

А. И. Синуцкий, О. Т. Кочкина*, С. И. Грбовой

ВЛИЯНИЕ 2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС *IN VITRO*

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Россия, 454092, Челябинск.

* e-mail: olgakochkina174@gmail.com

Изучено влияние 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидрохлорида (эмоксипина гидрохлорида) на процессы свободнорадикального окисления и дыхание интактных митохондрий печени крыс *in vitro*. Установлено, что изученное лекарственное соединение, применяемое в концентрациях фармакокинетического диапазона, оказывает модулирующее действие на перекисное окисление липидов и окислительную модификацию белков митохондрий, вызывая транзитное накопление продуктов перекисного окисления липидов при относительно высоких концентрациях в инкубационной смеси (10^{-3} М), и перераспределение субстратов свободнорадикального окисления в пользу белков с постепенным ограничением фосфорилирующего окисления, уменьшением сродства дыхательной цепи к АДФ, нарушением интактности структур митохондрий, достигающего наиболее значимых величин при концентрациях эмоксипина гидрохлорида 10^{-8} и 10^{-9} М.

Ключевые слова: митохондрии; эмоксипина гидрохлорид; полярография; перекисное окисление липидов; окислительная модификация белков.

Производные 3-оксипиридина (3-ОП) принадлежат к простейшим гетероциклическим аналогам ароматических фенолов, в связи с чем способны проявлять антирадикальные и антиоксидантные свойства. На основе 3-ОП разработаны и синтезированы лекарственные препараты 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидрохлорид (2-этил-6-метил-3-оксипиридина гидрохлорид, эмоксипина гидрохлорид, ЭГХ) и 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат (мексидол) с антиоксидантной и антигипоксантаминой активностью, которые эффективно применяются для профилактики и лечения широкого круга заболеваний, связанных с развитием окислительного стресса [1].

Окислительный стресс (ОС), возникающий как следствие дисбаланса между функцией про- и антиоксидантных систем, приводит к окислительной деструкции молекул липидов, белков, накоплению низкомолекулярных токсичных продуктов свободнорадикального окисления. Одним из ключевых субклеточных источников образования активных форм кислорода являются митохондрии. Опосредованная окислительным стрессом митохондриальная дисфункция лежит в основе развития ряда патологических состояний [2]. Поэтому вопросы разработки новых фармакологических подходов к коррекции окислительного стресса на уровне митохондрий, как и изучение молекулярных механизмов действия препаратов с антиоксидантной активностью по-прежнему актуальны.

Исходя из свойств эмоксипина гидрохлорида, наиболее важным представляется изучение его прямого влияния на свободнорадикальные процессы, в частности, комплексную оценку процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительную модификацию белков (ОМБ) митохондрий. Ранее неоднократно

было продемонстрировано влияние изучаемого лекарственного вещества как на показатели функциональной активности митохондрий [3, 4], так и на свободнорадикальные процессы [5, 6]. В то же время отсутствуют сведения о взаимосвязях между дыханием, липопероксидацией и окислительной модификацией белков в митохондриях при действии ЭГХ в сопоставлении с его фармакокинетическими параметрами. Установление зависимости между выраженностью эффекта и концентрацией вещества в инкубационной смеси позволит конкретизировать механизмы антиоксидантного и антигипоксантаминого эффектов изучаемого лекарственного соединения. Таким образом, представленная статья посвящена изучению влияния 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидрохлорида на дыхание и процессы ПОЛ и ОМБ митохондрий печени крыс *in vitro*.

Экспериментальная часть

Исследования проведены с использованием 30 лабораторных крыс Wistar массой 110–130 г, которые содержались в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (СП 2.2.1.3218-14). Организация работы соответствовала отечественным и международным этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных [7]. Животных умерщвляли путем декапитации под действием общей анестезии. Печень быстро извлекали и отмывали в ледяной среде выделения, содержащей 250 мМ сахарозу, 10 мМ MOPS, 1 мМ EGTA (pH 7,2), после чего измельчали и использовали для приготовления 7 % гомогената с помощью гомогенизатора Поттера. Полученный гомогенат использовали для выделения митохондри-

альной фракции методом дифференциального центрифугирования [8–10] на центрифугах Avanti J-301 (Beckman Coulter Inc., USA) и Himac CT15RE (Hitachi Koki Co., Ltd, Japan). Все процедуры по выделению митохондриальной фракции из печени крыс проводили при температуре 2–4 °С. Концентрацию белка в полученных суспензиях митохондрий определяли микробиуретовым методом [11].

Функциональное состояние изолированных интактных митохондрий печени оценивали полярографическим методом с помощью анализатора “Эксперт-001-4” (ООО “Эконикс-Эксперт”, Россия), оснащенного амперометрическим датчиком растворенного в жидкой среде кислорода. Измерения проводились при 37 °С и постоянном перемешивании в ячейке объемом 1 мл, наполненной средой инкубации (120 мМ КСl, 10 мМ NaCl, 2 мМ MgCl₂ · 6 H₂O, 2 мМ KN₂PO₄, 20 мМ MOPS, 1 мМ EGTA, 0,7 мМ CaCl₂, pH 7,2). В качестве субстратов окисления использовали 10 мМ глутамат натрия и 5 мМ малат натрия, растворенные в 20 мМ MOPS (pH 7,2). Для регистрации параметров дыхательного контроля в инкубационную смесь добавляли 150 мМ АДФ.

В исследовании использовали фармацевтическую субстанцию 2-этил-6-метил-3-оксипиридина гидрохлорид (действующее вещество лекарственного препарата, зарегистрированного в РФ под торговым наименованием Эмоксипин®, производитель ЗАО “Обнинская химико-фармацевтическая фабрика”). ЭГХ растворяли в 20 мМ MOPS (pH 7,2) и добавляли в ячейку, в объеме 60 мкл для достижения конечных концентраций изучаемого вещества 10⁻³, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹ моль/л. Такие концентрации соотносимы с содержанием ЭГХ во внутренних органах и крови крыс на протяжении 24 ч после парентерального введения [12] и отражают его элиминацию из тканей в течение обозначенного времени. Конечная концентра-

ция белка в инкубационной смеси составляла 0,5 мг/мл. Контрольные образцы не содержали изучаемой фармацевтической субстанции, которую заменяли эквивалентным количеством 20 мМ MOPS (pH 7,2).

Регистрировали скорость поглощения O₂ при окислении экзогенных субстратов в течение 2,5 мин (V₂), скорость потребления O₂ после добавки АДФ (V₃) и скорость потребления кислорода после истощения АДФ (V₄, в течение последующих 3,5 мин). Общее время регистрации параметров дыхания составило 6 мин. На основании полученных данных рассчитывали коэффициенты дыхательного контроля по Ларди — Уэллману (ДК_л = V₃/V₂) и по Чансу — Уильямсу (ДК_ч = V₃/V₄). Скорости дыхания митохондрий выражали в нанogramм-атом O₂/мин/мг белка митохондрий (нгаА О/мин) [9, 10].

В параллельной серии экспериментов, полностью воспроизводящей условия полярографического исследования (предварительная инкубация в смеси вышеприведенного состава с субстратами окисления, ЭГХ и АДФ в течение 6 мин соблюдением температурного режима), изучали влияние ЭГХ на содержание продуктов свободнорадикального окисления: перекисного окисления липидов экстракционно-спектрофотометрическим методом [11] и окислительной модификации белков по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [13]. Все эксперименты проводили в 5 повторных сериях.

Статистический анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ STATISTICA-8. Данные обработаны методами дескриптивной статистики и представлены в виде медианы (Me) и диапазона между “нижним” (LQ, 25 перцентиль) и “верхним” (UQ, 75 перцентиль) квартилями. Статистическую значимость отличий от контроля оценивали с помощью парного непараметрического критерия Вилкоксона. Оценку взаимосвязи между изученными парамет-

Таблица 1

Влияние 2-этил-6-метил-3-оксипиридина гидрохлорида на показатели дыхания митохондрий печени крыс [Me (LQ-UQ)]

Показатель	Диапазон молярных концентраций эмоксипина гидрохлорида в инкубационной смеси					
	0 (контроль)	10 ⁻³ М	10 ⁻⁶ М	10 ⁻⁷ М	10 ⁻⁸ М	10 ⁻⁹ М
Поглощение O ₂ в V ₂ , нгаА О/мин/мг	10,4 (7,4–13,2)	12,5 (10,6–13,8)	10,4 (8,4–16,4)	10,6 (10,4–11,8)	12,0 (10,4–12,8)	16,2* (16,0–18,6)
Поглощение O ₂ в V ₃ , нгаА О/мин/мг	31,6 (28,8–31,8)	25,7 (22,2–31,4)	27,1 (25,6–36,8)	26,0 (23,4–27,4)	17,6* (15,2–18,0)	18,2 (18,2–18,2)
Поглощение O ₂ в V ₄ , нгаА О/мин/мг	8,4 (6,4–10,2)	12,5 (10,2–13,2)	8,5 (8,2–12,0)	11,0 (8,4–20,0)	8,0 (7,6–9,4)	7,4 (5,6–9,4)
ДК _л	3,1 (2,4–4,3)	2,1 (1,8–2,4)	3,1 (1,6–3,2)	2,3 (2,0–2,5)	1,4 (1,3–1,5)	1,0* (0,9–1,1)
ДК _ч	2,8 (2,8–3,8)	2,2 (1,9–2,8)	3,1 (3,0–3,4)	2,5 (1,7–3,1)	2,2 (1,7–2,4)	1,9* (1,7–1,9)

* Различия статистически значимы по отношению к контролю (*p* = 0,04 по критерию Вилкоксона);

V₂ — субстратное дыхание в присутствии субстратов окисления, но в отсутствие АДФ; V₃ — активное фосфорилирующее состояние в присутствии субстратов окисления и АДФ; V₄ — нефосфорилирующее состояние после истощения АДФ; ДК_л — дыхательный коэффициент Ларди — Уэллмана, отношение V₃/V₂; ДК_ч — дыхательный коэффициент Чанса — Уильямса, отношение V₃/V₄. нгаА О/мин — нанogramм-атом O₂/мин/мг белка митохондрий.

рами проводили путем расчета коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (r_s). Проверка статистических гипотез выполнялась при критическом уровне значимости $p = 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования было установлено, что использование эмоксипина гидрохлорида в концентрации 10^{-9} М приводит к статистически значимому снижению значений дыхательных коэффициентов по Ларди и по Чансу (табл. 1), которое свидетельствует об уменьшении сродства дыхательной цепи к АДФ и нарушении интактности митохондрий соответственно [10]. Кроме того, выявлено снижение поглощения кислорода в состоянии V_3 в 1,8 раз по сравнению с контролем при использовании ЭГХ в концентрации 10^{-8} М, что свидетельствует о явлении разобщения процесса окислительного фосфорилирования. Применение эмоксипина гидрохлорида в концентрациях $10^{-3} - 10^{-7}$ М не оказывало существенного влияния на параметры дыхания митохондрий, что было продемонстрировано и ранее [3, 4].

Таким образом, в относительно высоких концентрациях ($10^{-3} - 10^{-6}$ М) ЭГХ не влияет на интенсивность дыхания интактных митохондрий, а в низких концентрациях ($10^{-8} - 10^{-9}$) проявляет свойства разобщителя окислительного фосфорилирования. В этих условиях весьма вероятным является образование активных

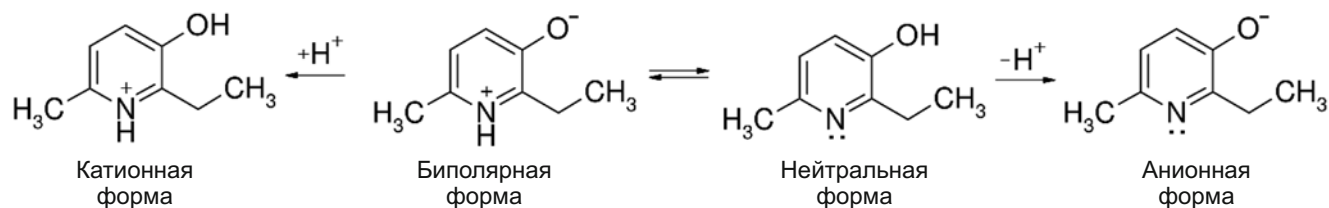
форм кислорода с последующим развитием ОС [2, 14, 15].

Эмоксипина гидрохлорид оказывал влияние на активность свободнорадикальных процессов в митохондриях печени *in vitro* уже в течение 6 мин инкубации. При использовании ЭГХ в концентрации 10^{-3} М выявлен прирост уровней изопропанол-растворимых первичных продуктов липопероксидации в 2,1 раза (табл. 2) в сравнении с контрольными значениями, что свидетельствует об активации этапов инициации ПОЛ. Исходя из того, что в изопропанольную фазу липидного экстракта экстрагируются преимущественно фосфолипиды [11], можно сделать заключение об усилении ПОЛ в фосфолипидном бислое мембран митохондрий. Кроме того, подобного рода прооксидантные сдвиги дополнительно сопровождалась приростом уровня вторичных гептан- и изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ, что указывает на интенсификацию распада ацильных остатков фосфолипидов, характерного для более поздних этапов ПОЛ. Следует отметить, что вторичные интермедиаты ПОЛ обладают известным цитотоксическим действием, связанным с прямым влиянием на метаболические системы дыхательной цепи митохондрий [16]. При инкубации препаратов митохондрий с эмоксипином в концентрациях $10^{-6} - 10^{-9}$ М существенных изменений содержания продуктов ПОЛ в инкубационной смеси выявлено не было.

Таблица 2
Влияние 2-этил-6-метил-3-оксипиридина гидрохлорида на содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов и уровень окислительной модификации белков в митохондриях печени [Me (LQ-UQ)]

Показатель	Диапазон молярных концентраций эмоксипина гидрохлорида в инкубационной смеси					
	0 (контроль)	10^{-3} М	10^{-6} М	10^{-7} М	10^{-8} М	10^{-9} М
ДК[г], е.и.о.	0,839 (0,82 – 0,87)	0,870 (0,86 – 0,89)	0,850 (0,84 – 0,86)	0,833 (0,78 – 0,86)	0,859 (0,83 – 0,90)	0,840 (0,81 – 0,89)
КДиСТ[г], е.и.о.	0,058 (0,05 – 0,06)	0,083** (0,08 – 0,09)	0,058 (0,05 – 0,07)	0,067 (0,06 – 0,07)	0,068 (0,07 – 0,08)	0,067 (0,05 – 0,09)
ДК[и], е.и.о.	0,299 (0,29 – 0,32)	0,615** (0,61 – 0,62)	0,297 (0,27 – 0,32)	0,314 (0,31 – 0,33)	0,309 (0,29 – 0,34)	0,299 (0,28 – 0,37)
КДиСТ[и], е.и.о.	0,076 (0,07 – 0,10)	0,352** (0,34 – 0,36)	0,079 (0,05 – 0,09)	0,080 (0,07 – 0,10)	0,097 (0,08 – 0,12)	0,085 (0,06 – 0,11)
$S_{\text{ОМБ}}$, Ед/мг белка	3,69 (3,54 – 4,19)	4,29 (3,67 – 5,15)	3,32 (3,17 – 3,83)	4,23 (3,84 – 5,32)	3,97 (3,63 – 5,81)	6,42* (4,00 – 7,51)
АДНФГ[н], Ед/мг белка	3,09 (3,03 – 3,14)	2,36 (2,28 – 2,52)	2,49* (2,18 – 2,49)	2,30 (2,30 – 3,08)	2,92 (2,80 – 2,96)	3,40 (3,24 – 3,91)
АДНФГ[о], Ед/мг белка	0,22 (0,19 – 0,31)	1,30 (0,64 – 1,80)	0,67 (0,50 – 0,82)	1,25* (0,99 – 1,32)	0,90* (0,70 – 1,85)	1,74* (0,29 – 2,53)
$S_{\text{АДНФГ}}$	3,31 (3,22 – 3,68)	3,58 (3,15 – 4,16)	2,92 (2,75 – 3,31)	3,56 (3,29 – 4,39)	3,51 (3,22 – 4,77)	5,24* (3,58 – 5,99)
КДНФГ[н], Ед/мг белка	0,36 (0,30 – 0,41)	0,46 (0,39 – 0,65)	0,33 (0,28 – 0,35)	0,43 (0,35 – 0,68)	0,38 (0,32 – 0,70)	0,85 (0,44 – 1,11)
КДНФГ[о], Ед/мг белка	0,03 (0,02 – 0,03)	0,25 (0,12 – 0,33)	0,14 (0,10 – 0,16)	0,24* (0,20 – 0,24)	0,18* (0,14 – 0,33)	0,31* (0,03 – 0,44)
$S_{\text{КДНФГ}}$	0,38 (0,320 – 0,51)	0,71 (0,51 – 0,99)	0,42 (0,40 – 0,52)	0,67* (0,55 – 0,92)	0,50 (0,46 – 1,04)	1,18* (0,47 – 1,52)

* Различия статистически значимы по отношению к контролю, $p = 0,04$ по критерию Вилкоксона; ** $p = 0,01$; ДК — диеновые конъюгаты (первичные продукты ПОЛ); КДиСТ — кетодиены и сопряженные триены (вторичные продукты ПОЛ); [г] — гептановая фаза липидного экстракта; [и] — изопропанольная фаза липидного экстракта; е.и.о. — единицы индекса окисления; АДНФГ, КДНФГ — альдегид- и кетон-динитрофенилгидразоны (соответственно); [н] — нейтрального характера; [о] — основного характера. $S_{\text{ОМБ}}$ — общий уровень ОМБ (суммарное количество АДНФГ и КДНФГ).



Таутомеры 2-этил-6-метил-3-оксипиридина. Примечание: для 3-оксипиридинов в водном растворе характерно наличие нейтральной и биполярной форм в соотношении 1:1. В зависимости от pH среды они могут также существовать в анионной и катионной формах [18].

Заслуживает внимания обратная зависимость между интенсивностью ОМБ и концентрацией эмоксипина гидрохлорида в инкубационной среде (табл. 2): в концентрациях 10^{-3} – 10^{-8} М ЭГХ не оказал влияния на общий уровень карбонилированных белков митохондрий, но по мере увеличения концентрации изучаемого соединения в инкубационной смеси выявлено относительное снижение содержания производных ОМБ нейтрального характера при увеличении уровня основных производных, что указывает на относительную сохранность нейтральных участков белковых молекул, встроенных в фосфолипидный бислой и перераспределение ОМБ на основные участки белковых молекул. С уменьшением концентрации ЭГХ в инкубационной смеси эта тенденция становится все более выраженной, и при минимальной концентрации (10^{-9} М) приводит к статистически значимому приросту общего уровня ОМБ за счет увеличения уровня уже производных основного характера, что свидетельствует о распространении ОМБ на гидрофильные участки белковых молекул [13]. Таким образом, зависимость интенсивности двух основных звеньев свободнорадикального окисления, ПОЛ и ОМБ, от концентрации исследуемой фармацевтической субстанции в инкубационной смеси имеет двухфазный характер: относительно высокие концентрации (10^{-3} М) способствуют активации липопероксидации, а низкие (10^{-9} М) — усилению окислительной модификации белков.

Сопоставляя полученные данные с результатами исследования функциональной активности митохондрий и фармакокинетическими параметрами изучаемого вещества [12], следует отметить, что усиление ПОЛ при концентрации ЭГХ 10^{-3} М в инкубационной смеси имеет транзиторный характер и не оказывает влияния на ключевые показатели дыхания митохондрий. Анализ корреляционных взаимосвязей демонстрирует, что уровень первичных продуктов ПОЛ (диеновые конъюгаты) в данном случае имеет прямую корреляционную зависимость ($r_s = 0,94$, $p = 0,004$), а уровень вторичных продуктов ПОЛ (кетодиены и сопряженные триены) — обратную зависимость ($r_s = -0,83$, $p = 0,042$) от скорости потребления кислорода в нефосфорилирующем состоянии V_4 . Учитывая, что в этом состоянии потребление кислорода митохондриями связано с утечкой протонов через внутреннюю мембрану и функционированием нефосфорилирующих путей транспорта электронов, а также известную

способность производных 3-ОП к взаимодействию с мембранами [17] и свойства скэвенджера липидных радикалов [6], можно предположить, что транзиторный прооксидантный эффект ЭГХ в концентрации 10^{-3} М может быть результатом его прямого взаимодействия с ацильными остатками фосфолипидов мембран митохондрий.

При меньших концентрациях ЭГХ в инкубационной смеси наблюдается перераспределение субстратов свободнорадикального окисления в пользу белков с постепенным ограничением фосфорилирующего окисления, достигающего наиболее значимых величин при концентрациях ЭГХ 10^{-8} и 10^{-9} М. Взаимосвязи между ОМБ и функциональным состоянием митохондрий подтверждаются наличием обратной корреляционной зависимости ($r_s = -0,90$, $p = 0,037$) между уровнем продуктов ОМБ основного характера, преобладающих в митохондриях при концентрации исследуемого вещества 10^{-8} М (табл. 2), и поглощением кислорода как в активном фосфорилирующем состоянии V_3 , так и в нефосфорилирующих состояниях V_2 и V_4 . При этом наиболее выраженные изменения как ОМБ, так и функциональных характеристик дыхания митохондрий наблюдались при минимальной исследованной концентрации ЭГХ в инкубационной смеси (10^{-9} М). Следует обратить внимание на тот факт, что ЭГХ ограничивал скорость поглощения кислорода в состояниях V_2 и V_3 , но не в состоянии V_4 .

Выявленные свойства 2-этил-6-метил-3-оксипиридина в минимальных исследованных концентрациях (10^{-8} и 10^{-9} М) как разобщителя окислительного фосфорилирования и прооксиданта могут быть следствием проявления его прототропной таутомерии (рисунок). Не исключено, что переход из нейтральной в биполярную и далее в катионную форму может сопровождать электрогенный унипорт протонов в матрикс, а нейтральная форма молекулы способна фиксироваться в фосфолипидном бислое, оказывая влияние на липидное микроокружение интегральных белков и нарушая баланс между ПОЛ и ОМБ в мембранах митохондрий.

В целом, результаты исследования демонстрируют прооксидантный эффект низких концентраций ЭГХ, сопряженный с разобщающим действием в митохондриях печени *in vitro*. В то же время антигипоксическое и антиоксидантное действие производных 3-ОП было неоднократно продемонстрировано ранее [1, 5, 6, 19], а прооксидантное и разобщающее действие ЭГХ на митондрии *in vivo* может быть компенсировано и

проявляться, прежде всего, модулирующим влиянием на ферментные системы митохондрий. В частности, полученные данные могут учитываться при трактовке MAO-модулирующего действия производных 3-оксипиридина [20], а также его про- и антиоксидантных эффектов [17]. Считаем целесообразным дальнейшее изучение прямого влияния 2-этил-6-метил-3-оксипиридина гидрохлорида на метаболические системы митохондрий с целью детализации механизмов его действия, что может в дальнейшем найти применение в разработке новых комплексных схем фармакотерапии, предусматривающих применение производных 3-оксипиридина для коррекции митохондриальной дисфункции.

Работа выполнена в рамках государственного задания на осуществление научных исследований и разработок “Фармакофизиология и биохимическая фармакология производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты” (№ государственной регистрации: АААА-А18-118021890008-4. Дата регистрации: 18.02.2018 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. О. С. Левченкова, В. Е. Новиков, Е. В. Пожилова, *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*, № 3, 3 – 12 (2012).
2. Э. С. Бельских, В. И. Звягина, О. М. Урясьев, *Наука молодых — Eruditio Juvenium*, № 1, 104 – 112 (2016).
3. В. В. Яснецов, *Вестник ВолгГМУ*, **30**(2), 72 – 73 (2009).
4. В. В. Яснецов, Е. П. Просвинова, Е. Г. Цублова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(7), 8 – 10 (2012).
5. Г. И. Клебанов, О. Б. Любичкий, О. В. Васильева и др., *Вопр. мед. химии*, **47**(3), 288 – 300 (2001).
6. Т. Н. Федорова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **66**(5), 56 – 58 (2003).
7. А. Н. Миронов, Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильев и др., *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012), сс. 8 – 13.
8. С. Frezza, S. Cipolat, and L. Scorrano, *Nature Protocols*, **2**(2), 287 (2007).
9. А. Д. Виноградов, Ю. Н. Лейкин, Т. Ю. Линская, *Биохимия митохондрий: руководство к практическим занятиям по биохимии животных*, МГТУ, Москва (1977), с. 10.
10. И. Н. Ивков, Л. Ф. Панченко, *Структура и функции биомембран*, № 2, 94 – 103 (1971).
11. И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников и др., *Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма*, ЧГПУ, Челябинск (2000), сс. 45 – 51, 62 – 65.
12. А. К. Сариев, В. П. Жердев, А. А. Дворянинов и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **101**(3), 325 – 327 (1986).
13. М. А. Фомина, Ю. В. Абаленихина, *Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации*, РИО РязГМУ, Рязань (2014), сс. 22 – 47.
14. Н. П. Судаков, С. Б. Никифоров, Г. А. Невинский и др., *Изв. Иркутского гос. ун-та. Сер.: Биология. Экология*, **1**(2), 11 – 14 (2008).
15. Ю. А. Васюк, К. Г. Куликов, О. Н. Кудряков и др., *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*, **3**(1), 41 – 47 (2007).
16. J. Long, X. Wang, H. Gao, et al., *Life Sci.*, **79**(15), 1466 – 1472 (2006).
17. Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, Ю. И. Пивоваров и др., *Acta Biomedica Scientifica*, **2**(5 – 2), 117 (2017).
18. К. М. Дюмаев, Л. Д. Смирнов, *Успехи химии*, **44**(10), 1788 – 1804 (1975).
19. И. А. Волчегорский, Л. М. Рассохина, И. Ю. Мирошниченко, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(12), 27 – 32 (2011).
20. И. А. Волчегорский, А. И. Синицкий, И. Ю. Мирошниченко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(1), 3 – 7 (2018).

Поступила 23.04.19

INFLUENCE OF 2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE ON THE FUNCTIONAL STATE OF RAT LIVER MITOCHONDRIA *IN VITRO*

A. I. Sinitiskii¹, O. T. Kochkina^{1*}, and S. I. Grobovoi¹

¹ South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, 454092 Russia

* e-mail: olgakochkina174@gmail.com

The influence of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine hydrochloride (emoxipine hydrochloride) on the *in vitro* processes of free radical oxidation and respiration of the intact rat liver mitochondria was studied. The drug used at a concentrations within the pharmacokinetic range has a modulating effect on lipid peroxidation and oxidative modification of mitochondrial proteins. Emoxipine hydrochloride causes transient accumulation of lipid peroxidation products at relatively high concentrations in the incubation mixture ($\sim 10^{-3}$ M), and redistribution of free radical oxidation substrates in favor of proteins with a gradual restriction of oxidative phosphorylation, decrease in affinity of the respiratory chain to ADP, and impaired intactness of mitochondrial structures reaching most significant values at 10^{-8} and 10^{-9} M concentrations of emoxipine hydrochloride.

Keywords: mitochondria; emoxipine hydrochloride; polarography; lipid peroxidation; oxidative modification of proteins.