

## МЕЛАТОНІН, ЙОГО СТРУКТУРНІ АНАЛОГИ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІНІ ВЛАСТИВОСТІ

Редькін Р. Г.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків  
Ruslan\_red@ukr.net

Фундаментальна роль мелатоніну (МТ), його прекурсор — L-триптофану та інших індоламінів в організмі людини та тварин, привертає постійну увагу дослідників до хімії та фармакології цих речовин й, зокрема, до подальшого вивчення та зародження нового напрямку із цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних речовин (БАР) на основі МТ та інших споріднених структур з метою пошуку нових лікарських засобів і вивчення фундаментальних фізіологічних процесів, таких як біоритми, старіння, нейро-гуморальна регуляція, апоптоз тощо [1]. Представлений огляд є спробою провести класифікацію структурних аналогів МТ та систематизацію відомостей про фармакологічні властивості МТ та близьких до нього за дією чи структурою синтетичних сполук, відомих як його аналоги, висвітлити питання залежності біологічної активності означених класів сполук від їх будови.

### Мелатонін, його структурні аналоги та їх класифікація

Мелатонін — нейрогормон епіфізу (*glandula pinea*), одна з еволюційно найдавніших біохімічних речовин, відкритий американським дерматологом А. В. Lerner ще у 1959 р. [2, 3]. Мелатонін належить до похідних триптаміну і являє собою найпростіший псевдопептид — N-ацетил-5-метоксітриптамін (рис. 1) [4]. Триптаміни, в свою чергу, належать до БАР з різноманітною фізіологічною активністю, перш

за все це відомі в клініці серотонін та протимігренозні засоби групи триптанів.

Як індивідуальна сполука МТ представляє собою білого кольору з сіруватим відтінком порошок з температурою плавлення 119,5–120,5 °С, мало розчинний у воді, розчинний у спирті [1].

Молекула МТ невеликих розмірів і має високу ліпофільність, в силу чого для неї не існує в організмі жодних перепон, включаючи плацентарний і гематоенцефалічний бар'єри [1]. За думкою ряду дослідників, виявлення біологічної активності МТ обумовлено присутністю з одного боку етанамінового фармакофору з фрагментом С-NH-C у поєднанні з амфифільним індольним ядром, яке відповідає за гідрофобні взаємодії з мембранами та є також об'єктом для метаболічної деградації в організмі. Саме такої логіки дотримувалися деякі дослідники при пошуку нових похідних МТ або споріднених сполук, близьких до нього за фармакологічною дією (рис. 1.).

Історично першим дослідженим структурним аналогом МТ є 2-[<sup>125</sup>I]-МТ, вперше отриманий у 1984 р. О. Vakkuri et al. відносно простою модифікацією власне МТ та використаний як високоафінний ліганд до мелатонінергічних структур при радіолігандних дослідженнях [5]. Це дало можливість згодом встановити існування специфічних МТ-рецепторів, через які в тканинах різних органів опосередковано й проявляє свою активність гормон [6].



нових сполук на його основі. Відомо, що в ЦНС ендогенний МТ синтезується в пінеалоцитах епіфізу, звідки він потрапляє

в церебральні капіляри та спинномозкову рідину. Синтез МТ контролюється норadreналіном, який діє на цАМФ та індукує

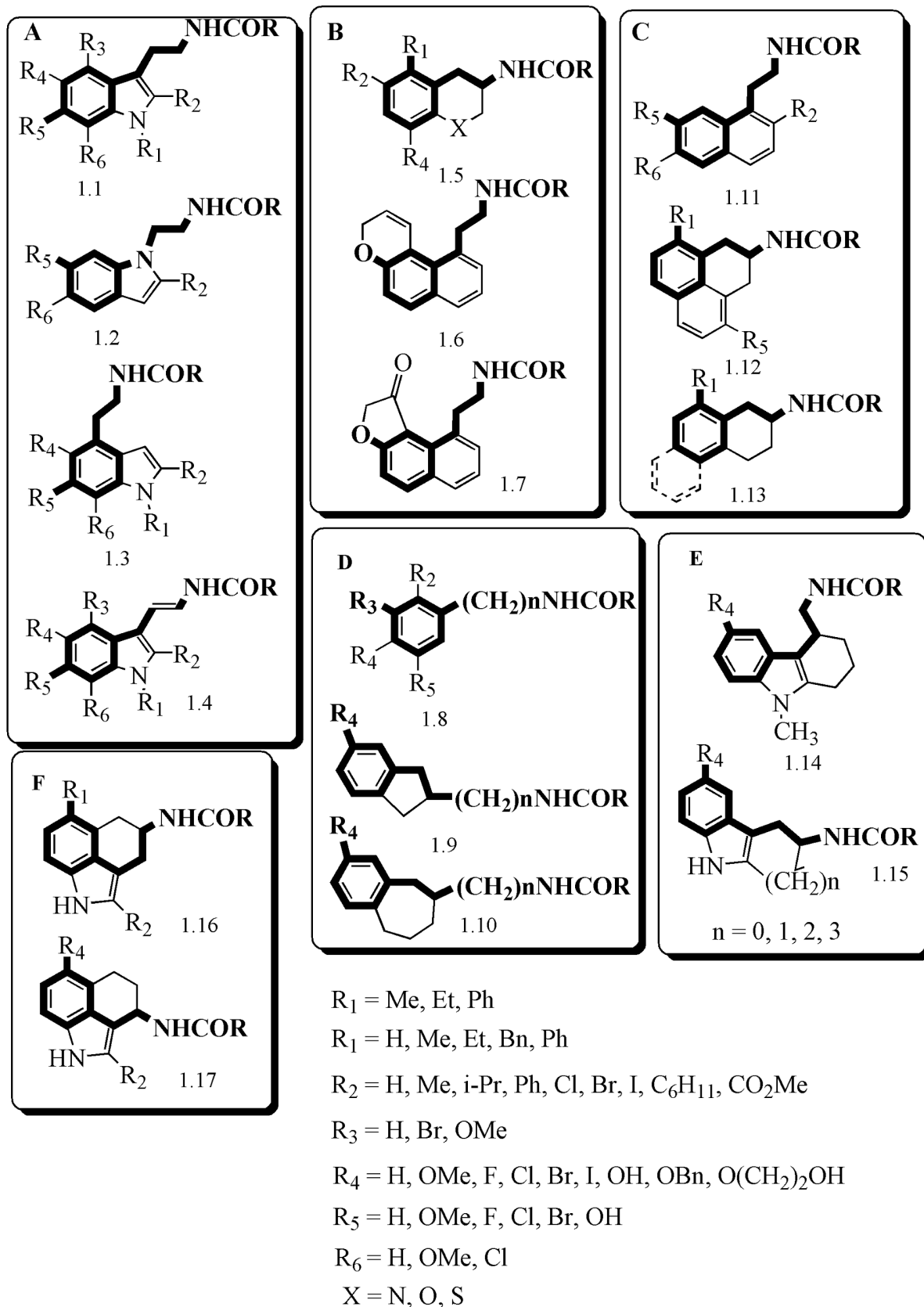


Рис. 2. Класифікація структурних аналогів МТ (в формулах виділено феніламіноалкільний фармакофор).

ключові ензими синтезу МТ (серотонін-N-ацетилтрансферазу та гідроксі-індол-O-метил-трансферазу).  $\beta$ -адреноблокатори блокують цей процес.  $\alpha$ -Адрено-, дофаміно-, холіно-, ГАМК-, серотоніно-, пептидергічні-, БД-рецептори також регулюють синтез МТ у ЦНС [27].

Окрім пінеалоцитів епіфізу синтез МТ може інтенсивно відбуватися й в інших тканинах, зокрема ентерохромаффінових клітинах, сітківці ока, периферичних нервових закінченнях та шлунково-кишковому тракті (ШКТ) (табл.). Причому ще в 1994 р. G. Huether [28] було доведено, що в тканинах ШКТ концентрація ендogenous МТ приблизно у 400 разів вища за його концентрацію у епіфізі незалежно від часу доби. Порівняно із плазмою крові концентрація МТ в ШКТ вища від 10 до 100 разів [29].

Мелатонін є практично нетоксичною речовиною, що доведено дослідженнями на мишах, крисах та кішках [30]. У білих мишей при внутрішньовенному введенні в дозах 10, 25, 50 мг/кг МТ не викликає зміни загального стану та поведінки тварин. При дозах 75, 100, 150 мг/кг спостерігається підвищення рухливості, незначна атаксія, слабка задуха; у окремих тварин спостерігається короткочасне бокове положення; при збільшенні доз до 200-250 мг/кг перелічені симптоми посилюються, настають клонімотонічні судоми і загибель тварин. Величина  $LD_{50}$  при внутрішньовенному введенні мишам складає 125 мг/кг. При внутрішньошлунковому введенні МТ в граничних дозах 300-400 мг/кг суттєво не впливав на стан тварин, але при перевищенні цих доз через 15-40 хвилин у тварин з'являється задуха, атаксія та клонімотонічні судоми. Частина тварин помирає при дозах 850-1000 мг/кг. Величина  $LD_{50}$  при пероральному введенні мишам складає 930 мг/кг.

Рівень МТ в організмі змінюється впродовж доби та в залежності від пори року. Більш інтенсивно МТ утворюється впродовж ночі (у темряві). Концентрація МТ в крові в 10 разів вища вночі, ніж вдень. Навіть короткочасна дія інтенсивного світла в нічний час різко знижує секрецію МТ в епіфізі. В зв'язку з цим вважається, що гальмівна дія на циркадний ритм рівня МТ

опосередковується через фотопігмент родопсин [31].

#### Мелатонінові рецептори

Для розуміння природи специфічної дії МТ та пошуку сполук із подібною активністю необхідним є чітке розуміння структур, за рахунок яких діє МТ. Мішенню МТ в тканинах виявилися спеціалізовані рецептори, які розрізняють за функцією (збудливі або гальмівні), а також за локалізацією в нейроні (мембранні або ядерні). Відомі на сьогодні мембранні рецептори МТ розподіляються на  $MT_1$ ,  $MT_2$  та  $MT_3$  (табл. 1., рис. 3 [32]). Прогрес у вивченні механізму дії та пошуку аналогів МТ пов'язаний з відкриттям саме цих структур та їх клонуванням *in vitro* наприкінці 90-х років ХХ століття [33].

Топологія МТ-рецепторів в головному мозку та епіфізі була встановлена за місцями зв'язування 2- $[^{125}I]$ -МТ на тканинах епіфізів курей, вівці та людській сітківці ока [47]. Активація МТ-рецепторів пінеалоцитів з мозку вівці *in vitro* була показана під дією  $\alpha$ АМФ, індукованою форсколіном. За принципом негативного зворотного зв'язку концентрація  $\alpha$ АМФ зменшувалася під дією МТ в залежності від дози [48]. У ЦНС розрізняють дві головні області зв'язування МТ: передня частина гіпофіза і супрахіазмального ядра (СХЯ), причому у різних видів є помітні відмінності [49], які можуть мати важливе значення як для сезонної репродукції, так і для часових ритмів у денних, нічних і сутінкових ссавців.

Рецептори мелатоніну — це трансмембранні G-зв'язані білкові структури, що містять послідовність із 420 амінокислот [50]. В тканинах, зокрема гіпофіза людського ембріону, тканинах епіфіза та меланофорах *Xenopus laevis* МТ-рецептор пов'язаний з  $\alpha$ АМФ через Gi-білок, блокада якого коклюшним токсином блокує біохімічні ефекти МТ [51].

Модель МТ-рецептора була вперше запропонована в роботі D. Sugden et al. [8], в якій автори використали розрахунки зарядів атомів молекули МТ та інших споріднених триптамінів, а також дані із амінокислотної послідовності клонованого T. Ebisawa

et al. МТ-рецептора *Xenopus leavis* [52]. Згідно з цією моделлю, МТ-зв'язуючий домен

рецептора має конформацію спіралі, яка містить послідовність амінокислот. Молекула

Т а б л и ц я  
Класифікація, локалізація та функції специфічних рецепторів мелатоніну

Субтипи МТ-рецепторів та їх позначення	Селективні ліганди		Топологія в тканинах	Фізіологічна роль	Джерело інформації
	агоніст	антагоніст			
MT <sub>1</sub> (Mel <sub>1a</sub> або)	S-26284	S-26131	Супрахізмальні ядра, гіпоталамус, епіфіз, сітківка ока	Фотоперіодичні зміни, циркадні ритми, репродуктивний статус	[1]
			Артерії, артеріоли	Потенціювання вазоконстрикції	[2]
			Яєчники (антральні фолікули та жовте тіло, гранульозні клітини)	Під час проєструса МТ <sub>1</sub> рецептори знаходяться у конститутивноактивній формі та активуються за присутності 17β-естрадіолу, що свідчить про роль статевих стероїдів в їх регулюванні. Активація МТ-рецепторів в яєчниках може бути посередником стероїдогенезу	[3]
			Підшлункова залоза	Модуляція секреції інсуліну відповідно до циркадіанного ритму	[4]
MT <sub>2</sub> (Mel <sub>1b</sub> або ML <sub>1B</sub> )	ПК7	4P-ADOT, 4P-PDOT, GR128107, K185	Пресинаптичні мембрани синапсів сітківки та нейронів супрахізмальних ядер	Пригнічення секреції дофаміну, зсув фаз циркадних ритмів, інгібування адренергічної вазоконстрикції	[5, 6]
			Тканини ШКТ, особливо гладенькі м'язи кишківника, шлунка, апендікса стравоходу тощо	Антагонізм серотоніну, пригнічення скорочення гладеньких м'язів, регуляція перистальтики ШКТ, підвищення часу проходження їжі	[7, 8]
			Артерії, артеріоли	Потенціювання вазоділяції	[9]
			Яєчники (антральні фолікули та жовте тіло, гранульозні клітини)	Активуються при зниженні концентрації естрогенів, що призводить до внутрішньоклітинного накопичення цАМФ та настанню відповідних ефектів	[3]
			Підшлункова залоза	Фізіологічне пригнічення секреції інсуліну, МТ <sub>2</sub> рецептори експресовано у β-клітинах у 86 разів менше, ніж МТ <sub>1</sub> -рецептори	[10]
MT <sub>3</sub> (ML <sub>2</sub> ) від-повідає людській хінон-редуктази-2 (QR2)	N-ацетил-серотонін, 5MCA-NAT	Празозин	Мембрани лейкоцитів, тканина нирок	Адгезія лейкоцитів, регуляція окисно-відновних процесів	[11]
Mel <sub>1c</sub>	—	—	Тканини нижчих хребетних (амфібій роду <i>Xenopus</i> , курей, полосатих риб)	Регулювання пігментації шкіри	[12]
Ядерні ROR / RZR	—	—	Ядро клітин	Регулювання синтезу антиоксидантних ензимів	[13]

МТ утворює водневі зв'язки за рахунок 5-метоксі та амідної груп з залишком серину-115 та аспарагіну-167, тобто з амінокислотами третього то четвертого витків спіралі, відповідно. За рахунок гідрофобних взаємодій індольного кільця МТ та залишку триптофану-256 утворюється  $\pi$ - $\pi$  зв'язок, який додатково стабілізує просторове розташування МТ на комплементарному сайті рецептора. Додатково можуть виникати Ван-дер-Ваальсові взаємодії між 5-метильною групою і ацетильним радикалом МТ та неполярними гідрофобними залишками амінокислот — ізoleyцину-89, валіну-170 та ізoleyцину-194, відповідно. Пізніше С. G. Grol et al. методом побудови 3-D структури рецептора та розрахунків конформації уточнив довжини водневих зв'язків та їх природу для МТ: 1,5–2,7 Å — гістидин-ОМе, 1,3–2,7 Å — серин-С=О; серин-НН — 1,5–2,7 Å [53]. Таким чином, для зв'язування молекул потенціальних лігандів з МТ-рецептором необхідно, щоб молекула ліганду містила етиламінний фармакофор та, зокрема, НН-амідну, С=О — амідну групи (для

утворення важливих водневих зв'язків) та ароматичну систему (індольне кільце або біоізоостерні йому групи, наприклад нафталінове ядро). Щодо 5-метоксі групи, то тут думки дослідників розділились: одні вважають її обов'язковою для прояву мелатоніноподібної дії, а інші — ні [28]. Так, переміщення ОМе-групи в 4-, 6- або 7- положення знижує афінність до МТ-рецепторів, а 5,7-ди ОМе-заміщені аналоги більш афінні, ніж 7-ОМе заміщені. В той же час нафталінові аналоги мелатоніну, що замість ОМе містять 1,4-діоксанове кільце, виказують нижчу афінність до МТ-рецепторів, ніж їх піранові аналоги, що пояснюється просторовими перешкодами до утворення водневих зв'язків з амінокислотними залишками МТ-рецептору [54].

*Вплив структури аналогів МТ на зв'язування із рецепторами мелатоніну*

Структуру відомих селективних лігандів МТ<sub>1</sub>/МТ<sub>2</sub>-рецепторів подано на рис. 2,3. В той же час неселективних лігандів МТ<sub>1</sub>/МТ<sub>2</sub>-рецепторів відомо наба-

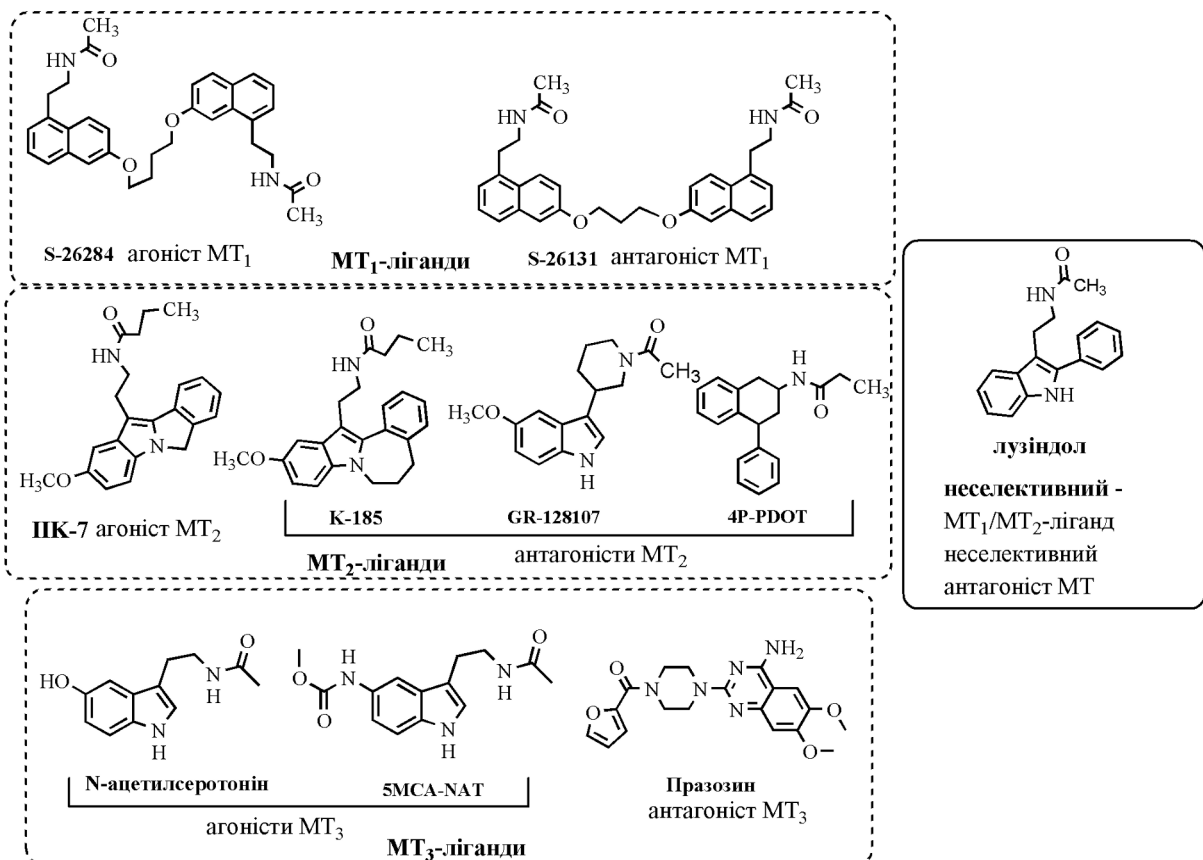


Рис. 3. Хімічна структура селективних лігандів МТ-рецепторів [32].

гато більше. Так, D. Sugden et al. вперше порівняли МТ з його аналогами за афінністю до МТ-рецепторів, використовуючи величини констант зв'язування з мембранними сайтами 2-[<sup>125</sup>I]-МТ в тканинах мозку домашніх курей (*Gallus domesticus*) та епіфізах баранів. В результаті досліджені сполуки за величиною констант зв'язування можна розподілити наступним чином: 2-хлор-МТ > 2-[<sup>125</sup>I]-МТ > N-бутирил-5-метоксітриптамін > N-пропіоніл-5-метоксітриптамін > МТ > 6-хлоро-МТ > 6-гідроксі-МТ > N-ацетил-5-метоксібензо[b]тіофен > N-ізобутирил-5-метоксітриптамін > N-валеріоніл-5-метоксітриптамін > 6-метоксі-МТ > N-бутирил-триптамін > N-пропіоніл-триптамін > N-ацетил-триптамін > N-ацетил-серотонін > N-ізобутирил-триптамін > серотонін > 6-метоксігармін > 5-метоксітриптамін > 5-метоксітриптофол [12].

Введення N-бензоїльних та N-бензильних залишків до молекули МТ значно знижує афінність до МТ-рецепторів, що підтверджує важливість присутності вільної індольної NH-групи для прояву біологічної активності [10].

Заміщення атома водню в  $\alpha$ -положенні індольного кільця на великі радикали в цілому неоднозначно впливає на афінність до окремих підтипів МТ-рецепторів. Так,  $\alpha$ -фенільний радикал лише посилює ліпофільність та в цілому спричиняє агоністичну активність на МТ-рецептори, тоді як  $\alpha$ -бензильний чи  $\alpha$ -пропіофенільний спричиняють різке зменшення афінності. Наприклад, антагоніст МТ<sub>2</sub> рецепторів — лузіндол та 4-феніл-2-амідотетраліни, які селективно зв'язуючись із МТ<sub>2</sub>-субтипом підвищують виділення дофаміну в сітківці ока кролів та зсув циркадних фаз під дією МТ, тобто справляють ефекти, протилежні активації МТ<sub>2</sub>-рецепторів [55].

Мелатонін та його аналоги пригнічують кальцій-залежне виділення дофаміну за рахунок активації МТ<sub>2</sub> рецепторів на моделі сітківки ока курей за тропністю до МТ<sub>2</sub>, оціненою за величиною IC<sub>50</sub>, були розподілені наступним чином: 2-[<sup>125</sup>I]-МТ > 6-хлоро-МТ  $\geq$  МТ > 6-гідроксі-МТ > 6-метоксі-МТ > 5-мето-

ксітриптамін > L-триптофан  $\geq$  N-ацетил-L-триптофан [56]. Тобто, ліганд 2-[<sup>125</sup>I]-МТ та 6-хлоро-МТ навіть активніші, ніж сам МТ, а найменш активним виявився L-триптофан.

#### Ендокринні ефекти мелатоніну та його аналогів

Однією з фізіологічних функцій МТ є його здатність викликати просвітлення меланоцитів, на чому власне й засновано один з методів спостереження гормональної активності самого МТ та випробування його структурних аналогів *in vitro* [57]. На можливість використання саме амфібій роду *Xenopus* звернув увагу M. D. Rollag, який спостерігав просвітлюючу дію за концентрації МТ < 10<sup>-8</sup> моль/л [58], хоча вперше описав цей фізіологічний ефект МТ на пуголовках американський дерматолог A. V. Lerner. В якості фармакологічної моделі для спостереження агрегації пігментів меланінів D. Sugden et al. використали культуру клітин шкіри африканської жаби *Xenopus laevis*, що багата на меланофори (рис. 4). Фармакологічного вимкнення дії МТ на меланофори можливо досягти за допомогою активатору протейнінази C — 4 $\beta$ -форбол-12-мірістат 13-ацетату, який є похідним терпену форболу — одного з компонентів кротонної олії з насіння Кротону проносного (*Cróton tíglim*) [59]. Культуру меланофорів отримують з відповідних ембріонів, які диспергують в стерильному поживному середовищі, що містить фетальну телячу плазму, глютамін, пеніцилін, стрептоміцин, амфотеріцин та  $\alpha$ -меланоцит стимулюючий гормон ( $\alpha$ -MSH).

Однією із складових гормональної функції МТ є його здатність забезпечувати зв'язок епіфіза з гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковою системою та щитоподібною залозою та контролювати репродуктивну функцію. У недозрілих тварин МТ затримує статевий розвиток, а у статевозрілих він гальмує секрецію фолі- та лютотропінів, а також настання еструсу. Цей ефект було використано при розробці комбінованого контрацептиву, що містить 500 мкг норетістерону та 75 мг МТ [60].

Здатність МТ регулювати синтез гормо-

нів, зокрема естрогенів, відкриває широкі можливості для його застосування в комбінованій терапії різних захворювань. Так, в роботі S.M. Hill et al. було показано, що МТ затримує ріст в культурі клітин людської пухлини молочної залози МСF7 *in vivo* [61]. Мелатонін, його аналоги та споріднені індольні сполуки (6-гідроксі-МТ, L-триптофан, 5-гідроксітриптофан, 5-мето-

кситриптамін, серотонін, 3-індолілоцтова кислота) пригнічують ріст клітин людської аденокарциноми на 5-й або 7-й день в культурі *in vivo* за рахунок блокади естрогенових рецепторів, які знаходяться на поверхневих мембранах клітин пухлини, внаслідок пригнічення експресії ДНК гену даного рецептора [62]. Отже, здатність МТ знижувати продукцію естрогенів може бути вико-

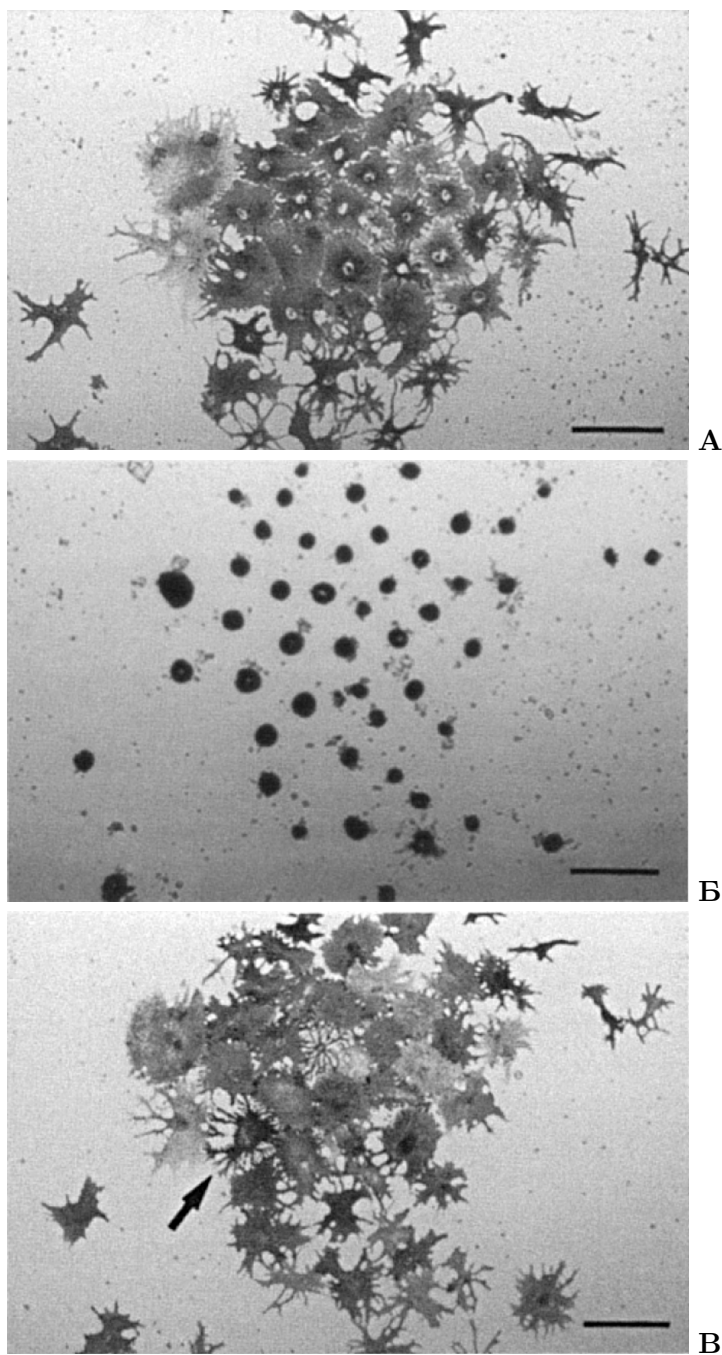


Рис. 4. Мікрофото культури інтактних меланофорів *Xenopus laevis* (А); агрегація гранул меланіну після обробки тієї ж культури мелатоніном ( $10^{-8}$  М, 15 хв.) (Б); гальмування агрегації меланіну під дією МТ після обробки меланоцитів активатором протеїнкінази С — 4 $\beta$ -форбол-12-мірістат 13-ацетатом ( $10^{-7}$  М, 60 хв.) (Б) (з роботи Sugden et al [59]).

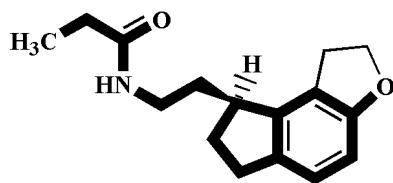
ристана в терапії естрогензалежних пухлин, зокрема раку молочної залози, в комбінації з тамоксифеном та іншими антигормональними засобами для підвищення чутливості пухлин до цих протипухлинних засобів [63].

*Мелатонін і його аналоги як фізіологічні регулятори та коректори циркадіанних порушень*

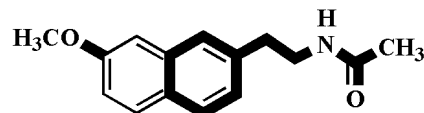
У рандомізованих клінічних дослідженнях було вивчено ефект застосування таблетованих препаратів МТ у дозах від 1 до 3 мг перед сном при інсомнії. Вони продемонстрували досить суперечливі результати, бо показали недостатню ефективність при терапії важких форм інсомнії [64]. Однак МТ поліпшував якість сну у пацієнтів з безсонням у віці старше 55 років на тлі циркадіанних порушень [65]. Цей факт добре узгоджується з даними про зменшення рівня продукції МТ епіфізом з віком. Тому застосування МТ в якості гормонзамісної терапії у пацієнтів після 55 років є цілком виправданим і може носити профілактичний характер відносно нейродегенеративних вікових змін та сезонних депресій [66]. У 2007 році в якості препарату для корекції порушень

сну був схвалений МТ під назвою «Circadin» (Neurim Pharmaceuticals, EU) [67].

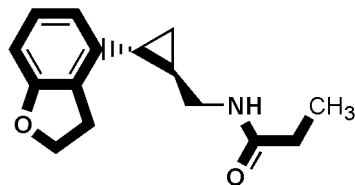
В результаті пошуку нових молекул з мелатонінергічною активністю було відкрито препарати — агомелатін (agomelatine), рамелтеон (ramelteon) [68] та тазімелтеон (*tasimelteon*) [69], які є «безіндолними» структурними аналогами МТ (містять алкіламіновий фармакофор, хоча не є індоламінами) і неселективно зв'язуються з МТ<sub>1</sub>/МТ<sub>2</sub>-рецепторами (рис. 5). Агомелатін містить у своїй структурі, крім алкіламінового залишку, ще й ядро нафталіну, та має, крім прямої агоністичної активності відносно МТ<sub>1</sub>/МТ<sub>2</sub>-рецепторів, ще й антагонізм до рецепторів 5-НТ<sub>2</sub>С-серотоніну, чим пояснюється його оригінальний антидепресантний механізм дії. Єдиним індолмістким аналогом МТ є препарат під кодом ТІК-301, що проходить II фазу клінічних досліджень в США. ТІК-301, на відміну від МТ, містить β-метильну групу в алкіламіновому фрагменті і атом хлору в 6-положенні індолного ядра (рис. 5). Однією з проблем вищезгаданих синтетичних аналогів МТ є їх низька біодоступність: близько 2% — для рамелтеону і 5% — для агомелатіну [70].



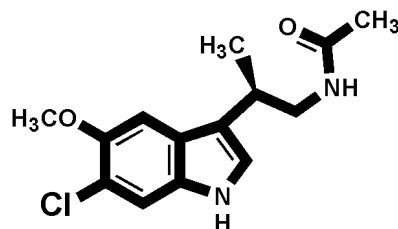
TAK-375  
Рамелтеон (Ramelteon)  
Takeda Pharmaceutical  
Company, Japan, USA



Агомелатін (Agomelatine)  
Servier, EU



VEC-162  
Тазімелтеон (Tasimelteon)  
Vanda Pharmaceuticals,  
USA



TIK-301 (PD-6735, LY-156,  
735)  
Tikvah Pharmaceuticals,  
USA

Рис. 5. Аналоги МТ (виділено споріднені структурні фрагменти, в тому числі алкіламіновий фармакофор), які використовуються в клініці.

Місце МТ і його аналогів у терапії інсомнії продовжує вивчатися. Очевидно, ці препарати показані при порушенні акту засинання і розладах ритму день-ніч, наприклад, пов'язаних з особливостями трудової діяльності, перельотами в інші часові пояси, сезонними та віковими депресіями тощо.

*Застосування мелатоніну як панкреопротектору*

Практично 39 років тому була доведена присутність МТ в ШКТ, про що сповістили ряд дослідників, в тому числі радянські вчені — проф. Н. Райхлин та І. Квітний, які вперше довели присутність МТ в екстрактах апендиксу людини, обробивши ними меланофори жаби [71], а пізніше відкрили його продукцію ентерохромафіновими клітинами [72]. Практично в той же час група вчених (G. A. Vubenik et al.), яка вперше імуногістохімічно візуалізувала локалізацію МТ в епіфізі та сітківці ока щурів, імуногістохімічно довела присутність МТ в ШКТ у щурів (рис. 6, 7) [73].

Відкриття здатності тканин ШКТ самостійно продукувати МТ та присутності його МТ<sub>1</sub>/МТ<sub>2</sub>-рецепторів в тканинах ШКТ, зокрема в ентерохромафінових клітинах кишківника та підшлунковій залозі (переважно у  $\beta$ -клітинах острівців Лангергансу) [37] підштовхнуло ряд дослідників висловити гіпотезу про важливу роль МТ у фізіології ШКТ, зокрема підшлункової залози, та його органопротекторні властивості відносно цього органу [74]. Встановлено, що рівень інсуліну також адаптовано до зміни день/ніч опосередковано через вплив МТ [75]. З іншого боку, в декількох генетичних дослідженнях було описано поліморфізм людських генів МТ<sub>2</sub>-рецепторів, що може бути причиною підвищення ризику розвитку цукрового діабету 2 типу. Такі особи можуть бути більш чутливими до впливу МТ, що веде до порушення секреції інсуліну [43]. Таким чином, блокування МТ-індукованого пригнічення секреції інсуліну може бути новим терапевтичним напрямком для лікування цукрового діабету 2 типу.

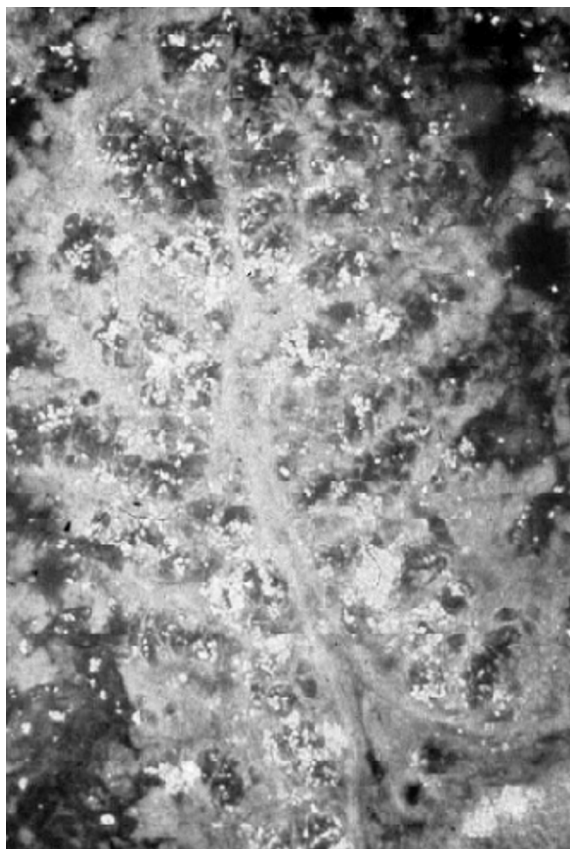


Рис. 6. Імуногістохімічна детекція МТ у Ліберкюнових залозах (криптах) кишківника щура [73].

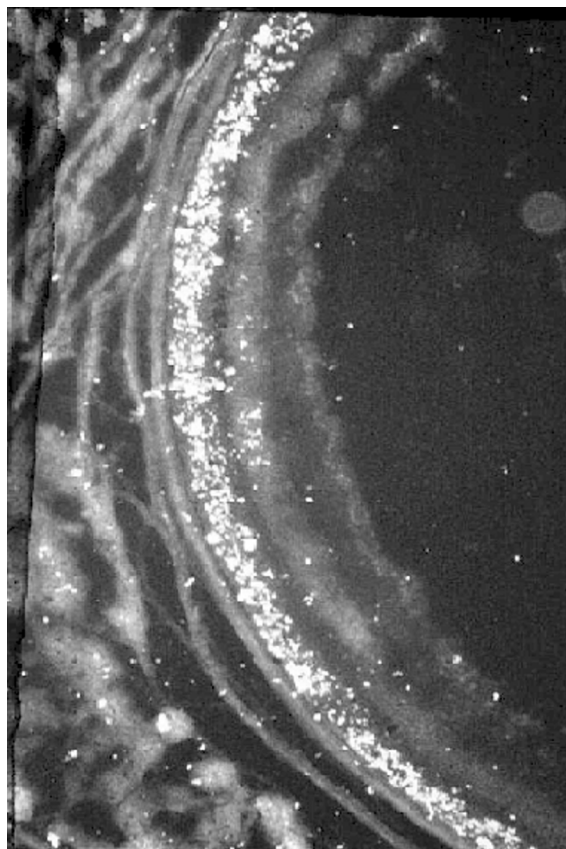


Рис. 7. Імуногістохімічна детекція МТ у сітківці ока щура в нічний час за Vubenik [73].

Проте, модуляція дії МТ може позитивно вплинути на цукровий діабет і пов'язані з ним метаболічні порушення не лише за рахунок регулювання секреції інсуліну, а також шляхом захисту  $\beta$ -клітин від активних форм кисню. Важливо підкреслити, що попереднє введення тваринам як самого МТ, так і його попередника — L-триптофану, значно послаблює запальний процес в підшлунковій залозі [76]. Так, застосування L-триптофану в дозах 25 або 50 мг/кг підвищує рівень МТ у плазмі до 100 або 220 пг/мл, відповідно. Ряд дослідників висловили припущення, що МТ навіть у фізіологічних концентраціях здатний захистити підшлункову залозу при гострих запальних пошкодженнях.

Вперше R. Reiter et al. в експериментах на тваринах показали, що МТ ефективно зменшує ПОЛ, руйнування нуклеїнових кислот та попереджає розвиток аллоксан-індукованого діабету у щурів [77].

L-триптофан, як і МТ, справляє захисний ефект при гострому панкреатиті, індукованому за допомогою експериментальної ішемії підшлункової залози у щурів. На лабораторних тваринах доведено, що введення ендогенного L-триптофану підвищує синтез ендогенного МТ та його концентрацію у тканинах ШКТ [78], що, на думку ряду авторів, може бути використано для підвищення рівня ендогенного МТ з органопротекторною метою.

Дійсно, при застосуванні МТ або L-триптофану у тварин на моделі гострого панкреатиту різного генезу було відкрито панкреопротекторні властивості МТ. Зокрема, МТ ослаблює тяжкість перебігу гострого панкреатиту і знижує шкідливий вплив гострого запалення, індукованого L-аргініном (у дозі 200 мг/100 г ваги  $\times$  2 інтраперітонеальні ін'єкції з інтервалом в 1 год) у щурів [79]. Причому, було показано, що МТ виразніше стимулює процеси спонтанної регенерації тканин підшлункової залози на тлі L-аргінін-індукованого панкреатиту, ніж відомий стимулятор гіпертрофії та секреції підшлункової залози — холецистокінін-8 (ССК-8) (рис. 8). Позитивний вплив МТ на тканини підшлункової залози було також відмічено на моделях

ішемії/реперфузії та гіперстимуляції церулеїном (ceruletide, cerulein, caerulein) [80] — дека-пептидом (Pglu-Gln-Asp-Tyr[SO<sub>3</sub>H]-Thr-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>), виділеним раніше із шкіри австралійської зеленої жаби *Litoria caerulea*, який широко використовується для моделювання гострого панкреатиту у піддослідних тварин [81]. Введення МТ перед моделюванням гострого церулеїнового панкреатиту у тварин зменшує апоптоз та панкреонекроз, набряк тканин підшлункової залози та ПОЛ [82]. Досліджується роль МТ<sub>2</sub>-рецепторів в реалізації дії МТ при гострому панкреатиті. Продемонстровано, що ендогенний МТ може бути одним з фізіологічних захисників підшлункової залози. Ця гіпотеза спирається на дослідження, які демонструють, що блокада МТ-рецепторів, при обтяжуючих обставинах ушкодження підшлункової залози на тлі гострого церулеїнового панкреатиту, призводить до більш тяжкого перебігу патології. У щурів, підданих гострому панкреатиту за умов попереднього введення лузіндолу — антагоніста МТ<sub>1/2</sub>-рецепторів, гістологічні та біохімічні прояви панкреатиту були значно тяжчими, ніж у групі виключно з гострим панкреатитом [79].

#### *Антиоксидантні властивості мелатоніну та його аналогів*

Ще однією з важливих функцій МТ є його участь в окисно-відновних процесах та пов'язаний з нею так званий стрес-протекторний вплив на різні тканини та органи. Активне вивчення антиоксидантних властивостей МТ почалось у 1993 р. коли було показано, що МТ у 5–14 разів ефективніше в порівнянні з маннітолом та глутатіоном інгібує ОН-радикали, які утворюються у водному розчині під дією УФ-випромінювання (254 нм) [83]. В ряді досліджень *in vivo* та *in vitro* показана висока ефективність МТ відносно О<sub>2</sub><sup>-</sup>, RO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sup>???</sup>-радикалів, пероксинітриду, синглетного кисню, а також здатність МТ підвищувати активність антиоксидантів (АО) — ферментів глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та супероксиддисмутази (СОД) [84]. При цьому привабливим є те, що МТ є нетоксичним для тварин

та людини, навіть у високих дозах. Розповсюдженість МТ в різних тканинах організму та його здатність легко проникати через фізіологічні бар'єри дозволила деяким авторам віднести МТ до «найкращих» АО [85]. Хімічна структура молекули МТ дозволяє йому взаємодіяти з кисневим і з гідроксильним радикалами, даючи в підсумку нетоксичний метаболіт —  $\beta$ -N'-ацетил-N'-форміл-5-метоксікінурамін (рис. 9), а також з кисень-вмісними радикальними метаболітами з утворенням гідроксильованих не-

токсичних продуктів (переважно 6-ОН-МТ) [86].

Проте, неможливо не відмітити, що вивчення антиоксидантної активності МТ на різних експериментальних моделях дає досить різні результати. Так, вивчення антиоксидантних властивостей МТ та споріднених сполук (6-гідроксі-МТ, L-триптофан, 5-гідроксітриптофан, 5-метоксітриптофан, 5-метоксітриптамін, серотонін) на моделі УФ-опромінення гематопорфірину показало більш високу активність МТ в порівнянні

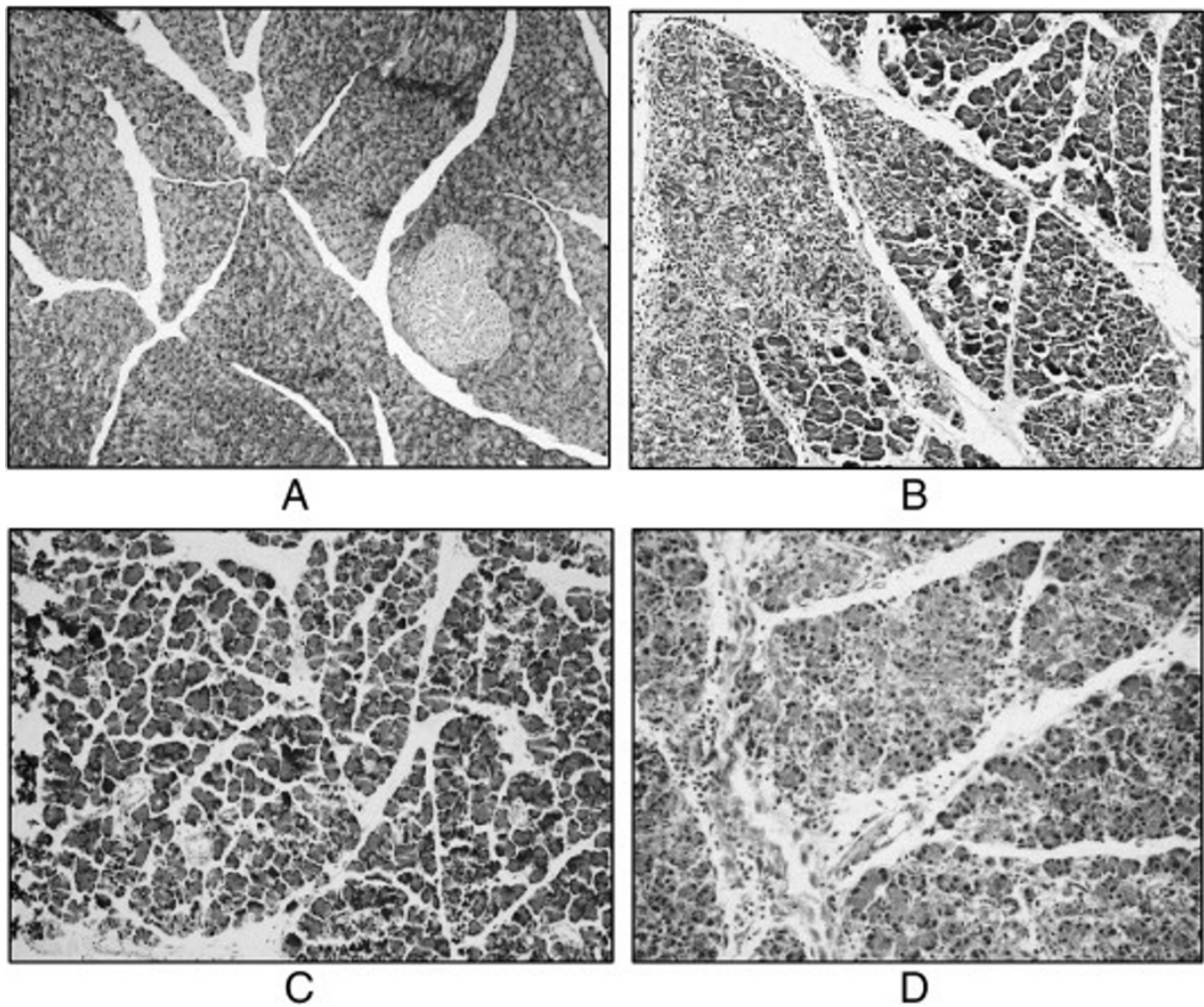


Рис. 8. Мікрофото з експериментальної публікації Sidhu et al. [79]:

**A** — паренхіма підшлункової залози інтактних тварин, присутня нормальна гістологічна структура панкреатичних ацинусів і острівців Лангерганса.

**B** — внутрішньодольковий набряк, ацинарний некроз клітин, дифузне запалення під дією введення L-аргініну (на 3-й день).

**C** — помірне запалення з руйнуванням ацинарних клітин на моделі L-аргінін-індукованого панкреатиту на тлі введення ССК-8 (на 3-й день).

**D** — набряк внутрішньодолькового простору, присутні вогнища руйнувань ацинарних клітин та проліферація фібробластів на тлі введення МТ тваринам з L-аргінін-індукованим панкреатитом (на 3-й день).

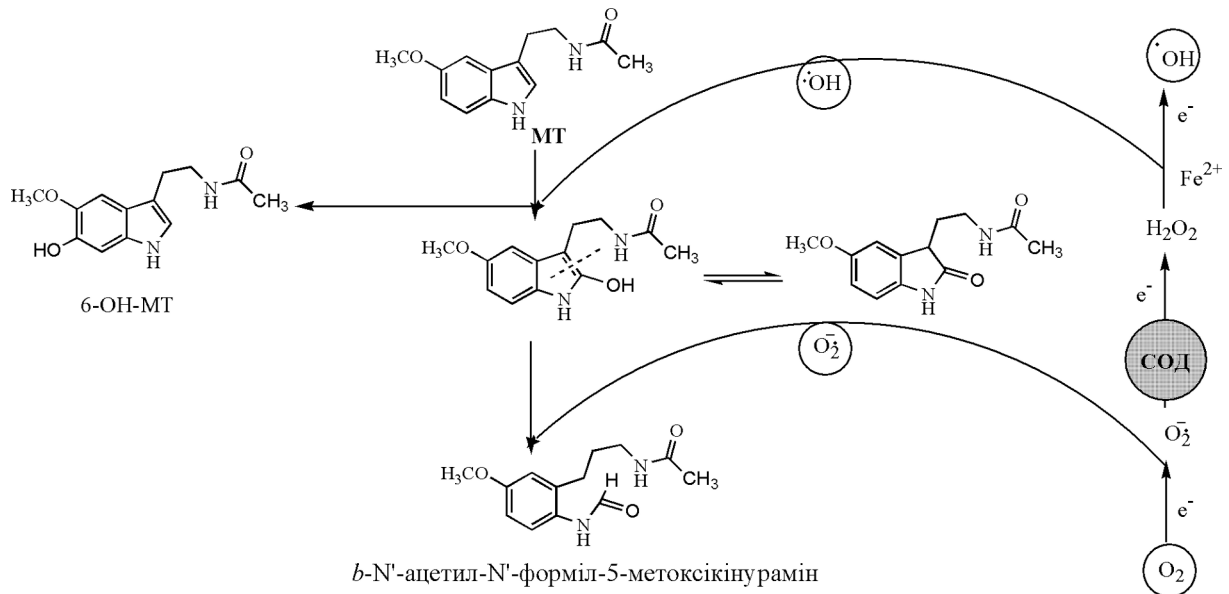


Рис. 9. Шляхи взаємодії мелатоніну з кисень-вмісними радикальними метаболітами [85].

з його аналогами, та в цілому меншу активність всіх досліджуваних сполук на цій моделі в порівнянні із аскорбіновою кислотою. Однак MT та його аналоги активніше перехоплюють *трет*-BuOO $\cdot$ -радикали в реакції *трет*-бутилпероксиду з метгемоглобіном [87].

Мелатонін гальмує процеси ПОЛ за умов дії радіаційного опромінення на тканини мозку та ШКТ щурів [88], що може бути використано для захисту тканин при променевої терапії. Було також показано, що MT є ефективним гепатопротектором за умов уражень печінки різної етіології, які супроводжуються активацією процесів ПОЛ [89].

В представлених вище дослідженнях антиоксидантні властивості MT та споріднених сполук вивчались в дозах від 10 до 30 мг/кг, що значно перевищує фізіологічні концентрації гормону в плазмі та тканинах, які складають не більше 3–5 пмоль/л. Це ставить питання, чи буде справляти антиоксидантну активність MT в наднизьких фізіологічних концентраціях. Було показано, що MT справляє антиоксидантний ефект в плазмі в досить низьких концентраціях. Однак

питання про залежність механізму антиоксидантного ефекту MT від дози залишається маловивченим.

#### Висновок

Таким чином, проаналізовані нами дані літератури свідчать про два принципових напрямки конструювання сполук з MT-подібною дією. Це модифікація структури самого MT та синтез безіндольних аналогів, однак всі ці сполуки містять важливий для прояву біологічної активності аміноалкільний фармакофор. Тому саме цей принцип є найбільш ефективним шляхом для конструювання та пошуку нових лікоподібних сполук, здатних впливати на MT-рецептори та проявляти мелатоніноподібну дію; вказувати імунотропні, нейро-, панкрео-, кардіо-, церебро-, та геропротекторні властивості; нормалізувати біоритми та сон; пригнічувати ріст деяких злоякісних пухлин тощо. Визначено фундаментальну фізіологічну роль MT та його рецепторів у функціонуванні підшлункової залози та секреції інсуліну, що відкриває новий напрямок в пошуку нових засобів для корекції цукрового діабету.

## ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Besharse JC, Iuvone PM, Pierce ME. *Progr Ret Res. Oxford, Pergamon Press*, 1988:21-61.
2. Lerner AB, Case DJ, Takahashi Y. *J Biol Chem* 1960; 235(7):1992-1997.
3. Reiter RJ. *Endocr Rev* 1991; 12(1):151-180.
4. Lerner AB, Case JD, Heinzelman RV. *J Am Chem Soc* 1959; 81(22): 6084-6085.
5. Vakkuri O, Lamsa E, Rahkamaa E, et al. *J Anal Biochem* 1984; 142(2): 284-289.
6. Krause, DN, Dubovich ML. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1991; 31:549-568.
7. Peterson AS, Chong NW, Brinklow BR, et al. *Comp Biochem Physiol* 1992; 102(3):55-58.
8. Sugden DN, Chong WS. *Brain Research* 1991; 539(1):151-152.
9. Sugden D, Chong NWS, Lewis FV. *Brit J Pharmacol* 1995; 114(3):618-623.
10. Spadoni G, Stankov B, Duranti A, et al. *J Med Chem* 1993; 36(25): 4069-4074.
11. Garratt PJ, Jones R, Tocher DA, Sugden D. *J Med Chem* 1995; 38(7): 1132-1139.
12. Sugden D. *Europ J Pharmacol* 1994; 254(3):271-275.
13. Leclerc V, Depreux P, Lesieur D, et al. *Bioorg Med Chem Lett* 1996; 6(10): 1071-1076.
14. Langlois M, Bre´mont B, Shen S, et al. *J Med Chem* 1995; 38(12): 2050-2060.
15. Depreux P, Lesieur D, Mansour HA, et al. *J Med Chem* 1994; 37(20): 3231-3239.
16. Coppinga S, Tepper PG, Grol CJ et al. *J Med Chem* 1993; 36(20):2891-2898.
17. Mathé-Allainmat M, Gaudy F, Sicsic S, et al. *J Med Chem* 1996; 39(16):3089-3095.
18. Yous S, Andrieux J, Howell HE, et al. *J Med Chem* 1992; 35(8):1484-1486.
19. Garratt PJ, Travard S, Vonhoff S, et al. *J Med Chem* 1996; 39(9):1797-1805.
20. Garratt PJ, Vonhoff S, Rowe SJ, Sugden D. *Bioorg Med Chem Lett* 1994; 4(13):1559-1564.
21. Spadoni G, Bedini A, Guidi T, et al. *Chem Med Chem* 2006; 1(10): 1099-105.
22. Spadoni G, Balsamini C, Diamantini G, et al. *J Med Chem* 1997; 40(13):1990-2002.
23. Davies DJ, Garratt PJ, Tocher DA, et al. *J Med Chem* 1998; 41(4):451-467.
24. Pickering H, Sword S, Vonhoff S, et al. *Brit J Pharmacol* 1996; 119(2): 379-387.
25. Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, et al. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 306(3):954-964.
26. Tsotinis A, Panoussopoulou M, Eleutheriades A, et al. *Europ J Med Chem* 2007; 42(7):1004-1013.
27. Simonneaux V, Ribelayga Ch. *Pharmacol Rev* 2003; 55(3):325-395.
28. Huether G. *Experientia* 1994; 49:665-670.
29. Huether G, Poeggeler G, Reimer R, George A. *Life Sci* 1992; 51:945-953.
30. Andreeva NY, Asyna VV, Lyberman SS. *Hym.-Farm. Zhurn* 1999; 30(3):49-52.
31. Underwood H. *Experientia* 1990; 46(1):120-128.
32. Dubocovich ML, Cardinali DP, Guardiola-Lemaitre B, et al. *London, IUPHAR Media*, 1998:187-193.
33. Reppert SM, Weaver DR, Godson C. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17(1):100-102.
34. Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. *Neuron* 1994; 13(12):1177-1185.
35. Ersahin C, Masana MI, Dubocovich ML. *Europ J Pharmacol* 2002; 439:171-172.
36. Soares JM, Masana MI, Ahin C, Dubocovich ML. *JPET* 2003; 306: 694-702.
37. Kemp DM, Ubeda M, Habener JF. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 191:157-166.
38. Dubocovich ML, Masana MI, Iacob S, Sauri DM. *Arch Pharmacol* 1997; 355(3):365-375.
39. Reppert SM, Godson C, Mahle CD, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(24):8734-8738.
40. Bubenik GA. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59(2):33-51.
41. Arangino S, Cagnacci A, Angiolucci M, et al. *Am J Cardiol* 1999; 83(9):1417-1419.
42. Doolen S, N.Krause D, Dubocovich ML, Duckles SP. *Europ J Pharmacol* 1998; 345:67-69.
43. Peschke E, Stumpf I, Bazwinsky I, et al. *J Pineal Res* 2007; 42:350-358.
44. Lotufo CM, Lopes C, Dubocovich ML, et al. *Europ J Pharmacol* 2001; 430:351-357.
45. Wiechmann AF, Campbell LD, Defoe DM. *Mol Brain Res* 1999; 63(3): 297-303.
46. Pablos MI, Guerrero JM, Ortiz GG, et al. *Neuroendocrinol Lett* 1997; 18(1):49-58.
47. Reppert SM, Weaver DR, Cassone VM, et al. *Neuron* 1995; 15(11): 1003-1015.
48. Morgan PJ, Lawson W, Davidson G, Howell HE. *J Mol Endocrinol* 1989; 3(1):5-8.
49. Pickard GE, Smith BN, Belenky M, et al. *J Neurosci* 1999; 19:4034-4045.

50. Morgan PJ, Lawson W, Davidson G, Howell HE. *Neuroendocrinology* 1989; 50(3):359-362.
51. White BH, Sekura RD, Rollag MD. *J Comp Physiol B* 1987; 157(1): 153-159.
52. Ebisawa T, Karne S, Lerner MR, Reppert SM. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(13):6133-6137.
53. Grol CJ, Jansen JM. *Bioorganic Med Chem* 1996; 4(8):1333-1339.
54. Charton I, Mamai Ah, Bennejean C, et al. *Bioorg Med Chem* 2000; 8(1):105-114.
55. Dubocovich ML, Yuh K, Al-Ghoul W, et al. *FASEB J* 1998; 12(12): 1211-1220.
56. Dubocovich ML, Takahashi JS. *Neurobiology: Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84(3):3916-3920.
57. White BH, Sekura RD, Rollag MD. *J Comp Physiol B* 1987; 157(2): 153-159.
58. Rollag MD. *Pineal Res Rev* 1988; 6(1):67-93.
59. Sugden D, Rowe SJ. *J Cell Biol* 1992; 119(6):1515-1521.
60. Brzezinski A, Siebel MM, Lynch HJ, et al. *J Clin Endocrinol Metabol* 1987; 64(9):865-867.
61. Hill SM, Blask DE. *Cancer Res* 1988; 48(14):6121-6126.
62. Rato AG, Pedrero JG, Martí´nez MA, et al. *FASEB J* 1999; 13(9):857-868.
63. Lissoni P, Barni S, Meragalli S, et al. *Br J Cancer* 1995; 71(8):854-856.
64. Rogers NL, Dinges DF, Kennaway DJ, Dawson D. *Sleep* 2003; 26: 1058-1059.
65. Wade AG, Ford I, Crawford G, et al. *Curr Med Res Opin* 2007;23: 2597-2605.
66. Pappolla MA, Sos M, Omar RA, et al. *J Neuroscience* 1997; 17(5): 1683-1690.
67. Lemoine P, Nir T, Laudon M, Zisapel N. *J Sleep Res* 2007; 16:372-380.
68. Roth T, Stubbs C, Walsh JK. *Sleep* 2005; 28:303-307.
69. Rajaratnam SM, Polymeropoulos MH, Fisher DM, et al. *Lancet* 2009; 373:482-491.
70. Roth T, Seiden D, Sainati S, et al. *Sleep Med* 2006; 7:312-318.
71. Raikhlin NT, Kvetnoy IM. *Bull Ext Biol Med* 1974; 8:114-116.
72. Raikhlin NT, Kvetnoy IM. *Acta Histochemica* 1976; 55(1):19-24.
73. Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ. *Experientia* 1977; 33:662-663.
74. Jaworek J, Szklarczyk J, Jaworek AK, et al. *Int J Inflamm* 2012; 2012:1-8.
75. Nogueira TC, Lellis-Santos C, Jesus DS, et al. *Endocrinology* 2011; 152(4):1253-63.
76. Jaworek J, Leja-Szpak A, Bonior J, et al. *J Pineal Res* 2003; 34(1):40-52.
77. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, et al. *Life Sci* 1997; 60(2):2255-2271.
78. Huether G, Poeggeler B, Reimer A, George A. *Life Sci* 1992; 51(10): 945-953.
79. Sidhu S, Pandhi P, Malhotra S, et al. *Europ J Pharmacol* 2010; 628(1-3):282-289.
80. Jaworek J, Leja-Szpak A, Bonior J, et al. *J Pineal Research* 2003; 34(1): 40-52.
81. Kim H. *Gut Liver* 2008; 2(2):74-80.
82. Muñoz-Casares FC, Padillo FJ, Briceño J, et al. *J Pineal Research* 2006; 40(3):195-203.
83. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, et al. *Endocrinol J* 1993; 2(1):57-60.
84. Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, et al. *Int J Alzheimers Dis* 2011; 1:326-320.
85. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, et al. *J Pineal Res* 2004; 36(1):1-9.
86. Davies, N, Gilles Guillemain, Brew BJ. *Int J Tryptophan Res* 2010; 3: 121-140.
87. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, et al. *J Pineal Res* 2003; 34(1):1-10.
88. Kaya, H, Delibas N, Serteser M. *Strahlenther Onkol* 1999; 175(3):285-288.
89. Mathes AM. *World J Gastroenterol* 2010; 28(16):6087-6097.