

Антибактериальная активность галоген- и нитропроизводных бензимидазола в отношении *Bacillus subtilis*

*Р. С. БЕГУНОВ, Д. О. ЕГОРОВ, А. В. ЧЕТВЕРТАКОВА, Л. И. САВИНА, А. А. ЗУБИШИНА

Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, Ярославль, Россия

Antibacterial Activity of the Halogen- and Nitro Derivatives of Benzimidazole Against *Bacillus Subtilis*

*ROMAN S. BEGUNOV, DMITRIY O. EGOROV,
ANNA V. CHETVERTAKOVA, LUIZA I. SAVINA, ALLA A. ZUBISHINA

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

Резюме

Актуальность. Антибиотикорезистентность бактерий является серьёзной проблемой для современной медицины. Вследствие этого поиск новых соединений, обладающих выраженным антибактериальным эффектом, является актуальной задачей фармацевтической химии и смежных с ней наук. **Цель.** Оценка влияния структуры бензимидазола и его производных на их способность ингибировать рост грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*. **Материал и методы.** Антибактериальную активность диазгетероциклов оценивали методом серийных разведений в концентрации 0,06–1000 мкг/мл. В процессе исследования была определена минимальная подавляющая концентрация (МПК) производных бензимидазола в отношении *B. subtilis* ВКМ В-407. В качестве тестируемых соединений использовали галоген- и нитробензимидазолы, антибактериальный эффект которых сравнивали с антимикробной активностью бензимидазола. **Результаты.** Установлено противомикробное действие 12 производных бензимидазола. Наиболее выраженный ингибирующий эффект имели 2-трифторметилбензимидазолы, содержащие в фениленовом фрагменте атомы галогенов. Дигалогенпроизводные обладали большей антибактериальной активностью, чем соединения с одним атомом галогена в бензольном кольце. МПК наиболее активного вещества — 5,6-дибром-2-(трифторметил)бензимидазола составила 0,49 мкг/мл, что сопоставимо с действием коммерческого антибиотика тетрациклина. Эритромицин был в два раза менее эффективен по сравнению с данным веществом. **Заключение.** Полигалогенпроизводные бензимидазола являются перспективными соединениями для разработки новых антибактериальных препаратов в отношении грамположительных бактерий.

Ключевые слова: полифункциональные производные бензимидазола; антибактериальная активность; минимальная подавляющая концентрация; грамположительные бактерии; *Bacillus subtilis*

Для цитирования: Бегунов Р. С., Егоров Д. О., Четвертакова А. В., Савина Л. И., Зубишина А. А. Антибактериальная активность галоген- и нитропроизводных бензимидазола в отношении *Bacillus subtilis*. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 3–4: 19–24. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-19-24>.

Abstract

Background. Antibiotic resistance of bacteria is a serious concern for modern medicine. The search for new compounds with a pronounced antibacterial effect is an urgent task of pharmaceutical chemistry. **The aim of the study** was to assess influence of the structure of benzimidazole and its derivatives the ability to inhibit the growth of gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*. **Materials and methods.** Antibacterial activity of diazaheterocycles was evaluated by the method of serial dilutions. Concentrations from 0,06 to 1000 µg/l were used. The minimum inhibitory concentration (MIC) of benzimidazole derivatives against *Bacillus subtilis* BKM B-407 was determined. The antibacterial effect of the studied halogen- and nitrobenzimidazoles was compared with the antimicrobial activity of benzimidazole. **Results.** The antimicrobial activity of the 12 benzimidazole derivatives was established. 2-trifluoromethylbenzimidazoles containing halogen atoms in the phenylene fragment had the most pronounced inhibitory effect. The dihalogenated derivatives exhibited greater antibacterial activity than the compounds with one halogen atom in the benzene ring. 5,6-dibromo-2-(trifluoromethyl)benzimidazole was the most active compound with an MIC of 0.49 µg/mL, comparable to the commercial antibiotic tetracycline. The antibacterial activity of erythromycin is a half that of this substance. **Conclusions.** Polyhalogen derivatives of benzimidazole are promising compounds for the development of new antimicrobial drugs against Gram-positive bacteria.

Keywords: polyfunctional derivatives of benzimidazole; antibacterial activity; minimum inhibitory concentration; gram-positive bacteria; *Bacillus subtilis*

For citation: Begunov R. S., Egorov D. O., Chetvertakova A. V., Savina L. I., Zubishina A. A. Antibacterial activity of the halogen- and nitro derivatives of benzimidazole against *Bacillus Subtilis*. *Antibiotiki i Khimioter* = *Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 3–4: 19–24. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-19-24>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Советская, д.14, Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, г. Ярославль, Россия, 150003. E-mail: begunov@bio.uniyar.ac.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 14, Sovetskaya str., P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, 150003 Russia. E-mail: begunov@bio.uniyar.ac.ru

Введение

Перспективным классом органических соединений для разработки новых антибиотиков являются производные бензимидазола [1]. К действию бензимидазолов чувствительны такие патогены как метициллинорезистентный *Staphylococcus aureus* и ванкомицинорезистентные энтерококки [2–5]. Бензимидазолы могут быть использованы в комплексе с другими антибиотиками, что может значительно увеличить эффективность лечения [6]. Помимо этого, производные бензимидазола способны воздействовать непосредственно на вирулентные свойства бактерии, не вызывая явлений, связанных с антибиотикорезистентностью [7]. К тому же данные соединения обладают низкой токсичностью в отношении животных [1].

Проведённые нами ранее исследования показали, что эти гетероциклы достаточно эффективны против грамотрицательных бактерий [8]. Степень ингибирования роста бактерий определялась структурой бензимидазолов, т. е. наличием тех или иных заместителей в гетероциклическом ядре. В продолжение этих исследований было изучено влияние структуры бензимидазолов на их способность ингибировать рост грамположительной бактерии *Bacillus subtilis*. Особое внимание было уделено галогенпроизводным, т.к. известно, что наличие в бензимидазоле атомов галогенов усиливает биологическую, и в частности антимикробную, активность [9, 10].

В качестве тест-объекта был использован представитель рода *Bacillus* — *Bacillus subtilis* ВКМ В-407. Широко распространено мнение о том, что *B. subtilis* является непатогенной бактерией, которая используется в пищевой, сельскохозяйственной, фармацевтической и медицинской промышленности [11]. Отчасти, это действительно так. Однако в последнее время всё чаще появляется информация о проявлении некоторыми штаммами этого вида патогенности [12]. Исследователи указывают на обнаружение токсигенных культур *B. subtilis* в продуктах питания, таких как молоко и молочные продукты [13, 14]. Имеются данные, что выделенный из пищевых продуктов штамм *B. subtilis*, проявлял токсичность в отношении клеток животных и показал ингибирующий эффект в тесте на сперматозоидах хряков. В качестве фактора вирулентности был определён термостабильный токсин амилозин [15]. В работе Т. Е. Zhu и др. [16] показано, что коинфицирование *B. subtilis* и *Riemerella anatipestifer* приводило к повреждению печени и нарушению гематоэнцефалического барьера у 9-дневных утят, что вело к их смерти в 100% случаев. Помимо этого, доказано, что *B. subtilis* способен уклоняться от иммунной защиты рыб и мышей, опосредованной комплементом и фагоцитами [17].

К тому же среди бацилл существует множество резистентоваров по отношению к различным антибиотикам. Были обнаружены антибиотикорезистентные штаммы *B. subtilis*, выделенные из почвы, с поверхностей оборудования в медучреждениях, из ветеринарных и сельскохозяйственных пробиотических препаратов. Штаммы *B. subtilis* были устойчивы к действию хлорамфеникола, тетрациклина, гентамицина, амоксициллина, цефтриаксона, рифампицина, ампициллина, стрептомицина, спектиномицина, бета-лактамов антибиотиков, таким как меропенем, ряда производных цефалоспоринов I (цефазолин), II (цефуроксим), III (цефтриаксон, цефоперазон, цефтазидим) и IV (цефепим) поколений [18–22]. Повышенная антибиотикорезистентность штаммов бацилл в природных и антропогенных изолятах подчёркивает важность поиска новых антибактериальных препаратов.

В связи с вышеизложенным были проведены исследования по выбору перспективных соединений, которые могут быть использованы для разработки новых антибиотиков.

Цель работы — изучить влияние структуры производных бензимидазола на рост грамположительных бактерий *B. subtilis* ВКМ В-407.

Материал и методы

Бензимидазол и его производные. Для исследований использовались бензимидазол, его 2-алкильные производные и содержащие атомы галогенов или нитрогруппы бензимидазолы.

Синтез соединений 1, 2 и 4 проводили кипячением бензол-1,2-диамина в муравьиной (получение 1-Н-бензимидазола (1)), уксусной в присутствии HCl (получение 2-метил-1-Н-бензимидазола (2)), трифторуксусной (получение 2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (4)) кислот. 2-Бензил-1-Н-бензимидазол (4) был выделен экстракцией ацетоном из коммерческого препарата дибазол. Введение нитрогрупп и атомов галогенов в 2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол (4) осуществляли в ходе реакции ароматического электрофильного замещения в серной кислоте с нитрующей смесью $\text{KNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (получение 5-нитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (5) и 5,6-динитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (6)), с бромсукцинимидом (получение 5-бром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (8) и 5,6-дибром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (10)), с хлорсукцинимидом (получение 5-хлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (9) и 5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (11)). 5-Хлор-2-(трифторметил)-6-морфолин-4-ил-1-Н-бензимидазол (12) был получен замещением атома хлора в дигалогенпроизводном 10. Синтез N-арилзамещённых бензимидазолов 7 и 13 осуществляли при 110°C в реакции $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$ 2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (4) с 2,4-динитрохлорбензолом и 5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (11) с 2-нитро-4-(трифторметил)хлорбензолом, соответственно.

Штаммы и условия культивирования. Биологическую активность *in vitro* оценивали в отношении грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В-407. Штамм *B. subtilis* ВКМ В-407 выращивали на жидкой среде LB по Miller («ДиАМ», Россия) при 28°C.

Исследование антибактериальной активности. Противомикробную активность бензимидазолов оценивали с использованием метода серийных разведений [23] в отношении

планктонных форм *Bacillus subtilis* ВКМ В-407. Тестирование проводили в стерильных 96-луночных планшетах для иммунологических исследований в объёме 200 мкл с конечной концентрацией исследуемого микроорганизма примерно 10^6 КОЕ/мл. Раствор соединения готовили в ДМСО, конечная концентрация которого в среде не превышала 0,05%. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) была определена как концентрация тестируемого соединения, полностью подавляющая рост бактерий после 24 ч инкубации при 28°C. В качестве стандартного препарата сравнения использовали активные в отношении грамположительных микроорганизмов антибиотики тетрациклин-ЛекТ (ОАО «Тюменский химико-фармацевтический завод») и эритромицин (ОАО «Тюменский химико-фармацевтический завод»).

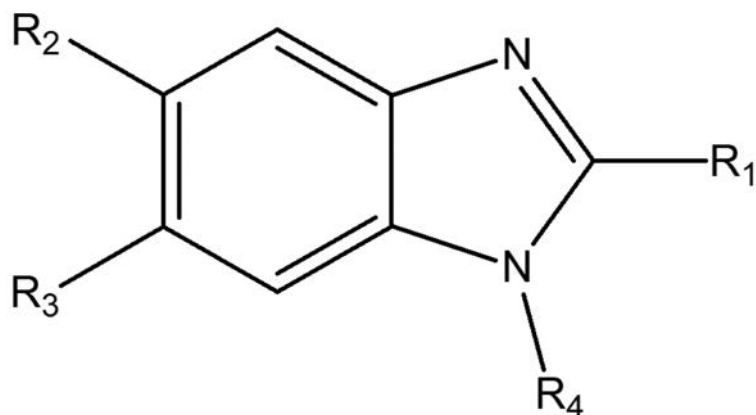
Плотность бактериальной суспензии определяли путём измерения оптической плотности при длине волны 595 нм с использованием планшетного фотометра iMark (Bio-Rad). Эксперименты проводились в 5-кратной повторности для каждого разведения потенциального антибактериального препарата. Все эксперименты проводились в 3 повторностях. В качестве контроля использовали суспензию бактерии в той же концентрации, что и для эксперимента, без добавления изучаемого вещества. Для оценки результатов каждого опыта была сделана поправка на оптическую плотность исследуемых соединений.

Математическая обработка данных. Статистическая обработка полученных в ходе эксперимента данных включала вычисление описательных статистик (среднее арифметическое, стандартная ошибка среднего). Для обнаружения статистически значимых различий между средними значениями признака в двух независимых выборках применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. В качестве критического уровня значимости было принято значение $p \leq 0,05$. Статистический анализ данных проводился при помощи программ Statistica (StatSoft Inc., США) и Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США).

Результаты и обсуждение

В ходе исследований использовали бензимидазолы, содержащие усиливающие бактерицидные свойства атомы галогенов и/или нитрогруппу часто встречающиеся в соединениях обладающих сильными бактерицидными свойствами [23, 24]. Для оценки влияния структуры гетероциклов на антимикробную активность применяли незамещённый бензимидазол и его 2-алкильные производные. Известно, что некоторые 2-метилбензимидазолы проявляли высокую антибактериальную активность в отношении различных грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Streptococcus mutans* [25]. Антимикробную активность исследуемых соединений оценивали в концентрации 0,06–1000 мкг/мл. Способность бензимидазолов ингибировать рост *Bacillus subtilis* ВКМ В-407 приведена в таблице.

Антибактериальная активность бензимидазола (1) и его производных (2–13) Antibacterial activity of benzimidazole(1) and its derivatives (2–13)



- 1) $R_1=R_2=R_3=R_4=H$;
- 2) $R_1=CH_3$, $R_2=R_3=R_4=H$;
- 3) $R_1=CH_2Ph$, $R_2=R_3=R_4=H$;
- 4) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=R_4=H$;
- 5) $R_1=CF_3$, $R_2=NO_2$, $R_3=R_4=H$;
- 6) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=NO_2$, $R_4=H$;
- 7) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=H$, $R_4=2,4-NO_2Ph$;
- 8) $R_1=CF_3$, $R_2=Br$, $R_3=R_4=H$;
- 9) $R_1=CF_3$, $R_2=Cl$, $R_3=R_4=H$;
- 10) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=Br$, $R_4=H$;
- 11) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=Cl$, $R_4=H$;
- 12) $R_1=CF_3$, $R_2=Cl$, $R_3=N(CH_2CH_2)_2O$, $R_4=H$;
- 13) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=Cl$, $R_4=2-NO_2-4-CF_3-Ph$.

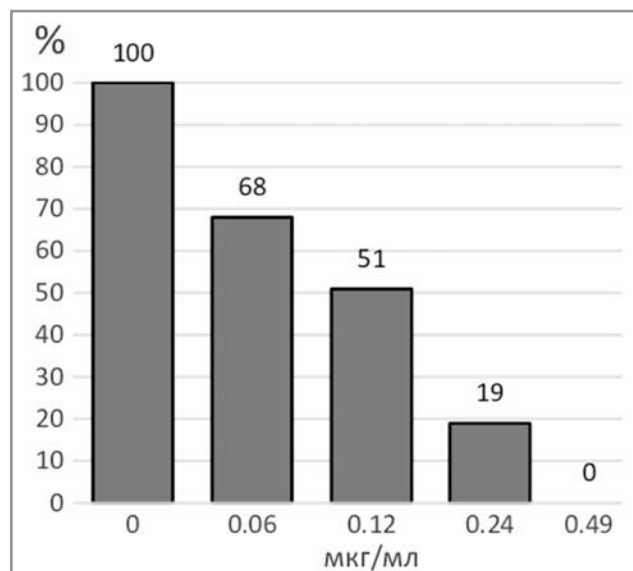
№ вещества	Название соединения	МПК, мкг/мл
1	1-Н-бензимидазол	>1000
2	2-метил-1Н-бензимидазол	>1000
3	2-бензил-1-Н-бензимидазол	>1000
4	2-(трифторметил)-1Н-бензимидазол	500
5	5-нитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	15,63
6	5,6-динитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	62,50
7	1-(2,4-динитрофенил)-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	31,25
8	5-бром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	7,81
9	5-хлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	7,81
10	5,6-дибром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	0,49
11	5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	0,98
12	5-хлор-2-(трифторметил)-6-морфолин-4-ил-1-Н-бензимидазол	500
13	5,6-дихлор-1-[2-нитро-4-(трифторметил)фенил]-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол	1000
	Эритромицин	0,98
	Тетрациклин	0,49

Бензимидазол (1) и его 2-алкилпроизводные (2 и 3) не обладали выраженными антибактериальными свойствами. Замена в метильной группе всех атомов водорода на фтор способствовала увеличению противомикробной активности соединения 4. Следует отметить, что трифторметильная группа является эффективным фармакофором [26, 27]. Поэтому в дальнейшем для разработки потенциальных антибактериальных препаратов были использованы нитро- и галогензамещённые производные 2-(трифторметил)-1Н-бензимидазола.

Содержащие нитрогруппу бензимидазолы (5–7) были намного более активны по сравнению с веществами 1–4 и имели диапазон значений МПК 15,63–62,50 мкг/мл. При этом бактерицидная активность нитросоединений зависела как от количества нитрогрупп, так и от их положения в молекуле. Наиболее эффективным являлся 5-нитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол (5). Введение второй нитрогруппы (соединения 6 и 7) увеличивало количество вещества, необходимого для полного ингибирования роста бактерий. Бензимидазол 7, содержащий две нитрогруппы в N-фенильном заместителе, был более активным по сравнению с соединением 6, в котором данные функциональные группы присутствовали в бензольном кольце гетероцикла. По-видимому, введение второй нитрогруппы в молекулу сильно увеличивало полярность вещества, что ухудшало его проникновение через клеточную мембрану.

Галогензамещённые соединения 8–11 обладали большим по сравнению с нитросоединениями 5–7 бактерицидным эффектом. Для них наблюдалась обратная закономерность — с увеличением количества атомов галогенов в бензимидазольном цикле бактерицидные свойства веществ усиливались. Так, 5-бром- (8) и 5-хлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол (9) имели значение МПК 7,81 мкг/мл, а для 5,6-дибром- (10) и 5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (11) это значение составило 0,49 и 0,98 мкг/мл, соответственно. Это, вероятно связано с тем, что введение нескольких атомов галогенов в молекулу не оказывало такого сильного влияния на полярность, как при увеличении количества нитрогрупп.

Следует отметить, что природа галогена в 5-галогензамещённых бензимидазолах 8 и 9 не влияла на их способность ингибировать рост бактерий, в то время как дибромпроизводное 10 было в 2 раза более активно, чем дихлораналог 11. Антибактериальное действие 5,6-дибром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (10) было сопоставимо с действием коммерческого препарата тетрациклина и в два раза превосходило эритромицин. Уже в концентрации данного вещества 0,06 мкг/мл наблюдалось 32% ингибирование роста *B.subtilis* (рисунок). При использовании рас-



Влияние различных концентраций 5,6-дибром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазола (10) на рост бактерии *B.subtilis* BKM B-407.

Примечание. МПК действующего вещества представлено в виде относительного значения (%) от контроля. За 100% была принята оптическая плотность культуры микроорганизмов без воздействия соединения 10.

Effect of various concentrations of 5,6-dibromo-2-(trifluoromethyl)-1-H-benzimidazole (10) on the growth of the bacterium *B.subtilis* BKM B-407.

Note. MIC of a compound (10) presented as a relative value (%) of the control. The optical density of the microorganism culture without exposure to compound (10) was taken as 100%.

творов 10 в концентрациях 0,12 и 0,24 мкг/мл происходило примерно в 2 и 5 раз уменьшение бактериального роста, соответственно.

Присутствие в бензимидазоле 11 вместо одного из атомов хлора фармакофора-морфолинового цикла (соединение 12) или введение 2-нитро-4-(трифторметил)фенильного фрагмента (соединение 13) сильно снижали антибактериальную активность веществ.

Таким образом, наличие в бензимидазоле нескольких атомов галогенов и отсутствие сильнополярных групп и объёмных заместителей способствовало проявлению производными бензимидазола сильного бактерицидного эффекта.

Заключение

Полученные результаты свидетельствовали о наличии у галоген- и нитропроизводных бензимидазола выраженной антибактериальной активности в отношении грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* BKM B-407. Галогенсодержащие бензимидазолы обладали большим ингибирующим рост бактерий эффектом по сравнению с нитропроизводными. С увеличением ко-

личества атомов галогенов в гетероцикле данный эффект усиливался. Сравнение результатов настоящего исследования с ранее полученными данными [8] позволяет сделать вывод о большей чувствительности грамположительных бактерий к действию бензимидазолов. Сделанный вывод хорошо согласуется с данными литературы [25]. В дальнейшем планируется проведение исследований по установлению молекулярных механизмов антибактериального действия соединений этого класса гетероциклов.

Литература/References

1. Brishty S.R., Hossain Md.J., Khandaker M.U., Faruque M.R.I., Osman H., Rahman S.M.A. A comprehensive account on recent progress in pharmacological activities of benzimidazole derivatives. *Front Pharmacol.* 2021;12: 762807. doi: 10.3389/fphar.2021.762807.
2. Jabłońska-Wawrzycka A., Rogala P., Czerwonka G., Galczyńska K., Drabik M., Dańczuk M. Ruthenium complexes with 2-pyridin-2-yl-1h-benzimidazole as potential antimicrobial agents: Correlation between chemical properties and anti-biofilm effects. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (18): 10113. doi: 10.3390/ijms221810113.
3. Sambanthamoorthy K., Gokhale A.A., Lao W., Parashar V., Neiditch M.B., Semmelhack M.F. et al. Identification of a novel benzimidazole that inhibits bacterial biofilm formation in a broad-spectrum manner. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55 (9): 4369–4378. doi: 10.1128/aac.00583-11.
4. Shrestha L., Kayama S., Sasaki M., Kato F., Hisatsune J., Tsuruda K. et al. Inhibitory effects of antibiofilm compound 1 against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbiol Immunol.* 2016; 60 (3): 148–159. doi: 10.1111/1348-0421.12359.
5. Zha G-F, Preetam H.D., Rangappa S., Sharath Kumar K.S., Girish Y.R., Rakesh K.P. et al. Benzimidazole analogues as efficient arsenals in war against methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its SAR studies. *Bioorg Chem.* 2021; 115: 105175. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105175.
6. Pennings L.J., Ruth M.M., Wertheim H.E.L., van Ingen J. The Benzimidazole SPR719 shows promising concentration-dependent activity and synergy against nontuberculous mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021; 65 (4): e02469–20. doi: 10.1128/aac.02469-20.
7. Starkey M., Lepine F, Maura D., Bandyopadhyaya A., Lesic B., He J. et al. Identification of anti-virulence compounds that disrupt quorum-sensing regulated acute and persistent pathogenicity. M. Whiteley (ed.). *PLoS Pathogens.* 2014; 10 (8): e1004321. doi: 10.1371/journal.ppat.1004321.
8. Зайцева Ю.В., Егоров Д.О., Бегунов Р.С., Хлопотинин А.И. Антибактериальная и антибиоплёночная активность полифункциональных производных бензимидазола. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7 (3): 134–141. doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.3.14>. [Zaitseva Yu.V., Egorov D.O., Begunov R.S., Khlopotinin A.I. Antibacterial and antibiofilm activity of polyfunctional benzimidazole derivatives. *Acta Biomedica Scientifica.* 2022; 7 (3): 134–141. doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.3.14>.
9. Andrzejewska M., Yépez-Mulia L., Cedillo-Rivera R., Tapia A., Vilpo L., Vilpo J. et al. Synthesis, antiprotozoal and anticancer activity of substituted 2-trifluoromethyl- and 2-pentafluoroethylbenzimidazoles. *Eur J Med Chem.* 2002; 37 (12): 973–978. doi: 10.1016/s0223-5234(02)01421-6.
10. Laudy A.E., Moo-Puc R., Cedillo-Rivera R., Kazmierczuk Z., Orzeszko A. Synthesis and antimicrobial activities of new polyhalogenated benzimidazoles. *J Heterocyclic Chem.* 2012; 49 (5): 1059–1065. doi: 10.1002/jhet.936.
11. Earl A.M., Losick R., Kolter R. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.* 2008;16 (6): 269–275. doi: 10.1016/j.tim.2008.03.004.
12. de Boer Sietske A., Diderichsen B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B.amyloliquefaciens*. a review. *App Microbiol Biotechnol.* 1991; 36 (1): 1–4. doi: 10.1007/bf00164689.
13. Moschonas G., Lianou A., Nychas G.E., Panagou E.Z. Spoilage potential of *Bacillus subtilis* in a neutral-pH dairy dessert. *Food Microbiol.* 2021; 95: 103715. doi: 10.1016/j.fm.2020.103715.
14. Pavic S., Brett M., Petric N., Lastre D., Smoljanovic M., Atkinson M. et al. An outbreak of food poisoning in a kindergarten caused by milk powder containing toxigenic *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. *Archiv für Lebensmittelhygiene.* 2005; 56 (1): 20–22.
15. Apetroae-Constantin C., Mikkola R., Andersson M.A., Teplova V., Suominen I., Johansson T. et al. *Bacillus subtilis* and *B.mojavensis* strains connected to food poisoning produce the heat stable toxin amyloisin. *J App Microbiol.* 2009; 106 (6): 1976–1985. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04167.x.
16. Zhu T.E., Chen F.F., Li J.C. A strain of pathogenic *Bacillus subtilis* results in brain damage in ducklings when co-infected with *Riemerella anatipestifer*. *Pol J Vet Sci.* 2017; 20 (4): 803–809. doi: 10.1515/pjvs-2017-0101.
17. Gu H., Li M., Sun L. A deep-sea pathogenic *Bacillus subtilis* isolate employs different strategies to escape the killing of teleost and murine complements. *Dev Comp Immunol.* 2021; 119: 104037. doi: 10.1016/j.dci.2021.104037.
18. Патент РФ на изобретение № RU 2509149 C1 от 10.03.2014. Иваненко А.А., Самойленко В.А., Пунтус И.Ф., Филонов А.Е. Штамм *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* ВКМ В-2711D, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и резистентностью к стрептомицину и тетрациклину. 2014. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2509149C1/ru>. Ссылка активна на: 16.12.2022. [Patent RUS № 2509149 C1/ 10.03.2014 *Bacillus subtilis* subsp. *Subtilis* strain having apparent antagonism in relation to *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and resistance to streptomycin and tetracycline. Dostupno po: <https://patents.google.com/patent/RU2509149C1/ru>. Ssylka aktivna na: 16.12.2022. (in Russian)]
19. Сизенцов А.Н., Блиялкина Д.К., Галактионова Л.В., Сальникова Е.В. Оценка резистентности штаммов *Bacillus subtilis* в отношении антибактериальных препаратов на примере амоксицилина и цефтриаксона. *Аграрная наука.* 2022; 1 (7–8): 74–79. doi: <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-74-79>. [Sizentsov A.N., Bliyalikina D.K., Galaktionova L.V., Salnikova E.V. Evaluation of resistance of isolated soil strains of *Bacillus subtilis* to antibacterial drugs on the example of amoxicillin and ceftriaxone. *Agrarian Science.* 2022; 1 (7–8): 74–79. doi: <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-74-79>. (in Russian)]
20. Еникеев Р.Р., Татарнинова Н.Ю., Захарчук Л.М. Механизмы устойчивости к клинически значимым антибиотикам штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из образцов, доставленных с международной космической станции. Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2020; 75 (4): 265–272. <https://vestnik-bio-msu.elpub.ru/jour/article/view/937>. [Yenikeev R.R., Tatarinova N.Y., Zakharchuk L.M. Mechanisms of resistance to clinically significant antibiotics of strains of bacteria of the genus *Bacillus* isolated from samples delivered from the International Space Station. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya.* 2020; 75 (4): 265–272. <https://vestnik-bio-msu.elpub.ru/jour/article/view/937>. (in Russian)]
21. Nwosu V.C. Antibiotic resistance with particular reference to soil micro-organisms. *Res Microbiol.* 2001; 152 (5): 421–430. doi: 10.1016/s0923-2508(01)01215-3.
22. Донкова Н.В., Донков С.А., Кадетова М.Ю. Изучение устойчивости к антибиотикам бактерий рода *Bacillus* методом серийных разведений. Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2019; 146 (5): 94–100. [Donkova N.V., Donkov S.A., Kadetova M.Y. Studying the stability to antibiotics of bacteria of the genus bacillus by serial breeding method. *Vestnik Krasnoyarskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta.* 2019; 5: 94–100. (in Russian)]
23. Cindrić M., Perić M., Kralj M., Martin-Kleiner I., David-Cordonnier M-H., Paljetak H.C. et al. Antibacterial and antiproliferative activity of novel 2-benzimidazolyl- and 2-benzothiazolyl-substituted benzo[b]thieno-2-carboxamides. *Mol Divers.* 2018; 22 (3): 637–646. doi: 10.1007/s11030-018-9822-7.
24. Starkey M., Lepine F, Maura D., Bandyopadhyaya A., Lesic B., He J. et al. Identification of anti-virulence compounds that disrupt quorum-sensing regulated acute and persistent pathogenicity. *PLoS Pathog.* 2014; 10 (8): e1004321. doi: 10.1371/journal.ppat.1004321.
25. Ansari K.F., Lal C. Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *Eur J Med Chem.* 2009; 44 (10): 4028–33. doi: 10.1016/j.ejmech.2009.04.037.

26. *Yale H.L.* The trifluoromethyl group in medical chemistry. *J Med Pharm Chem.* 1959; 1 (2): 121–133. doi: 10.1021/jm50003a001.
27. *Singh I., Al-Wahaibi L.H., Srivastava R., Prasad O., Pathak S.K., Kumar S. et al.* DFT study on the electronic properties, spectroscopic profile, and

biological activity of 2-Amino-5-trifluoromethyl-1,3,4-thiadiazole with anticancer properties. *ACS Omega.* 2020; 5 (46): 30073–30087. doi: 10.1021/acsomega.0c04474.

Информация об авторах

Бегунов Роман Сергеевич — к. х. н., доцент, доцент, Факультет биологии и экологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», Ярославль, Россия. ORCID: 0000-0002-4610-9744

Егоров Дмитрий Олегович — аспирант, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», Ярославль, Россия. ORCID: 0000-0001-9109-023X

Четвертакова Анна Васильевна — студентка, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», Ярославль, Россия

Савина Луиза Ильинична — студентка, факультет биологии и экологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», Ярославль, Россия

Зубишина Алла Александровна — к. б. н., доцент, Факультет биологии и экологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова», Ярославль, Россия. eLIBRARY SPIN-код: 3578-4588. AuthorID: 91911

About the authors

Roman S. Begunov — Ph. D. in Chemistry, Associate Professor, Associate Professor, Faculty of Biology and Ecology, P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia. ORCID: 0000-0002-4610-9744

Dmitry O. Egorov — Postgraduate Student, Faculty of Biology and Ecology, P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia. ORCID: 0000-0001-9109-023X

Anna V. Chetvertakova — Student, Faculty of Biology and Ecology, P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia

Savina Luisa Ilyinichna — Student, Faculty of Biology and Ecology, P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia

Zubishina Alla Aleksandrovna — Ph. D. in Biology, Associate Professor, Faculty of Biology and Ecology, P. G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia. eLibrary SPIN code: 3578-4588. AuthorID: 91911