

Антиаритмическое лекарственное средство амфедазол: изучение токсикокинетических параметров и путей биотрансформации *in vivo*

Л.А. Смирнова¹ , А.А. Спасов¹ , Н.А. Гурова¹ , Е.С. Рудаскова¹ , О.Н. Жуковская² ,
А.С. Морковник² 

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пл. Павших Борцов, д. 1, г. Волгоград, 400066, Российская Федерация

² Научно-исследовательский институт физической и органической химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», пр. Стачки, д. 194/2, г. Ростов-на-Дону, 344090, Российская Федерация

✉ Смирнова Людмила Андреевна liudmila.smirnova@volgmed.ru; smirlusi@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Разрабатываемый лекарственный препарат амфедазол, относящийся к классу производных бензимидазола, по антиаритмической активности при суправентрикулярных нарушениях ритма превосходит хинидин, новокаинамид, этмозин, амиодарон. Амфедазол увеличивает эффективный рефрактерный период, влияет на трансмембранные ионные токи и увеличивает потенциал действия, увеличивает интервалы QT и QTc, оказывает также противоишемическое и противofiбрилляторное действие. В связи с чем проведение доклинических исследований данного соединения является перспективным.

ЦЕЛЬ. Изучить токсикокинетические свойства, биотрансформацию, взаимодействие с изоформами цитохрома P450 и экскрецию соединения амфедазол для формирования представления о токсических эффектах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Эксперименты по токсикокинетике выполнены на 119 белых половозрелых крысах-самцах стока Wistar (масса 225±25 г, возраст 4–5 месяцев) и 54 белых беспородных половозрелых мышах-самцах (масса 23±3 г, возраст 2–3 месяца). Амфедазол вводили внутривентрикулярно однократно в дозе 6 мг/кг (субтоксическая доза). Отбор проб крови, органов, тканей и экскретов производили в течение 172 ч. Количественное определение осуществляли на ВЭЖХ-хроматографе Shimadzu с ДМ-детектором. Прогноз возможных метаболитов амфедазола проводили в программе PALLAS (CompuDrug Chemistry Ltd.). Влияние амфедазола на систему ферментов биотрансформации изучали с использованием тест-субстратов гексobarбитал, мидазолам, алпрозолам и хлоралгидрат (дозы 1,7 и 6 мг/кг).

РЕЗУЛЬТАТЫ. При введении в субтоксической дозе амфедазол определяется в крови животных в течение 5 ч исследования с C_{max} через 30 мин после введения; $AUC=24,39$ мкг/мл×ч, $t_{1/2}=2,33$ ч. Амфедазол интенсивно распределяется в изученные органы и ткани и выводится преимущественно почками. Соединение подвергается биотрансформации предположительно через изоформу CYP3A. Амфедазол в субтоксической дозе выводится через почки, в меньшей степени — через кишечник за 72 ч.

ВЫВОДЫ. При изучении токсикокинетики амфедазола было установлено, что он обнаруживается в крови практически сразу после введения. Максимальная концентрация действующего вещества приходится на 30 мин, и к 5 ч его уровень снижается ниже порога количественного определения. Распределяется в печень, почки и сердце. При введении в субтоксической дозе амфедазол выводится за 72 ч в основном через почки.

Ключевые слова: амфедазол; антиаритмические средства; производные бензимидазола; токсикокинетика; фармакокинетика; биотрансформация лекарственных средств; цитохром P450; изоформа CYP3A; ВЭЖХ; *in silico* прогнозирование метаболизма; кардиопротекторное действие; доклинические исследования

Для цитирования: Смирнова Л.А., Спасов А.А., Гурова Н.А., Рудаскова Е.С., Жуковская О.Н., Морковник А.С. Антиаритмическое лекарственное средство амфедазол: изучение токсикокинетических параметров и путей биотрансформации *in vivo*. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2026. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2026-566>

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Спасов А.А. является членом редакционной коллегии журнала «Безопасность и риск фармакотерапии» с 2021 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Antiarrhythmic Drug Amfedazole: A Study of Toxicokinetic Parameters and Biotransformation Pathways *In Vivo*

Ludmila A. Smirnova^{1,✉} , Alexander A. Spasov¹ , Nataliya A. Gurova¹ , Elena S. Rudaskova¹ ,
Olga N. Zhukovskaya² , Anatolii S. Morkovnik² 

¹ Volgograd State Medical University,
1 Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd 400066, Russian Federation

² Scientific Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University,
194/2 Stachki Ave., Rostov-on-Don, 344090, Russian Federation

✉ Ludmila A. Smirnova liudmila.smirnova@volgmed.ru; smirlusi@yandex.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Amfedazole, which belongs to the class of benzimidazole derivatives, exceeds quinidine, novocainamide, etmozine, and amiodarone in terms of antiarrhythmic activity in supraventricular rhythm disorders. Amfedazole increases the effective refractory period, affects transmembrane ion currents and prolongs the action potential, prolongs the QT and QTc intervals, and also produces anti-ischemic and antifibrillatory effects. Thus, conducting preclinical studies of this compound is promising.

AIM. To study the toxicokinetic properties, biotransformation, interaction with cytochrome P450 isoforms, and excretion of amfedazole to gain insight into its toxic effects.

MATERIALS AND METHODS. Toxicokinetic experiments were performed on 119 adult male white Wistar rats weighing 225±25 g and aged 4–5 months, and 54 adult male white outbred mice weighing 23±3 g and aged 2–3 months. Amfedazole was administered intraperitoneally as a single dose of 6 mg/kg (subtoxic dose). Blood, organ, tissue, and excreta samples were collected over 172 hours. Quantitative analysis was performed using a Shimadzu high-performance liquid chromatography (HPLC) system with a diode matrix (DM) detector. The possible metabolites of amfedazole were predicted using the PALLAS program (CompuDrug Chemistry Ltd.). The effect of amfedazole on the biotransformation enzyme system was studied using the test substrates hexobarbital, midazolam, alprazolam, and chloral hydrate (doses of 1.7 and 6 mg/kg).

RESULTS. When administered as a subtoxic dose, amfedazole was detected in the animals' blood for up to 5 hours postdose, with $C_{\max}$ at 30 minutes after administration: $AUC=24.39 \mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$, $t_{1/2}=2.33 \text{ h}$. Amfedazole was extensively distributed into the studied organs and tissues and was excreted mainly via the kidneys. Amfedazole was biotransformed, presumably by the CYP3A isoenzyme. Amfedazole, administered at a subtoxic dose, was excreted mainly via the kidneys and, to a lesser extent, via the intestines within 72 hours.

CONCLUSIONS. The toxicokinetic study of amfedazole showed that it was detected in the blood almost immediately after administration. The peak concentration of the active substance was reached at 30 minutes, and by 5 hours its level decreased below the limit of quantification. Amfedazole was distributed into the liver, kidneys, and heart. Administered at a subtoxic dose, amfedazole was excreted within 72 hours, mainly via the kidneys.

Keywords: amfedazole; anti-arrhythmia agents; benzimidazoles; toxicokinetics; pharmacokinetics; drug biotransformation; cytochrome P-450; CYP3A isoenzyme; HPLC; *in silico* metabolism prediction; cardioprotective effect; preclinical research

For citation: Smirnova L.A., Spasov A.A., Gurova N.A., Rudaskova E.S., Zhukovskaya O.N., Morkovnik A.S. Antiarrhythmic drug amfedazole: A study of toxicokinetic parameters and biotransformation pathways *in vivo*. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2026. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2026-566>

Funding. The study was performed without external funding.

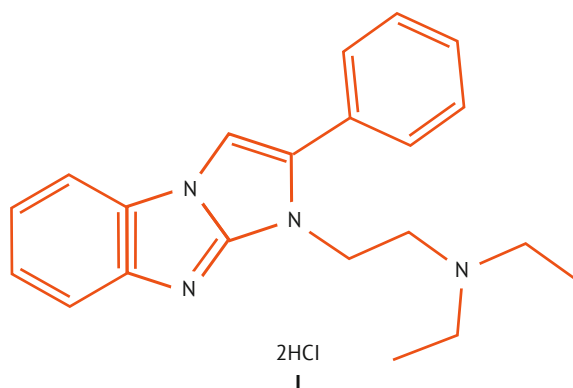
Disclosure. Alexander A. Spasov has been a member of the Editorial Board of *Safety and Risk of Pharmacotherapy* since 2021. The other authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Производные бензимидазола проявляют широкий спектр биологической активности и в мировой медицинской практике служат основой для множества лекарственных препаратов с разными видами действия [1–4]. В Волгоградском государственном медицинском университете на различных стадиях доклинических и клинических исследований находятся несколько перспективных молекул с различными видами активности, относящихся к классу производных имидазо(1,2-α)бензимидазола [5, 6].

N1-замещенные производные имидазо(1,2-α)бензимидазола по антиаритмической активности превосходят в 1,5–3 раза их изомерные N9-замещенные производные. Одним из таких N1-замещенных производных является разрабатываемый препарат амфедазол — 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-фенилпроизводное имидазо(1,2-α)бензимидазола (I). Это соединение *in vitro* снижает возбудимость изолированных предсердий, блокирует трансмембранные ионные токи калия; *in vivo* проявляет высокую антифибрилляторную активность при ишемических и неишемических нарушениях ритма сердца, повышает порог фибрилляций. Амфедазол по антиаритмической активности при суправентрикулярных нарушениях ритма превосходит хинидин, новокаинамид, этmozин, амиодарон и может быть отнесен к антиаритмическим препаратам III класса¹ [7].

Токсикокинетические исследования, являющиеся обязательной частью программы доклинических исследований новых соединений², направлены на выявление особенностей абсорбции, распределения, биотрансформации и выведения, что позволяет соотнести концен-



трацию или дозу с наблюдаемой токсичностью и определить механизм токсического действия соединения.

Цель работы — изучить токсикокинетические свойства, биотрансформацию, взаимодействие с изоформами цитохрома P450 и экскрецию соединения амфедазола для формирования представления о его токсических эффектах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в соответствии с требованиями руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств³.

Тест-система. Эксперименты по изучению токсикокинетики амфедазола выполнены на 119 белых половозрелых крысах-самцах стока Wistar массой 225±25 г, возраст 4–5 месяцев, и 54 белых беспородных половозрелых мышах-самцах массой 23±3 г, возраст 2–3 месяца (серия № 3/1-4); питомник — филиал «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских

¹ Гурова НА. Производные бензимидазолов — новый класс кардиопротекторных средств: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Волгоград; 2015.

² Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

Рекомендация Коллегии ЕЭК от 22.12.2020 № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов».

³ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. М.: Гриф и К; 2012.

технологий Федерального медико-биологического агентства России». Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии⁴ и этическими нормами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986)⁵ с учетом рекомендаций по размещению и уходу за животными (1997)⁶. Дизайн исследования и протокол одобрены Локальным независимым этическим комитетом ФГОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России (протокол от 15.12.2023 № 2023/208, рег. номер IRB 00005839, IORG 0004900 [ONRP]).

Животных содержали в стандартных условиях на «чистой» зоне вивария по 5 особей в клетке в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях⁷. Крысы и мыши получали сухой полнорационный экструдированный комбикорм для лабораторных животных (рецепт ПК-120, ГОСТ 34566-2019) и воду *ad libitum*. На момент проведения исследований животные были здоровыми, без изменений поведения, аппетита, режима сна и бодрствования. Все животные, включенные в исследование, достигли конечных точек. Случаев преждевременной смерти или исключения не зарегистрировано.

Исследуемое вещество. Амфедазол (лабораторный образец с лабораторным шифром РУ-353, серия 24/3 от 17.10.2023, срок годности не менее 5 лет) синтезирован в Научно-исследовательском институте физической и органической химии федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет».

Доза и путь и введения. На основании данных ранее проведенных исследований острой и хронической токсичности⁸ экспериментально установлена субтоксическая доза 6 мг/кг. Исследуемое соединение в субтоксической дозе вводили животным внутрибрюшинно в водном растворе.

Дизайн исследования

Токсикокинетическое исследование. Крыс-самцов ($n=55$) делили на 2 группы: контрольную группу, необходимую для определения хромотографического фона («эффект матрицы») биологических проб ($n=5$) и опытную группу ($n=50$). В опытной группе вводили внутрибрюшинно амфедазол в субтоксической дозе 6 мг/кг (в 3,5 раза превышающей терапевтическую), в контрольной группе — растворитель (дистиллированная вода) в аналогичном объеме. При токсикокинетическом исследовании амфедазола отбор проб крови, забор органов и тканей (сердце, печень и почки) производили через 5, 15, 30, 45 мин и 1, 3, 5, 7, 12 ч после введения исследуемого вещества ($n=5$ на каждый временной интервал). Для взятия проб крови, органов и тканей животных декапитировали. Отдельную группу животных ($n=5$) отсаживали в специальные метаболические камеры со свободным доступом к корму и воде для интервального отбора образцов мочи и кала через 3, 5, 7, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 172 ч после введения. Сравнение токсикокинетических параметров проводили с фармакокинетическими параметрами (доза 1,7 мг/кг), описанными в проведенных ранее исследованиях⁹.

Изучение биотрансформации. Гепатодуоденальную циркуляцию исследовали на 10 крысах-самцах. Для изучения экскреции амфедазола с желчью крыс наркотизировали хлоралгидратом внутрибрюшинно в дозе 400 мг/кг для проведения катетеризации желчного протока. В результате операции дренаж в виде петли выводили на кожу, а затем вводили в двенадцатиперстную кишку, тем самым сохранялось физиологическое поступление желчи в кишечник и не нарушалась гепатодуоденальная циркуляция эндогенных веществ. Через 72 ч после операции перед введением соединений петлю катетера разъединяли. Для сбора проб желчи использовали специальную емкость с отверстием в крышке для введения конца катетера, по которому поступает желчь из желчного протока. Животных помещали в метаболические камеры и производили отбор проб контрольной желчи. После внутрибрю-

⁴ Рекомендация Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

⁵ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. ETS № 123. Страсбург; 1986.

⁶ Рекомендации по размещению и уходу за животными. Статистические приложения и изменения к Приложению А Европейской конвенции ETS № 123. Страсбург; 1997.

⁷ Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

⁸ Гурова Н.А. Фармакотоксикологические свойства нового антиаритмического вещества, производного имидазобензимидазола: дис. ... канд. мед. наук. Волгоград; 1998.

⁹ Там же.

шинного введения раствора амфедазола взятие проб проводили интервально через 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60 и 72 ч.

Полученные пробы желчи, мочи и кала инкубировали с α -глюкуронидазой и арил-сульфатазой (Novus Biologicals, США) в 0,1М ацетатном буфере (рН 5,0) в течение 24 ч при температуре 37 °С. Щелочной гидролиз производили добавлением 5М раствора NaOH и инкубацией при 37 °С в течение 2 ч. Кислотный гидролиз производили добавлением 5М раствора HCl и инкубацией при 37 °С в течение 2 ч. В результате гидролизом возможные продукты биотрансформации, полученные путями окисления, восстановления и конъюгации, переходят в исходную химическую структуру. Протекание процессов биотрансформации подтверждается, таким образом, путем увеличения площади пика амфедазола или появлением дополнительных пиков на хроматограмме, которые не совпадают с пиком стандартного раствора амфедазола и с пиками матрицы.

Преаналитический и аналитический этапы. Экстракцию амфедазола производили ацетонитрилом из плазмы крови (антикоагулянт 5% цитрат натрия), а также из 20% водных гомогенатов органов, тканей и экскретов крыс при соотношении 1:2 по объему, а из проб мочи и желчи — при соотношении 1:4 по объему. Образцы встряхивали в течение 10 мин в ультразвуковой ванне для преципитации белков и центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин, после чего надосадочную жидкость отбирали и вводили в инжектор хроматографа с объемом петли 20 мкл. Степень извлечения амфедазола из биологических проб составила $95,64 \pm 3,99\%$.

Количественное определение исследуемого вещества осуществляли на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC 10–20 с диодно-матричным-детектором (Shimadzu, Япония). Определение проводили на колонке Supelco Analytical C18 (4×150 мм) (США), размер частиц 5 мкм, элюент состоит из 70% ацетонитрила и 30% ацетатного буфера 0,1М с рН 5,0. Скорость потока 0,5 мл/мин. Детектирование производили при длине волны 270 нм. Время удерживания — 21 мин. Порог количественного определения 100 нг/мл [8].

Валидация методики определения амфедазола в плазме крови крыс выполнена в соответ-

ствии с рекомендациями¹⁰ и включала в себя определение диапазона линейности, нижнего порога количественного определения, точности (правильность и прецизионность), определение междневных и внутривневных колебаний, влияние процесса заморозки и таяния биологической пробы.

Исследования *in silico*. Прогноз возможных метаболитов амфедазола и изменения физико-химических свойств в процессе биотрансформации проводили с помощью программы PALLAS (CompuDrug Chemistry Ltd., США). В качестве критериев оценки изменения физико-химических свойств были выбраны IgP (липофильность) и IgKa (характеристика кислотности/основности). Данные константы были выбраны как маркеры изменения физико-химических свойств продуктов биотрансформации по сравнению с исходной химической структурой, что необходимо для дальнейшей идентификации возможных метаболитов.

Изучение влияния на систему цитохрома P450. Для изучения влияния амфедазола на систему цитохрома P450 использовали тесты взаимодействия с гексобарбиталом (изоформы CYP2C9, CYP2B1 и CYP2B2), мидазолом (изоформы CYP3A1 и CYP2C) и алпразолом (изоформа CYP3A1).

Тест гексеналового сна использовали как общепринятый тест, позволяющий косвенно судить об активности монооксидазной системы печени. Тест хлоралгидратного сна использовали для изучения влияния амфедазола на вторую фазу биотрансформации, так как хлоралгидрат является тест-субстратом глюкуронилтрансферазы.

Для дифференциальной диагностики центрального (седативного или психостимулирующего) и метаболического действия исследуемого соединения проводили тест барбиталового сна¹¹, поскольку барбитал практически не подвергается биотрансформации в печени [9–11].

Эксперименты выполняли на 54 крысах-самцах (гексеналовый сон, хлоралгидратный сон) и 54 мышах-самцах (мидазоломальный сон, алпразоломальный сон). В каждой группе животных находилось по 6 особей. Три контрольные группы крыс получали гексобарбитал, или хлоралгидрат, или барбитал. Три контрольные группы мышей получали мидазолом, или алпразолом,

¹⁰ ICH Q2A. Text on validation of analytical procedures. ICH harmonised tripartite guideline. Geneva; 1994.

ICH Q2B. Validation of analytical procedure: methodology. ICH harmonised tripartite guideline. Geneva; 1996.

Bioanalytical method validation. Guidance for industry. FDA; 2018.

Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. EMA; 2011.

¹¹ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. М.: Гриф и К; 2012.

или барбитал. Опытные группы крыс (6 групп) и мышей (6 групп) получали амфедазол внутрибрюшинно в терапевтической дозе 1,7 мг/кг или в субтоксической дозе 6 мг/кг (в 3,5 раза превышающей терапевтическую), а через час после этого животным вводили тест-субстраты. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду в аналогичном объеме.

Субстанцию гексобарбитала натрия (Латвия) в виде водного раствора инъектировали внутрибрюшинно крысам в дозе 70 мг/кг. Субстанцию хлоралгидрата (Латвия) вводили крысам внутрибрюшинно в виде водного раствора в дозе 70 мг/кг. Алпрозолам (табл. по 0,001, Россия) вводили внутрибрюшинно мышам в виде суспензии на твине-85 в дозе 50 мг/кг, мидазолам (0,5% раствор в ампулах по 3 мл, Швейцария) — внутрибрюшинно мышам в дозе 80 мг/кг. Субстанцию барбитала натрия (Латвия) вводили и крысам и мышам внутрибрюшинно в дозе 250 мг/кг¹². Все тест-субстраты на момент проведения исследования соответствовали установленным срокам годности.

Длительность сна животных определяли по времени нахождения в боковом положении. По изменению продолжительности сна животных судили о наличии конкурентного метаболизма за определенные изоформы цитохрома P450 амфедазола с тест-субстратами.

Статистический анализ. Первичной конечной точкой являлась площадь под токсикокинетической кривой (AUC) амфедазола в плазме крови. Площадь под токсикокинетической кривой рассчитывали методом трапеций, оценку параметров проводили по формулам, представленным в рекомендациях по доклиническим исследованиям¹³. Статистическую обработку данных проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$). Данные имели нормальное распределение вероятности согласно критерию Шапиро-Уилка ($p \geq 0,05$). Токсикокинетические параметры рассчитывали в программе Microsoft Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Токсикокинетические исследования

При изучении токсикокинетической кривой вещества в крови установлено, что амфедазол

обнаруживается сразу после введения. Максимум концентрации составляет в среднем 12 мкг/мл. К 3 ч концентрация вещества в крови значительно снижается, а после 5 ч концентрация снижается ниже предела обнаружения (рис. 1).

При анализе токсикокинетических параметров (табл. 1) отмечено, что амфедазол при внутрибрюшинном введении в субтоксической дозе быстро всасывается и быстро выводится из организма крысы, о чем свидетельствуют параметры нахождения одной молекулы соединения в организме (MRT) и кажущийся клиренс (Cl), а также имеет короткий период полувыведения.

При анализе фармакокинетических параметров, полученных в ранее проведенных исследованиях¹⁴, и токсикокинетических параметров при одинаковом пути введения амфедазола в терапевтической и субтоксической дозах отмечено их увеличение пропорционально дозе (табл. 1). MRT увеличивается в 2 раза, что приводит к увеличению периода полувыведения $t_{1/2}$ в 3,5 раза. AUC увеличивается в 1,82 раза, что связано с наличием плато концентрации с 1 до 5 ч после введения амфедазола (рис. 1). Общий клиренс увеличивается примерно в 2 раза за счет увеличения внеренального клиренса в 7 раз при незначительном увеличении ренального клиренса. Внеренальный клиренс включает все пути выведения, кроме почечного, включая и метаболические превращения исходной химической структуры субстанции.

При анализе распределения амфедазола в организме установлено, что он определяется в сердце, печени и почках. В сердце, органе потенциального действия, соединение появляется через 0,5 ч после введения, максимальное содержание наблюдается через 0,75 ч. К 1 ч концентрация вещества значительно снижается. В печени максимальная концентрация приходится на 3 ч, затем концентрация постепенно снижается, и после 12 ч амфедазол в печени циркулирует на уровне порога определения. В почках соединение появляется через 0,5 ч, достигая максимального содержания к 0,75 ч. Через 3 ч после введения соединения его уровень в пробах почек снижается, а к 8 ч становится ниже порога обнаружения (рис. 2).

Оценка интенсивности проникновения соединения в ткани может быть получена путем

¹² Никитин НА. Поиск модуляторов монооксигеназной системы печени в ряду производных бензимидазола и ксантина: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа; 2002.

¹³ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. М.: Гриф и К; 2012.

¹⁴ Гурова НА. Фармакотоксикологические свойства нового антиаритмического вещества, производного имидазобензимидазола: дис. ... канд. мед. наук. Волгоград; 1998.

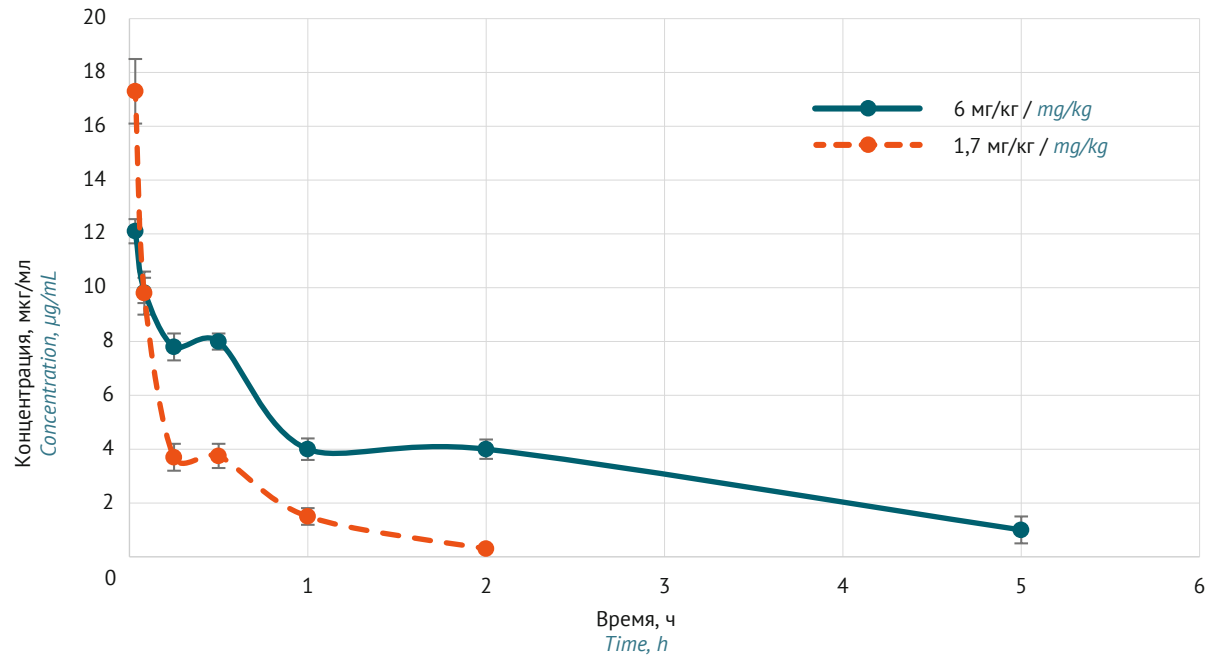


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рисунок 1. Содержание амфедазола в крови крыс при внутрибрюшинном введении в дозах 1,7 и 6 мг/кг

Figure 1. Concentration of amfedazole in rat blood after intraperitoneal administration at doses of 1.7 and 6 mg/kg

вычисления тканевой биодоступности (F_t). Амфедазол характеризуется интенсивным распределением в ткани органа-мишени и органов, ответственных за выведение (табл. 2).

В ранее проведенных исследованиях при внутрибрюшинном введении в течение месяца вещество оказывало действие на функциональную активность печени и почек, причем

Таблица 1. Фармако- и токсикокинетические параметры амфедазола при внутрибрюшинном введении крысам в дозах 1,7 и 6 мг/кг

Table 1. Pharmacokinetic and toxicokinetic parameters of amfedazole after intraperitoneal administration to rats at doses of 1.7 and 6 mg/kg

Параметры <i>Parameters</i>	Доза, мг/кг <i>Dose, mg/kg</i>	
	1,7	6
AUC, мкг/мл×ч / $\mu\text{g/mL}\times\text{h}$	13,40	24,39
$t_{1/2}$, ч / h	0,64	2,33
k_{el} , ч ⁻¹ / h ⁻¹	1,09	0,30
Cl, мл/ч / mL/h	20,30	39,36
MRT, ч / h	0,81	2,08
Cl_R , мл/ч / mL/h	18,05	24,94
Cl_{NR} , мл/ч / mL/h	2,25	14,39

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. AUC — площадь под токсикокинетической кривой; $t_{1/2}$ — период полувыведения; k_{el} — константа скорости элиминации; Cl — кажущийся клиренс; MRT — среднее время удерживания; Cl_R — почечный клиренс; Cl_{NR} — внепочечный клиренс.
Note. AUC, area under the toxicokinetic curve; $t_{1/2}$, half-life; k_{el} , elimination rate constant; Cl, apparent clearance; MRT, mean residence time; Cl_R , renal clearance; Cl_{NR} , nonrenal clearance.

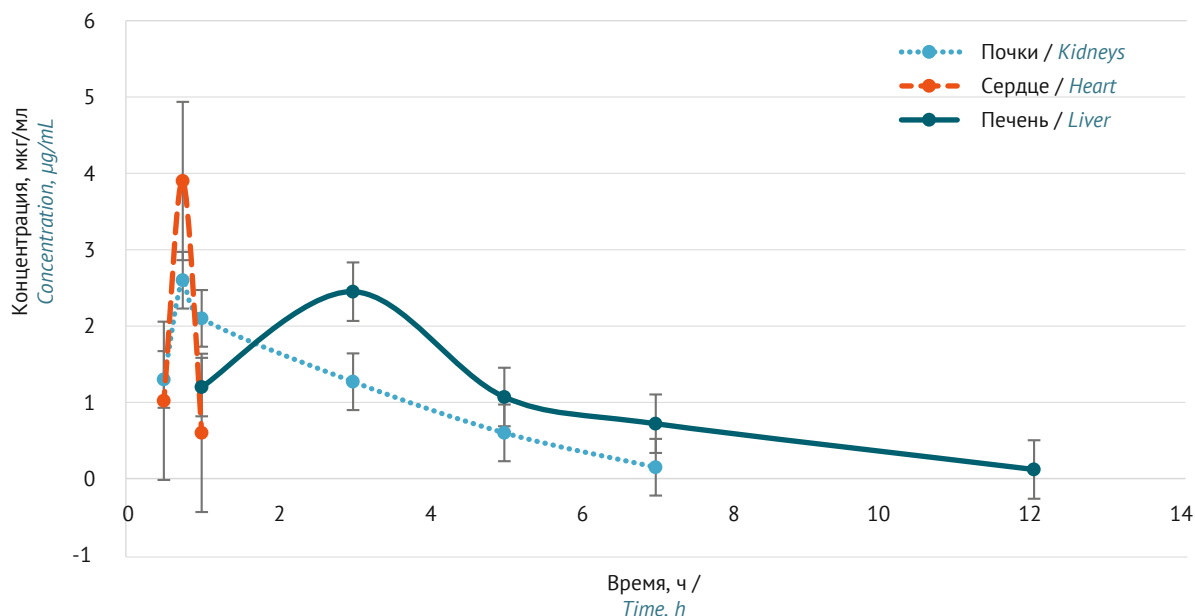


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рисунок 2. Распределение амфедазола в сердце, печени и почках крыс при внутривентральном введении в дозе 6 мг/кг

Figure 2. Distribution of amfedazole in the heart, liver, and kidneys after intraperitoneal administration to rats at a dose of 6 mg/kg

изменения носили дозозависимый характер. У крыс-самок при введении амфедазола в токсических дозах наблюдалось снижение уровня аланиновой аминотрансферазы, удлинение гексеналового сна и тенденция к уменьшению скорости выведения бромсульфалеина. Также наблюдалась задержка выведения фенолового красного по отношению к контролю при введении амфедазола в токсических дозах¹⁵.

Принимая во внимание эти данные, можно прийти к заключению, что амфедазол в терапевтических дозах не является токсичным. Измене-

ния гематологических, биохимических и морфологических показателей наблюдаются лишь в токсических дозах. Ряд из них можно считать связанными со специфической активностью исследуемого соединения, а другие — с его фармако- и токсикокинетическими свойствами.

При изучении экскреции было установлено, что амфедазол при введении в субтоксической дозе выводится через почки и кишечник. Через 1 ч после введения вещество начинает появляться в моче, и его концентрация достигает максимума к 24 ч. С 7 по 12 ч наблюдается ее не-

Таблица 2. Параметры распределения амфедазола в сердце, печени и почках крыс при внутривентральном введении в дозе 6 мг/кг

Table 2. Distribution parameters of amfedazole in the heart, liver, and kidneys after intraperitoneal administration to rats at a dose of 6 mg/kg

Орган Organ	AUC, мкг/мл×ч AUC, µg/mL×h	Тканевая биодоступность, F_t Tissue bioavailability, F_t
Сердце / Heart	6,34	0,260
Печень / Liver	49,89	2,05
Почки / Kidneys	9,94	0,408

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. AUC — площадь под токсикокинетической кривой.

Note. AUC, area under the toxicokinetic curve.

¹⁵ Гурова НА. Фармакотоксикологические свойства нового антиаритмического вещества, производного имидазобензимидазола: дис. ... канд. мед. наук. Волгоград; 1998.

значительное снижение, далее процесс ускоряется, и к 72 ч амфедазол в моче не определяется. При исследовании экскреции вещества с мочой оценивали почечный клиренс (Cl_R). Почечный клиренс амфедазола составил 39,36 мл/ч, внепочечный клиренс (Cl_{NR}), оцениваемый по разности между кажущимся и почечным клиренсом, — 14,39 мл/ч (рис. 3).

Экскреция амфедазола с желчью достигала максимального уровня к первому часу исследования, затем количество выделяемого соединения постепенно снижается. Амфедазол определялся в желчи до 6 ч. Суммарная экскреция неизменной субстанции составила 4,76% от введенной дозы, что свидетельствует о низкой вероятности гепатодуоденальной циркуляции неметаболизированного соединения.

Экскреция амфедазола с содержимым кишечника начинается примерно через 12 ч после внутрибрюшного введения. Суммарная экскреция неизменной субстанции составила 2,1% от введенной дозы, что свидетельствует о низкой степени участия данного пути выведения в процессах элиминации неизменной химической структуры амфедазола в организме крыс.

На основании полученных данных можно предположить значимый вклад путей биотрансформации в процессы элиминации исследуемого соединения.

Исследования *in silico*

Согласно прогнозу, полученному с помощью программы PALLAS, основными путями метаболизма амфедазола должны быть окислительные превращения. Одним из них является С-гидроксилирование амфедазола с введением гидроксильной группы в тот или иной бензольный цикл. Другим путем может быть N-оксидирование в амфедазоле атомов азота, находящихся в положении 9 трицикла и в диэтиламиногруппе (табл. 3). Кроме того, возможны также дегградационные процессы, протекающие с участием диэтиламиноэтильного радикала в положении N1.

Оценка констант липофильности и диссоциации амфедазола и его метаболитов, прогнозируемых в программе PALLAS, позволила предположить неоднозначное изменение физико-химических и, соответственно, хроматографических свойств метаболитов. Так, для метаболитов, полученных N-оксидированием (N-оксидов) и гидроксильрованием, липофильность должна снижаться незначительно при довольно сильном увеличении основности, что должно приводить к некоторому увеличению времени удерживания таких метаболитов на хроматограмме, полученной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), относительно стандарта лекарственного вещества. Метаболиты дегградационного типа, продукты N-диэтилирования

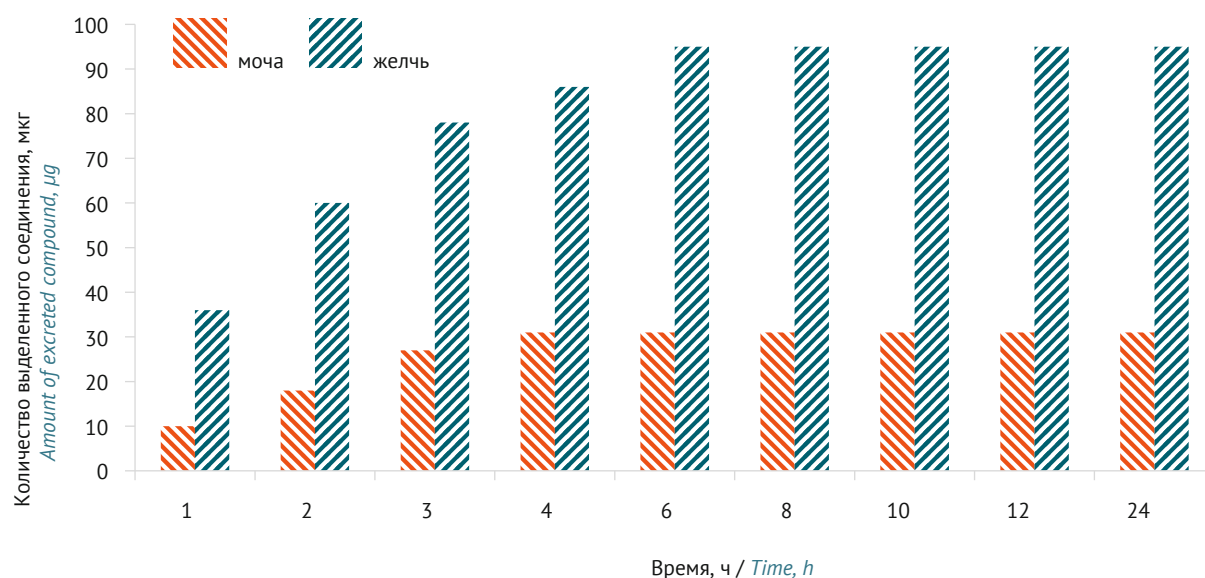


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рисунок 3. Кумулятивная экскреция соединения амфедазол с мочой и желчью у крыс при внутрибрюшном введении в дозе 6 мг/кг

Figure 3. Cumulative excretion of amfedazole in rat urine and bile after intraperitoneal administration at a dose of 6 mg/kg

Таблица 3. Физико-химические свойства амфедазола и его возможных метаболитов

Table 3. Physicochemical properties of amfedazole and its possible metabolites

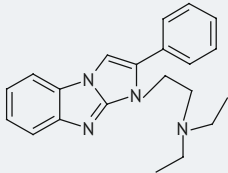
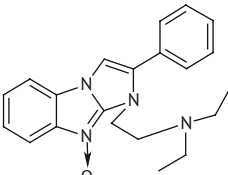
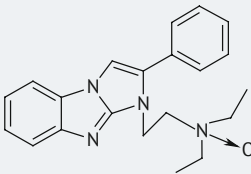
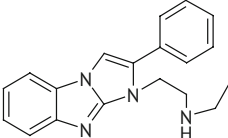
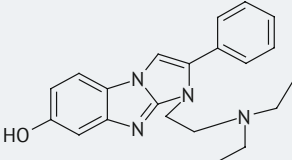
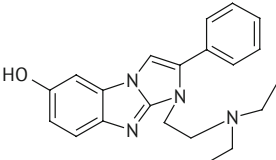
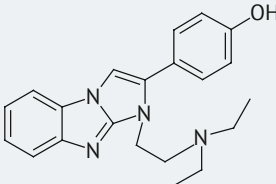
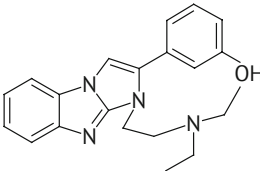
Соединение <i>Compound</i>	LgP	LgKa	
	5,21	Кислотных групп нет <i>No acidic groups</i>	
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
			4,75
	5,39	Кислотные группы <i>Acidic groups</i>	7,04
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
	4,58	Кислотных групп нет <i>No acidic groups</i>	
		Основные группы <i>Basic groups</i>	6,25
	4,32	Кислотных групп нет <i>No acidic groups</i>	
		Основные группы <i>Basic groups</i>	10,60
			4,81
	4,68	Кислотные группы <i>Acidic groups</i>	-2,08
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
			9,38
	4,68	Кислотные группы <i>Acidic groups</i>	-4,30
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
			9,38
	4,68	Кислотные группы <i>Acidic groups</i>	2,05
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
			6,60
	4,68	Кислотные группы <i>Acidic groups</i>	4,82
		Основные группы <i>Basic groups</i>	9,95
			6,60

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. LgP – константа липофильности; LgKa – константа кислотности.

Note. LgP, lipophilicity constant; LgKa, acidity constant.

амфедазола, при кислотно-основных характеристиках, сходных с амфедазолом, должны обладать пониженной липофильностью и, вероятно, не будут отличаться по своей хроматографической подвижности от амфедазола.

Для амфедазола не было обнаружено значительных изменений на хроматограммах при проведении кислотного, щелочного и ферментативного видов гидролиз. Это позволяет сделать вывод о преимущественно окислительном характере метаболизма и перспективности метода ВЭЖХ как метода изучения процессов метаболизма этой субстанции.

Конкурентное взаимодействие с изоформами цитохрома P450

При исследовании конкурентного взаимодействия амфедазола со специфическими тест-субстратами цитохрома P450 выявлено, что наиболее вероятно участие в метаболизме изоформ подсемейства CYP3A. На это указывают результаты теста с алпразолом, где у животных в присутствии амфедазола наблюдалась значительная, на 86,3% ($p \leq 0,05$), пролонгация сна. Достоверное и значительное снижение продолжительности мидазоламного сна — на 129,8% ($p \leq 0,05$) — свидетельствует об индуцирующем воздействии соединения на изоформы цитохрома P450 (CYP3A1), что, вероятно, также может влиять на активность изоформ CYP2C (рис. 4).

Статистически значимого увеличения продолжительности хлоралгидратного и гексеналового сна не выявлено, что свидетельствует о возможном отсутствии конъюгированных метаболитов исследуемого вещества. При проведении теста барбиталового сна на фоне амфедазола достоверных отличий продолжительности периода, во время которого животные опытных и контрольной групп занимали боковое положение, не выявлено. Следовательно, седативных и снотворных эффектов у амфедазола не выявлено, а изменение длительности сна связано с микросомальным окислением.

Ограничения исследования

Исследование выполнено только на самцах, использование самок может привести к большому разбросу концентраций амфедазола в крови животных. Данное исследование создает предпосылки для более глубокого изучения биотрансформации с дальнейшей идентификацией метаболитов.

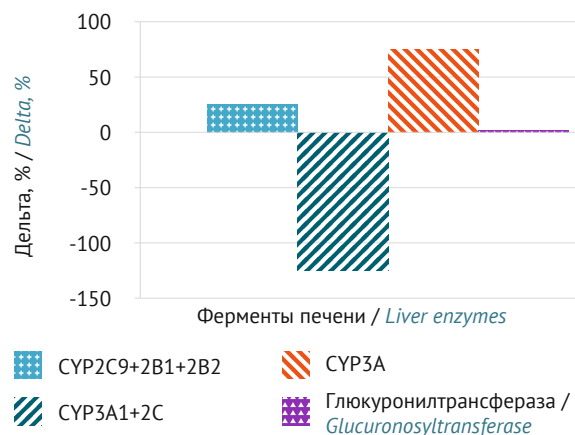


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

Рисунок 4. Участие некоторых ферментов печени в биотрансформации амфедазола, определенное по результатам пролонгации сна крыс и мышей при введении различных тест-субстратов (на основе данных об относительном изменении времени сна (дельта, %))

Figure 4. Involvement of certain liver enzymes in the biotransformation of amfedazole assessed by sleep prolongation in rats and mice following administration of various test substrates (relative change in sleep duration (delta, %))

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении токсикокинетики установлено, что амфедазол обнаруживается в крови животных практически сразу после введения. Максимальная концентрация приходится на 30 мин, и к 5 ч он обнаруживается в крови на уровне порога количественного определения. Амфедазол интенсивно распределяется в печени, почках и сердце. При введении в субтоксической дозе выводится прежде всего через почки и в меньшей степени — через кишечник за 72 ч.

Установлено, что наиболее вероятно участие в метаболизме амфедазола изоформ подсемейства CYP3A. Достоверное и значительное сокращение продолжительности мидазоламного сна свидетельствует об индуцирующем воздействии соединения на изоформы цитохрома P450 (CYP3A1). Комплекс косвенных методов оценки возможных путей биотрансформации позволяет предполагать, что изучаемое соединение преимущественно подвергается окислительным процессам.

Результаты токсикокинетического исследования соотносятся с полученными ранее данными изучения токсических свойств амфедазола и позволяют сделать вывод о благоприятном профиле безопасности данного соединения.

Литература / References

1. Faydali N, Arpacı ÖT. Benzimidazole and benzoxazole derivatives against Alzheimer's disease. *Chem Biodivers*. 2024;21(6):e202400123. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400123>
2. Xiang P, Zhou T, Wang L, et al. Novel benzothiazole, benzimidazole and benzoxazole derivatives as potential antitumor agents: Synthesis and preliminary in vitro biological evaluation. *Molecules*. 2012;17(1):873–83. <https://doi.org/10.3390/molecules17010873>
3. Alzhirani ZMM, Alam MM, Nazreen S. Recent advancements on benzimidazole: A versatile scaffold in medicinal chemistry. *Mini Rev Med Chem*. 2022;22(2):365–86. <https://doi.org/10.2174/1389557521666210331163810>
4. Kumar R, Marianesan AB, Pathak S. Benzimidazole as a privileged scaffold in drug design and discovery. *Curr Top Med Chem*. 2024;24(17):1504–28. <https://doi.org/10.2174/0115680266314704240522112439>
5. Спасов АА, Жуковская ОН, Гурова НА и др. Фармакологические свойства галогенидов 2-аминобензимидазолия и производных имидазо[1,2-а]бензимидазола. *Биоорганическая химия*. 2022;48(3):328–39. EDN: [VDJXFV](https://doi.org/10.1134/S1068162022020236)
6. Анисимова ВА, Толпыгин ИЕ, Спасов АА и др. Синтез и фармакологическая активность 10-алкиламиноэтил-2,3,4,10-тетрагидропиримидо[1,2-а]бензимидазолов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2012;46(6):3–8. EDN: [TMRBOB](https://doi.org/10.1134/S1068162022020236)
7. Анисимова ВА, Толпыгин ИЕ, Спасов АА, et al. Synthesis and pharmacological activity of 10-alkylaminoethyl-2,3,4,10-tetrahydropyrimido[1,2-a]benzimidazoles. *Pharm Chem J*. 2012;46(6):325–30. <https://doi.org/10.1007/s11094-012-0791-3>
8. Гурова НА, Спасов АА, Анисимова ВА. Антифибрилляторная активность производного имидазобензимидазола соединения РУ-353. *Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова*. 2012;(5):5–8. Gurova NA, Spasov AA, Anisimova VA. Antifibrillatory activity of the imidazobenzimidazole derivative of the RU-353 compound. *Bulletin of Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Center*. 2012;(5):5–8 (In Russ.). EDN: [PWAQWT](https://doi.org/10.2174/1389557521666210331163810)
9. Смирнова ЛА, Спасов АА, Рашченко АИ и др. Аналитические особенности количественного определения производных бензимидазола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2013;(2):9–14. Smirnova LA, Spasov AA, Raschenko AI, et al. Analytical features of chromatographic method of quantitative determination of benzimidazole derivatives. *Volgograd Scientific and Medical Journal*. 2013;(2):9–14 (In Russ.). EDN: [SNXWYT](https://doi.org/10.1093/toxsci/48.2.151)
10. Лакин КМ, Крылов ЮФ. Биотрансформация лекарственных веществ. М.: Медицина; 1981. Lakin KM, Krylov YF. *Biotransformation of medicinal substances*. Moscow: Medicine; 1981 (In Russ.).
11. Omiecinski CJ, Rimmel RP, Hosagrahara VP. Concise review of the cytochrome P450s and their roles in toxicology. *Toxicol Sci*. 1999;48(2):151–6. <https://doi.org/10.1093/toxsci/48.2.151>
12. Suddock JT, Kent KJ, Regina AC, Cain MD. Barbiturate toxicity. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026. PMID: 29763050.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом. Смирнова Л.А. — проведение эксперимента, анализ результатов, участие в написании текста рукописи, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; Спасов А.А. — планирование эксперимента, анализ результатов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; Гурова Н.А. — проведение эксперимента, анализ результатов; Рудаскова Е.С. — проведение эксперимента, участие в написании текста рукописи; Жуковская О.Н. — проведение эксперимента; Морковник А.С. — проведение эксперимента, участие в написании текста рукописи.

Соответствие принципам этики. Дизайн исследования и протокол были одобрены Локальным этическим комитетом ФГОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России, протокол от 15.12.2023 № 2023/208 (регистрационный номер IRB 00005839, IORG 0004900 [OHRP]).

Использование генеративного искусственного интеллекта. Авторы заявляют, что не использовали генеративный ИИ при подготовке рукописи.

Author contributions. All authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Ludmila A. Smirnova* performed the experiments, analyzed the data, participated in drafting the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication. *Alexander A. Spasov* conceptualized the study, analyzed the data, and approved the final version of the manuscript for publication. *Nataliya A. Gurova* performed the experiments and analyzed the data. *Elena S. Rudaskova* performed the experiments and participated in drafting the manuscript. *Olga N. Zhukovskaya* performed the experiments. *Anatolii S. Morkovnik* performed the experiments and participated in drafting the manuscript.

Ethics approval. The study design and protocol were approved by the Local Ethics Committee of VolgSMU, Protocol No. 2023/208 dated December 15, 2023 (registration number IRB 00005839, IORG 0004900 [OHRP]).

Use of generative artificial intelligence. The authors declare that no generative AI was used during the preparation of this manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Смирнова Людмила Андреевна, д-р биол. наук / **Ludmila A. Smirnova**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0950-8519>

Спасов Александр Алексеевич, академик РАН, д-р мед. наук, профессор / **Alexander A. Spasov**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>

Гурова Наталия Алексеевна, д-р мед. наук / **Nataliya A. Gurova**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0670-1444>

Рудаскова Елена Станиславовна, канд. биол. наук / **Elena S. Rudaskova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2560-4455>

Жуковская Ольга Николаевна, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. / **Olga N. Zhukovskaya**, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2485-2139>

Морковник Анатолий Савельевич, д-р хим. наук, гл. науч. сотр. / **Anatolii S. Morkovnik**, Dr. Sci. (Chem.), Chief Researcher

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9182-6101>

Поступила 03.03.2026

После доработки 20.05.2026

Принята к публикации 09.06.2026

Online first 10.08.2026

Received March 3, 2026

Revised May 20, 2026

Accepted June 9, 2026

Online first August 10, 2026