызывающих заболевания растений, использованы тест-культуры фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum* и *Alternaria alternata*. При этом следует отметить, что среди фитопатогенных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria* имеются отдельные представители, обладающие зоо- и антропопатогенными свойствами, способные вызывать оппортунистические микозы и микотоксикозы^{15,16}.

В качестве тест-объектов для оценки антифунгального действия в отношении антропо- и зоопатогенных грибов использовали культуры клинических (выделенных из патологического материала больных и лабораторно идентифицированных) штаммов грибов: возбудителей «оппортунистических инфекций» – условно-патогенных плесневых грибов *Penicillium notatum* и *Aspergillus niger*, дрожжеподобных грибов *Candida albicans* и «первично-патогенных» грибов – возбудителей дерматофитий: дерматофитов антропофильных возбудителей микозов стоп и кистей *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale* и *Trichophyton rubrum*, возбудителей зооантропонозных трихофитии и микроспории – *Trichophyton mentagrophytes var. gypsum (seu granulorum)* и *Microsporum canis*.

Определение МПК изученных соединений в отношении всех тест-культур грибов проводилось не менее, чем трехкратно.

Биологическая активность метилового эфира 2-бензимидазолилкарбаминовой кислоты (БМК), салициловой кислоты (СК) и их производных в отношении фитопатогенных (ФП) и антропо-зоопатогенных грибов: возбудителей «оппортунистических» микозов и дерматофитий – антропонозных (ДА) и зоантропонозных (ДЗ)

Виды тест-культур штаммов грибов		Минимально подавляющая концентрация, (мг/мл)			
		БМК	БМК·НСl·2H ₂ O	БМК·СК	СК
ФП	<i>Alternaria alternata</i>	4-5	2-3	1 - 2	120
	<i>Fusarium graminearum</i>	2-3	1-2	1 - 2	120
	<i>Candida albicans</i>	0.4-0.5	0.2-0.3	0.1 - 0.5	10
	<i>Aspergillus niger</i>	4-5	2-3	1 - 2	80
	<i>Penicillium notatum</i>	2-3	0.5-1	1 - 2	120
ДА	<i>Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale</i>	0.2-0.3	0.1	0.1 - 0.5	120
	<i>Trichophyton rubrum</i>	0.2	0.1	0.1 - 0.5	120
ДЗ	<i>Microsporum canis</i>	0.3-0.5	0.1	0.1 - 0.5	120
	<i>Trichophyton mentagrophytes var. granulosum</i>	0.3-0.5	0.1	0.1 - 0.5	120

Результаты и обсуждение

При изучении антифунгальной активности БМК и его производных было установлено, что исследованные соединения проявляют антифунгальные свойства как при воздействии на фитопатогенные грибы, так и в отношении возбудителей микозов, поражающих людей и/или животных (табл. 1).

Как видно из табл. 1, салицилат БМК и гидрохлорид БМК превосходят фунгицидную активность исходных компонентов: БМК примерно в 1,5–5 раза, а салициловой кислоты – более чем в 500–800 раз. БМК и исследованные нами его производные способны проявлять антифунгальные свойства в отношении зоантропопатогенных грибов – возбудителей

микозов. Следует отметить, что их активность в отношении исследуемых зоопатогенных грибов и представителя дрожжеподобных грибов, возбудителя кандидоза (*Candida albicans*), на порядок выше в сравнении с другими исследуемыми фитопатогенными грибами, *Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*.

Результаты исследования антифунгально-го действия салицилата БМК в отношении антропопатогенных грибов, представляет несомненный интерес. Особенно важным является возможность сочетания антифунгального и кератинолитического эффектов соединения, актуальных в плане лечения гиперкератотических клинических форм дерматофитий и оппортунистических микотических инфекций.

Литература

1. Гарибова Л.В., Лекомцев С.Н. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2005. – 220 с.
2. Степанова Ж.В. Грибковые заболевания. – М.: Миклом, 2005. – 124 с.
3. Дьяков Ю.Т. Ботаника: Курс альгологии и микологии. – М.: МГУ, 2007. – 559 с.
4. Леонтьев Д.В., Акулов О.Ю. Загальна мікологія: Підручник для вищих навчальних закладів. – Харків: «Основа», 2007. – С.192-206.
5. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. – М.: Химия, 1987. – 365 с.
6. Пилугин В.С. Азотосодержащие гетероциклические соединения. Синтез и биологическая активность производных 2-аминобензимидазола и 1,3,5-симм-триазины. – Уфа: Гилем, 2008. – 372 с.
7. Патент №2546041 РФ. Антифунгальное средство на основе метилового эфира 2-бензимидазолилкарбаминовой кислоты и его производных / Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А., Колбин А.М. // Б. И. – 2015. – №10.

References

1. Garibova L.V., Lekomtsev S.N. *Osnovy mikologii: Morfologiya i sistematika gribov i gribopodobnykh organ izmov* [Fundamentals of Mycology: Morphology and systematic of fungi and fungi-like organisms]. Moscow, T-vo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2005, 220 p.
2. Stepanova Zh.V. *Gribovye zabolevaniya* [Fungal diseases]. Moscow, Miklom Publ, 2005, 124 p.
3. D'yakov Yu.T. *Botanika: Kurs al'gologii i mikologii* [Botany: Course of Algology and Mycology]. Moscow, Moscow State University Publ., 2007, 559 p.
4. Leont'ev D.V., Akulov O.Yu. *Zagal'na mikologiya: Pidruchnik dlya vishchikh navchal'nikh zakladiv* [General Mycology: Textbook for higher education institutions]. Kharkov, Osnova Publ., 2007, pp.192-206.
5. Mel'nikov N.N. *Pestitsidy. Khimiya, tekhnologiya i primeneniye* [Pesticides. Chemistry, technology and application]. Moscow, Khimiya Publ., 1987, 365 p.
6. Pilyugin V.S. *Azotosoderzhashchie geterotsiklicheskie soedineniya. Sintez i biologicheskaya aktivnost' proizvodnykh 2-aminobenzimidazola*

8. Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А., Колбин А.М., Мухамадеева О.Р. Сравнительная антифунгальная активность некоторых производных метилового эфира 2-бензимидазолкарбамино-вой кислоты в отношении антропо-зоопатогенных грибов // Успехи медицинской микологии. – 2014. – Т.12. – С.380-383.
9. Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А. Колбин А.М. Фунгицидное действие производных 2-бензимидазолкарбамино-вой кислоты с некоторыми солями мочевины в отношении фитопатогенных антропозоопатогенных грибов // Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т.16. – С.122-124.
10. Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А. Сапожников Ю.Е., Колбин А.М. Сравнительная антифунгальная активность некоторых производных метилового эфира 2-бензимидазолкарбамино-вой кислоты в отношении фитопатогенных и антропо-зоопатогенных грибов // Баш. хим. ж. – 2013. – Т.20, №3. – С.108-111.
11. Чикишева Г.Е., Сапожников Ю.Е., Мударисова Р.Х., Буслаяева Л.И., Земченкова Г.К. Получение солей метилового эфира 2-бензимидазолкарбамино-вой кислоты с замещенными бензойными кислотами и изучение их фунгицидной активности. // Баш. хим. ж. – 2016. – Т.23, №2. – С.26-31.
12. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Изд-во Новая волна, 2002. – Т.2. – 608 с.
13. Уильямс У.Дж. Определение анионов: Справочник. Перевод с английского. – М.: Химия, 1982. – 624 с.
14. Machatha S.G., Sanghvi T., Yalkowsky S.H. Structure determination and characterization of carbendazim hydrochloride dihydrate. // AAPS Pharm.Sci.Tech. – 2005. – V.6, №1. – Pp.E115-119.
15. Кашкин П.Н., Лисин В.В. Практическое руководство по медицинской микологии. – Л.: Медицина, 1983. – 190 с.
16. Сбойчиков В.Б. Медицинская микология. – М.: Гэотар-медиа, 2008. – 208 с.
7. Chikisheva G.E., Medvedev Yu.A., Kolbin A.M. *Antifungal'noe sredstvo na osnove metilovogo efira 2-benzimidazolilkarbaminovoy kisloty i ego proizvodnykh* [Antifungal agent based on methyl ester 2-benzimidazolecarbamic acid and its derivatives]. Patent RF, no. 2546041, 2013.
8. Chikisheva G.E., Medvedev Yu.A., Kolbin A.M., Mukhamadeeva O.R. *Sravnitel'naya antifungal'naya aktivnost' nekotorykh proizvodnykh metilovogo efira 2-benzimidazolilkarbaminovoy kisloty v otnoshenii antropo-zoopatogennykh gribov* [Comparative antifungal activity of some derivatives of methyl 2-benzimidazolecarbamic acid methyl ester against anthro-po-zoopathogenic fungi]. *Uspekhi meditsinskoy mikologii* [Successes of medical mycology]. 2014, vol.12, pp.380-383.
9. Chikisheva GE, Medvedev Yu.A., Kolbin A.M. *Fungitsidnoe deystvie proizvodnykh 2-benzimidazolilkarbaminovoy kisloty s nekotorymi solyami mocheviny v otnoshenii fitopatogennykh i antropozoopatogennykh gribov* [Fungicidal action of 2-benzimidazolecarbamic acid derivatives with some urea salts against phytopathogenic and anthropozoopathogenic fungi]. *Uspekhi meditsinskoy mikologii* [Successes of medical mycology], 2016, vol.16, pp.122-124.
10. Chikisheva G.E., Medvedev Yu.A. Sapozhnikov Yu.E., Kolbin A.M. *Sravnitel'naya antifungal'naya aktivnost' nekotorykh proizvodnykh metilovogo efira 2-benzimidazolilkarbaminovoy kisloty v otnoshenii fitopatogennykh i antropozoopatogennykh gribov* [Comparative antifungal activity of some derivatives of methyl 2-benzimidazolecarbamic acid methyl ester in relation to phytopathogenic and anthropozoopathogenic fungi]. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2013, vol.20, no.3, pp.108-111.
11. Chikisheva G.E., Sapozhnikov Yu.E., Mudariso-va R.Kh., Buslayeva L.I., Zemchenkova G.K. *Polucheniye soley metilovogo efira 2-benzimidazolilkarbaminovoy kisloty s zameshchennymi benzoynymi kislotami i izucheniye ikh funkci-sidnoy aktivnosti* [Preparation of methyl ester of 2-benzimidazolecarbamate salts with substituted benzoic acids and investigation of their fungicidal activity] *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2016, vol.23, no.2, pp.26-31.
12. Mashkovskiy M.D. *Lekarstvennyye sredstva* [Medicinal products]. Moscow, Novaya volna Publ, 2002, vol.2, 608 p.
13. Williams W.J. [Handbook of Anion Determination]. Butterworths, 1979, 630 p.
14. Machatha S.G., Sanghvi T., Yalkowsky S.H. [Structure determination and characterization of carbendazim hydrochloride dihydrate]. *AAPS Pharm.Sci.Tech.*, 2005, vol.6, no.1, pp.E115-119.
15. Kashkin P.N., Lisin V.V. *Prakticheskoye rukovodstvo po meditsinskoy mikologii* [Practical guide to medical Mycology]. Leningrad, Meditsina Publ, 1983, 190 p.
16. Sboychakov V. B. *Meditsinskaya mikologiya* [Medical Mycology]. Moscow, Geotar-media Publ., 2008, 208 p.