

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ 1,1-БИС(1H-ИМИДАЗОЛ-1-ИЛ)МЕТАНИМИНА

Гребешкова Н.А.<sup>1</sup>, Глотов А.А.<sup>1</sup>, Роденко Н.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королёва  
Московское шоссе, 34, г. Самара, 443086, РФ; e-mail: nadya.greb@yandex.ru

<sup>2</sup> Самарский федеральный исследовательский центр РАН  
Студенческий переулок, 3А, г. Самара, 443001, РФ

Поступила в редакцию 25.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0547

**Аннотация.** В работе рассматривается воздействие импульсного магнитного поля на биологическую активность вновь синтезированного противогрибкового препарата на основе имидазола 1,1-Бис(1H-имидазол-1-ил)метанимина. Для проведения исследования последовательно использовано два экспериментальных метода: обработка противогрибкового препарата посредством магнитно-импульсной установки и анализ результатов обработки с помощью дискондиффузионного метода. В ходе экспериментов проверялась гипотеза об увеличении антимикотической активности противогрибкового препарата под воздействием импульсного магнитного поля. Контрольными объектами эксперимента являлись штаммы *Penicillium adametzioides* и *Aspergillus flavus*. Обработку препарата осуществляли на магнитно-импульсной установке при напряженностях электромагнитного поля  $H=(0,09\pm 0,27)\cdot 10^6$  А/м при частоте  $f=40$  кГц с числом импульсов  $n=1$ . Анализ результатов эксперимента показал, что импульсное магнитное поле оказывает влияние на противогрибковый препарат, происходит ингибирование роста колонии *Aspergillus flavus* на 71%. При этом в процессе изучения влияния необработанного препарата на выросшие колонии *Aspergillus flavus* зоны лизиса зафиксированы не были. При исследовании влияния обработанного препарата на ингибирование роста колонии *Penicillium adametzioides* не было зафиксировано достоверного увеличения зон лизиса. Однако при изучении влияния обработанного импульсным магнитным полем противогрибкового препарата на выросшие колонии гриба *Penicillium adametzioides* было установлено максимальное достоверное увеличение зон лизиса на 13%.

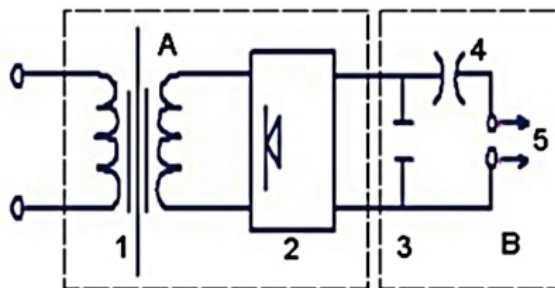
**Ключевые слова:** 1,1-Бис(1H-имидазол-1-ил)метанимин, импульсное магнитное поле, спектр биологической активности, антимикотическая активность.

Повышение резистентности плесневых грибов к антимикотическим препаратам в настоящее время является серьёзной проблемой, затрагивающей различные сферы безопасности жизнедеятельности человека. Есть два основных пути решения данной проблемы: синтез новых веществ или усиление их активности, например, при воздействии магнитным полем. В настоящее время появляется все больше работ, связанных с воздействием магнитного поля на различные вещества. Существуют данные, которые говорят о достоверном влиянии магнитного поля на биологическую активность разнообразных живых организмов. В частности, большое количество исследований посвящено изучению воздействия импульсных электромагнитных полей на жизнедеятельность организмов, а также применению магнитных полей в различных областях медицины. Кроме того, исследуется влияние инфранизкочастотных магнитных полей на рост колоний микроорганизмов, ранний онтогенез растений и эмбриогенез млекопитающих [1].

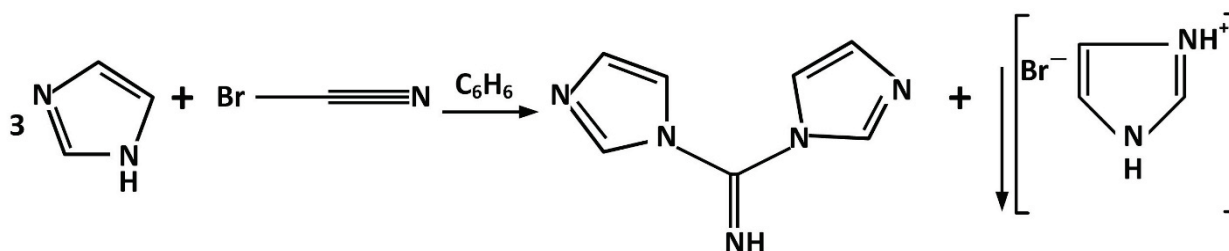
В ряде работ исследуется влияние магнитного поля на активность ферментов, есть данные об увеличении активности фермента овотрансферрина в растворе при обработке его импульсным магнитным полем [2]. При этом железосвязывающая способность достигает максимума по сравнению с необработанным ферментом. В другом случае при обработке лактатдегидрогеназы переменным магнитным полем происходило увеличение скорости реакции по сравнению с необработанным ферментом [3]. Достоверно установлено влияние магнитного поля на антибактериальную активность антибиотиков и усиление активности на 20% [4]. Кроме того, существуют данные об усилении активности противоопухолевых препаратов [5]. Исследователи Калининского медицинского института предприняли попытку проследить воздействие постоянного магнитного поля на барбамил (снотворное вещество). Лабораторные мыши, которые получали предварительно «намагниченный» препарат, спали дольше, чем животные из контрольной группы, получившие такую же дозу «не намагниченного» препарата [6].

Таким образом, можно сделать обоснованное предположение о возможном проявлении влияния импульсного магнитного поля (ИМП) на антимикотические вещества имидазольного ряда по аналогии с рассмотренными выше результатами. Исследования такого типа актуальны, поскольку препараты Клотримазол, Миконазол и Кетоконазол, являются производными имидазола, они широко распространены в практике при лечении грибкового поражения.

Целью работы является исследование воздействия ИМП на биологическую активность 1,1-бис(1H-имидазол-1-ил)метанимина. Следует отметить, что ИМП находят широкое применение в производственных процессах [7], причем источником ИМП является магнитно-импульсная установка [8], блок-схема которой приведена на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Блок-схема магнитно-импульсной установки: 1 – повышающий трансформатор, 2 – выпрямитель, 3 – батареи конденсаторов, 4 – разрядник, 5 – устройство для подключения индуктора



**Рисунок 2.** Схема синтеза 1,1-бис(1H-имидазол-1-ил)метанимина

Здесь ИМП возникает в результате разряда батареи конденсаторов на индуктор (катушку). ИМП возникает и распространяется вокруг витков токопровода индуктора.

Объектом исследования и одновременно объектом воздействия ИМП являлось производное имидазола — 1,1-бис(1H-имидазол-1-ил)метанимин. Данное вещество было синтезировано на кафедре неорганической химии Самарского университета в ходе реакции имидазола и бромциана в среде кипящего абсолютного бензола, как представлено на рисунке 2 [9]. В качестве растворителя для 1,1-бис(1H-имидазол-1-ил)метанимина был применён диметилсульфоксид (ДМСО), концентрация вещества составляла 5%.

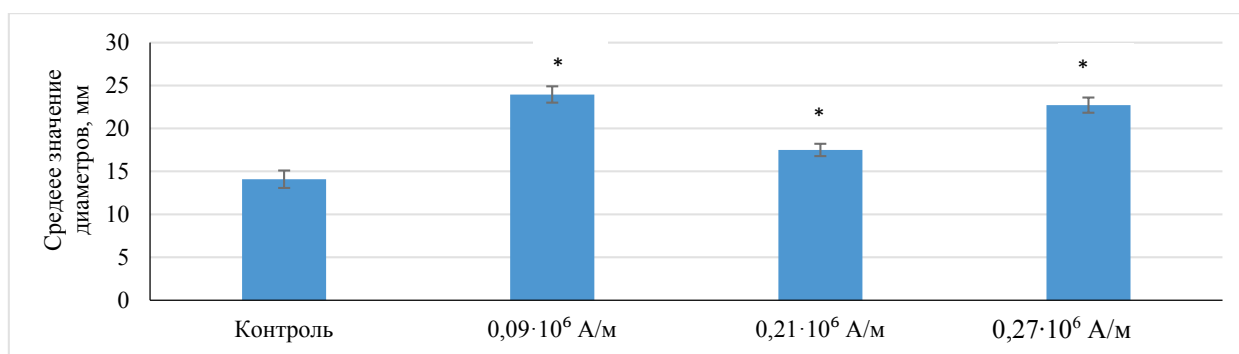
Анализ спектра возможных биологических активностей с помощью программы PASS Online [10] проводился из-за предположения об антимикотической активности производного вещества путём ингибирования глюкан-эндо-1,3-β-D-глюкозидазы. Данный фермент участвует в одной из стадий синтеза 1,3-β-D-глюкана – важной составляющей клеточной стенки грибка [11]. Также, предполагается, что как и имидазол, 1,1-бис(1H-имидазол-1-ил)метанимин может ингибировать активность ланостерол 14-α-деметилазы, что вызывает нарушение синтеза эргостерола – важного для грибковой клеточной стенки вещества. Такой эффект свойственен веществам азольного ряда, что применяется на данный момент во множестве противогрибковых препаратов, таких как Клотримазол, Миконазол, Кетоконазол и пр.

Воздействие ИМП проводилось на магнитно-импульсной установке МИУ-15. Флакон с высушенным порошкообразным веществом помещался в одновитковый индуктор и производилась обработка ИМП при напряженностях магнитного поля  $H=0,09 \cdot 10^6$  А/м,  $H=0,21 \cdot 10^6$  А/м и  $H=0,27 \cdot 10^6$  А/м в течение 0,002-0,005 секунд (см. табл. 1).

Для изучения фунгицидной активности использовались культуры *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) и *Penicillium adametzioides*. Грибы рода *Aspergillus* способны вызывать разнообразные заболевания человека и животных, известные как аспергиллезы. Среди факторов патогенности грибов рода *Aspergillus* выделяют инвазивный рост, способность выживать во внутренней среде человека, а также наличие ферментов- протеиназ, в частности – кератиназ и эластазы. Данный фермент способен разрушать эластические волокна легких [12]. В частности, *A. flavus* является токсигенным, выделяя экзотоксины (афлотоксины, или флавотоксины). Есть также множественные данные о том, что некоторые представители рода *Penicillium* являются патогенами растений. К примеру, *Penicillium adametzioides* вызывает гниение плодов винограда [13], *Penicillium italicum*

**Таблица 1.** Параметры обработки импульсным магнитным полем противогрибкового препарата на основе имидазола 1,1-Бис(1H-имидазол-1-ил)метанимина

Напряжение U, кВ	Энергия W, кДж	Частота f, кГц	Напряженность H, 10 <sup>6</sup> А/м	Количество импульсов, n
3	0,45	40,0	0,09	1
7	2,49		0,21	
9	4,11		0,27	



**Рисунок 3.** Диаметры зон подавления роста *Aspergillus flavus* при воздействии импульсным магнитным полем на 1,1-Бис(1*H*-имидазол-1-ил)метанимин

Примечание: \* – отличия диаметра зоны подавления роста *Aspergillus flavus* при воздействии ИМП на 1,1-Бис(1*H*-имидазол-1-ил)метанимин достоверны от контроля с уровнем значимости  $P < 0,05$

и *Penicillium digitatum* вызывают гниение плодов цитрусовых [14,15], а *Penicillium corymbiferum* вызывает гниение луковиц тюльпанов [16].

Таким образом, представители рода *Aspergillus* и *Penicillium* являются возбудителями многих заболеваний человека, животных и растений. Это делает необходимым разработку эффективных средств борьбы с ними.

Для выделения культуры *Aspergillus flavus* с территории Самарского университета были взяты пробы почвы, из которой готовилась первичная суспензия. Далее суспензия серий разведений доводилась до концентрации 1:1000000. Полученный раствор использовался для культивирования колоний микроорганизмов.

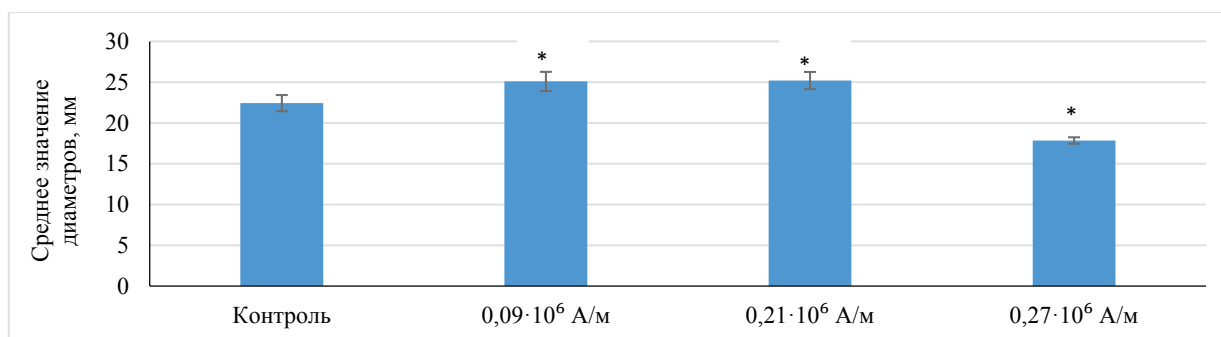
Впоследствии антимикотическую активность определяли с помощью диско-диффузионного метода на кафедре биохимии, биотехнологии и биоинженерии Самарского университета. Суть метода заключалась в том, что при достижении равномерного роста колоний грибов на поверхность агара выкладывалось по 4 диска на которые раскапывалось по 20 мкл противогрибкового препарата. В свою очередь, в эксперименте на начальный рост, сразу после посева из жидкой среды на поверхность агара выкладывались смоченные веществом диски, и далее проводилась инкубация в термостате. Во всех опытах контролем являлся необлученный противогрибковый препарат.

По прошествии 3-х суток осуществлялся замер диаметров зоны лизиса вокруг дисков, далее производилась статистическая обработка полученных результатов. Также проводился отдельный эксперимент с ДМСО, который показал отсутствие влияния ДМСО на колонии плесневых грибов.

В процессе изучения влияния необработанного ИМП вещества на выросшие колонии *Aspergillus flavus* зоны лизиса зафиксированы не были. Однако были обнаружены зоны обесцвечивания спор. В ходе исследования влияния обработанного ИМП вещества на ингибирование роста той же колонии гриба наибольшее достоверное увеличение зон лизиса было зафиксировано при напряженности магнитного поля  $H=0,09 \cdot 10^6$  А/м на 71% (рис. 3).

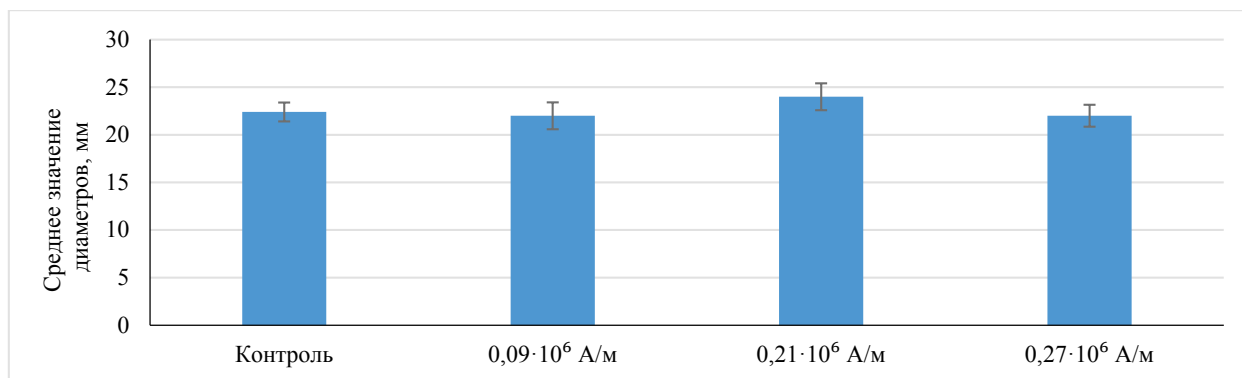
В эксперименте по исследованию влияния обработанного ИМП препарата на выросшие колонии гриба *Penicillium adametzioides* было установлено достоверное увеличение зон лизиса при напряженностях магнитного поля  $H=0,09 \cdot 10^6$  А/м и  $H=0,21 \cdot 10^6$  А/м на 13% и уменьшение зон лизиса при напряженностях магнитного поля  $H=0,27 \cdot 10^6$  А/м на 22%. Результаты эксперимента приведены на рисунке 4.

В ходе исследования по влиянию обработанного ИМП препарата на ингибирование роста этой же колонии плесневых грибов не было зафиксировано достоверного увеличения зон лизиса (рис. 5).



**Рисунок 4.** Диаметры зон лизиса после воздействия импульсным магнитным полем на 1,1-Бис(1*H*-имидазол-1-ил)метанимина на уже выросший *Penicillium adametzioides*

Примечание: \* – отличия диаметра зон лизиса *Penicillium adametzioides* при воздействии ИМП на 1,1-Бис(1*H*-имидазол-1-ил)метанимина достоверны от контроля с уровнем значимости  $P < 0,05$ .



**Рисунок 5.** Диаметры зон подавления роста *Penicillium adametzioides* при воздействии импульсным магнитным полем на 1,1-Бис(1H-имидазол-1-ил)метанимин

На основании полученных результатов можно делать выводы о воздействии импульсного магнитного поля на антимикотическую активность данного вещества. По итогу эксперимента было выявлено как увеличение эффекта от воздействия ИМП на препарат, так и его уменьшение. В частности, при обработке ИМП препарата с напряженностью  $H=0,09 \cdot 10^6$  А/м, зоны лизиса растущей колонии *Aspergillus flavus* достоверно увеличились на 71 % по сравнению с контролем. Также было установлено достоверное увеличение зон лизиса на выросшей колонии гриба *Penicillium adametzioides* на 13% при обработке ИМП вещества с напряженностями  $H=0,09 \cdot 10^6$  А/м и  $H=0,21 \cdot 10^6$  А/м. Однако, наблюдалось уменьшение эффекта препарата, заключающееся в уменьшении зон лизиса той же колонии плесневых грибов на 22%, в случае обработки вещества ИМП при напряженности  $H=0,27 \cdot 10^6$  А/м. В дальнейшем, для более детального изучения эффекта планируется проводить испытания при других параметрах напряженности и с другими колониями плесневых грибов.

#### Список литературы / References:

1. Усанов Д.А., Скрипаль А.В., Усанов А.Д., Рытик А.П. *Биофизические аспекты воздействия электромагнитных полей: Учеб. пособие для студ. фак. нано- и биомед. технологий, обучающихся по спец. «Медицинская физика» и направлению «Биомедицинская инженерия»*. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2008, 136 с. [Usanov D.A., Skripal A.V., Usanov A.D., Rytik A.P. *Biophysical Aspects of the Effects of Electromagnetic Fields: Textbook for students of the Faculty of Nano- and Biomedical Technologies studying in the specialty "Medical Physics" and the direction "Biomedical Engineering"*. Saratov: Izd-vo Sarat. un-ta, 2008, 136 p. (In Russ.)]
2. Zhang T., Liu D., Yuan Y., Zheng J., Ye H., Xi C., Yin Y., Ahmad S. Effect of pulsed electric fields on the antibacterial activity of ovotransferrin and mechanism of action. *Advanced Materials Research*, 2013, vol. 734-737, pp. 2260-2268.
3. Чеботарева Е.Г., Бородулин В.Б., Горошинская И.А., Бабушкина И.В., Фомина Н.Ю., Моррисон В.В., Усанов А.Д., Скрипаль А.В., Усанов Д.А. Влияние магнитного поля на активность фермента лактатдегидрогеназы. *Известия высших учебных заведений Северо-Кавказский регион. Серия: естественные науки*, 2006, № 4, с. 80-83. [Chebotareva E.G., Borodulin V.B., Goroshinskaya I.A., Babushkina I.V., Fomina N.Yu., Morrison V.V., Usanov A.D., Skripal A.V., Usanov D.A. Influence of a magnetic field on the activity of the enzyme lactate dehydrogenase. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy Severo-Kavkazskiy region. Seriya: yestestvennyye nauki*, 2006, no. 4, pp. 80-83. (In Russ.)]
4. Glushchenkov V.A., Vasilyeva T.I., Purigin P.P., Belyaeva I.A., Rodenko N.A., Madyarova A.K., Jusupov R.J. Changes in the Antibacterial Activity of Benzylpenicillin Exposed to a Pulsed High-Intensity Magnetic Field. *Biophysics*, 2019, vol. 64, iss. 2, pp. 214-223, doi: 10.1134/S0006350919020088.
5. Kakikawa M., Yamada S. Effect of extremely low frequency (ELF) magnetic fields on anticancer drugs potency. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2012, vol. 48, pp. 2869-2872, doi: 10.1109/TMAG.2012.2200881.
6. Shaporov V. *The effect of magnetic field on the action of medicinal substances*. Medchitalka. (In Russ.)
7. Глушечков В.А. *Энергетические установки для магнитно-импульсной обработки материалов*. Самара: Издательский дом «Федоров», 2013, 123 с. [Glushchenkov V.A. *Power plants for magnetic-pulse processing of materials*. Samara: Izdatelskiy dom «Fedorov», 2013, 123 p. (In Russ.)]
8. Глушечков В.А., Стукалов С.А., Голиусов Т.А. Использование магнитно-импульсной обработки при протезировании. *Кузнечно-штамповочное производство*, 1994, вып. 2, с. 20-21. [Glushchenkov V.A., Stukalov S.A., Goliusov T.A. Use of magnetic-pulse working during prosthetic manufacture. *Kuznechno-Shtampovochnoe Proizvodstvo*, 1994, iss. 2, pp. 20-21. (In Russ.)]
9. Пурьгин П.П., Зарубин Ю.П. Синтез симметричных и несимметричных 1,1'-бис(1H-азол-1-ил)метаниминов. *Бутлеровские сообщения*, 2017, т. 52, № 12, с. 146-152. [Purygin P.P., Zarubin Yu.P. Synthesis of symmetrical and unsymmetrical 1,1'-bis(1H-azol-1-yl)methanimines. *Butlerovskiyee soobshcheniya*, 2017, vol. 52, no. 12, pp. 146-152, doi: jbc-01/17-52-12-146. (In Russ.)]
10. Глотов А.А., Пурьгин П.П., Зарубин Ю.П. Спектр возможных видов биологической активности для 1,1'-бис(азолил-1)метаниминов. *Вестник Башкирского государственного медицинского университета*, 2022, № 1,

- c. 62-65. [Glotov A.A., Purygin P.P., Zarubin Yu.P. Spectrum of possible types of biological activity for 1,1'-bis(azolyl-1)methanimines. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2022, no. 1, pp. 62-65. (In Russ.)]
11. Free S.J. Fungal cell wall organization and biosynthesis. *Adv Genet*, 2013, vol. 81, pp. 33-82, doi: 10.1016/B978-0-12-407677-8.00002-6.
12. Федотов В.П. Глубокие микозы. *Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология*, 2008, № 3-4 (11), с. 139-167. [Fedotov V.P. Deep mycoses. *Dermatovenerologiya. Kosmetologiya. Seksopatologiya*, 2008, no. 3-4 (11), pp. 139-167. (In Russ.)]
13. Deng J.X., Paul N.C., Sang H.K., Lee J.H., Hwang Y.S., Yu S.H. First Report on Isolation of *Penicillium adametzioides* and *Purpureocillium lilacinum* from Decayed Fruit of Cheongsoo Grapes in Korea. *Mycobiology*, 2012, vol. 40, no. 1, pp. 66-70, doi: 10.5941/MYCO.2012.40.1.066.
14. Kanashiro A.M., Akiyama D.Y., Kupper K.C., Fill T.P. *Penicillium italicum*: An Underexplored Postharvest Pathogen. *Frontiers in microbiology*, 2020, vol. 11, pp. 1-17, doi: 10.3389/fmicb.2020.606852.
15. Yang Q., Qian X., Dhanasekaran S., Boateng N., Yan X., Zhu H., He F., Zhang H. Study on the Infection Mechanism of *Penicillium Digitatum* on Postharvest Citrus (*Citrus Reticulata* Blanco) Based on Transcriptomics. *Microorganisms*, 2019, vol. 7, no. 12, pp. 1-13, doi: 10.3390/microorganisms7120672.
16. Иванова О.В., Балькина Е.Б., Александрова Л.М. Биологическая эффективность фунгицида Бактофорт Ж при обработке луковиц тюльпанов перед посадкой. *Биологическое разнообразие и интродукция растений*, 2021, № 1, с. 74-78. [Ivanova O.V., Balykina E.B., Aleksandrova L.M. Biological efficiency of Baktofort Zh fungicide in the treatment of tulip bulbs before planting. *Biologicheskoye raznoobrazie i introduktsiya rasteniy*, 2021, no. 1, pp. 74-78, doi: 10.24412/cl-36598-2021-1-74-78. (In Russ.)]

## CHANGES IN THE ANTIMYCOTIC ACTIVITY OF 1,1-BIS(1H-IMIDAZOL-1-YL)METHANIMIN BY THE INFLUENCE OF A PULSED MAGNETIC FIELD

Grebeshkova N.A.<sup>1</sup>, Glotov A.A.<sup>1</sup>, Rodenko N.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Samara National Research University

*Moskovskoye shosse, 34, Samara, 443086, Russia; e-mail: nadya.greb@yandex.ru*

<sup>2</sup> Samara Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

*Studentskiy pereulok, 3A, Samara, 443001, Russia*

Received 25.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0547

**Abstract.** The paper is devoted to the study of pulsed magnetic field impacting at the biological activity of a newly synthesized antifungal drug based on the imidazole 1,1-Bis(1H-imidazole-1-yl)metanimine. Two experimental methods were consistently used for the study like as the treatment of an antifungal drug through installation of electromagnetic pulse emission and analysis of the results of treatment with the disco-diffusion method. During the experiments, the hypothesis of an increase in the antimycotic activity of an antifungal drug under the influence of a pulsed magnetic field was tested. The monitoring objects of the experiment were strains of the *Penicillium adametzioides* and the *Aspergillus flavus*. The antifungal drug was treated on the magnetic-pulse installation at the electromagnetic field strength  $H=(0.09\pm 0.27)\cdot 10^6$  A/m at frequency  $f=40$  kHz with the number of pulses  $n=1$ . The analysis of experimental results has shown that the pulsed magnetic field has an effect on the antifungal drug, during which there is an inhibition of the growth of the colony of *Aspergillus flavus* by 71%. At the same time, in the process of studying the effect of the unirradiated antifungal drug impact at the grown colonies of the *Aspergillus flavus*, were not recorded the lysis zones increasing. Studying of the effect of the irradiated antifungal drug impact at the inhibition of the growth of the colony of the *Penicillium adametzioides*, there was not recorded lysis zones significant increasing. At the same time, during the experiment on the research of effect of the antifungal drug that was treated with a pulsed magnetic field at the grown colonies of the fungus *Penicillium adametzioides*, the maximum significant increase in lysis zones by 13% was discovered.

**Key words:** 1,1-Bis(1H-imidazol-1-yl)methanimine, pulsed magnetic field, spectrum of biological activity, antimycotic activity.