

## ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО ПРОТИВОГРИБКОВОГО ПРЕПАРАТА АМФАМИД

И.Д. Трещалин, В.А. Голибродо, М.И. Трещалин, А.Н. Тевяшова, Э.Р. Переверзева

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»;  
Россия, 119021 Москва, ул. Большая Пироговская, 11, стр. 1

**Контакты:** Иван Дмитриевич Трещалин [idtivan@yandex.ru](mailto:idtivan@yandex.ru)

**Введение.** Амфотерицин В остается препаратом первого выбора в лечении большинства тяжелых системных грибковых инфекций. Однако он характеризуется очень низкой растворимостью и высокой токсичностью. В ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» («НИИНА») было получено полусинтетическое производное амфотерицина В — амфамид, имеющее ряд преимуществ перед амфотерицином в экспериментах *in vivo*.

**Цель исследования** — доклиническое изучение токсикологической безопасности лекарственной формы амфамида в хроническом эксперименте на крысах.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на крысах Wistar, самках и самцах. Амфамид в лекарственной форме вводили ежедневно внутривентрально в течение 30 дней в дозах, суммарно составляющих максимально переносимую дозу и  $LD_{50}$  (разовые дозы 0,07 и 0,17 мг/кг соответственно). В ходе исследования определяли массу тела, проводили клинический и биохимический анализ крови, анализ мочи, снимали электрокардиограмму. На 1-е и 30-е сутки по окончании курса животных подвергали эвтаназии. Определяли массовые коэффициенты сердца, печени, почек, селезенки и тимуса, проводили патоморфологическое исследование внутренних органов.

**Результаты.** Показано, что введение амфамида приводит к увеличению содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови, изменению состава мочи и увеличению ее удельного веса. При патоморфологическом исследовании найдены поврежденные структуры почек, печени, легких, желудка и семенников, интенсивность которых зависела от дозы препарата. У животных, получавших препарат в низкой дозе, структура этих органов к концу наблюдения полностью восстанавливалась. При использовании амфамида в высокой дозе найдены морфологические признаки токсической кардиомиопатии.

**Заключение.** Данные клинко-лабораторных исследований, подтвержденные результатами патоморфологического изучения структуры почек, свидетельствуют о том, что нефротоксичность является основным лимитирующим видом токсичности препарата. Изменения, возникающие под действием амфамида, зависят от величины примененной дозы и обратимы в течение месяца, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** амфамид, полиены, противогрибковый антибиотик, хроническая токсичность, крысы

**Для цитирования:** Трещалин И.Д., Голибродо В.А., Трещалин М.И. и др. Доклиническое изучение токсичности нового противогрибкового препарата амфамид. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(3):57–64.

DOI: 10.17650/1726-9784-2020-19-3-57-64



### PRECLINICAL TOXICITY STUDY OF THE NEW ANTIFUNGAL DRUG AMPHAMIDE

I.D. Treschalin, V.A. Golibrodov, M.I. Treschalin, A.N. Teyashova, E.R. Pereverzeva

Gause Institute of New Antibiotics; Bld. 1, 11 B. Pirogovskaya St., Moscow 119021, Russia

**Introduction.** Amphotericin B remains the drug of first choice in the treatment of most severe systemic fungal infections. However, it is characterized by very low solubility and high toxicity. Amphamide — semisynthetic derivative of Amphotericin B — have been prepared at the Gause Institute of New Antibiotics. It showed several advantages over amphotericin B *in vivo*.

**Objective.** The aim of the study was to investigate the toxicological safety of amphamide drug formulation in chronic experiment on rats.

**Materials and methods.** The study was performed in male and female Wistar rats. Amphamide drug formulation was injected intraperitoneally at the total doses of MTD and  $LD_{50}$  ( $30 \times 0,07$  mg/kg or  $30 \times 0,17$  mg/kg with 24-h interval). During the experiment body weight, hematological parameters, blood biochemical parameters, electrocardiography and urinalysis were performed. Animals were sacrificed on 1<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day after the end of treatment. At necropsy, the mass coefficients of heart, liver, kidneys, spleen and thymus were calculated. The internal organs were subjected to histological evaluation.

**Results.** It has been shown that the treatment with total dose of amphamide produces an increase of urea and creatinine level in serum, changes in urine composition and its specific gravity. Microscopic pathology observation showed dose-dependent structure abnormalities in kidneys, liver, lungs, stomach, and testes. Multiple administration of low dose of the drug produces transient toxic effects completely reversible within 30 days. When amphamide was used in a high dose, morphological signs of toxic cardiomyopathy were found.

**Conclusion.** The results of the clinical and laboratory studies and microscopic pathology observation of kidneys demonstrate that nephrotoxicity is the main limiting type of drug toxicity. Dose dependence and reversibility within a month of toxic effects of amphotericin allows us to recommend it to further advance.

**Key words:** amphotericin, polyenes, antifungal antibiotic, chronic toxicity, rats

**For citation:** Treschalin I.D., Golibrodo V.A., Treschalin M.I. et al. Preclinical toxicity study of the new antifungal drug amphotericin. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19(3):57–64. (In Russ.).

## Введение

Амфотерицин В (АмВ) остается незаменимым препаратом для лечения тяжелых системных грибковых инфекций. Открытый в 50-х годах прошлого века, он до сих пор является «золотым стандартом» при лечении системных микозов [1].

Как и все полиеновые антибиотики, АмВ характеризуется очень низкой растворимостью, поэтому при создании лекарственных форм (ЛФ) для парентерального введения часто используют солюбилизующие агенты [2]. Терапия АмВ сопровождается значительными нежелательными эффектами [3, 4]. Приблизительно у 80 % пациентов возникают различные острые побочные реакции (температура, рвота, головная боль), у 30 % – тяжелые нарушения функции почек [5, 6]. С целью преодоления этих недостатков в 90-е годы XX в. был инициирован поиск новых аналогов с высокой растворимостью и антифунгальной активностью, проведены интенсивные исследования по разработке новых ЛФ (липосом, эмульсий, наночастиц) [7]. В результате были созданы такие инновационные продукты, как АмВ-липидные комплексы, липосомальные препараты, коллоидные суспензии и др. По биодоступности липосомальные ЛФ, в частности амбисом, значительно превосходят эмульсии или коллоидные суспензии. Они позволяют применять высокие (выше в 5 раз и более) дозы по сравнению с раствором АмВ без индукции тяжелых побочных эффектов и в настоящее время являются препаратами первого выбора [8]. Однако высокая стоимость лечения не позволяет их использовать широко [9]. К тому же существуют ограничения по времени и условиям хранения, сложности при стерилизации. Все это заставляет продолжать поиски оптимальных производных АмВ. Важность этого препарата сохраняется еще и потому, что случаи формирования лекарственной устойчивости к АмВ регистрируются крайне редко [10].

В ФГБНУ «НИИНА» разработаны методы химической трансформации полиеновых антибиотиков. Получены серии полусинтетических аналогов, изучена их биологическая активность [11]. Среди новых соединений, перспективных для дальнейшего изучения, было отобрано полусинтетическое производное N-(2-аминоэтил)амид амфотерицина В

(амфамид), проявившее ряд преимуществ перед амфотерицином в экспериментах *in vivo* [11].

**Цель исследования** – изучение хронической токсичности амфамида на крысах.

## Материалы и методы

Работа выполнена в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей [12].

Исследование проведено на 60 крысах Wistar (30 самцах и 30 самках) массой 150–170 г, полученных из питомника РАН «Андреевка». Животных содержали в условиях вивария ФГБНУ «НИИНА» на стандартном рационе гранулированных кормов со свободным доступом к питьевой воде. После 2-недельного карантина было сформировано 6 групп животных (по 3 группы самцов и самок) по 10 особей.

В работе использован препарат амфамид в ЛФ, представляющей собой лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения. Действующее вещество: L-глутамат N-(2-аминоэтил)амида амфотерицина В (2 мг в расчете на основание амфамида); вспомогательные вещества: 2-(гидроксипропил)- $\beta$ -циклодекстрин (10 мг), производитель ФГБНУ «НИИНА», Россия.

Выбор доз для исследования был основан на результатах, полученных при изучении острой токсичности препарата [11]. Лиюфилизат растворяли в 5 % растворе глюкозы и в 1 % концентрации вводили внутривенно ежедневно в течение 30 дней с интервалом 24 ч в разовых дозах 0,07 (1/30 максимально-переносимой дозы (МПД)) и 0,17 мг/кг (1/30 ЛД<sub>50</sub>). Курсовые дозы составили соответственно 2,1 и 5,1 мг/кг. Наблюдение продолжали в течение 30 сут после прекращения введений препарата.

Оценку токсического воздействия амфамида на структуру и функцию органов и тканей животных осуществляли в соответствии с правилами экспериментального изучения фармакологических веществ [13]. На протяжении всего эксперимента наблюдали за состоянием и поведением животных, определяли их массу тела, производили исследование состава периферической крови (лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты, лейкоформула, гематокрит)

при помощи автоматического гематологического анализатора “Abacus Junior Vet” (Diatron, Австрия). С использованием автоматического биохимического анализатора “ChemWell” (Awareness Technology Inc., США) на 1-е и 30-е сутки после окончания курса введений препарата в сыворотке крови определяли уровни аланиновой и аспарагиновой аминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинина, мочевины, билирубина (прямого и общего), общего белка, альбумина и глюкозы. В эти же сроки полуколичественным методом производили клинический анализ мочи (рН, лейкоциты, эритроциты, кетоновые тела, белок, уробилиноген, удельный вес, глюкоза, нитраты) при помощи автоматического анализатора мочи “Laura Smart” (Erba Lachema, Чехия) и регистрировали электрокардиограмму во 2-м стандартном отведении (электрокардиограф «ЭК1Т-07» (Аксион, Россия)).

На 1-е и 30-е сутки после проведения курса половину животных из каждой группы подвергали эвтаназии. Сердце, печень, почку, селезенку и тимус взвешивали и определяли их массовые коэффициенты. Для патоморфологического исследования участки органов и тканей фиксировали в 10 % нейтральном формалине, по стандартной методике за-

ливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Результаты обрабатывали статистически при помощи компьютерной программы StatPlus 2006 Professional 3.8.0 с применением *t*-критерия Стьюдента. Различия определяли как достоверные при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

На протяжении эксперимента отклонений в состоянии и поведении животных подопытных групп не отмечено. Крысы хорошо переносили введение препарата, нормально прибавляли в массу тела. Гематологические показатели оставались в пределах физиологической нормы. Признаков анемии, лейкопении, тромбоцитопении, характерных как для конвенционального АмВ, так и для липосомальных ЛФ [7, 14], обнаружено не было.

При исследовании биохимических показателей сыворотки крови на 1-е сутки после окончания курса введений амфамида в обеих изученных дозах и у самцов, и у самок было отмечено повышение уровня креатинина и мочевины (табл. 1). У животных, получавших препарат в высокой дозе, достоверно повышенный уровень креатинина сохранялся до 30 сут после окончания курса введений.

**Таблица 1.** Содержание креатинина и мочевины в сыворотке крови крыс после курса введений амфамида

**Table 1.** Creatinine and blood urea nitrogen (BUN) in the blood serum of rats post treatment using amphetamine formulation

Группа Group	Самцы Males		Самки Females	
	Креатинин, мкмоль/л Creatinine $\mu\text{mol/l M} \pm m$	Мочевина, мкмоль/л Urea $\mu\text{mol/l M} \pm m$	Креатинин, мкмоль/л Creatinine $\mu\text{mol/l M} \pm m$	Мочевина, мкмоль/л Urea $\mu\text{mol/l M} \pm m$
<b>1-е сутки после курса</b> 1 <sup>st</sup> day after the course				
Контроль Control	80,30 $\pm$ 12,09	7,32 $\pm$ 1,19	85,84 $\pm$ 9,66	7,36 $\pm$ 0,69
1/30 МПД $\times$ 30/24 1/30 MTD $\times$ 30/24	114,84 $\pm$ 5,27*	9,74 $\pm$ 0,25*	119,96 $\pm$ 8,10*	9,78 $\pm$ 0,58*
1/30 ЛД <sub>50</sub> $\times$ 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> $\times$ 30/24	156,22 $\pm$ 11,25*	10,30 $\pm$ 0,37*	135,06 $\pm$ 9,96*	10,62 $\pm$ 0,54*
<b>30-е сутки после курса</b> 30 <sup>th</sup> day after the course				
Контроль Control	92,46 $\pm$ 7,83	7,86 $\pm$ 0,20	80,96 $\pm$ 5,48	7,70 $\pm$ 0,21
1/30 МПД $\times$ 30/24 1/30 MTD $\times$ 30/24	94,36 $\pm$ 10,27	7,30 $\pm$ 0,66	95,56 $\pm$ 8,33	7,16 $\pm$ 0,88
1/30 ЛД <sub>50</sub> $\times$ 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> $\times$ 30/24	101,16 $\pm$ 3,59*	7,06 $\pm$ 0,98	109,94 $\pm$ 8,30*	7,06 $\pm$ 1,00

\*Различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

**Примечание.** Здесь и в табл. 2, 3: М — среднее значение; m — стандартное отклонение; МПД — максимально-переносимая доза; ЛД<sub>50</sub> — доза половинной выживаемости, среднесмертельная доза.

\*Differences with the control are significant at  $p \leq 0,05$ .

**Note.** Here and in tables 2, 3: M — average value; m — standard deviation; MTD — maximum-tolerated dose; LD<sub>50</sub> — lethal dose 50.

При исследовании состава мочи на 1-е сутки по окончании курса введений амфамида в высокой дозе у самцов и самок были зарегистрированы повышение уровня уробилиногена, белка, нитратов и удельного веса, появление кетоновых тел. Кроме того, независимо от величины примененной дозы у самок в моче были найдены лейкоциты и эритроциты. При применении препарата в низкой дозе у самок также было отмечено повышение уровня белка и удельного веса мочи (табл. 2). На 30-е сутки после окончания курса введений препарата различий между подопытными и контрольными группами не выявлено.

На 1-е сутки после окончания курса введений препарата в обеих изученных дозах и у самцов, и у самок было выявлено увеличение массовых коэффициентов почек. На 30-е сутки их значения не отличались от контроля (табл. 3).

Признаки нефротоксического действия препарата были обнаружены и при патоморфологическом исследовании. Курсовое введение амфамида приводило к развитию экстракапиллярного гломерулонефрита, который выражался в гиперплазии париетального эндотелия клубочков в виде полулуний, атрофии их капиллярной сети (рис. 1а, б), а также дистрофических, атрофических и деструктивных изменениях эпителия канальцев (рис. 1в). Масштаб патологиче-

ских изменений и скорость репарации зависели от величины примененной дозы препарата. Так, при применении амфамида в дозе, суммарно составляющей МПД, на 1-е сутки после курса были найдены единичные небольшие очаги некроза извитых канальцев. Утолщение париетального листка капсулы, очаговая деструкция капиллярной сети были отмечены в единичных клубочках юкстамедуллярной зоны. При введении амфамида в высокой дозе множественные изменения такого же характера обнаружены не только в юкстамедуллярной, но и в корковой зоне. На месте поврежденных дистальных канальцев формировались кисты.

К 30-м суткам по окончании курса введений у большинства животных, получавших амфамид в низкой дозе, структура почек не отличалась от контроля. У 2 самцов и 2 самок, получивших суммарно дозу, равную ЛД<sub>50</sub>, морфологических изменений тканей почек на этот срок наблюдения не найдено. У остальных в корковой и юкстамедуллярной зонах встречались единичные клубочки с фиброзированной капсулой или рубцующиеся клубочки и очаги некроза извитых канальцев в состоянии организации (рис. 1г).

Изучение патологических изменений внутренних органов крыс показало, что применение препарата в обеих дозах вызывает изменения тканей печени, легких, желудка и семенников. У животных, получавших

Таблица 2. Клинический анализ мочи крыс на 1-е сутки после курса введений амфамида

Table 2. Clinical analysis of rat urine post treatment using amphamide formulation

Группа Group	Эритроциты, ед/мкл Erythrocytes, u/μl	Лейкоциты, ед/мкл Leucocytes, u/μl	Уробилиноген, мкмоль/л Urobilinogen, μmol/l	Кетоны, ммоль/л Ketones, mmol/l	Нитраты Nitrates	Белок, % Protein, %	Удельный вес, г/л Specific gravity, g/l
<b>Самцы</b> Males							
Контроль Control	—	—	—	—	—	0–0,3	1,020–1,024
1/30 МПД × 30/24 1/30 MTD × 30/24	—	—	—	—	—	0–0,3	1,021–1,022
1/30 ЛД <sub>50</sub> × 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> × 30/24	—	—	10–17*	0–0,05*	+	0,3–0,5*	1,025–1,030*
<b>Самки</b> Females							
Контроль Control	—	—	—	—	—	0–0,3	1,024–1,026
1/30 МПД × 30/24 1/30 MTD × 30/24	0–10	0–10	—	—	—	0,3–0,5*	1,027–1,030*
1/30 ЛД <sub>50</sub> × 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> × 30/24	0–10	10–15	10–17*	0–0,07*	+	0,5–0,7*	1,028–1,031*

\*Значение превышает контроль.

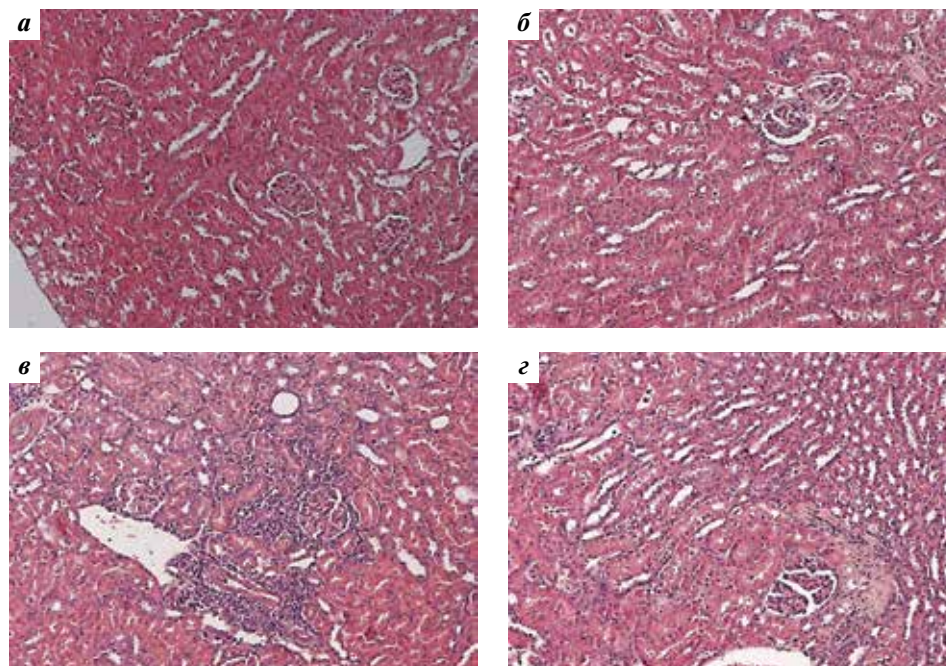
\*Value is greater than the control.



Таблица 3. Массовые коэффициенты почек крыс после курса введений амфамида

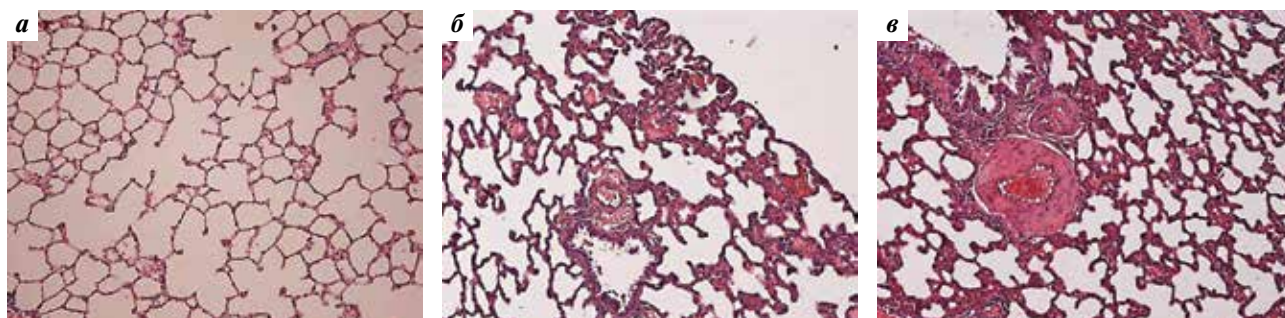
Table 3. Weight indices of rat kidneys post treatment using amphetamine formulation

Группа Group	Массовый коэффициент почки (M ± m) Kidney mass coefficient (M ± m)	
	1-е сутки после курса 1 <sup>st</sup> day after the course	30-е сутки после курса 30 <sup>th</sup> day after the course
<b>Самцы</b> Males		
Контроль Control	0,22 ± 0,02	0,23 ± 0,04
1/30 МПД × 30/24 1/30 MTD × 30/24	0,28 ± 0,03*	0,23 ± 0,02
1/30 ЛД <sub>50</sub> × 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> × 30/24	0,29 ± 0,01*	0,24 ± 0,01
<b>Самки</b> Females		
Контроль Control	0,24 ± 0,02	0,25 ± 0,01
1/30 МПД × 30/24 1/30 MTD × 30/24	0,27 ± 0,0*	0,26 ± 0,02
1/30 ЛД <sub>50</sub> × 30/24 1/30 LD <sub>50</sub> × 30/24	0,29 ± 0,02*	0,26 ± 0,02

\*Различия с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .\*Differences with the control are significant at  $p \leq 0.05$ .

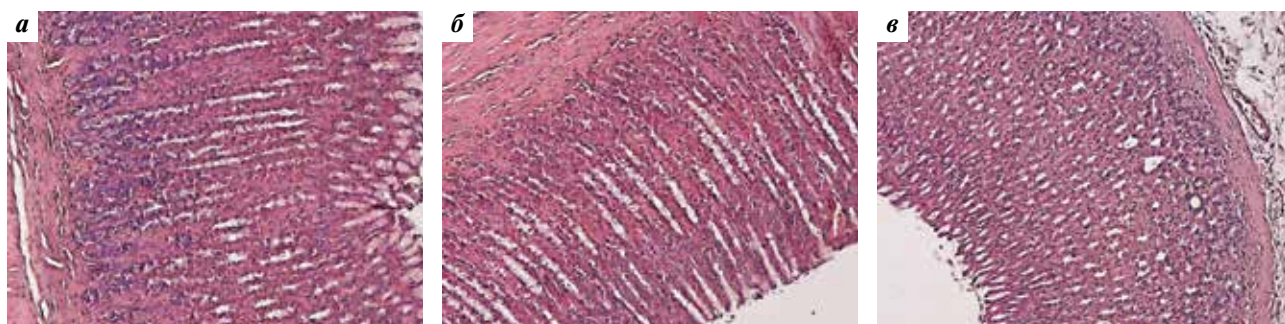
**Рис. 1.** Почки крысы: а — контроль; б — амфамид, 0,17 мг/кг × 30; 1-е сутки после курса; в клубочке утолщение париетального листка капсулы в виде полулуния, атрофия капиллярной сети; в — амфамид, 0,17 мг/кг × 30; 1-е сутки после курса; очаги некроза извитых канальцев вокруг сосуда и клубочков, кисты; г — амфамид, 0,17 мг/кг × 30; 30-е сутки после курса; очаг некроза канальцев в стадии организации; фиброз капсулы клубочка и капиллярных петель; окраска гематоксилин-эозином. ×200

**Fig. 1.** Rat kidney: а — control; б — amphetamine, 30 × 0,17 mg/kg/day; 1 day post treatment; thickening of the parietal leaf of the glomerulus capsule in the form of a half moon, atrophy of the capillary network; в — amphetamine, 30 × 0,17 mg/kg/day; 1 day post treatment; necrotic foci of convoluted tubules around blood vessels and glomeruli, cysts; г — amphetamine, 30 × 0,17 mg/kg/day; 30 day post treatment; the focus of tubal necrosis in the stage of organization; fibrosis of the glomerular capsule and capillary loops; staining with haematoxylin-eosin. ×200



**Рис. 2.** Легкое крысы: а — контроль; б — амфамид, 0,07 мг/кг  $\times$  30; 1-е сутки после курса; полнокровие капилляров альвеолярных перегородок, стаз крови в венах; в — амфамид, 0,17 мг/кг  $\times$  30; 1-е сутки после курса; резкая гипертрофия мышечной оболочки крупной артерии; окраска гематоксилин-эозином.  $\times$ 200

**Fig. 2.** Rat lung: а — control; б — amphamide, 30  $\times$  0,07 mg/kg/day; 1 day post treatment; congested alveolar capillaries, blood stasis in the venules; в — amphamide, 30  $\times$  0,17 mg/kg/day; 1 day post treatment; pronounced thickening of the medial layer of arteriolar wall; staining with haematoxylin-eosin.  $\times$ 200



**Рис. 3.** Желудок крысы: а — контроль; б — амфамид, 0,17 мг/кг  $\times$  30; 1-е сутки после курса; преобладание обкладочных клеток в области дна желез, активация их функции в области тела; в — амфамид, 0,17 мг/кг  $\times$  30; 30-е сутки после курса; единичные кисты в области тела желез; окраска гематоксилин-эозином.  $\times$ 200

**Fig. 3.** Rat stomach: а — control; б — amphamide, 30  $\times$  0,17 mg/kg/day; 1 day post treatment; prevalence of the parietal cells in the bottom of the gastric glands, activation of their function in the body of the gastric glands; в — amphamide, 30  $\times$  0,17 mg/kg/day; 30 day post treatment; single cysts in the body of the gastric glands; staining with haematoxylin-eosin.  $\times$ 200

препарат в курсовой дозе, составляющей МПД, структура печени, слизистой оболочки желудка, легкого и сперматогенного эпителия к концу наблюдения полностью восстанавливалась.

При использовании амфамида в курсовой дозе, равной ЛД<sub>50</sub>, у части крыс сразу после курса введений были найдены мелкие очаги отека и токсической кардиомиопатии. К концу эксперимента эти явления нарастали и наблюдались уже у всех животных.

Гепатотоксические свойства амфамида морфологически проявлялись в виде очаговых дистрофических и деструктивных изменений гепатоцитов. При применении амфамида в дозе, суммарно составляющей ЛД<sub>50</sub>, у отдельных животных на 30-е сутки после курса были обнаружены единичные мелкие очаги микронекроза с признаками организации.

У крыс, получавших амфамид в обеих изученных дозах, в легком были выявлены полнокровие капилляров альвеолярных перегородок, стаз крови в сосудах малого калибра (рис. 2а, б), а при использовании высокой дозы препарата еще и резкая гипертрофия меди крупн

являются морфологическим признаком артериальной гипертонии, которая может быть следствием повреждающего воздействия амфамида на структуру почек.

При курсовом введении амфамида в низкой дозе изменения структуры слизистой оболочки желудка были связаны, главным образом, с транзиторной активацией функции главных клеток. Использование препарата в высокой дозе приводило к уменьшению числа главных клеток в области дна желез, активации функции обкладочных клеток в области тела желез (рис. 3а, б), а на отдельных участках и к деструкции эпителия желез с образованием кист. Через месяц после курса в слизистой оболочке желудка были найдены единичные кисты (рис. 3в). В остальном ее структура практически не отличалась от контроля.

Применение амфамида в суммарной дозе, равной ЛД<sub>50</sub>, приводило к дисконфлексации сперматогенного эпителия в значительной части канальцев. К концу эксперимента у большинства животных структура органа восстанавливалась. Лишь у отдельных животных в единичных канальцах все еще можно было обнаружить незрелые клетки.



Таким образом, основным лимитирующим видом токсичности амфамида, также как и АмВ, является нефротоксичность. Клиническая и морфологическая картина повреждения почек при его применении практически такая же, как при использовании АмВ, поэтому можно предположить, что механизм нефротоксичности этих препаратов идентичен и определяется как сродством к холестерину, так и способностью резко снижать скорость клубочковой фильтрации за счет вазоконстрикции [15, 16].

Как и АмВ, амфамид обладает гепатотоксическими свойствами, но если введение АмВ приводит к нарушениям функции печени [4], то амфамид в переносимой дозе вызывает минимальные морфологические изменения этого органа, полностью обратимые в течение месяца.

Внутривенная инфузия АмВ часто сопровождается резким снижением уровня калия в крови, что приводит к изменениям функции сердца (гипертензии, гипотензии, брадикардии, вентрикулярной аритмии) [17]. В наших экспериментах на крысах эти явления обнаружены не были, однако при патоморфологическом исследовании миокарда установлено, что при введении препарата в курсовой дозе, равной ЛД<sub>50</sub>, у животных развивается токсическая кардиомиопатия. В литературе, посвященной исследованиям побочного действия АмВ, описаны еди-

ничные случаи токсической кардиомиопатии у пациентов, длительно получавших препарат [4].

Поскольку изменения структуры внутренних органов крыс, возникающие под действием амфамида, зависят от величины примененной дозы и в большинстве случаев обратимы в течение 30 сут, препарат можно рекомендовать для дальнейшего изучения.

### Выводы

Применение амфамида в изученных дозах не оказывает влияния на клинико-лабораторные показатели функции органов и систем крыс, за исключением тех, которые характеризуют функцию почек.

Нефротоксичность является лимитирующим видом токсичности амфамида, что подтверждается как клинико-лабораторным, так и патоморфологическим исследованием. Степень ее проявления и обратимость токсического действия зависят от величины примененной дозы препарата.

Применение препарата приводит к повреждению структуры печени, легкого, семенников и желудка. У животных, получавших амфамид в дозе, суммарно составляющей МПД, морфологическое строение этих органов полностью восстанавливается через месяц после курса.

Кардиотоксические свойства амфамида проявляются только морфологически при введении препарата в высокой дозе.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Anderson C.M. Sodium chloride treatment of amphotericin B nephrotoxicity – standard of care? *West J Med* 1995;162(4):313–7. PMID: 7747495.
- Plumb D.C. *Veterinary Drug Handbook*. PharmaVet. Publishing, White Bear Lake, USA, 1999. 853 p.
- Johnson R.H., Einstein H.E. Amphotericin B and coccidioidomycosis. *Ann NY Acad Sci* 2007;1111:434–41. DOI: 10.1196/annals.1406.019.
- Laniado-Laborin R., Cabrales-Vargas M.N. Amphotericin B: side effects and toxicity. *Rev Iberoam Micol* 2009;26(4):223–7. DOI: 10.1016/j.riam.2009.06.003.
- Ostrosky-Zeichner L., Marr K.A., Rex J.H., Cohen S.H. Amphotericin B: time for a new “gold standard”. *Clin Infect Dis* 2003;37:415–25. DOI: 10.1086/376634.
- Sawaya B.P., Briggs J.P., Schnermann J. Amphotericin B nephrotoxicity: the adverse consequences of altered membrane properties. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:154–64. PMID: 7579079.
- Lemke A., Kiderlen A.F., Kayser O. Amphotericin B. *Applied Microbiol Biotechnol* 2005;68(2):151–62. DOI: 10.1007/s00253-005-1955-9.
- Hamill R.J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. *Drugs* 2013;73(9):919–34. DOI: 10.1007/s40265-013-0069-4.
- Borba H.H.L., Steimbach L.M., Riveros B.S. et al. Cost-effectiveness of amphotericin B formulations in the treatment of systemic fungal infections. *Mycoses* 2018;61(10):754–63. DOI: 10.1111/mic.12801.
- Kaur L., Abhijeet J.S.K. Safe and Effective Delivery of Amphotericin B: A Survey of Patents. *Recent Pat Nanotechnol* 2017;11(3):214–34. DOI: 10.2174/1872210511666170105130210.
- Tevyashova A. N., Bychkova E.N., Solovieva S.E. et al. Discovery of Amphamide, a Drug Candidate for the Second Generation of Polyene Antibiotics. *ACS Infect Dis* 2020;6:2029–44. <https://dx.doi.org/10.1021/acsinfectdis.0c00068>
- European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Council of Europe), ETS No. 123, 1986.
- Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М., 2008. [Guskova T.A. Drug toxicology. Moscow, 2008. (In Russ.)].
- Fielding R.M., Singer A.W., Wang L.H. et al. Relationship of pharmacokinetics and drug distribution in tissue to increased safety of amphotericin B colloidal dispersion in dogs. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36(2):299–307. DOI: 10.1128/aac.36.2.299.
- Fanos V., Cataldi L. Amphotericin B-induced nephrotoxicity: A review. *J Chemother* 2000;12(6):463–70. DOI: 10.1179/joc.2000.12.6.463.
- Sabra R., Takahashi K., Branch R.A., Badr K.F. Mechanisms of amphotericin B induced reduction of the glomerular filtration rate: a micropuncture study. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;253:34–7. PMID: 2329517.
- Danaher P.J., Cao M.K., Anstead G.M., Matthew J. et al. Reversible dilated cardiomyopathy related to amphotericin B therapy. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:115–7. DOI: 10.1093/jac/dkg472.

**Вклад авторов**

И.Д. Трещалин: руководство доклиническими исследованиями препарата, анализ полученных результатов, написание статьи;  
В.А. Голибродо: получение данных для анализа, введение препарата, исследование мочи, статистическая обработка данных;  
М.И. Трещалин: биохимическое исследование сыворотки крови, получение данных для анализа, статистическая обработка данных;  
А.Н. Тевяшова: разработка субстанции и лекарственной формы амфамида, наработка препарата для проведения исследования;  
Э.Р. Переверзева: патоморфологическое исследование внутренних органов животных, анализ полученных результатов, написание статьи.

**Authors contributions**

I.D. Treschalin: a guide to preclinical studies of the drug, analysis of the obtained results, writing an article;  
V.A. Golibrodo: receiving data for analysis, drug administration, urinalysis, statistical data processing;  
M.I. Treschalin: biochemical analysis of blood serum, hematological analysis of peripheral blood, data analysis, statistical data processing;  
A.N. Tevyashova: development of substances and drug formulation of amphetamine, production of the drug to conduct the study;  
E.R. Pereverzeva: pathomorphological evaluation of internal organs of animals, analysis of the results obtained, writing an article.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

И.Д. Трещалин / I.D. Treschalin: <https://orcid.org/0000-0001-7331-5490>  
В.А. Голибродо / V.A. Golibrodo: <https://orcid.org/0000-0001-8643-6427>  
М.И. Трещалин / M.I. Treschalin: <https://orcid.org/0000-0002-5652-8686>  
А.Н. Тевяшова / A.N. Tevyashova: <https://orcid.org/0000-0003-1091-1011>  
Э.Р. Переверзева / E.R. Pereverzeva: <https://orcid.org/0000-0001-7368-9695>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

Статья поступила: 18.06.2020. Принята в печать: 17.09.2020.

Article submitted: 18.06.2020. Accepted for publication: 17.09.2020.