

СИНЕРГИЧНЫЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКИЕ КОМБИНАЦИИ НА ОСНОВЕ МЕЛАТОНИНА

Селицкая П. С.

*Научные руководители: канд. мед. наук, доц. Волчек А. В.,
ст. преп. Рашкевич О. С.*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. На модели гиперкапнической гипоксии в герметичном объеме изучено влияние мелатонина и его комбинаций с тимохиноном и бемитилом на продолжительность жизни мышей. Мелатонин при однократном внутривентральном введении обладал выраженной дозозависимой антигипоксической активностью. В комбинаторных сочетаниях мелатонина с бемитилом в соотношении 1:5, а также мелатонина с тимохиноном 1:1 обнаружено значительное повышение активности и эффективности компонентов.

Ключевые слова: мелатонин, бемитил, тимохинон, синергизм, гипоксия.

Актуальность. Современная фармакология всё чаще обращает внимание на переоценку терапевтических возможностей эндогенных соединений, среди которых особое значение приобретает мелатонин. Изначально считавшийся лишь регулятором биологических часов, мелатонин сегодня признается многофункциональным веществом с широким спектром действия [1, 3]. Он проявляет сильные антиоксидантные и противовоспалительные свойства, а также, что особенно важно, обладает выраженным эффектом защиты от гипоксии. Его механизм действия основан на нескольких ключевых моментах: защите митохондрий, активации собственных антиоксидантных систем организма и стабилизации энергетического обмена при недостатке кислорода [4, 6]. Высокая безопасность и эндогенное происхождение мелатонина делают его перспективным компонентом для создания безопасных и действенных лекарственных препаратов. Хотя мелатонин

обладает большим потенциалом для протекции организма в условиях гипоксии, его монотерапия может оказаться неэффективной при лечении тяжёлых или острых форм, характеризующихся быстрым и комплексным развитием патологических процессов. В этих случаях более целесообразным и важным является создание комбинированных лекарственных средств, основанных на мелатонине, которые действуют по принципу синергии, усиливая друг друга. Таким образом, актуальность данного исследования непосредственно вытекает из рационального комбинирования мелатонина с соединениями, обладающими взаимодополняющими механизмами действия, такими как бемитил – препарат группы актопротекторов, усиливающий адаптационный потенциал клеток и тимохинон – антиоксидант растительного происхождения [5, 7].

Проведение такого исследования позволит не только выявить наиболее эффективное

комбинаторное сочетание для коррекции гипоксических состояний, но и углубит понимание фундаментальных основ синергического взаимодействия в фармакологии, закладывая основу для создания новых высокоэффективных лекарственных средств.

Цель: определить характер взаимодействия и изменения активности и эффективности соединений при совместном использовании мелатонина с бемитилом и мелатонина с тимохином на модели гиперкапнической гипоксии.

Задачи:

1. Установить влияние исследуемых препаратов и их комбинаций на устойчивость организма мышей в условиях гиперкапнической гипоксии в герметичном объёме.

2. Рассчитать среднеэффективные дозы (ED_{50}) для исследуемых препаратов по отдельности и в составе комбинаций.

Материалы и методы. Исследование было проведено на базе экспериментальной лаборатории кафедры фармакологии Белорусского государственного медицинского университета с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными и норм биоэтики. Использовали препарат мелатонина производства ООО «Рубикон», бемитил, предоставленный Институтом физико-органической химии Национальной Академии Наук Беларуси, и тимохинон с чистотой $\geq 97,5\%$ от компании Acros Organics (США).

Изучение антигипоксической активности проводили на модели гиперкапнической гипоксии в герметичном объёме у 113 самцов мышей

C57Bl/6. Животных предварительно рандомизировали по массе тела и разделили на группы. Все исследуемые вещества – мелатонин в дозах 10, 20 и 50 мг/кг, бемитил в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, тимохинон в дозах 5, 10 и 30 мг/кг – вводили внутрибрюшинно однократно в виде суспензии. Комбинацию бемитила с мелатонином изучали в соотношении 5:1, используя пороговые и субпороговые дозы компонентов: 50 мг/кг бемитила + 10 мг/кг мелатонина и 100 мг/кг бемитила + 20 мг/кг мелатонина. Комбинацию мелатонина с тимохином исследовали в массовом соотношении 1:1 в двух вариантах доз: 10 мг/кг каждого вещества и 20 мг/кг каждого вещества. Контрольная группа получала эквивалентный объём растворителя. Через 60 минут после инъекции препаратов, их комбинаторных сочетаний либо плацебо животных по одному помещали в герметичные стеклянные сосуды и регистрировали время жизни.

Статистическую обработку данных проводили с использованием параметрического анализа и критерия Дункана для множественных сравнений, а фармакодинамическое взаимодействие в комбинациях анализировали по методу T. Chou с расчётом комбинаторного индекса (CI) [2]. Доза-эффект зависимость и эффективные дозы (ED_{16} – ED_{84}) определяли методом регрессионного анализа с графическим представлением результатов.

Результаты и их обсуждение.

Все исследованные субстанции продемонстрировали выраженную антигипоксическую активность на модели гиперкапнической гипоксии.

Эталонный актопротектор бемитил проявлял дозозависимый эффект, достигая максимального увеличения продолжительности жизни на 88,7% относительно контроля при дозе 200 мг/кг ($ED_{50} = 210,4$ мг/кг). Сравнимую эффективность показал тимохинон в дозе 30 мг/кг, увеличивший

выживаемость на 84,1% ($ED_{50} = 49$ мг/кг). Мелатонин также демонстрировал достоверное дозозависимое антигипоксическое действие ($ED_{50} = 98,97$ мг/кг), при этом его эффективность в дозе 50 мг/кг была несколько ниже, чем у максимальных доз бемитила и тимохинона (Табл. 1).

Табл. 1. Влияние мелатонина, бемитила, тимохинона и их комбинаторного сочетания на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипоксии с гиперкапнией ($M \pm m$)

Субстанции	Дозы и их соотношение, мг/кг	n	Продолжительность жизни, минут	Продолжительность жизни, в % к контролю
Плацебо	-	21	19,3 ± 0,9	100 ± 4,6
Бемитил	50	6	23,2 ± 2,7	120,1 ± 13,8
	100	12	28,2 ± 1,7*	146,1 ± 8,8*
	200	6	36,4 ± 4,6*	188,7 ± 23,7*
Тимохинон	5	8	25,5 ± 2,1	132,2 ± 11,0
	10	12	33,2 ± 2,8*	172,8 ± 14,5*
	30	6	35,5 ± 4,4*	184,1 ± 23,0*
Мелатонин	10	6	22,0 ± 1,4	114,1 ± 7,3
	20	6	27,8 ± 2,3*	144,3 ± 11,8*
	50	6	31,8 ± 2,9*	165,1 ± 14,9*
Комбинация тимохинона и мелатонина в соотношении 1 : 1	10 : 10	6	43,3 ± 4,3* # †	224,7 ± 22,5* # †
	20 : 20	6	53,7 ± 2,8* # †	278,3 ± 14,3* # †
Комбинация бемитила и мелатонина в соотношении 5 : 1	50 : 10	6	24,8 ± 2,1	128,8 ± 10,1
	100 : 20	6	46,0 ± 4,3* #	238,5 ± 22,0* #

Примечания: * – $p < 0,05$ в сравнении с плацебо;

– $p < 0,05$ по отношению индивидуальному эффекту той же дозы тимохинона (бемитила);

† – $p < 0,05$ по отношению индивидуальному эффекту той же дозы мелатонина; все с использованием критерия Дункана

Комбинация бемитила и мелатонина в массовом соотношении 5:1, соответственно, 100 мг/кг + 20 мг/кг, показала выраженный синергичный эффект, превысив антигипоксическую активность не только плацебо на 138,5%, но и монотерапии

соответствующими дозами бемитила и мелатонина. Однако наиболее эффективной оказалась комбинация тимохинона с мелатонином в соотношении 1:1. При дозах 20 мг/кг тимохинона + 20 мг/кг мелатонина данная комбинация увеличивала

продолжительность жизни животных на 178,3% относительно контроля, что достоверно превосходило эффекты монотерапии тимохиноном, мелатонином и эталонного бемитила в максимальной дозе 200 мг/кг.

Математический анализ взаимодействия лекарственных средств по методу T. Chou подтвердил синергичный характер обеих комбинаций.

В случае комбинации тимохинон-мелатонин был зафиксирован индекс комбинации (CI_{50}) на уровне $0,25 \pm 0,09$. Согласно общепринятой шкале оценки [2], такое значение указывает на выраженный синергизм. Благодаря этому синергичному эффекту удалось достичь значительного снижения эффективных доз компонентов: для тимохинона доза была уменьшена в 7,4 раза ($ED_{50} = 6,7$ мг/кг), а для мелатонина – в 14,8 раза ($ED_{50} = 6,7$ мг/кг).

Комбинация бемитил-мелатонин также продемонстрировала достоверный синергизм, который выразился в снижении эффективных доз обоих веществ: ED_{50} мелатонина уменьшилась в 6,7 раза (до 14,7 мг/кг), а ED_{50} бемитила – в 2,5 раза (до 84,55 мг/кг). Рассчитанный индекс комбинации $CI_{50} = 0,64 \pm 0,003$, согласно той же шкале, также интерпретируется как показатель синергичного

взаимодействия.

Максимальный зарегистрированный в нашем исследовании показатель продолжительности жизни составил 61 минуту. Данное значение было отмечено в четырех случаях: у двух мышей, получавших комбинацию тимохинона и мелатонина в дозах 20 мг/кг, у одного животного, получившего ту же комбинацию в сниженной дозе 10 мг/кг, а также у одной мыши, в отношении которой применялась комбинация бемитила (100 мг/кг) с мелатонином (20 мг/кг). Во всех перечисленных случаях продолжительность жизни достигала 316% по отношению к контрольной группе. Именно эта величина (61 минута) была принята в расчетах в качестве предельного показателя эффекта (E_{99}) для последующего математического моделирования фармакодинамического взаимодействия компонентов исследуемых комбинаций.

При помощи регрессионного анализа в виде кривых доза-эффект в лог-нормальных координатах был показан дозозависимый характер изменения продолжительности жизни мышей, получавших в отдельности мелатонин, тимохинон или их комбинацию (Рис. 1, Рис. 2).

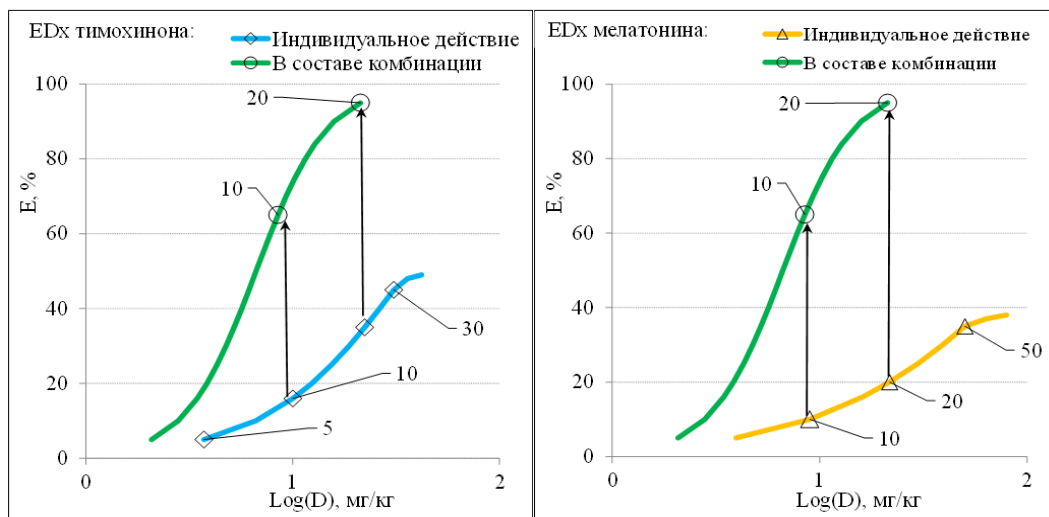


Рис. 1 – Кривые доза-антигипоксический эффект при индивидуальном действии тимохинона и мелатонина и в составе комбинаторного сочетания в соотношении 1:1 на модели острой гипоксии-гиперкапнии у мышей

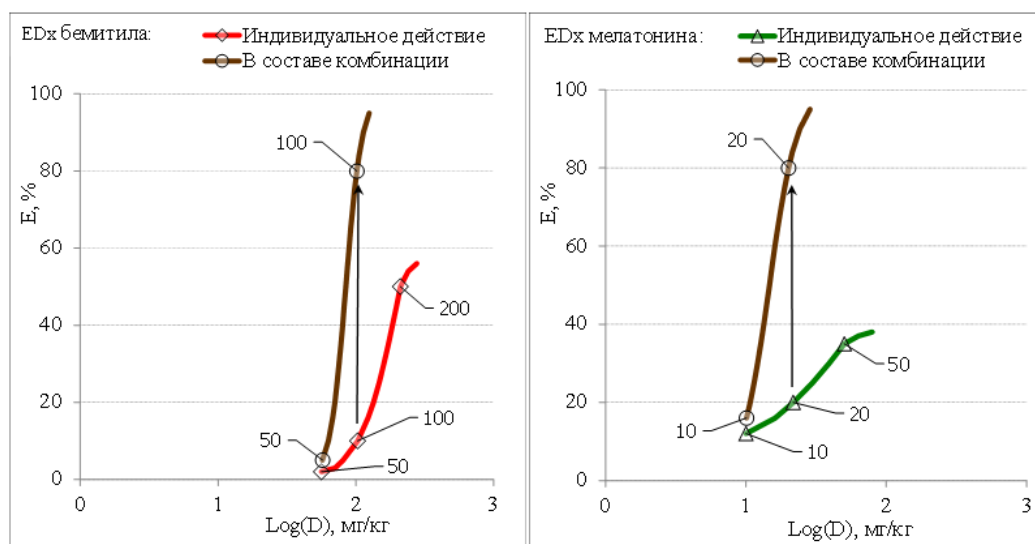


Рис. 2 – Кривые доза-антигипоксический эффект при индивидуальном действии бемитила и мелатонина и в составе комбинаторного сочетания в соотношении 5:1 на модели острой гипоксии-гиперкапнии у мышей

Примечание – на рассчитанных методом регрессионного анализа функциях отмечены полученные в эксперименте данные. На фармакодинамических кривых в координатах доза-эффект восходящими стрелками соединены показатели эффекта, достигнутые при изолированном применении определенных доз бемитила либо мелатонина, и тех же доз в составе комбинаций.

Полученные данные позволяют заключить, что рациональное комбинирование мелатонина с тимохиноном или бемитилом приводит к выраженному синергичному антигипоксическому эффекту, значительно превосходящему монотерапию и позволяющему существенно снизить эффективные дозы отдельных компонентов. Особенно перспективной представляется комбинация мелатонина с

тимохиноном (20 мг/кг + 20 мг/кг соответственно), показавшая наивысшую эффективность в условиях экспериментальной гипоксии с гиперкапнией (178,3 % по отношению к группе контроля), что открывает новые возможности для разработки высокоэффективных антигипоксических лекарственных средств. Также в числе перспективных комбинаций можно рассматривать сочетание 100 мг/кг бемитила + 20 мг/кг мелатонина, продлевающее жизнь мышей на 138,5% по сравнению с группой контроля.

Выводы:

1. Мелатонин, бемитил и тимохинон при однократном раздельном применении обладают выраженным дозозависимым антигипоксическим действием. В составе комбинаций препараты демонстрируют синергичное

увеличение активности и эффективности, достоверно продлевая время жизни мышей на экспериментальной модели гиперкапнической гипоксии в герметичном объеме.

2. Расчётная ED₅₀ мелатонина составила 98,97 мг/кг, ED₅₀ бемитила – 210 мг/кг, тимохинона – 49 мг/кг. Комбинация мелатонина и бемитила в массовом соотношении 1:5 продемонстрировала синергичное увеличение активности и эффективности – активность мелатонина увеличивается в 6,7 раз, бемитила – в 2,5 раза. Тимохинон в сочетании с мелатонином в соотношении 1:1 также демонстрируют синергичное повышение активности и эффективности, активность мелатонина увеличивается в 14,8 раз, тимохинона – в 7,4 раза.

Литература

1. Cipolla-Neto, J. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights / J. Cipolla-Neto, F. G. D. Amaral // *Endocr. Rev.* – 2018. – № 39. – P. 990–1028.
2. Chou T-Ch. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. / T-Ch. Chou. // *Pharmacological reviews.* – 2006. – Vol. 58. – P. 621–681.
3. Melatonin and Health: Insights of Melatonin Action, Biological Functions, and Associated Disorders / S. B. Ahmad [et al.] // *Cell Mol Neurobiol.* – 2023. – № 43(6). – P. 303–307.
4. Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers / R. J. Reiter [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2016. – № 61. – P. 253–278.
5. Oliynyk, S. The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance / S. Oliynyk, S. Oh // *Biomol. Ther. (Seoul).* – 2012. – Vol. 20. – P. 446–456.
6. Reiter, R. J. Melatonin: Exceeding Expectations / R. J. Reiter, D. X. Tan, A. Galano // *Physiology.* – 2014. – № 29. – P. 325–333.
7. Thymoquinone and its pharmacological perspective: A review / S. Tabassum [et al.] // *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine.* – 2021. – Vol. 1. – P. 1–10.

SYNERGISTIC ANTIHYPOXIC COMBINATIONS BASED ON MELATONIN

Selitskaya P.S.

Tutors: PhD, associate professor Vauchok A. U., senior lecturer Rashkevich O. S.

Belarusian State Medical University, Minsk

Resume. The effects of melatonin and its combinations with thymoquinone and bemethyl on mouse lifespan were studied using a hypercapnic hypoxia in a sealed volume. Melatonin, administered intraperitoneally once, exhibited pronounced dose-dependent antihypoxic activity. Combinations of melatonin with bemethyl at a 1:5 ratio, as well as melatonin with thymoquinone at a 1:1 ratio, significantly increased the activity and efficacy of the components.

Keywords: melatonin, bemethyl, thymoquinone, synergism, hypoxia.