ФАРМАКОКИНЕТИКА

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-10-26-30

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИКНОВЕНИЯ СУКЦИНАТА, ВХОДЯЩЕГО В СОСТАВ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА “МЕКСИДОЛ”, В ОРГАНЫ И КЛЕТКИ КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ

А. С. Есенина, Ю. Транова, А. В. Щулькин*, И. В. Черных, П. Ю. Мыльников, Е. Н. Якушева[1]

Фармакокинетику сукцината при внутрижелудочном введении мексидола (этилметилгидроксипиридина сукцинат) изучали на 40 крысах-самцах линии Вистар. Мексидол вводили животным внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг. Концентрацию сукцината определяли методом ВЭЖХ-МС/МС. Показано, что максимальной концентрации в плазме крови сукцинат достигал через 10 мин после внутрижелудочного введения, превосходя его эндогенный уровень в 5,14 раза, $p = 0{,}018$, и снижалась к 30 мин, не отличаясь от значений нормы, $p = 0{,}34$. Мексидол не влиял на уровень сукцината в цитоплазматической и митохондриальной фракциях миокарда. В цитоплазматической фракции ткани коры больших полушарий головного мозга отмечено повышение уровня сукцината через 30 мин на 261,3 % ($p = 0{,}015$), 60 мин — на 265,66 % ($p = 0{,}013$) и 90 мин — 313,86 % ($p = 0{,}004$), в митохондриальной фракции — через 15 мин сукцинат определяли на уровне 85,5 (0,0; 1568,5) нг/мл. В печени отмечено повышение концентрации сукцината только в митохондриальной фракции через 10 мин после введения мексидола — на уровне 44,2 (24,4; 60,7) нг/мл. Таким образом, внутрижелудочное введение мексидола, приводит к повышению концентрации сукцината в плазме крови, а также в цитоплазматической и митохондриальной фракциях коры больших полушарий головного мозга и в митохондриальной фракции клеток печени крыс.

Ключевые слова: этилметилгидроксипиридина сукцинат; сукцинат; фармакокинетика; ВЭЖХ-МС/МС.

ВВЕДЕНИЕ

Сукцинат (янтарная кислота) — дикарбоновая кислота, промежуточный продукт цикла Кребса (трикарбоновых кислот), широко участвующий в обменных процессах организма. В 2004 г. был обнаружен специфический рецептор для сукцината — GPR91 (SUCNR1) [12]. Рецептор GPR91 (G-protein coupled receptor 91) связан с G-белком и не взаимодействует с другими промежуточными метаболитами цикла Кребса. Доказано, что сукцинатный рецептор локализуется в почках, печени, селезенке, тонком кишечнике [12], в клетках-предшественниках CD34+ костного мозга человека, а также в эритроидных и мегакариоцитарных культурах и эритролейкемической клеточной линии TF-1 [11], ганглионарных клетках сетчатки [14], адипоцитах белой жировой ткани, тромбоцитах. Активация SUCNR1 приводит к увеличению внутриклеточного кальция, инозитол-фосфата и ингибированию образования цАМФ [13], что сопровождается усилением клеточного дыхания, стабилизацией белкового обмена, восстановлением энергетического баланса при гипоксии и гипергликемии, увеличением васкуляризации сетчатки [14], стимуляцией ренин-ангиотензиновой системы организма [12].

Таким образом, сукцинат можно рассматривать как вещество не только метаболического, но и рецепторного действия.

Мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) — оригинальный отечественный лекарственный препарат, обладающий антигипоксической, антиоксидантной и мембраностабилизирующей активностью. Доказано, что этилметилгидроксипиридин в молекуле мексидола оказывает антиоксидантное действие, а сукцинат отвечает за антигипоксические свойства [1].

Фармакокинетика мексидола подробно изучена в доклинических и клинических исследованиях [6]. В то же время о фармакокинетике сукцината, входящего в состав мексидола, имеются лишь единичные сведения.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение фармакокинетики сукцината после внутрижелудочного введения мексидола.

[1] ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Россия, 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, 9.
* e-mail: alekseyshulkin@rambler.ru

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 40 крысах-самцах линии Вистар (ФГБУН "Научный центр биомедицинских технологий ФМБА" филиал "Столбовая") массой 180 – 200 г и возрастом 8 – 9 недель. Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе. Выполнение работы было одобрено Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, выписка из протокола № 33 от 30.10.20.

Животных распределяли по группам с применением принципа рандомизации, используя в качестве критерия массу тела так, чтобы средняя масса тела животных к 1-му дню введения статистически не отличалась между группами. Накануне вечером животных лишали корма при свободном доступе к воде. 35 животных использовали для оценки фармакокинетики сукцината после внутрижелудочного введения мексидола, 5 животных служили нормой, у них определяли уровень эндогенного сукцината.

Мексидол (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 125 мг) вводили животным внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг (в пересчете на человека массой 70 кг — 1186 мг) [2]. Через 1, 5, 10, 15, 30 мин, 1 ч, 1,5 ч (7 временных точек) после введения препарата животных выводили из эксперимента передозировкой золетила. На каждую временную точку приходилось по 5 животных. Из бифуркации аорты забирали кровь в гепаринизированные пробирки, образцы ткани коры больших полушарий головного мозга (ГМ), миокарда левого желудочка сердца и печени. Для получения плазмы кровь центрифугировали при 800 g (центрифуга СМ-6М ELMI, Латвия) в течение 10 мин. Образцы органов промывали в физиологическом растворе при +4 °С, затем их навеску помещали в 0,25 М раствор сахарозы из расчета 1:10 по массе. Гомогенат готовили с помощью 8 – 10 ударов гомогенизатора POTTER-ELVEHJEM ("KimbleKontes", США), после предварительного измельчения навески органов ножницами на холоде.

Полученные гомогенаты центрифугировали 10 мин при 800 g для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Надосадочную жидкость отбирали в отдельные пробирки и центрифугировали 15 мин при 14000 g для осаждения митохондрий. Супернатант представлял собой цитоплазматическую фракцию клеток. Митохондриальную фракцию (осадок) ресуспендировали в среде выделения, с добавлением 0,1 % тритона Х-100 ("Sigma-Aldrich", Германия) для разрушения мембран. Все описанные манипуляции осуществляли при температуре не выше +4 °С. Полученные образцы замораживали при –80 °С и хранили до анализа в ультранизкотемпературном медицинском морозильнике Sanyo MDF-192 ("Sanyo", Япония).

Пробоподготовку проводили следующим образом: к 100 мкл пробы (плазма крови, гомогенат органов) добавляли 900 мкл метанола с хлорамфениколом в качестве внутреннего стандарта, встряхивали на шейкере в течение 1 мин, затем центрифугировали при 13000 g (Avanti JXN-3 "Beckman Coulter", США) в течение 10 мин при 4 °С; 600 мкл надосадочной жидкости переливали в промаркированные виалы и помещали в автосемплер для последующего анализа.

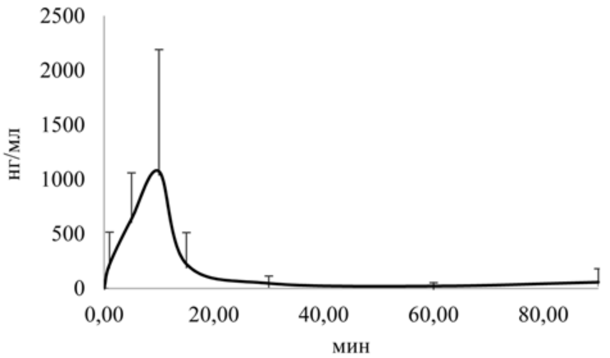
В полученных пробах определяли содержание сукцината методом ВЭЖХ-МС/МС на хроматографе Ultimate 3000 и МС/МС детекторе TSQ Fortis ("ThermoFisher", США). Для хроматографического анализа использовали колонку UCTSelectra C18 4,6 мм × 100 мм 3 мкм, 100 А, предколонку Selectra C18 Guard Cartridges SLC-18 GDC46-5UM, температуру разделения 40 °С. Скорость потока 0,5 мл/мин. Подвижная фаза состояла из растворителя А (метанол с 0,1 % муравьиной кислотой) и растворителя В (раствор муравьиной кислоты 0,1 %). Использовали градиентный режим элюирования по следующей программе: 0,0 мин А – 10 %, В – 90 %; 0,01 мин А – 30 %, В – 70 %; 3,5 мин А – 50 %, В – 50 %; 3,5 мин А – 90 %, В – 10 %; 5 мин А – 90 %, В – 10 %; 5 мин А – 10 %, В – 90 %; 7,5 мин А – 10 %, В – 90 %.

Ионизацию молекул сукцината и хлорамфеникола (внутренний стандарт) проводили в режиме негативной (отрицательной) ионизации на электроспрее при атмосферном давлении. Режим определения: sheath gas (оболочечный газ) 50 л/мин, aux gas (вспомогательный газ) 10 л/мин, sweep gas (продувочный газ) 1 л/мин, температура трубки для переноса ионов 300 °С, температура испарителя 350 °С.

Сукцинат и хлорамфеникол определяли в режиме MRM: для сукцината – 117 $m/z \rightarrow$ 98,7 m/z, энергия столкновения 10 В, напряжение линз 25 В, 117 $m/z \rightarrow$ 73,1137 m/z, энергия столкновения 10 В, напряжение линз 25 В; для хлорамфеникола – 321,1 $m/z \rightarrow$ 152,1 m/z, энергия столкновения 17 В, напряжение линз 75 В, 321,1 $m/z \rightarrow$ 176,1 m/z, энергия столкновения 21 В, напряжение линз 75 В. Фрагментация источника составила 5 V, CID gas – 1,5 мТорр. Температура разделения была 40 °С, скорость потока – 0,5 мл/мин, объём вводимой пробы – 5 мкл, время анализа – 7,5 мин. Время удерживания сукцината составило 3,58 мин, хлорамфеникола – 7,04 мин.

Валидацию биоаналитической методики выполняли согласно "Правилам проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза" (решение № 85 от 3 ноября 2016 г.) по следующим параметрам: селективность; калибровочная кривая (линейность); точность; прецизионность; нижний предел количественного определения; перенос пробы; стабильность сукцината в плазме крови.

Количественное определение эндогенных соединений затруднено, поскольку отсутствует матрица без анализируемых веществ для приготовления калибро-



Концентрация сукцината без эндогенного сукцината в плазме крови после внутрижелудочного введения мексидола в дозе 100 мг/кг (нг/мл).

вочных кривых и образцов для контроля качества. В исследовании для валидации методики использовали объединенную (пулированную) плазму, полученную от 6 интактных крыс. При этом площадь пика эндогенного сукцината вычитали из полученных площадей пика калибровочных растворов [5, 10].

Предел количественного определения сукцината в плазме крови составил 200 нг/мл, в гомогенатах органов – 20 нг/мл. Аналитический диапазон для сукцината в плазме крови: 200 – 20 000 нг/мл, в гомогенатах органов 20 – 5000 нг/мл. При концентрации сукцината выше верхнего предела количественного определения, пробы разводились и анализировались повторно.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программы StatSoft Statistica 13.0 (США, номер лицензии JPZ811I521319AR25ACD-W) и Microsoft Excel for MACver. 16.24 (ID 02984-001-000001). Распределение данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные в таблицах и на графиках представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения при нормальном распределении данных ($M \pm SD$) и медианы, минимального и максимального значения (Me (min; max)) – при распределении данных отличном от нормального. Достоверность полученных различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия Фишера для парных сравнений при нормальном распределении и критерия Крускала–Уоллиса с последующим попарным сравнением с помощью критерия Манна–Уитни при ненормальном распределении. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$. При оценке фармакокинетики сукцината после внутрижелудочного введения мексидола модельнонезависимым методом рассчитывали следующие фармакокинетические параметры: $C_{\max}$ – максимальная концентрация, $T_{\max}$ – время достижения максимальной концентрации, $T_{1/2}$ – период полувыведения, $AUC_{0\text{-}t}$ – площадь под фармакокинетической кривой концентрация – время, MRT – среднее время удерживания, Cl/F – общий клиренс, K_{el} – константа элиминации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрация эндогенного сукцината в плазме крови интактных животных составила 259,20 ± 117,17 нг/мл.

Внутрижелудочное введение мексидола в дозе 100 мг/кг приводило к повышению содержания сукцината в плазме крови крыс уже через 5 мин после введения, которое достигало максимального значения к 10 мин, превосходя значения нормы в 5,14 раза ($p = 0,018$) и снижалось к 30 мин, достоверно не отличаясь от значений нормы ($p = 0,34$).

Для расчета фармакокинетических параметров сукцината использовали значения, полученные путем вычитания показателей уровня эндогенного сукцината из показателей концентрации сукцината после введения мексидола (рисунок) [4].

Были получены следующие фармакокинетические параметры сукцината: $C_{\max}$ 1,13 ± 1,09 мкг/мин, $T_{\max}$ 10,00 (5,00; 10,00) мин, $AUC_{0\text{-}t}$, 12,09 ± 6,89 мкг/мл · мин, K_{el} 0,09 ± 0,11 1/мин, $T_{1/2}$, 17,10 ± 11,82 мин, Cl/F 100,48 ± 64,42 л/мин, MRT 30,98 ± 30,21 мин. Полученные результаты свидетельствуют о том, что сукцинат после внутрижелудочного введения мексидола быстро всасывается, попадает в системный кровоток и также быстро элиминируется.

У интактных животных уровень эндогенного сукцината в цитоплазматической фракции миокарда составил 85,24 ± 23,97 нг/мл, коры больших полушарий ГМ – 277,828 ± 255,52 нг/мл, печени – 1122,0 (250,3; 1466,1) нг/мл. Таким образом, максимальный уровень эндогенного сукцината у интактных крыс наблюдался в печени. В митохондриальной фракции миокарда, коры больших полушарий ГМ и печени концентрация сукцината была ниже предела количественного определения.

Концентрации сукцината в цитоплазматической и митохондриальной фракциях миокарда, коры больших полушарий ГМ и печени после внутрижелудочного введения мексидола представлены в табл. 1.

Внутрижелудочное введение мексидола не влияло на уровень сукцината в цитоплазматической и митохондриальной фракциях миокарда, его значения не отличались от показателей животных группы нормы.

В коре больших полушарий в цитоплазматической фракции отмечалось повышение уровня сукцината через 30 мин после введения мексидола на 261,3 % ($p = 0,015$), 60 мин – на 265,66 % ($p = 0,013$) и 90 мин – 313,86 % ($p = 0,004$), по сравнению с его содержанием у интактных животных, в митохондриальной фракции – через 15 мин сукцинат начинал определяться на уровне 85,5 (0,0; 1568,5) нг/мл.

В печени наблюдали повышение концентрации сукцината только в митохондриальной фракции через 10 мин после введения мексидола, он начинал определяться на уровне 44,2 (24,4; 60,7) нг/мл.

Таблица 1. **Концентрация сукцината в цитоплазматической и митохондриальной фракциях органов крыс после внутрижелудочного введения мексидола в дозе 100 мг/кг (нг/мл)**

Исследуемый орган	Норма	1 мин	5 мин	10 мин	15 мин	30 мин	60 мин	90 мин
Миокард цитоплазма	85,2 ± 23,9	54,9 ± 32,8	45,8 ± 14,4	50,9 ± 14,5	64,5 ± 15,8	41,0 ± 7,7	42,5 ± 13,8	85,1 ± 35,4
Миокард митохондрии	0,0 (0,0; 25,5)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 23,2)	0,0 (0,0; 48,6)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Головной мозг цитоплазма	277,8 ± 255,5	558,3 ± 432,3	567,5 ± 176,9	398,1 ± 209,8	625,1 ± 520,1	1003,7 ± 612,6*	1015,9 ± 438,9*	1149,8 ± 651,1*
Мозг митохондрии	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 46,2)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 49,4)	85,5 (0,0; 1568,5)*	67,4 (0,0; 79,4)	21,1 (0,0; 34,2)	0,0 (0,0; 0,0)
Печень цитоплазма	1122,0 (250,3; 1466,1)	1246,7 (783,9; 2482,4)	1066,8 (938,1; 2214,6)	1057,0 (1034,4; 2093,2)	392,5 (228,0; 936,6)	922,7 (261,5; 995,7)	452,7 (290,3; 1153,9)	638,4 (212,4; 1299,9)
Печень митохондрии	0,0 (0,0; 32,1)	27,6 (0,0; 80,3)	26,6 (0,0; 32,5)	44,2 (24,4; 60,7)#	24,8 (0,0; 55,3)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 23,5)	0,0 (0,0; 22,9)

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями нормы; # $p < 0,1$ – различия с показателями нормы. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения при нормальном распределении данных ($M \pm SD$) и медианы, минимального и максимального значения – при распределении данных, отличном от нормального (Me (min; max)).

Дополнительно было оценено общее количество сукцината, которое выявлялось в цитоплазматической и митохондриальной фракциях изучаемых тканей. Для этого рассчитывали площадь под кривой концентрация – время AUC_{1-90} с помощью метода трапеций. После внутрижелудочного введения мексидола в цитоплазматической и митохондриальной фракциях максимальный уровень сукцината наблюдался в коре больших полушарий ГМ крыс, который превосходил содержание сукцината в печени (табл. 2).

Таким образом, максимальное накопление сукцината при внутрижелудочном введении мексидола отмечается в ГМ, незначительное повышение его концентрации наблюдается в печени, а миокарде – содержание остается без изменений.

Причины наблюдаемых различий в концентрации сукцината в тестируемых органах и тканях могут быть связаны с рядом факторов: 1) разная скорость кровотока в органах; 2) разница в метаболической активности органов; 3) наличие специфических барьеров, в частности гематоэнцефалического барьера; 4) специфическая тропность сукцината к разным органам и тканям (плотность рецепторов) 5) путь введения – при внутрижелудочном введении тестируемые вещества первоначально поступают в печень по воротной вене.

Таблица 2. **Общее количество сукцината без эндогенного сукцината (AUC_{1-90}) во фракциях органов (нг · мин/мл)**

Орган	Внутрижелудочное введение	
	Цитоплазматическая фракция	Митохондриальная фракция
Головной мозг	50493,13 (29137,59; 106238,6)*	2430,51 (393,73; 17588,65)*
Печень	6289,27 (224,63; 15628,6)	356,75 (48,55; 655,45)

* $p < 0,05$ – достоверные различия с концентрацией в печени.

Согласно данным литературы, максимальный кровоток у крыс отмечается в сердце 3,27 ± 0,3 мл/мин/г, на втором месте находится ГМ – 1,02 ± 0,12 мл/мин/г, а минимальная скорость – в печени 0,1 ± 0,01 мл/мин/г [7]. Однако при внутрижелудочном введении вся доля всосавшегося лекарственного вещества первоначально поступают в печень.

Наибольшей метаболической активностью обладает миокард (8986,52 дж/г/день), почти в 2 раза превосходя по этому показателю ГМ (4901,74 дж/г/день) и печень (4084,78 дж/г/день) [9].

Сукцинат-зависимый комплекс II играет основную роль в функционировании дыхательной цепи в миокарде, тогда как в печени и ГМ первостепенную роль выполняет НАДН-зависимый комплекс I [3].

Таким образом, существование сукцината в более низких концентрациях в миокарде могут быть объяснены его интенсивным кровоснабжением и активным использованием в метаболических процессах, протекающих именно в данном органе.

Высказанное предположение согласуется с нашими результатами – концентрациями эндогенного сукцината, полученными в настоящем исследовании у интактных животных: в цитоплазматической фракции максимальный уровень сукцината отмечался в печени, минимальный – в миокарде, в митохондриальной фракции максимальный уровень зафиксирован в печени, минимальный в миокарде и коре больших полушарий ГМ, а также с данными литературы (максимальная концентрация сукцината показана в печени, минимальная – в миокарде) [8].

Низкие концентрации сукцината в печени после внутрижелудочного введения мексидола могут быть связаны с высокой экспрессией его рецептора и широким спектром биохимических реакций, протекающих в гепатоцитах, в которых может расходоваться сукцинат. Так, например, показано, что кроме окисления в фумарат, сукцинат может участвовать в посттрансляционной модификации белков и стабилизации фактора индуцируемого гипоксией HIF1a [3].

Высокие концентрации сукцината в ткани коры больших полушарий ГМ свидетельствует о том, что данное вещество хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер, где реализуется его нейропротекторная и метаболическая активность.

Согласно данным литературы, сукцинат стимулирует свои рецепторы в концентрациях 50 – 500 мкМ [15]. Таким образом, концентраций сукцината в коре больших полушарий ГМ после перорального введения мексидола теоретически должно быть достаточно, чтобы стимулировать сукцинатные рецепторы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленные сведения свидетельствуют о том, что мексидол (100 мг/кг) при внутрижелудочном введении способствует формированию максимальной концентрации сукцината, не влияет на уровень сукцината в цитоплазматической и митохондриальной фракциях миокарда.

Между тем, в цитоплазматической фракции ткани коры больших полушарий отмечено повышение уровня сукцината через 30 мин на 261,3 % ($p = 0{,}015$), 60 мин – на 265,66 % ($p = 0{,}013$) и 90 мин – 313,86 % ($p = 0{,}004$), в митохондриальной фракции – через 15 мин сукцинат определяли на уровне 85,5 (0,0; 1568,5) нг/мл. В печени отмечено повышение концентрации сукцината только в митохондриальной фракции через 10 мин после введения мексидола – на уровне 44,2 (24,4; 60,7) нг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А Воронина, *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **112**(12), 86 – 90 (2012).
2. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*, Издательство Института биомедицинской химии РАМН, Москва (1995).
3. Л. Д. Лукьянова, *Сигнальные механизмы гипоксии*, Российская Академия наук, Москва (2019).
4. Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев, А. П. Соловьева и др., *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*, **8**(1), 6 – 10 (2018); doi: 10.30895 / 1991-2919-2018-8-1-6-10.
5. В. В. Смирнов, Л. М. Красных, Г. В. Раменская, С. Б. Казанбеков, *Фармакокин. и фармакодин.*, **2**, 11 – 18 (2021); doi: 10.37489 / 2587-7836-2021-2-11-18.
6. А. В. Щулькин, *Фарматека*, **4**(16), 65 – 17 (2016).
7. A. Bonaccorsi, E. A. Dejana, A. Quintana, *J. Pharmaco. Methods*, **1**(4), 321 – 328 (1978); doi: 10.1016 / 0160-5402(78)90063-3.
8. E. T. Chouchani, V. R. Pell, E. Gaude, et al., *Nature*, **515**, 431 – 435 (2014); doi: 10.1038 / nature13909.
9. P. C. Even, V. Rolland, S. Roseau, et al., *Regulatory and Integrative Physiology*, **280**(6), 1887 – 1896 (2001); doi: 10.1152 / ajpregu.2001.280.6.R1887.
10. M. Guo, D. Liua, Q. Shaa, et al., *J. Pharmaceu. and Biomed. Analysis*, **164**, 309 – 316 (2019); doi: 10.1016 / j.jpba.2018.10.042.
11. Y. Hakak, K. Lehmann-Bruinsma, S. Phillips, et al., *J. Leukocyte Biology*, **85**(5), 837 – 843 (2009); doi: 10.1189 / jlb.1008618.
12. W. He, F. P. Miao, D. H. Lin, et al., *Nature*, **429**, 188 – 193 (2004); doi: 10.1038 / nature02488.
13. C. Högberg, O. Gidlöf, C. Tan, et al., *J. Thrombosis and Haemostasis*, **9**(2), 361 – 372 (2011); doi: 10.1111 / j.1538-7836.2010.04158.x.
14. P. Sapieha, M. Sirinyan, D. Hamel, et al., *Nature Medicine*, **14**, 1067 – 1076 (2008); doi: 10.1038 / nm.1873.
15. L. Sundström, P. J. Greasley, S. Engberg, *FEBS Lett.*, **587**(15), 2399 – 2404 (2013); doi: 10.1016 / j.febslet.2013.05.067.

Поступила 13.09.22

STUDY OF THE PENETRATION OF SUCCINATE CONTAINED IN THE COMPOSITION OF THE PHARMACOLOGICAL AGENT “MEXIDOL” INTO ORGANS AND CELLS OF RATS AFTER INTRAGASTRIC ADMINISTRATION

A. S. Esenina, Yu. Tranova, A. V. Shchulkin*, I. V. Chernykh, P. Yu. Mylnikov, and E. N. Yakushev

I. P. Pavlov Ryazan State Medical University, Vysokovol’tnaya ul. 9, 390026 Ryazan, Russia

The pharmacokinetics of succinate was studied with intragastric administration of Mexidol (ethylmethylhydroxypyridine succinate on 40 male Wistar rats. Mexidol was administered to animals intragastrically at a dose of 100 mg/kg. The succinate concentration was determined by HPLC-MS/MS. It is shown that the concentration of succinate in blood plasma reached the maximum value in 10 minutes after intragastric administration, thus exceeding the endogenous level by 5.14 times ($p = 0.018$) and then decreased by 30 min being almost close to the normal values ($p = 0.34$). Intragastric administration of Mexidol did not affect the succinate level in the cytoplasmic and mitochondrial fractions of the myocardium. An increase in the succinate level was observed in the cytoplasmic fraction of the cerebral cortex after 30 min by 261.3% ($p = 0.015$), after 60 min by 265.66% ($p = 0.013$), and after 90 min by 313.86% ($p = 0.004$), whereas in the mitochondrial fraction succinate was detected after 15 min at a level of 85.5 (0.0; 1568.5) ng/ml. An increase in the succinate concentration in the liver was observed only in the mitochondrial fraction 10 minutes after Mexidol administration at a level of 44.2 (24.4; 60.7) ng/ml. It is shown that intragastric administration of Mexidol in rats leads to an increase in the concentration of succinate in blood plasma, in the cytoplasmic and mitochondrial fractions of the cerebral cortex and in the mitochondrial fraction of the liver.

Keywords: ethylmethylhydroxypyridine succinate; succinate; pharmacokinetics; HPLC-MS/MS.