

ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ С МЕЛАТОНИНОМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

Осиков М.В.^{1,2}, Ушакова В.А.¹, Грекова И.В.¹, Бойко М.С.¹, Макейкина И.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Челябинск, e-mail: ri-tochka9@list.ru;

²ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, e-mail: ri-tochka9@list.ru

В настоящем исследовании обоснован оптимальный состав и оценена эффективность новой лекарственной формы мелатонина – ректальные суппозитории – для потенциального применения в терапии воспалительных заболеваний кишечника, что актуально в контексте разработки инновационных лекарственных форм и импортозамещения. Цели работы: обоснование состава ректальных суппозиториев с мелатонином на основе биофармацевтических и фармацевтико-технологических исследований, а также оценка их противовоспалительного эффекта. Для оптимизации состава использовали вспомогательные вещества: масло какао, гидрогенизированное растительное масло, твердый парафин, эмульгатор Т-2. Суппозитории изготавливали методом выливания с применением мелатонина в виде суспензии. Концентрацию мелатонина определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии. Противовоспалительная активность изучена на модели тринитробензиолсульфон-индуцированного колита у 72 крыс линии Wistar. В качестве сравнения использовали суппозитории с 5-аминосалициловой кислотой. Ректальное введение суппозиториев проводили ежедневно в течение 7 дней, с оценкой эффективности на 3-и, 5-е и 8-е сутки по индексу активности болезни и уровню фекального кальпротектина. Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ Statistics v.23. Оптимальный состав суппозиториев (на 1 единицу): мелатонина – 0,09 г; масло какао – 1,0 г; гидрогенизированное растительное масло – 1,4 г; парафин П-1 – 0,3 г; эмульгатор Т-2 – 0,03 г. Показано, что ежедневное ректальное применение суппозиториев с мелатонином при тринитробензиолсульфон-индуцированном колите приводит к снижению индекса активности болезни и уровня фекального кальпротектина на 3-и, 5-е и 8-е сутки. Сравнительный анализ показал сопоставимую эффективность мелатонина и 5-аминосалициловой кислоты в купировании симптомов экспериментального колита. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения разработанных ректальных суппозиториев с мелатонином в терапии воспалительных заболеваний кишечника.

Ключевые слова: мелатонин, ректальные суппозитории, состав, противовоспалительный эффект, экспериментальный колит.

*Работа выполнена при поддержке фонда содействия инновациям конкурса «Умник»
№ 194808ГУ от 19.06.2023.*

SUBSTANTIATION OF THE OPTIMAL COMPOSITION AND EFFECTIVENESS OF RECTAL SUPPOSITORIES WITH MELATONIN IN EXPERIMENTAL COLITIS

Osikov M.V.^{1,2}, Ushakova V.A.¹, Grekova I.V.¹, Boyko M.S.¹, Makeikina I.A.¹

¹South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Chelyabinsk, e-mail: ri-tochka9@list.ru;

²Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, e-mail: ri-tochka9@list.ru

This study substantiates the optimal composition and evaluates the effectiveness of a new dosage form of melatonin, rectal suppositories, for potential use in the treatment of inflammatory bowel diseases, which is relevant in the context of the development of innovative dosage forms and import substitution. The purpose of the work: to substantiate the composition of rectal suppositories with melatonin based on biopharmaceutical and pharmaceutical technology studies, as well as to evaluate their anti-inflammatory effect. To optimize the composition, auxiliary substances were used: cocoa butter, hydrogenated vegetable oil, solid paraffin, emulsifier T-2. Suppositories were made by pouring using melatonin in the form of a suspension. The melatonin concentration was determined by ultraviolet spectrophotometry. Anti-inflammatory activity was studied using a model of trinitrobenzolsulfone-induced colitis in 72 Wistar rats. Suppositories with 5-aminosalicylic acid were used as a comparison. Rectal administration of suppositories was performed daily for 7 days, with efficacy assessed on days 3, 5, and 8 by the disease activity index and fecal calprotectin level. Statistical data processing was

performed using the Statistics v.23 software package. Optimal composition of suppositories (per 1 unit): melatonin – 0.09 g; cocoa butter – 1.0 g; hydrogenated vegetable oil – 1.4 g; paraffin P-1 – 0.3 g; emulsifier T-2 – 0.03 g. It has been shown that daily rectal administration of melatonin suppositories in patients with trinitrobenziolsulfone-induced colitis leads to a decrease in the disease activity index and fecal calprotectin levels on days 3, 5 and 8. A comparative analysis showed the comparable effectiveness of melatonin and 5-aminosalicylic acid in relieving the symptoms of experimental colitis. The results obtained indicate the prospects of using the developed rectal suppositories with melatonin in the treatment of inflammatory bowel diseases.

Keywords: melatonin, rectal suppositories, composition, anti-inflammatory effect, experimental colitis.

The work was carried out with the support of the Foundation for Assistance to Innovations of the Umnik Competition № 194808GU dated 06/19/2023.

Введение. Разработка безопасных и эффективных лекарственных препаратов (ЛП) на основе эндогенных веществ, пригодных для длительного применения у пациентов различных возрастных групп с минимальным количеством побочных эффектов, является актуальной задачей современной медицины. Особый интерес представляет мелатонин (МТ) – эндогенный биологически активный агент (БАВ) с плеiotропным действием, характеризующийся широким спектром фармакологических эффектов, включая антиоксидантную, противовоспалительную, антиапоптотическую и иммуномодулирующую активность [1, 2,]. Плеiotропное действие МТ реализуется через взаимодействие со специфическими мембранными (MT1, MT2, MT3) и ядерными (RZR/ROR) рецепторами, что инициирует каскады внутриклеточных сигнальных событий [3, 4]. Ранее, в ходе исследований на кафедре патофизиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, была доказана эффективность применения МТ в составе оригинальной лекарственной пленки при экспериментальной термической травме [5, 6]. Учитывая плеiotропные свойства МТ, предполагается его высокая эффективность в терапии аутоиммунных заболеваний, в частности воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Несмотря на широкий ассортимент ЛП для лечения ВЗК, существующие терапевтические подходы ограничены системной иммуносупрессией, индивидуальной непереносимостью и низкой эффективностью у более чем 30% пациентов. В связи с этим разработка лекарственной формы для локального воздействия на очаг воспаления в толстой кишке, обеспечивающей доставку действующего вещества, минуя системный кровоток, является весьма актуальной. Ректальные суппозитории представляют собой перспективную лекарственную форму для решения данной задачи. В настоящее время в Государственном реестре лекарственных средств представлены различные лекарственные формы мелатонина: таблетки с пленочной оболочкой, капсулы с модифицированным высвобождением. Однако МТ в форме ректальных суппозиторияев отсутствует как в российском, так и в зарубежном реестрах лекарственных средств. Таким образом, расширение ассортимента лекарственных препаратов на основе мелатонина за счет разработки ректальных

суппозиторийев является обоснованным и востребованным направлением в клинической практике.

Цель исследования – на основании комплекса биофармацевтических и фармацевтико-технологических исследований обосновать оптимальный состав, оценить противовоспалительный эффект ректальных суппозиторийев с мелатонином.

Материалы и методы исследования. Все этапы исследования проводились в строгом соответствии с приказом МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 («Правила надлежащей лабораторной практики») и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных веществ» (Решение Коллегии ЕЭК № 202 от 26.11.2019). Фармацевтико-технологические работы были выполнены на кафедре фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет (ЮУГМУ) Минздрава России. В качестве фармацевтической субстанции использовали мелатонин (МТ), химическая формула – $N-[2-(5\text{-метокси-}1H\text{-индол-}3\text{-ил)этил]ацетамид}$, представляющий собой белый или почти белый кристаллический порошок (серийный номер GM20210722 XiAn Guanmao Biotechnology Co., Ltd, China).

Для обоснования оптимального состава разрабатываемой лекарственной формы учитывали физико-химические свойства суппозиторных основ и фармацевтической субстанции [7]. В качестве вспомогательных веществ использовали:

- какао семян масло жирное (Россия) ФС.3.4.0010.18: плотная однородная масса желтовато-белого цвета со слабым ароматным запахом, хрупкая при температуре ниже 25°C; обладает полиморфизмом, представляет наиболее индифферентную основу, хорошо смешивающуюся с лекарственными веществами, образующую пластичные суппозиторные массы;
- гидрогенизированное растительное масло (Россия) 19708 – 2019: связывающее и скользящее вещество при производстве суппозиторийев;
- парафин твердый (Россия), ГОСТ 23683-2021: белая кристаллическая масса, жирная из предельных высокомолекулярных углеводородов, применяется как добавка к основам с целью уплотнения их консистенции и повышения температуры плавления;
- эмульгатор Т-2 (Россия), ТУ 18-17-05-76: придает массе достаточную упругость, используется в качестве стабилизатора, пластификатора и эмульгатора.

Низкая растворимость мелатонина в липидных основах определила выбор метода выливания с введением МТ в виде тонкодисперсной суспензии. На водяной бане в выпарительной чашке сначала плавил парафин при температуре 80°C, периодически перемешивая. Далее в расплавленный парафин добавляли эмульгатор Т-2, масло подсолнечное и снова перемешивали, после этого уменьшали температуру водяной бани до

40°C и добавляли измельченное масло какао. Затем часть расплавившейся готовой основы переносили в ступку с тщательно измельченным по правилу Дерягина МТ и интенсивно перемешивали. Полученную суспензию МТ в основе возвращали в основную массу, выливали в формы для суппозитория и охлаждали до застывания. После извлечения из форм суппозитории проверяли на соответствие заданным размерам и массе, упаковывали и хранили при температуре от 0 до +8°C.

Для оценки скорости и полноты высвобождения мелатонина (МТ) из ректальных суппозитория был использован тест растворения методом «вращающейся корзинки» (USP Apparatus 2). В качестве растворителя применяли 500 мл фосфатного буфера (рН 6,8). Испытания проводили при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и скорости вращения 100 об/мин. Отбор проб осуществляли каждые 15 мин с автоматическим восполнением объема растворителя. Общая продолжительность теста составляла 60 мин. Критерием оптимального состава вспомогательных веществ являлась кинетика высвобождения МТ. Этот метод позволяет объективно определить оптимальный состав для обеспечения эффективного высвобождения МТ.

Количественное определение мелатонина (МТ) в образцах проводили методом УФ-спектрофотометрии. Образцы предварительно фильтровали через мембранные фильтры. Измерение оптической плотности растворов образцов и стандартного раствора МТ выполняли на спектрофотометре «СФ-56» (Россия) при длине волны 278 ± 2 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 50%-ный водный раствор этанола. Данный метод обеспечивает точное и воспроизводимое определение концентрации МТ в исследуемых образцах.

Качество полученных суппозитория оценивали согласно ОФС.1.4.1.0013 «Суппозитории», определяя следующие параметры: внешний вид, размер частиц, растворимость, время распадаемости, температуру плавления, время полной деформации, однородность массы и дозирования. Эти параметры обеспечивают комплексную оценку соответствия разработанной лекарственной формы требованиям нормативной документации.

Противовоспалительная активность разработанных ректальных суппозитория с мелатонином оценивали на модели 2,4,6-тринитробензолсульфоновокислотного (TNBS)-индуцированного колита у 72 крыс линии Wistar (массой 240–260 г). Животные содержались в виварии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России в условиях, соответствующих требованиям Директивы Европейского парламента и Совета ЕС 2010/63/ЕС от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей, Федерального закона от 27.12.2018 № 498-ФЗ (в ред. от 27.12.2019) «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», а также стандартам вивария (вет.

свидетельство № 250 №36971962 от 11.12.2017, Московская область). Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с протоколом этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 11 от 25.11.2022). Использование животных соответствовало принципам гуманного обращения с лабораторными животными, включая минимизацию страданий, и требованиям к утилизации биоматериала после завершения эксперимента.

Животные методом простой рандомизации разделены на группы: 1 (n=18) – интактные; 2 (n=18) – животные с TNBS-ИК; 3 (n=18) – животные с TNBS-ИК в условиях применения ректальных суппозиториев с МТ; 4 (n=18) – животные с TNBS-ИК в условиях применения ректальных суппозиториев с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК) (месалазин). TNBS-ИК воспроизводили еженедельным в течение 6 недель ректальным введением раствора TNBS в 50%-ном спирте в дозировке 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг, 60 мг/кг, 60 мг/кг, 60 мг/кг [8]. Животным группы 3 после индукции колита каждые 24 часа в течение 7 дней вводили ректальные суппозитории массой 0,1 г, содержащие 2,5 мг МТ. В группе 4 каждые 24 ч в течение 7 суток применяли в качестве препарата сравнения суппозитории с 5-АСК. Для получения ректального суппозитория с 5-АСК необходимой массы в химическом стакане растворяли 1 ректальный суппозиторий с содержанием 5-АСК 250 мг и выливали по формам 0,1 г. Размер и форма суппозиториев соответствовали анатомическим особенностям строения толстой кишки крысы. Исследования в группах 2, 3 и 4 проводили на 3-и, 5-е и 8-е сутки.

Противовоспалительный эффект МТ при TNBS-индуцированном колите оценивали с использованием адаптированного для крыс индекса активности болезни (DAI), учитывающего массу тела, консистенцию кала и наличие крови [9]. Этот индекс позволяет количественно оценить тяжесть воспалительного процесса у животных. Для оценки уровня локального воспаления в толстом кишечнике использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА) для определения концентрации кальпротектина в супернатанте кала с применением тест-системы «SEK504Ra для CALPRO» [10]. Кальпротектин, являясь важным маркером воспаления при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК), позволяет оценить степень воспалительных изменений и эффективность терапии. Данный подход к оценке воспалительного процесса дает возможность получить комплексные данные о влиянии МТ на течение колита.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы «IBM SPSS Statistics v. 23» («SPSS: An IBM Company», США). Данные представлены в виде Me (Q₁; Q₃), где Me – медиана, Q₁, Q₃ – значение нижнего (25) и верхнего (75) квартилей соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили при помощи критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса, отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе фармацевтико-технологического исследования разработан состав ректальных суппозиториях с МТ. Размер частиц МТ соответствовал требованиям ОФС «Суппозитории» (<100 мкм). Выбор основы для суппозиториях осуществляли с учетом влияния вспомогательных веществ на терапевтическую эффективность МТ, обеспечивая необходимый объем, дозирование, а также оптимальные физико-химические и биофармацевтические характеристики. В качестве основы было выбрано масло какао (липофильная основа), удовлетворяющее критериям оптимальной инкорпорации и высвобождения действующего вещества, а также требованиям нормативной документации [11]. Была получена основа для суппозиториях с МТ, которая была оценена по скорости и полноте высвобождения МТ и технологическим свойствам. Анализ данных по высвобождению МТ показал, что в первые 15 минут в раствор перешло 75–76% МТ, достигнув максимального значения (99,09%) через 45 минут. На основании этих данных и результатов в качестве оптимальной была выбрана сбалансированная основа, включающая поверхностно-активное вещество, масло какао, гидрогенизированное растительное масло, твердый парафин П-1 и эмульгатор Т-2. Эксперименты по увеличению содержания парафина (на 20%) для повышения твердости суппозиториях показали негативный эффект, обусловив излишнюю хрупкость. Снижение количества эмульгатора Т-2 было также обосновано его влиянием на температуру плавления основы. Таким образом, оптимизированный состав основы обеспечивает эффективное высвобождение МТ и обладает необходимыми технологическими характеристиками.

В качестве липофильной основы ректальных суппозиториях был использован сплав масла какао и парафина, с эмульгатором Т-2 для обеспечения совместимости компонентов и пластичности, а также с добавлением подсолнечного масла. Оптимальная терапевтическая доза МТ, равная 0,09 г на суппозиторий, была определена на основании литературных данных об эффективности МТ в единичной лекарственной форме (10,0 мг/кг) и методов межвидового пересчета доз для перехода от модели на крысах к человеку [12]. Таким образом, окончательный состав суппозиториях (на 100 штук): МТ – 0,5 г; масло какао – 3,0 г; гидрогенизированное растительное масло – 4,92 г; твердый парафин П-1 – 2,0 г; эмульгатор Т-2 – 0,08 г. Для доклинических исследований на крысах, с учетом их анатомо-физиологических особенностей, масса одного суппозитория была установлена на уровне 0,1 г. Разработанный состав основы отвечает требованиям ОФС.1.4.1.0013 «Суппозитории». Результаты фармацевтико-технологических и биофармацевтических исследований легли в основу патента на изобретение «Средство с мелатонином для терапии воспалительных заболеваний кишечника в форме ректальных суппозиториях» [13].

Противовоспалительный эффект МТ в суппозиториях оценивали сравнительным методом на модели экспериментального TNBS-индуцированного колита. В контрольной группе (TNBS-ИК без лечения, группа 2) на 3-и, 5-е и 8-е сутки наблюдались достоверное увеличение частоты дефекации, снижение массы тела (7–10%) и повышение индекса тяжести колита по шкале DAI (табл. 1). Уровень фекального кальпротектина значимо возрастал на 5-е и 8-е сутки по сравнению с 3-ми сутками ($p<0,05$), отражая динамику воспаления. Таким образом, клиническая картина и уровень фекального кальпротектина подтверждали адекватность модели TNBS-ИК для воспроизведения воспалительного процесса, характерного для ВЗК [14].

На модели TNBS-индуцированного колита (TNBS-ИК) ректальное введение МТ в форме суппозитория приводило к улучшению клинической картины: нормализации консистенции кала и отсутствию видимых примесей крови на протяжении всего периода наблюдения (3-и, 5-е и 8-е сутки) (табл. 1). Индекс тяжести колита (DAI) достоверно снизился на 5-е и 8-е сутки по сравнению с контрольной группой (TNBS-ИК без лечения), однако оставался выше, чем в интактной группе. Динамика DAI не выявила значимых различий между 3-ми, 5-ми и 8-ми сутками. Уровень фекального кальпротектина достоверно снизился на 8-е сутки по сравнению с 5-ми сутками, оставаясь, тем не менее, повышенным относительно интактной группы на протяжении всего эксперимента.

На модели TNBS-индуцированного колита (TNBS-ИК) ректальное применение суппозитория с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК) приводило к снижению индекса тяжести колита (DAI) на 3-и, 5-е и 8-е сутки по сравнению с контролем (TNBS-ИК без лечения), хотя значения DAI оставались выше, чем в интактной группе (таблица). Уровень фекального кальпротектина снижался на 3-и и 8-е сутки, также оставаясь повышенным относительно интактной группы. Динамика DAI и уровня кальпротектина на 5-е и 8-е сутки не отличалась от аналогичного показателя на 3-и сутки. Заметно, что значения DAI и уровня фекального кальпротектина в группах, получавших МТ и 5-АСК, статистически не различались на 3-и, 5-е и 8-е сутки наблюдения.

Оценка противовоспалительного эффекта ректальных суппозитория с МТ при TNBS-ИК (Ме [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа 1 Интakт- ные (n=18)	Группа 2 TNBS-ИК (n=18)			Группа 3 TNBS-ИК + МТ (n=18)			Группа 4 TNBS-ИК + 5-АСК (n=18)		
		3-и сутки (n=5)	5-е сутки (n=7)	8-е сутки (n=6)	3-и сутки (n=5)	5-е сутки (n=8)	8-е сутки (n=5)	3-и сутки (n=5)	5-е сутки (n=8)	8-е сутки (n=5)
DAI, у.е.	0	8,0 [3,0; 8,0] *	9,0 [7,0; 11,0] *	12,0 [12,0; 12,0] *	6,0 [5,0; 6,0] *	5,0 [5,0; 5,0] * #	5,0 [3,0; 5,0] * #	6,0 [5,0; 6,0] *	5,0 [5,0; 6,0] * #	5,0 [3,0; 5,0] * #

Кальп- ротек- тин, нг/мл	1,12 [0,43; 1,38]	1,82 [1,78; 1,99] *	2,22 [2,16; 2,35] * €	2,81 [2,68; 3,09] * €€	1,64 [1,64; 1,66] * #	1,73 [1,46; 1,89] * #	1,15 [1,04; 1,33] * # €€	1,73 [1,73; 1,73] * #	1,91 [1,64; 2,38] *	1,64 [1,64; 1,82] * #
-----------------------------------	-------------------------	------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	--------------------------------	--------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------	------------------------------	--------------------------------

Примечание. * – значимые ($p \leq 0,05$) различия с группой 1, # – с группой 2; € – с 3-ми сутками, €€ – с 5-ми сутками внутри каждой группы.

Предполагаем, что противовоспалительное действие МТ в ректальных суппозиториях при TNBS-индуцированном колите, вероятно, опосредовано его антиоксидантными, антиапоптотическими, цитопротекторными и иммуномодулирующими свойствами, реализуемыми через взаимодействие с рецепторами MT1, MT2, MT3 и ROR α [3, 15, 16]. Эти эффекты способствуют ограничению повреждения тканей и стимуляции репаративных процессов.

Выводы

1. На основании фармацевтико-технологических исследований представлена оптимальная композиция состава суппозиторных основ, обеспечивающая необходимые технологические и биофармацевтические характеристики суппозитория ректальных с МТ для проведения доклинических исследований на крысах в количестве на 100 суппозитория: МТ 0,5 г, какао семян масло жирное 3,0 г, масло растительное гидрогенизированное 4,92 г, парафин твердый П-1 2,0 г, эмульгатор Т-2 0,08 г.

2. Установлен противовоспалительный эффект ежедневного применения суппозитория ректальных с МТ при экспериментальном TNBS-ИК за счет снижения индекса активности болезни DAI и уменьшения содержания в кале кальпротектина на 3-и, 5-е и 8-е сутки наблюдения. При сравнительной оценке эффективности применения при TNBS-ИК ректальных суппозитория с МТ и ректальных суппозитория с 5-АСК противовоспалительные эффекты МТ сопоставимы с эффектами 5-АСК.

Список литературы

1. Zetner D., Andersen L.P.K., Alder R., Jessen M.L., Tolstrup A., Rosenberg J. Pharmacokinetics and Safety of Intravenous, Intravesical, Rectal, Transdermal, and Vaginal Melatonin in Healthy Female Volunteers: A Cross-Over Study // Pharmacology. 2021. Vol. 106. Is. 3-4. P. 169-176. DOI: 10.1159/000510252.
2. Cho J.H., Bhutani S., Kim C.H., Irwin M.R. Anti-inflammatory effects of melatonin: A systematic review and meta-analysis of clinical trials // Brain, Behavior, and Immun. 2021. Vol. 93. P. 245-253. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.01.034.
3. Осиков М.В., Грекова И.В., Ушакова В.А., Федосов А.А., Бойко М.С. Патофизиология плейотропных эффектов и перспективы применения мелатонина // Современные проблемы

науки и образования. 2023. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32443> (дата обращения: 15.04.2025). DOI: 10.17513/spno.32443.

4. Lee K., Zawadzka A., Czarnocki Z., Reiter R.J., Back K. Molecular cloning of melatonin 3-hydroxylase and its production of cyclic 3-hydroxymelatonin in rice (*Oryza sativa*) // J. Pineal Res. 2016. Vol. 61. Is. 4. P. 470-478. DOI: 10.1111/jpi.12361.

5. Осиков М.В., Агеева А.А., Бойко М.С., Агеев Ю.И. Иммунологические аспекты применения мелатонина при экспериментальной термической травме // Медицинская иммунология. 2023. Т 25. № 3. P. 715-720. DOI: 10.15789/1563-0625-IAO-2706.

6. Osikov M.V., Ageeva A.A., Ageev Yu. I., Fedosov A. A., Nikushkina K. V., Loginova Yu.V. The Effectiveness of Local Application of Melatonin in the Original Dermal Film in Experimental Thermal Trauma // International Journal of Biomedicine. 2021. Vol. 11. Is. 4. P. 581-589. DOI: 10.21103/Article11(4)OA30. EDN: JTGSBC.

7. Орлова Т.В., Панкрушева Т.А. Выбор суппозиторной основы в технологии суппозиторий // Фармация. 2014. № 1. С. 34-38. EDN: RYJEZP.

8. Morris G.P., Beck P.L., Herridge M.S., Depew W.T., Szewczuk M.R., Wallace J.L. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon // Gastroenterology. 1989. Vol. 96. Is. 3. P. 795-803. DOI: [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(89\)90904-9](https://doi.org/10.1016/0016-5085(89)90904-9).

9. Best W.R., Beckett J.M., Singleton J.W., Kern F.Jr. Development of a Crohn's disease activity index // Gastroenterology. 1976. Vol.70. Is. 3. P. 439-444. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(76\)80163-1](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(76)80163-1).

10. Bryce C., Bucaj M. Fecal Calprotectin for the Evaluation of Inflammatory Bowel Disease // Am Fam Physician. 2021. Vol. 104. Is. 3. P. 303-304. URL: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2021/0900/p303.pdf> (дата обращения: 15.04.2025).

11. Зырянов О.А. Разработка состава и технологии получения лекарственной формы на основе триазатрициклотетрадекана потенциального модулятора АМРА-рецептора: дис. ... канд. фарм. Наук. Москва, 2021. 186 с. URL: <https://www.dissercat.com/content/razrabotka-sostava-i-tekhnologii-polucheniya-lekarstvennoi-formy-na-osnove-triazatritsiklote> (дата обращения: 15.04.2025).

12. Шекунова Е.В., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020. Т. 10. №1. С. 19-28. DOI: 10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28.

13. Осиков М.В., Ушаков В.А., Грекова И.В., Бойко М.С., Гричишкин М.В. Средство с мелатонином для терапии воспалительных заболеваний кишечника в форме ректальных суппозиторий // Патент РФ № 2819721. Патентообладатель ФГБОУ ВО "ЮУГМУ"

Минздрава России. 2024. МПК 51, А61К 9/02, А61К 31/4045, А61Р 29/00, А61Р 1/00; заявлено 07.06.2023. Оpubл. 23.05.2024. Бюл. № 15.

14. Rogler G., Singh A., Kavanaugh A., Rubin D.T. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management // Gastroenterology. 2021. Vol. 161. Is. 4. P. 1118-1132. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.07.042.

15. Huang Y., Chen Z., Chen B. et al. Melatonin in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review // Frontiers in Pharmacology. 2022. Vol. 13. Article 889777. DOI: 10.3389/fphar.2022.889777.

16. Vaghari-Tabari M., Moein S., Alipourian A. et al. Melatonin and inflammatory bowel disease: From basic mechanisms to clinical application // Biochimie. 2023. Vol. 209. P. 20–36. DOI: 10.1016/j.biochi.2022.12.007.