

УДК 574.24

DOI 10.34014/2227-1848-2023-2-181-194

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРЭСНОВОДНЫХ РАЧКОВ *CERIODAPHNIA DUBIA* RICHARD, 1894

Е.М. Фомичева, Л.И. Савина

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова»,
г. Ярославль, Россия

В последнее время в связи с активным развитием фармацевтической промышленности возникла острая проблема загрязнения окружающей среды синтетическими биологически активными соединениями. Одним из наиболее часто встречаемых фармакофоров в лекарственных средствах является бензимидазольный цикл. Содержащие его вещества уже в микроколичествах способны оказывать токсическое действие на живые системы. К тому же, являясь чужеродными для природы, они не включаются в метаболические процессы и долгое время не подвергаются разложению. Оценка токсичности производных бензимидазола, ее стабильности в водной среде, влияния бензимидазолов на биологические параметры позволит спрогнозировать возможные изменения популяционных показателей цериодафний и других гидробионтов.

*Цель работы – оценка токсичности производных бензимидазола и их влияния на выживаемость и плодовитость пресноводных рачков *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894.*

Материалы и методы. В острых и хронических экспериментах определены стандартные для токсикологических исследований показатели: медианные летальные концентрации (LC₅₀), продолжительность жизни рачков, общая численность потомства, число пометов на одну самку, среднее время отрождения молоди. Стабильность токсичности производных бензимидазола установлена по показателю летальности рачков на протяжении 30-суточной экспозиции.

Результаты. Проведена оценка токсичности бензимидазола и его семи производных для цериодафний по показателю медианной летальной концентрации за 48 ч в зависимости от их строения. Наибольшая токсичность отмечена для 2-(трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазола (LC₅₀ 2,4 мг/л), наименьшая – для 2-метил-1H-бензимидазола (LC₅₀ 109,7 мг/л). Показано, что длительное воздействие калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты (LC₅₀ 69,18 мг/л) на протяжении 38 сут экспозиции в концентрации 20 мг/л в хроническом эксперименте не приводит к статистически значимому изменению показателей выживаемости и плодовитости цериодафний. Выявлены низкие значения стабильности токсичности калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты и остаточной токсичности продуктов ее распада.

Выводы. Токсикологическая оценка производных бензимидазола показала зависимость степени их токсичности от особенностей строения.

Ключевые слова: бензимидазол, производные бензимидазола, токсичность, стабильность токсичности, цериодафнии, плодовитость, численность потомства.

Введение. Продукты фармацевтических предприятий являются широко встречаемыми в природе ксенобиотиками [1]. Они выпускаются десятками тысяч тонн и, попадая в окружающую среду, не разрушаются в течение длительного времени и нарушают процессы самоочищения почв и водоемов [2, 3]. Даже небольшие количества биологически активных веществ, с учетом их персистентности и комбинированного действия, могут приводить к существенным изменениям как на уровне популяции, так и на уровне биоценозов.

В состав многих лекарственных препаратов входят производные бензимидазола [4]. Это обусловлено широким спектром их биологической активности. Они находят применение в медицине, фармацевтике, ветеринарии, сельском хозяйстве [5–15]. Особенно часто соединения этого класса гетероциклов используются в качестве антимикробных средств. Появление резистентных к ним организмов вызывает необходимость синтеза их новых производных [16, 17].

Таким образом, существует необходимость в изучении влияния производных бензимидазола на жизненные функции организма, что позволит прогнозировать появление биологических и экологических рисков при попадании этих соединений в окружающую среду.

Цель исследования. Оценка токсичности производных бензимидазола и их влияния на выживаемость и плодовитость пресноводных рачков *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894.

Материалы и методы. Исследования проводили согласно стандартным методикам на синхронизированной культуре *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894. Культивирование и эксперименты на рачках выполняли в контролируемых условиях в климатостате при температуре воздуха +22...+24 °С с фотопериодом 16 ч освещения и 8 ч темноты.

В качестве токсикантов использовали 1Н-бензимидазол и его производные: 2-метил-1Н-бензимидазол, 2-(трифторметил)-1Н-бензимидазол, 5,6-диметил-1Н-бензимидазол, 5,6-диметил-7-нитро-1Н-бензимидазол, 2-(трифторметил)-5-бром-1Н-бензимидазол, 5,6-диметил-1Н-бензимидазол-7-амин, калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты. Из исследуемых соединений только калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты хорошо растворима в воде. Все остальные бензимидазолы растворялись в воде только в присутствии диметилсульфоксида (ДМСО). ДМСО, согласно литературным данным, относится к веществам, малотоксичным для животных. Однако есть данные об усилении токсичности растворимых веществ при его использовании [18]. Во всех сериях экспериментов по определению острой токсичности веществ использовали дополнительный контроль: отстоянная аэрированная вода + ДМСО. В дальнейших исследованиях хронического действия и стабильности токсичности применяли только калиевую соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты.

Определение острой и хронической токсичности производных бензимидазола проводили в соответствии со стандартной методикой (Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению

плодовитости цериодафний. Федеральный реестр (ФР). ФР.1.39.2007.03221. 2007). Для выявления острой токсичности проводили определение медианных летальных концентраций (LC_{50}) за 24 и 48 ч в зависимости от целей эксперимента. Использовали по три повторности для контрольной и опытной групп, в каждой повторности по 10 особей. Для выявления хронического токсического действия использовали концентрацию 20 мг/л, что составляет 0,3 от LC_{50} за 48 ч. Рачков в возрасте не более 24 ч по одному помещали в стеклянные емкости с 15 мл исследуемого раствора. Применяли три повторности по 7 самок на каждую. Один раз в двое суток проводили учет смертности и родившейся молоди в опыте и контроле, пересадку выживших самок в свежеприготовленный раствор токсиканта (опыт) и отстоянную аэрированную воду (контроль). Хронические испытания проводили до последней выжившей цериодафнии (38 сут). Кормление рачков производили суспензией дрожжей и зеленых протококковых водорослей *Chlorella sp.* Показателями токсического действия служили смертность, изменение продолжительности жизни и плодовитости рачков по сравнению с контролем.

Для оценки стабильности токсичности вещества и продуктов его распада проводили токсикологическое исследование согласно стандартной методике (Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (утв. Приказом Федерального агентства по рыболовству от 04.08.2009 № 695)). В исследовании использовали одну концентрацию вещества LC_{50} за 24 ч. Раствор с данной концентрацией по 100 мл вносили в стеклянные колбы. Каждый вариант соответствовал постановке эксперимента в определенный день исследований. Далее на исходные, 3, 5, 7, 10, 15, 20-е и 30-е сут от начала эксперимента в соответствующие емкости вносили по 10 односуточных цериодафний. Перед каждым внесением цериодафний емкость с раствором тщательно перемешивали. Через 24 ч после внесения учитывали число погибших особей.

Опыты проводили в 3-кратной повторности. Каждому опыту соответствовал контроль.

Статистическую значимость различий в значениях контрольных и опытных вариантов оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни (Mann – Whitney U test). Уровень значимости для всех видов сравнения принимали равным 0,05 ($p \leq 0,05$).

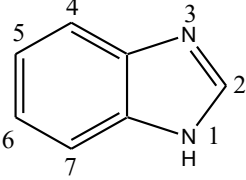
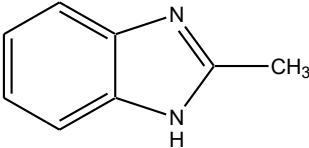
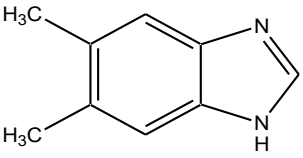
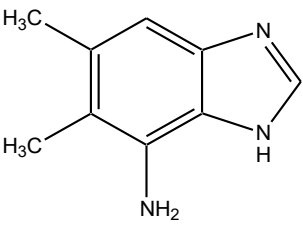
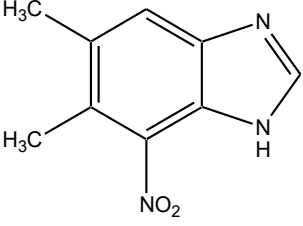
Результаты и обсуждение. В результате определения медианной летальной концентрации (LC_{50-48}) отмечена разная токсичность

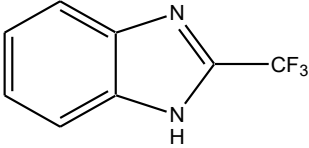
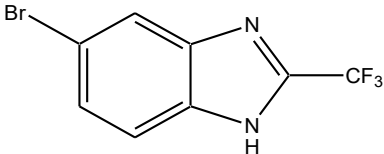
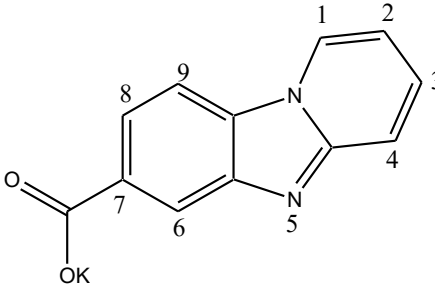
производных бензимидазола для периодафний (табл. 1, рис. 1). Выявлено наличие зависимости уровня проявления токсического эффекта от строения исследуемых гетероциклов.

Введение заместителей в молекулу органического вещества, как правило, способствует изменению его физико-химических свойств, реакционной способности, процессов превращения в организме, а соответственно, и изменению степени проявления токсического эффекта.

Таблица 1
Table 1

Значение медианной летальной концентрации (LC_{50-48}) для исследуемых веществ
Median lethal concentration (LC_{50-48}) values for the test substances

№ соединения № subst.	Исследуемое вещество Test substance	Формула Formula	Значение LC_{50-48} , мг/л LC_{50-48} value, mg/l
1	1H-бензимидазол 1H-benzimidazole		102,3
2	2-метил-1H-бензимидазол 2-methyl-1H-benzimidazole		109,7
3	5,6-диметил-1H-бензимидазол 5,6-dimethyl-1H-benzimidazole		14,45
4	5,6-диметил-1H-бензимидазол-7-амин 5,6-dimethyl-1H-benzimidazol-7-amine		46,03
5	5,6-диметил-7-нитро-1H-бензимидазол 5,6-dimethyl-7-nitro-1H-benzimidazole		6,46

№ соединения № subst.	Исследуемое вещество Test substance	Формула Formula	Значение LC ₅₀₋₄₈ , мг/л LC ₅₀₋₄₈ value, mg/l
6	2-(трифторметил)-1H-бензимидазол 2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole		41,69
7	2-(трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазол 5-bromo-2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole		2,4
8	калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты Potassium pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylate		69,18

Как видно из данных табл. 1, наличие заместителей различной электронной природы и их расположение в бензимидазоле по-разному влияли на острую токсичность веществ. Введение двух метильных групп в молекулу гетероцикла (соед. 3) приводило к увеличению в 7 раз токсичности данного вещества по сравнению с 1H-бензимидазолом (1). Присутствие одного метильного заместителя в положении 2 гетероцикла (2) делало его наименее токсичным из всех исследуемых соединений. Наличие аминогруппы (4) в 5,6-диметил-1H-бензимидазоле значительно увеличивало значение LC₅₀₋₄₈, в то время как присутствие нитрогруппы (5) усиливало более чем в 2 раза токсичность вещества по сравнению с 5,6-диметил-1H-бензимидазолом (3) и почти в 16 раз относительно незамещенного бензимидазола (1).

Большая токсичность нитропроизводного вещества (5) хорошо согласовывалась с литературными данными [19]. Замещение всех атомов водорода в метильной группе 2-метил-1H-бензимидазола (2) на фтор (6) почти в 3 раза усиливало токсичность по сравнению с веществом (2). Присоединение к 2-(трифторметил)-1H-бензимидазолу (6) атома брома в положение 5 гетероцикла также приводило к усилению токсичности. Так, 2-(трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазол (7) являлся наиболее токсичным из исследованных веществ. Введение галогенов в молекулу является широко используемым приемом для увеличения биологической активности соединения [20]. Калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты имела наиболее низкое значение токсичности среди исследуемых веществ.

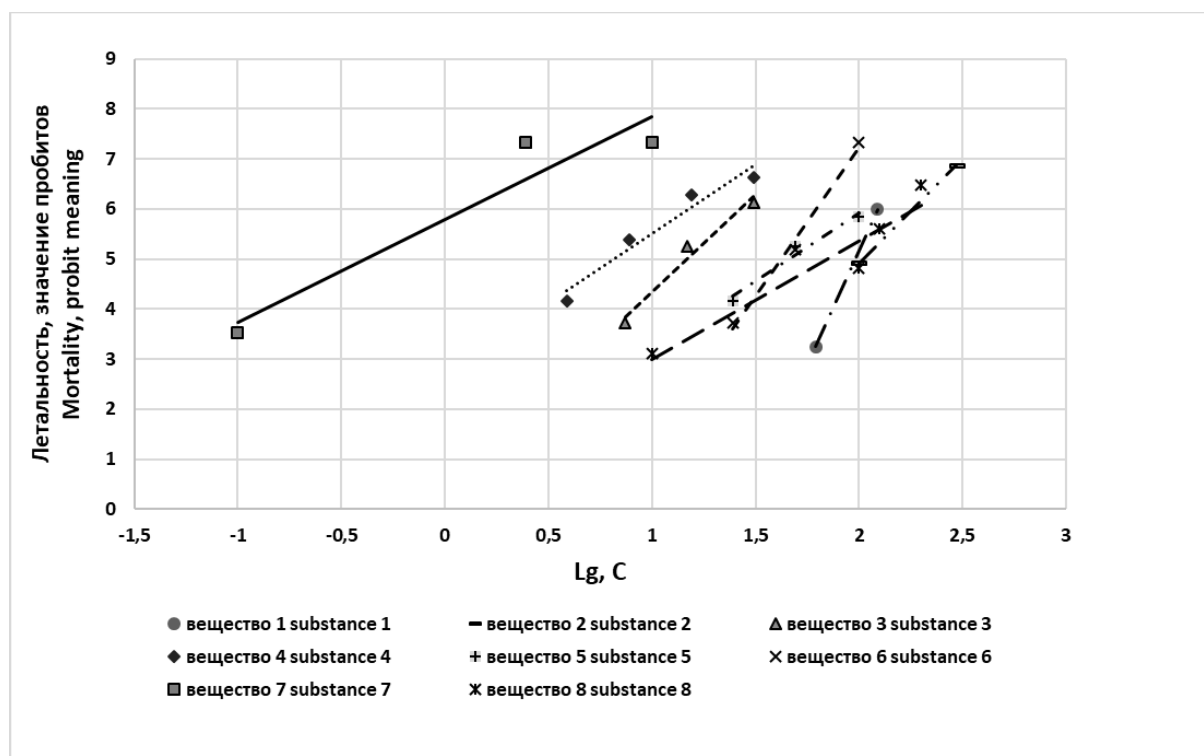


Рис. 1. Линейная зависимость летальности цериодафний от логарифма концентрации исследуемого вещества (вещество 1 – 1H-бензимидазол, вещество 2 – 2-метил-1H-бензимидазол, вещество 3 – 5,6-диметил-1H-бензимидазол, вещество 4 – 5,6-диметил-1H-бензимидазол-7-амин, вещество 5 – 5,6-диметил-7-нитро-1H-бензимидазол, вещество 6 – 2-(трифторметил)-1H-бензимидазол, вещество 7 – (трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазол, вещество 8 – калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты)

Fig. 1. Linear dependence of ceriodaphnia lethality on the logarithm of the test substance concentration (substance 1 – 1H-benzimidazole, substance 2 – 2-methyl-1H-benzimidazole, substance 3 – 5,6-dimethyl-1H-benzimidazole, substance 4 – 5,6-dimethyl-1H-benzimidazol-7-amine, substance 5 – 5,6-dimethyl-7-nitro-1H-benzimidazole, substance 6 – 2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole, substance 7 – 5-bromo-2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole, substance 8 – potassium pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylate)

Таким образом, 1H-бензимидазол, 2-метил-1H-бензимидазол и калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты, согласно классификации веществ по острой токсичности для гидробионтов [21], относятся к малотоксичным соединениям; 5,6-диметил-1H-бензимидазол, 5,6-диметил-1H-бензимидазол-7-амин, 5,6-диметил-7-нитро-1H-бензимидазол, 2-(трифторметил)-1H-бензимидазол – к среднетоксичным; 2-(трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазол – к обладающим высокой степенью токсичности.

Несмотря на относительную генетическую однородность особей цериодафний синхронизированной культуры степень проявления токсического эффекта в группе может отличаться. При анализе линейной зависимости

«доза-эффект» в исследуемой подгруппе тест-объектов отражается соотношение гиперреактивных (чувствительных) и гипореактивных (резистентных) особей. При наличии пологой зависимости «доза-эффект» вещества считаются наиболее опасными для особей, обладающих гиперчувствительностью к токсиканту. В случае с высокой крутизной зависимости вещества считаются более опасными для всей популяции в силу того, что даже незначительное увеличение концентрации может привести к развитию эффекта у большей части особей [22]. Таким образом, можно предположить, что 2-(трифторметил)-5-бром-1H-бензимидазол, 5,6-диметил-1H-бензимидазол-7-амин и калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты будут наиболее

опасны для особей с высокой чувствительностью к токсиканту. Для всей популяции будут наиболее опасны 1Н-бензимидазол, 2-метил-1Н-бензимидазол и 2-(трифторметил)-1Н-бензимидазол, которые поражают большую часть особей.

Токсическое действие бензимидазолов связано с их способностью приводить к увеличению проницаемости мембран, возрастанию сродства к рецепторным белкам, нарушению процессов утилизации питательных веществ [2, 23]. Бензимидазолы применяются как противоопухолевые средства за счет их способности приводить к разрыву нитей ДНК либо выступать интеркаляторами [24].

С учетом того, что только калиевая соль пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты обладает относительно низкой токсичностью, хорошо растворима в воде и тем самым представляет наибольшую опасность для гидробионтов при поступлении в водный объект, ее использовали для проведения дальнейших исследований.

Хронические пожизненные испытания на

цериодафниях позволяют выявить влияние токсиканта на выживаемость, продолжительность жизни, плодовитость рачков, что является важным индикатором возможных популяционных изменений. По показателю выживаемости и средней продолжительности жизни статистически значимых отличий от контрольной группы не выявлено ($p=0,84$) (табл. 2). В контроле минимальная продолжительность жизни составила 3 сут, максимальная – 38, в опыте – 3 и 31 сут соответственно.

Для выявления влияния калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты на репродуктивную функцию рачков рассчитывались следующие показатели: общая численность потомства, среднее число родившейся молоди на одну самку, среднее число пометов на одну самку, среднее время отрождения молоди, среднее число молоди в помете (табл. 2).

Общая динамика рождаемости в опыте и контроле имела сходный характер, хотя несколько сдвигались пики численности потомства (рис. 2).

Таблица 2

Table 2

Изменение показателей плодовитости цериодафний в хроническом токсикологическом эксперименте с калиевой солью пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты

Changes in fertility rates of ceriodaphnia in a chronic toxicological experiment with potassium pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylate

Показатель Parameter	Контрольная группа (n=21) Control group (n=21)	Экспериментальная группа (n=21) Experimental group (n=21)
Средняя продолжительность жизни самки, сут Average lifespan, days	23,7±1,4	24,04±1,94
Общая численность потомства, шт. Total number of offspring, n	407	322
Среднее число родившейся молоди на одну самку, шт. Average number of offspring born per female, n	19,38±3,12	17,35±1,88
Среднее число пометов на одну самку, шт. Average number of litters per female, n	5,95±0,52	5,57±0,66
Среднее время отрождения молоди, сут Average hatching time, days	3,19±0,44	3,09±0,34
Среднее число особей в помете, шт. Average litter size, n	2,47±0,28	2,29±0,26

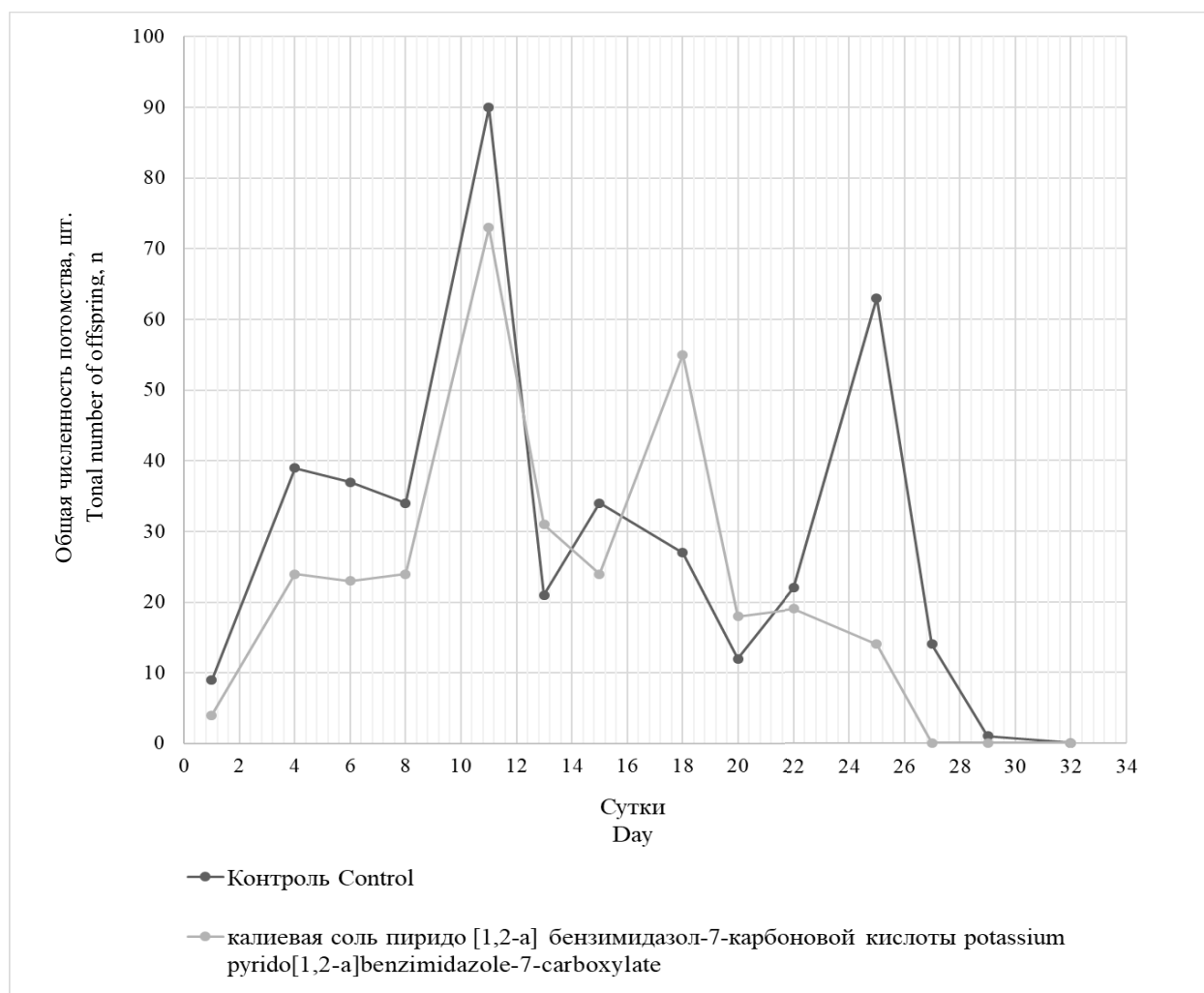


Рис. 2. Динамика общей численности потомства *Ceriodaphnia dubia* в хроническом эксперименте при действии калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты

Fig. 2. Dynamics of the total number of *Ceriodaphnia dubia* offspring in a chronic experiment under potassium pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylate

Статистически значимых отличий в плодовитости цериодафний при действии калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты не выявлено. Несмотря на то что в опытном варианте общая численность потомства была на 20 % ниже по сравнению с контролем, среднее число родившейся молодежи на одну самку достоверно не отличалось от контрольной группы ($p=0,338350$). Также не обнаружено и статистически значимых различий по среднему числу особей в помете ($p=0,81088$), среднему числу пометов на одну самку ($p=0,378616$) и среднему времени отрождения молодежи ($p=0,371027$). В опытной

группе все исследуемые показатели были незначительно ниже, чем в контрольной группе, но эта разница не обуславливалась прямым действием токсиканта.

Таким образом, при хронической экспозиции рачков в растворе с калиевой солью пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты в концентрации 20 мг/л отмечено незначительное уменьшение всех показателей плодовитости, но статистически значимых различий не выявлено. Возможно, это связано как со слабой токсичностью соединения при использовании его в данной концентрации, так и с особенностями биологической активности.

Известно, что некоторые производные бензимидазола обладают актопротекторной активностью [25]. Прослеживается тенденция к уменьшению общей численности потомства, что может негативно сказаться на популяционных показателях рачков при увеличении периода воздействия данного производного бензимидазола. Чувствительность к токсиканту на популяционном уровне зависит от таких факторов, как возрастные группы и временные рамки периода воздействия [26]. В стандартных токсикологических исследованиях используются рачки возрастом не более 24 ч, не учитываются возрастные и половые особенности реагирования тест-объектов [27], поэтому влияние на другие возрастные группы требует дальнейшего изучения. К тому же при увеличении периода воздействия возможно накопление токсической нагрузки за счет как материальной, так и функциональной кумуляции, что может привести к серьезной дисфункции организма в долгосрочной перспективе.

Для оценки степени возможного влияния химического вещества на окружающую среду одним из важнейших показателей является стабильность токсичности вещества, так как она определяет длительность действия на организм как самого токсиканта, так и продуктов его распада. Необходимость исследования стабильности токсичности связана с тем, что химико-аналитические методы не позволяют определить остаточную суммарную токсичность вещества и продуктов его превращения. На протяжении 30 сут проводили наблюдение за изменением токсичности калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты по показателю смертности цериодафний. Значение LC_{50} исследуемого токсиканта принимали по данным острого токсикологического эксперимента за 24 ч – 158,49 мг/л. В ходе исследования выявлена разная летальность цериодафний в зависимости от периода экспозиции, что говорит об изменении токсичности раствора (рис. 3).

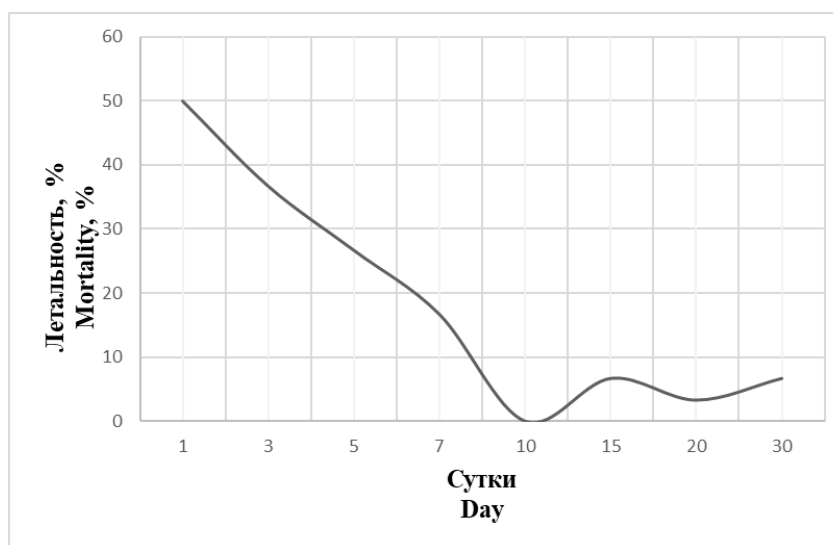


Рис. 3. Изменение летальности цериодафний за 30 сут в растворе калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты (158,49 мг/л)

Fig. 3. Changes in 30-day-lethality of ceriodaphnia in potassium pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylate solution (158,49 mg/l)

На протяжении первых 10 сут экспозиции наблюдалось постепенное снижение летальности цериодафний до 0, что говорит о низкой персистентности вещества и снижении токсичности раствора. К 15-м сут летальность цериодафний выросла до 6,7 %, к 20-м сут сни-

зилась до 3,3 % и к 30-м сут вернулась к значению 15-х сут. Согласно методическим рекомендациям проведения токсикологических экспериментов достоверность получаемых результатов считается надежной, если даже в контрольной группе гибель тест-объектов не

превышает 10 % (Приказ Росрыболовства от 4.08.2009 № 695). Поэтому отличия в гибели тест-организмов в пределах 10 %, вероятно, не обусловлены однозначным действием токсиканта. Наблюдавшаяся динамика изменения токсичности калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты, включавшая как снижение, так и незначительное повышение токсичности на протяжении всей экспозиции, может быть связана с образованием промежуточных продуктов, их взаимодействием или дальнейшим преобразованием.

Заключение. Результаты острых токсикологических экспериментов показывают, что токсичность бензимидазолов обусловлена их физико-химическими свойствами и может представлять серьезную опасность для гидробионтов при массовых сбросах их производных в водные объекты. Согласно значениям LC₅₀₋₄₈, полученным для периодафний, некоторые из исследуемых производных отно-

сятся к веществам, обладающим высокой степенью токсичности, и могут представлять угрозу для особей с низкой степенью резистентности к данной группе химических соединений. Однако необходимо отметить, что слабая растворимость большинства изученных производных бензимидазолов и низкая степень стабильности токсичности позволяют предполагать относительно невысокий уровень их воздействия на окружающую среду. Отсутствие хронического действия на репродуктивную функцию, показанное на примере калиевой соли пиридо[1,2-а]бензимидазол-7-карбоновой кислоты, с одной стороны, подтверждает условную безвредность бензимидазолов для гидробионтов, но с другой стороны, эти данные получены для одного из наименее токсичных производных. Таким образом, требуются дальнейшие токсикологические исследования влияния производных бензимидазолов на гидробионтов.

Исследование выполнено в рамках Программы развития ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», проект № П2-ГМ1-2021.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Фомичева Е.М.

Литературный поиск, участие в исследовании, обработка материала: Фомичева Е.М., Савина Л.И.

Статистическая обработка данных: Фомичева Е.М.

Анализ и интерпретация данных: Фомичева Е.М., Савина Л.И.

Написание и редактирование текста: Фомичева Е.М., Савина Л.И.

Литература

1. Козырев С.В., Кораблев В.В., Якуцени П.П. Новый фактор экологического риска: лекарственные вещества в окружающей среде и питьевой воде. Научно-технические ведомости СПбГПУ. Наука и образование. 2012; 4: 195–201.
2. Васин А.Е., Белоусова З.П., Зарубин Ю.П., Пурьгин П.П. Изучение токсичности некоторых производных бензимидазола. Бутлеровские сообщения. 2015; 41 (3): 119–123.
3. Шугалей И.В., Илюшин М.А., Судариков А.М. Расширение фармацевтического рынка как дестабилизирующий экологический фактор. Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (Технического университета). 2018; 43: 81–86.
4. Bansal Y., Silakari O. The therapeutic journey of benzimidazoles: a review. Bioorg Med Chem. 2012; 20 (21): 6208–6236.
5. Soni L.K., Narsinghani T., Sethi A. Anti-microbial benzimidazole derivatives: synthesis and in vitro biological evaluation. Med. Chem. Res. 2012; 21 (12): 4330–4334.
6. Shah K., Chhabra S., Shrivastava S.K., Mishra P. Benzimidazole: a promising pharmacophore. Med. Chem. Res. 2013; 22 (11): 5077–5104.
7. Ajani O.O., Aderohunmu D.V., Ikpo C.O., Adedapo A.E., Olanrewaju I.O. Functionalized Benzimidazole Scaffolds: Privileged Heterocycle for Drug Design in Therapeutic Medicine. Arch. Pharm. Chem. Life Sci. 2016; 349 (7): 475–506.

8. Власова Ю.Н., Иванова Е.В., Бойкова О.И., Атрощенко Ю.М., Шахкельдян И.В. Выявление зависимости «структура-свойство» в ряду 1,2,5-замещенных бензимидазолов. Вестник современных исследований. 2018; 7.3 (22): 414–418.
9. Агацарская Я.В., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В., Семёнова Ю.В., Салихов Д.А., Султанова К.Т., Анисимова В.А. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-А]бензимидазола. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2019; 1 (69): 120–124.
10. Мухторов Л.Г., Власова Ю.Н., Никишина М.Б., Каримов М.В., Атрощенко Ю.М., Шахкельдян И.В. Синтез и характеристика амидных производных 2-[2-П-аминофенил]этил]бензимидазола. Вестник филиала Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова в городе Душанбе. 2021; 3 (19): 70–79.
11. Комарова Е.Ф., Вереникина Е.В., Гончарова А.С., Шевченко Н.А., Морковник А.С., Жуковская О.Н., Лукбанова Е.А., Ходакова Д.В., Курбанова Л.З., Миндарь М.В., Заикина Е.В., Галина А.В. Мишени противоопухолевого действия производных бензимидазола. Современные проблемы науки и образования. 2022; 5. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31978> (дата обращения: 15.12.2022).
12. Черетаев И.В., Кореньюк И.И., Ноздрачев А.Д. Нейротропные, психоактивные и обезболивающие свойства бензимидазола и его производных: физиологические механизмы. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2017; 103 (4): 381–390.
13. Суркова Е.О., Скрипка М.О., Мирошников М.В. Изучение влияния производных бензимидазола на поведение мышей в открытом поле. Молодежь и медицинская наука: тезисы VII Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. 2019: 80.
14. Лысенко Т.А. Изучение влияния некоторых новых производных бензимидазола на выживаемость животных при циркуляторной гипоксии. Международный научно-исследовательский журнал. 2022; 5-2 (119): 198–201.
15. Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Смирнов А.В., Сиротенко В.С., Паньшин Н.Г., Гайдукова К.А., Диваева Л.Н. Антитромботическая активность нового производного diazepino[1,2-a]бензимидазола на модели тромбоза легочной артерии у мышей. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020; 83 (5): 15–18.
16. Гуляев А.С., Семёнова С.К., Архипов И.А. Проблема устойчивости *Fasciola hepatica* к бензимидазолам: опыт мировой науки. Российский паразитологический журнал. 2012; 1: 104–109.
17. Soshnikova A.A., Mazova O.V. The synthesis of some substituted benzimidazoles with the use of the phillips-ladenburg rearrangement. Modern science. 2018; 12-1: 52–55.
18. Гремячих В.А., Томилиня И.И. Влияние ПХБ-содержащего препарата «Совтол» на биологические параметры ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lillieborg. Токсикологический вестник. 2011; 5 (110): 36–40.
19. Кирлан С.А., Кантор Е.А., Димогло А.С., Вовденко М.К. Закономерности связи «структура-активность-токсичность» регуляторов роста и развития растений. Башкирский химический журнал. 2011; 18 (2): 30–34.
20. Зайцева Ю.В., Егоров Д.О., Бегунов Р.С., Хлопотинин А.И. Антибактериальная и антибиопленочная активность полифункциональных производных бензимидазола. Acta biomedica scientifica. 2022; 7 (3): 134–141. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.3.14.
21. Васильков Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г., Осетров В.С. (ред.). Болезни рыб: справочник. Москва: Агропромиздат; 1989. 288.
22. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб: ООО «Издательство Фолиант»; 2004. 720.
23. Каток Я.М. Применение и синтез 2-замещенных бензимидазола. Труды БГТУ. Сер. 2. 2020; 2: 50–55.
24. Бегунов Р.С., Рызванович Г.А. Синтез пиридо[1,2-а]бензимидазолов и других конденсированных производных имидазола с узловым атомом азота. Успехи химии. 2013; 82 (1): 77–97.
25. Катунина Н.П., Стратиенко Е.Н., Цеева Ф.Н., Кухарева О.В., Катунин П.М. Фармакологическая активность новых производных бензимидазола при воздействии экстремальных факторов различного генеза. Ежегодник НИИ фундаментальных и прикладных исследований. 2018; 1: 53–58.
26. Thomas W. Duke, Donald I. Mount. Toxic effects on individuals, populations and aquatic ecosystems and indicators of exposure to chemicals. Methods for Assessing Exposure of Human and Non-Human Biota. 1991; 9: 393–404.

27. Иванов Д.Е., Сулейманов Р.А., Косарев А.В., Микеров А.Н., Кошелева И.С., Валеев Т.К. Возможности применения методов биотестирования в интегральной оценке качества поверхностных источников водоснабжения населения. Медицина труда и экология человека. 2022; 1: 159–176.

Поступила в редакцию 12.01.2023; принята 13.04.2023.

Авторский коллектив

Фомичева Елена Михайловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова». 150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14; e-mail: fomalyona@bk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7221-3975>.

Савина Луиза Ильинична – магистрант факультета биологии и экологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова». 150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14; e-mail: luizasavina2000@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0008-6552-678X>.

Образец цитирования

Фомичева Е.М., Савина Л.И. Оценка токсичности производных бензимидазола и их влияние на функциональные показатели пресноводных рачков *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894. Ульяновский медико-биологический журнал. 2023; 2: 181–194. DOI: 10.34014/2227-1848-2023-2-181-194.

EVALUATION OF TOXICITY OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES AND THEIR EFFECT ON FUNCTIONAL PARAMETERS OF *CERIODAPHNIA DUBIA* RICHARD, 1894

E.M. Fomicheva, L.I. Savina

Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, Yaroslavl, Russia

Recently, due to active development of the pharmaceutical industry, an acute problem of environmental pollution with synthetic biologically active compounds has arisen. Benzimidazole cycle is one of the most frequently encountered pharmacophores in drugs. Substances containing even microquantities of benzimidazole have a toxic effect on living systems. Besides, being alien to nature, benzimidazoles are not included in metabolic processes and do not decompose for a long time. Evaluation of benzimidazole toxicity, its stability in the aquatic environment, benzimidazole impact on biological parameters will make it possible to predict possible changes in the populations of ceriodaphnia and other aquatic organisms.

The purpose of the work is to evaluate the toxicity of benzimidazole derivatives and their effect on the survival and fertility of *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894.

Materials and Methods. In acute and chronic experiments, the authors determined parameters standard for toxicological studies: median lethal concentrations (LC₅₀), life expectancy, total number of offspring, number of litters per female, and average hatching time. The stability of the toxicity of benzimidazole derivatives was established in terms of *Ceriodaphnia dubia* lethality during a 30-day exposure.

Results. The authors evaluated the toxicity of benzimidazole and its seven derivatives for ceriodaphnia in terms of the 48-hour median lethal concentration, depending on their structure. The highest toxicity was noted for 5-bromo-2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole (LC₅₀ 2.4 mg/l), the lowest one for 2-methyl-1H-benzimidazole (LC₅₀ 109.7 mg/l). It has been shown that long-term exposure (38 days) to potassium salt of pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylic acid (LC₅₀ 69.18 mg/l) at a concentration of 20 mg/l in a chronic experiment does not lead to a statistically significant change in survival and fertility parameters of ceriodaphnia. Stability evaluation of toxicity of the potassium salt of pyrido[1,2-a]benzimidazole-7-carboxylic acid and residual toxicity of its degradation products revealed a relatively low stability of the compound toxicity.

Conclusion. The toxicological evaluation of benzimidazole derivatives for hydrobionts showed the correlation between the degree of their toxicity and structural features.

Key words: benzimidazole, benzimidazole derivatives, toxicity, stability of toxicity, ceriodaphnia, fertility, offspring.

The study is carried out within the framework of the Development Program of Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, Project No. P2-GMI-2021.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Author contributions

Research concept and design: Fomicheva E.M.

Literary search, participation in the research study, data processing: Fomicheva E.M., Savina L.I.

Statistical data processing: Fomicheva E.M.

Data analysis and interpretation: Fomicheva E.M., Savina L.I.

Text writing and editing: Fomicheva E.M., Savina L.I.

References

1. Kozyrev S.V., Korablev V.V., Yakutseni P.P. Novyy faktor ekologicheskogo riska: lekarstvennye veshchestva v okruzhayushchey srede i pit'evoy vode [A new environmental risk factor: Medicinal substances in the environment and drinking water]. *Nauchno-tekhicheskie vedomosti SPbGPU. Nauka i obrazovanie*. 2012; 4: 195–201 (in Russian).
2. Vasin A.E., Belousova Z.P., Zarubin Yu.P., Purygin P.P. Izuchenie toksichnosti nekotorykh proizvodnykh benzimidazola [Study of the toxicity of some benzimidazole derivatives]. *Butlerovskie soobshcheniya*. 2015; 41 (3): 119–123 (in Russian).
3. Shugaley I.V., Ilyushin M.A., Sudarikov A.M. Rasshirenie farmatsevticheskogo rynka kak destabiliziruyushchiy ekologicheskii faktor [Expansion of the pharmaceutical market as a destabilizing environmental factor]. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (Tekhnicheskogo universiteta)*. 2018; 43: 81–86 (in Russian).
4. Bansal Y., Silakari O. The therapeutic journey of benzimidazoles: a review. *Bioorg Med Chem*. 2012; 20 (21): 6208–6236.
5. Soni L.K., Narsinghani T., Sethi A. Anti-microbial benzimidazole derivatives: synthesis and in vitro biological evaluation. *Med. Chem. Res*. 2012; 21 (12): 4330–4334.
6. Shah K., Chhabra S., Shrivastava S.K., Mishra P. Benzimidazole: a promising pharmacophore. *Med. Chem. Res*. 2013; 22 (11): 5077–5104.
7. Ajani O.O., Aderohunmu D.V., Ikpo C.O., Adedapo A.E., Olanrewaju I.O. Functionalized Benzimidazole Scaffolds: Privileged Heterocycle for Drug Design in Therapeutic Medicine. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci*. 2016; 349 (7): 475–506.
8. Vlasova Yu.N., Ivanova E.V., Boykova O.I., Atroshchenko Yu.M., Shakhkel'dyan I.V. Vyyavlenie zavisimosti «struktura-svoystvo» v ryadu 1,2,5-zameshchennykh benzimidazolov [Identification of the “structure-property” correlation in the series of 1,2,5-substituted benzimidazoles]. *Vestnik sovremennykh issledovaniy*. 2018; 7.3 (22): 414–418 (in Russian).
9. Agatsarskaya Ya.V., Yakovlev D.S., Mal'tsev D.V., Semenova Yu.V., Salikhov D.A., Sultanova K.T., Anisimova V.A. Neyroretseptornyye efekty antimegrenoznogo agenta 9-dietilaaminoetil-2-(4-metoksimetil)imidazo[1,2-A]benzimidazola [Neuroreceptor effects of the anti-migraine agent 9-diethylaminoethyl-2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2-A]benzimidazole]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2019; 1 (69): 120–124 (in Russian).
10. Mukhtorov L.G., Vlasova Yu.N., Nikishina M.B., Karimov M.V., Atroshchenko Yu.M., Shakhkel'dyan I.V. Sintez i kharakteristika amidnykh proizvodnykh 2-[2-P-aminofenil)etil]benzimidazola [Synthesis and characteristics of amide derivatives of 2-[2-P-aminophenyl)ethyl]benzimidazole]. *Vestnik filiala Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta im. M.V. Lomonosova v gorode Dushanbe*. 2021; 3 (19): 70–79 (in Russian).
11. Komarova E.F., Verenikina E.V., Goncharova A.S., Shevchenko N.A., Morkovnik A.S., Zhukovskaya O.N., Lukbanova E.A., Khodakova D.V., Kurbanova L.Z., Mindar' M.V., Zaikina E.V., Galina A.V. Misheni protivopukholevogo deystviya proizvodnykh benzimidazola [Targets of antitumor action of benzimidazole derivatives]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2022; 5. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31978> (accessed: December 15, 2022) (in Russian).
12. Cheretaev I.V., Korenyuk I.I., Nozdrachev A.D. Neyrotropnyye, psikhoaktivnyye i obezbolivayushchie svoystva benzimidazola i ego proizvodnykh: fiziologicheskie mekhanizmy [Neurotropic, psychoactive and analgesic properties of benzimidazole and its derivatives: Physiological mechanisms]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2017; 103 (4): 381–390 (in Russian).

13. Surkova E.O., Skripka M.O., Miroshnikov M.V. Izuchenie vliyaniya proizvodnykh benzimidazola na povedenie myshey v otkrytom pole [Study of the effect of benzimidazole derivatives on open-field mice behavior]. *Molodezh' i meditsinskaya nauka: tezisy VII Vserossiyskoy mezhvuzovskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem* [Youth and medical science: Proceedings of the 7th All-Russian Interuniversity Research-to-Practice Conference of Young Scientists with International Participation]. 2019: 80 (in Russian).
14. Lysenko T.A. Izuchenie vliyaniya nekotorykh novykh proizvodnykh benzimidazola na vyzhivaemost' zhivotnykh pri tsirkulyatornoy gipoksii [Research of new benzimidazole derivatives impact on survival rate of animals with circulatory hypoxia]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2022; 5-2 (119): 198–201 (in Russian).
15. Spasov A.A., Kucheryavenko A.F., Smirnov A.V., Sirotenko V.S., Pan'shin N.G., Gaydukova K.A., Divaeva L.N. Antitromboticheskaya aktivnost' novogo proizvodnogo diazepino[1,2-a]benzimidazola na modeli tromboza legochnoy arterii u myshey [Antithrombotic impact of a new diazepino[1,2-a]benzimidazole derivative on a modelled pulmonary artery thrombosis in mice]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2020; 83 (5): 15–18 (in Russian).
16. Gulyaev A.S., Semenova S.K., Arkhipov I.A. Problema ustoychivosti Fasciola hepatica k benzimidazolam: opyt mirovoy nauki [Resistance of Fasciola hepatica to benzimidazoles: World science experience]. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal*. 2012; 1: 104–109 (in Russian).
17. Soshnikova A.A., Mazova O.V. The synthesis of some substituted benzimidazoles with the use of the phillips-ladenburg rearrangement. *Modern science*. 2018; 12-1: 52–55.
18. Gremyachikh V.A., Tomilina I.I. Vliyanie PKhB-soderzhashchego preparata «Sovtol» na biologicheskie parametry vetvistousogo rachka Ceriodaphnia affinis Lillieborg [Impact of PCB-containing drug “Sovtol” on the biological parameters of Ceriodaphnia affinis Lillieborg]. *Toksikologicheskii vestnik*. 2011; 5 (110): 36–40 (in Russian).
19. Kirilan S.A., Kantor E.A., Dimoglo A.S., Vovdenko M.K. Zakonomernosti svyazi «struktura-aktivnost'-toksichnost'» regulyatorov rosta i razvitiya rasteniy [Patterns of the “structure-activity-toxicity” correlation of plant growth and development regulators]. *Bashkirskiy khimicheskii zhurnal*. 2011; 18 (2): 30–34 (in Russian).
20. Zaytseva Yu.V., Egorov D.O., Begunov R.S., Khlopotinin A.I. Antibakterial'naya i antibioplennaya aktivnost' polifunktsional'nykh proizvodnykh benzimidazola [Antibacterial and antibiofilm activity of polyfunctional benzimidazole derivatives]. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7 (3): 134–141. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.3.14 (in Russian).
21. Vasil'kov G.V., Grishchenko L.I. Engashev V.G., Osetrov V.S. (red.). *Bolezni ryb: spravochnik* [Fish diseases: Reference book]. Moscow: Agropromizdat; 1989. 288 (in Russian).
22. Kutsenko S.A. *Osnovy toksikologii* [Fundamentals of toxicology]. St. Petersburg: OOO «Izdatel'stvo Foliant»; 2004. 720 (in Russian).
23. Katok Ya.M. Primenenie i sintez 2-zameshchennykh benzimidazola [Application and synthesis of 2-substituted benzimidazoles]. *Trudy BGTU. Ser. 2*. 2020; 2: 50–55 (in Russian).
24. Begunov R.S., Ryzvanovich G.A. Sintez pirido[1,2-a]benzimidazolov i drugikh kondensirovannykh proizvodnykh imidazola s uzlovym atomom azota [Synthesis of pyrido[1,2-a]benzimidazoles and other fused imidazole derivatives with a nodal nitrogen atom]. *Uspekhi khimii*. 2013; 82 (1): 77–97 (in Russian).
25. Katunina N.P., Stratienco E.N., Tseeva F.N., Kukhareva O.V., Katunin P.M. Farmakologicheskaya aktivnost' novykh proizvodnykh benzimidazola pri vozdeystvii ekstremal'nykh faktorov razlichnogo geneza [Pharmacological activity of new benzimidazole derivatives at exposure to extreme factors of different genesis]. *Ezhegodnik NII fundamental'nykh i prikladnykh issledovaniy*. 2018; 1: 53–58 (in Russian).
26. Thomas W. Duke, Donald I. Mount. Toxic effects on individuals, populations and aquatic ecosystems and indicators of exposure to chemicals. *Methods for Assessing Exposure of Human and Non-Human Biota*. 1991; 9: 393–404.
27. Ivanov D.E., Suleymanov R.A., Kosarev A.V., Mikerov A.N., Kosheleva I.S., Valeev T.K. Vozmozhnosti primeneniya metodov biotestirovaniya v integral'noy otsenke kachestva poverkhnostnykh istochnikov vodosnabzheniya naseleniya [Possibilities of applying biotesting methods in the integrated assessment of the quality of surface water supply sources for the population]. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2022; 1: 159–176 (in Russian).

Information about the authors

Fomicheva Elena Mikhailovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Human and Animal Physiology, Yaroslavl State University named after P.G. Demidov. 150003, Yaroslavl, Sovetskaya St., 14; e-mail: fomalyona@bk.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7221-3975>.

Savina Luiza Il'ichna, Master Studentm Department of Biology and Ecology, Yaroslavl State University named after P.G. Demidov. 150003, Yaroslavl, Sovetskaya St., 14; e-mail: luizasavina2000@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0008-6552-678X>.

For citation

Fomicheva E.M., Savina L.I. Otsenka toksichnosti proizvodnykh benzimidazola i ikh vliyanie na funktsional'nye pokazateli presnovodnykh rachkov *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 [Evaluation of toxicity of benzimidazole derivatives and their effect on functional parameters of *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskii zhurnal*. 2023; 2: 181–194. DOI: 10.34014/2227-1848-2023-2-181-194 (in Russian).