

УДК 616.092.9

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2025.66.45.004>

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ С МЕЛАТОНИНОМ

М.В. Осиков, доктор мед. наук, профессор, зав кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия

prof.osikov@yandex.ru

В.А. Ушакова, кандидат фарм. наук, доцент, доцент кафедры фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

va-ushakova@yandex.ru

И.В. Грекова, старший преподаватель кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

irkraft@yandex.ru

М.С. Бойко, кандидат мед. наук, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

ritkaboyko@yandex.ru

И.А. Макейкина, студентка 5 курса лечебного факультета кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

imakes@irrrrrishhka.ru

А.В. Шеломенцев, аспирант и ассистент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

alexei.shelomenczev@yandex.ru

В настоящее время в рамках разработки новых лекарственных форм мелатонина (МТ), а также импортозамещения представляет интерес и значимость создание ректальных суппозиториев с МТ оптимального состава для возможного применения при заболеваниях кишечника воспалительного генеза. Цель исследования – на основании комплекса биофармацевтических и фармацевтико-технологических исследований выбрать оптимальный состав, оценить противовоспалительный эффект ректальных суппозиториев с МТ. Для выбора оптимального состава в качестве вспомогательных веществ использовали какао семян масло жирное, гидрогенизированное растительное масло, парафин твердый, эмульгатор Т-2, полиэтиленгликоль (ПЭГ) – 1500, ПЭГ-6000, коллифор Р-407, кремофор RH-40. Для изготовления суппозиториев с МТ применяли метод выливания с введением лекарственного вещества по типу суспензии. Для определения скорости и полноты высвобождения МТ из суппозиториев использовали тест «Растворение», для оценки качества суппозиториев – ОФС.1.4.1.0013 «Суппозитории». Содержание МТ в пробах оценивали

с помощью УФ-спектрофотометрии. Противовоспалительный эффект суппозиториев с МТ исследовали на модели 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой индуцированного колита (TNBS-ИК) на 72 крысах линии Wistar. В группе сравнения применяли суппозитории с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК). Суппозитории с МТ и 5-АСК применяли ректально каждые 24 часа в течение 7 дней. Исследования проводили на 3-и, 5-е и 8-е сутки. Рассчитывали индекс активности болезни (DAI), анализировали активность кальпротектина в супернатанте кала методом иммуноферментного анализа. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics v. 23. На основании сравнительных фармацевтико-технологических исследований представлена оптимальная композиция состава суппозиторных основ, обеспечивающая необходимые технологические и биофармацевтические характеристики суппозиториев ректальных с МТ, на 1 суппозиторий: МТ 0,09 мг, какао семян масло жирное 1,0 г, масло растительное гидрогенизированное 1,4 г, парафин твердый П-1 0,3 г, эмульгатор Т-2 0,03 г.

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

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

Одной из важнейших задач современной медицины является создание эффективных и безопасных лекарственных препаратов (ЛП), содержащих вещества эндогенного происхождения, способные обеспечивать длительное применение у пациентов разного возраста, с минимальным количеством побочных эффектов. В этом отношении неподдельный интерес вызывает мелатонин (МТ) как эндогенное БАВ с плейотропными эффектами. МТ – гормон, вырабатываемый в эпифизе, а также лимфоцитами и энтерохромаффинными клетками желудочно-кишечного тракта, обладает широким спектром эффектов, включая антиоксидантный, противовоспалительный, антиапоптогенный и иммуномодулирующий [1–3]. Плейотропные свойства МТ реализуются посредством его взаимодействия со специфическими мембранными (MT1, MT2, MT3) и ядерными ретиноидными (RZR/ROR) рецепторами, приводя к активации внутриклеточных сигнальных путей [4]. Ранее на кафедре патофизиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России доказана эффективность применения МТ в составе оригинальной лекарственной пленки при экспериментальной термической травме [10,16,17]. Полагаем, что МТ, обладая плейотропными свойствами, будет эффективен при лечении аутоиммунных заболеваний, в частности воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). В настоящее время ассортимент ЛП для лечения ВЗК достаточно широк, но имеет ряд недостатков, таких как системная иммуносупрессия, индивидуальная непереносимость, рефрактерность более чем у 30% пациентов. Ввиду этого актуальна разработка лекарственной формы, способной локально воздействовать на очаг воспалительного процесса в толстой кишке при ВЗК, доставляя действующее вещество, минуя системный кровоток. Одной из таких лекарственных форм являются ректальные суппозитории.

В Государственном реестре лекарственных средств препараты с МТ представлены в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой («Мелаксен», «Меларена», «Соннован», «Меладрим», «Меларитм», «Велсон»), таблеток подъязычных («Глицин+Мелатонин Эвалар»), комбинированного препарата, капсул с модифицированным высвобождением («Левросо Лонг»). МТ в форме ректальных суппозиториев не зарегистрирован в Госреестре ЛС Российской Федерации и не имеет зарубежных аналогов на российском рынке [5]. Расширение ассортимента ЛП МТ путем разработки ректальных суппозиториев является актуальным и востребованным в клинической практике.

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

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с приказом МЗ РФ №199Н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и действующими требованиями, изложенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных веществ», утвержденном решением коллегии Евразийской экономической комиссии №202 от 26 ноября 2019 г. Фармацевтико-технологические исследования проводили на кафедре фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ЮУГМУ МЗ РФ. В качестве фармацевтической субстанции использовали МТ (химическое название N-[2-(5-метокси-1H-индол-3-ил)этил]ацетамид) (**рис. 1**), белый или почти белый кристаллический порошок (**рис. 2**) (серийный номер GM20210722, XiAn Guanmao Biotechnology Co., Ltd, China).

Для выбора оптимального состава разрабатываемой лекарственной формы учитывали

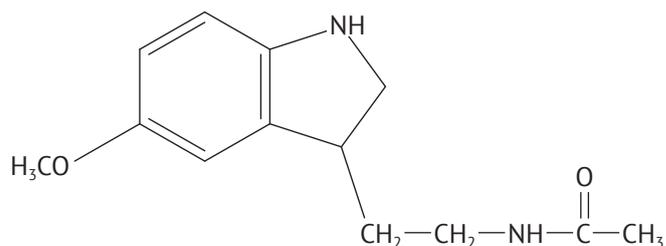


РИС. 1. Структурная формула мелатонина, краткая химическая формула $C_{13}H_{16}N_2O_2$, молекулярная масса 232,278 г/моль

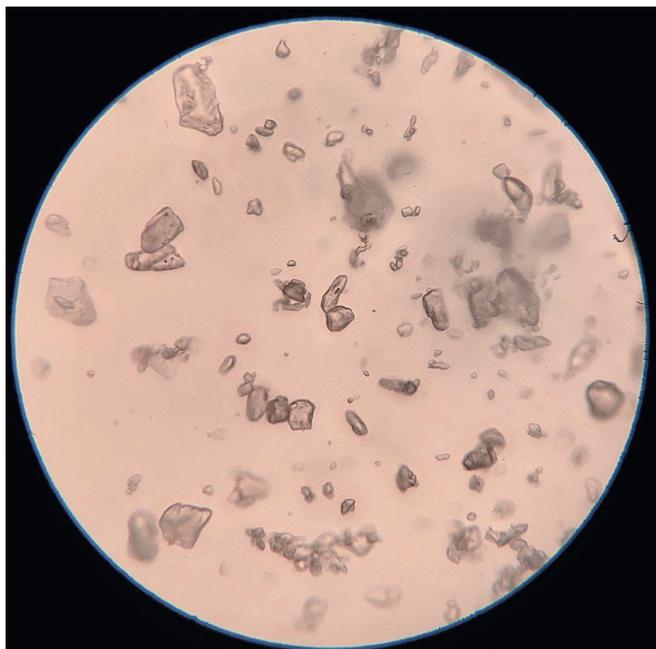


РИС. 2. Кристаллы мелатонина под микроскопом (ув. $\times 250$)

физико-химические свойства суппозиторных основ и фармацевтической субстанции. 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), ГОСТ 19708-2019; связывающее и скользящее вещество при производстве суппозитория;
- 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;
- полиэтиленгликоль 1500 (ПЭГ 1500), ТУ 20.16.40-008-71150986-2019, воскообразные чешуйки или плотная масса белого цвета;
- полиэтиленгликоль 6000 (ПЭГ 6000), ТУ 20.16.40-008-71150986-2019, воскообразные чешуйки или плотная масса белого цвета;

- коллифор Р-407 (Kolliphor® Р 407, син. Полоксамер-407, Lutrol F 127, BASF, Германия, USP/NF), стерический стабилизатор, неионный трехблочный сополимер из центральной гидрофобной цепи полиоксипропилена (полипропиленоксида), фланкированной двумя гидрофильными цепями полиоксиэтилена (полиэтиленоксида);
- кремофор RH-40 (Cremophor® RH 40, син. Полиоксил-40 – Polyoxyl 40, BASF, Германия, USP/NF), белая полутвердая паста, превращается в жидкость при 30°C , имеет очень слабый характерный запах и легкий вкус в водном растворе.

Рациональной технологией изготовления суппозитория с МТ, учитывая его растворимость только в спирте, является метод выливания с введением лекарственного вещества по типу суспензии. На водяной бане в выпарительной чашке сначала плавят 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 МТ, тщательно измельченным по правилу Дерягина, и интенсивно перемешивали [6,7]. Готовую смесь основы с МТ добавляли обратно в выпарительную чашку к оставшейся части основы, выливали полученную массу в формы и охлаждали. После этого формировали суппозитории необходимого размера и веса, упаковывали и хранили при температуре от 0°C до $+8^{\circ}\text{C}$.

Для определения скорости и полноты высвобождения МТ из ректальных суппозиториях использовали тест «Растворение». Критерием оценки оптимально подобранного состава является характеристика высвобождения МТ из суппозитория с различным составом вспомогательных веществ. Тест проводили с помощью прибора «вращающаяся корзинка», в качестве акцепторной среды использовали 500 мл фосфатного буфера ($\text{pH}=6,8$). Тест проводили при температуре среды $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и скорости вращения корзинки 100 об/мин. Отбор проб с восполнением акцепторной среды проводили в ручном режиме каждые 15 мин. Длительность эксперимента составила 60 мин.

Содержание МТ в отобранных пробах оценивали с помощью УФ-спектрофотометрии. Предварительно отобранные пробы фильтровали через мембранный фильтр, измерение оптической плотности испытуемого раствора и раствора стандартного образца МТ проводили

на спектрофотометре «СФ-56» (Россия) в максимуме поглощения при длине волны 278 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 50% раствор этанола.

Оценку качества суппозиторий проводили на основании ОФС.1.4.1.0013 «Суппозитории» по показателям: описание, размер частиц, растворение, распадаемость, температура плавления, время полной деформации, однородность массы, однородность дозирования.

Противовоспалительные свойства полученных суппозиторий с МТ оценивали на модели 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS, Sigma-Aldrich, USA) индуцированного колита (TNBS-ИК) на 72 крысах линии Wistar массой 240–260 г. Животные (вет. свидетельство 250 №36971962 от 11 декабря 2017 г., выдано Государственной ветеринарной службой Московской области) находились на стандартном типовом рационе в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию, а также выводу из эксперимента с последующей утилизацией согласно Европейской конвенции (ETS №123 от 18.03.1986) [8]. Эксперименты проведены на основании заключения этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 14.03.2022).

Животные методом простой рандомизации были 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 суппозиторий с МТ; 4 группа ($n=18$) – животные с TNBS-ИК в условиях применения ректальных суппозиторий с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК) (торговое наименование «Салофальк», МНН: Месалазин (Doctor Falk Pharma GmbH, Германия). TNBS-ИК воспроизводили еженедельным в течение 6 недель ректальным введением раствора TNBS в 50% спирте в дозировке 15 мг/кг, 30 мг/кг, 45 мг/кг, 60 мг/кг, 60 мг/кг, 60 мг/кг [18]. 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 суппозиторий соответствовали анатомическим

особенностям строения толстой кишки крысы. Исследования в группах 2, 3 и 4 проводили на третьи, пятые и восьмые сутки.

Для оценки противовоспалительного эффекта МТ при TNBS-ИК рассчитывали индекс активности болезни (DAI), адаптированный для крыс и включающий массу тела, консистенции стула и наличие крови в каловых массах [9]. Активность кальпротектина в супернатанте кала анализировали методом ИФА с помощью тест-системы (SEK504Ra для CALPRO, Китай) [10]. Кальпротектин является маркером локального воспаления при ВЗК, играет существенную роль в оценке степени выраженности воспалительных изменений в толстой кишке, имеет значение в диагностике и оценке эффективности проводимой терапии.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics v. 23 (SPSS: an IBM Company, США). Данные представлены в виде $Me (Q_1; Q_3)$, где Me – медиана, Q_1, Q_3 – значение нижнего (25) и верхнего (75) квартилей соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили при помощи критериев Манна – Уитни и Краскала – Уоллиса, отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате фармацевтико-технологических исследований разработан состав ректальных суппозиторий с МТ. Проведен контроль размера частиц МТ в соответствии с требованием ОФС «Суппозитории», размер частиц не превышал 100 мкм. В суппозиториях, как и в других лекарственных формах, терапевтический эффект лекарственного вещества определяется в том числе составом вспомогательных веществ в суппозиторной основе, обеспечивающих необходимый объем, однородность дозирования, физико-химические и биофармацевтические свойства. На основании соответствия вышперечисленным критериям отбора для изготовления суппозиторий с МТ и изучения их свойств были выбраны следующие основы: полиэтиленгликоли различной молекулярной массы в качестве гидрофильной основы и масло какао в качестве липофильной. На начальном этапе работы выбрана наиболее подходящая суппозиторная основа, которая хорошо инкорпорирует действующее вещество и имеет максимальное высвобождение, обладает оптимальными структурно-механическими

Таблица 1

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУППОЗИТОРИЕВ С РАЗЛИЧНЫМИ ОСНОВАМИ

Состав суппозиторных основ	Высвобождение МТ 120 мин., %	Время полной деформации, мин.	Температура плавления, °С	Температура затвердевания, °С	Твердость, кг
1. ПЭГ 400/ПЭГ 1500 (9:1)	15,10	30,14	44,5	40,9	1,5
2. ПЭГ 400/ПЭГ 1500 (8:2)	20,55	30,21	45,0	41,2	1,7
3. Какао семян масло жирное / масло растительное гидрогенизированное / парафин твердый П-1 (38–52%–10%)	99,09	7,20	36,2	34,3	5,5

свойствами и стабильностью, а также отвечает всем требованиям нормативной документации [12,13]. В ходе исследований получены три серии суппозиториев с МТ на различных суппозиторных основах, которые оценивали по степени высвобождения МТ и технологическим свойствам (табл. 1). Результаты определения скорости и полноты высвобождения МТ из ректальных суппозиториев показывают, что у серии суппозиториев с составом 3 в течение первых 15 мин. количество МТ, перешедшего в раствор, находилось в диапазоне 75–76%, а максимальное количество составило 99,09% и было зафиксировано через 45 мин. с начала эксперимента. Исходя из этих данных и результатов, представленных в табл. 1, по технологическим показателям выбрана оптимально сбалансированная суппозиторная основа, содержащая поверхностно-активное вещество и какао семян масло жирное, масло растительное

гидрогенизированное, парафин твердый П-1, эмульгатор Т-2. Для усиления твердости суппозиториев была увеличена доля парафина в общей смеси. Повышение содержания парафина на 20% от общей массы показывало отрицательный результат: суппозитории оказывались слишком хрупкими. Также было снижено количество добавляемого эмульгатора Т-2, так как он затруднял расплавление основы.

Итак, в роли липофильной основы нами использован сплав масла какао с парафином, эмульгатором выступал Т-2, который использовался для предотвращения несовместимости в случае несмешиваемости жидкостей или вязких масс, для пластичности данных суппозиториев применяли масло подсолнечное. Для выбора оптимальной терапевтической дозы МТ с учетом данных других исследователей по содержанию МТ в единичной лекарственной форме в количестве

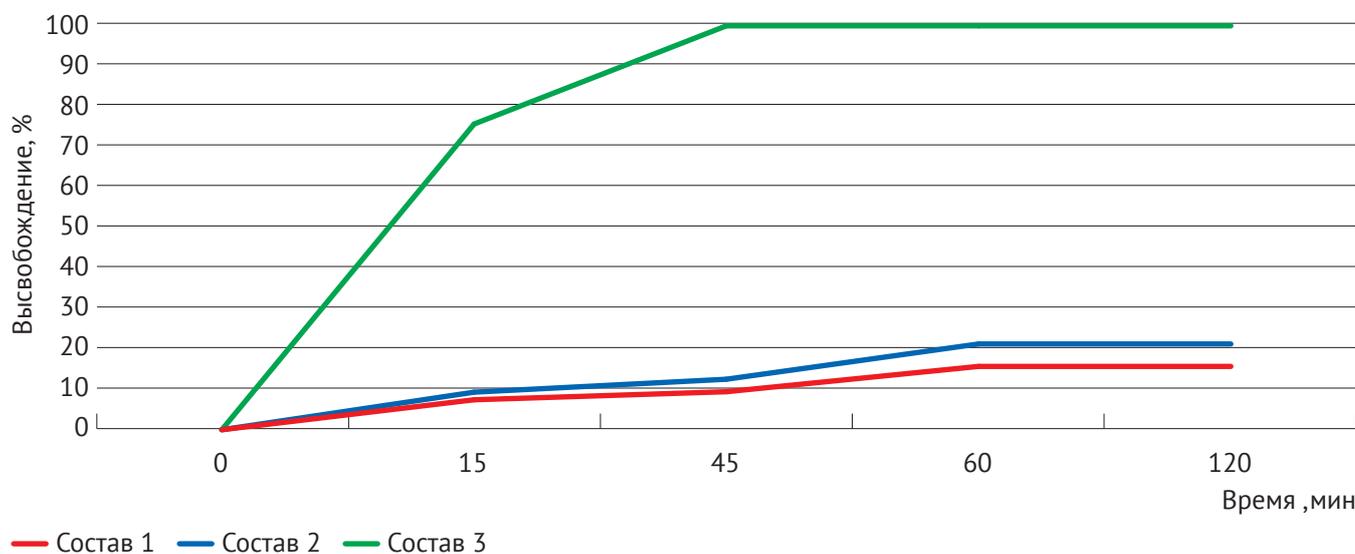


РИС. 3. Высвобождение МТ из составов

10,0 мг/кг и межвидового переноса дозы крысы на человека была выбрана концентрация МТ 0,09 г на 1 суппозиторий [11]. Таким образом, в результате разработки ректальных суппозитория с МТ для человека установлено содержание компонентов в количестве на 1 суппозиторий: МТ 0,09 г, какао семян масло жирное 1,0 г, масло растительное гидрогенизированное 1,4 г, парафин твердый П-1 0,3 г, эмульгатор Т-2 0,03 г (рис. 4). При исследовании эффективности ректальных суппозитория с МТ в ходе доклинических исследований на крысах с учетом их анатомо-физиологических особенностей была выбрана оптимальная масса одного суппозитория – 0,1 г. По данным

оценки качества, разработанный состав основы для суппозитория с МТ является оптимальным и соответствует требованиям ОФС.1.4.1.0013 «Суппозитории» (табл. 2). На основании фармацевтико-технологических и биофармацевтических исследований был получен патент на изобретение «Средство с мелатонином для терапии воспалительных заболеваний кишечника в форме ректальных суппозитория» [14].

Результаты сравнительной оценки противовоспалительного эффекта МТ в составе суппозитория при экспериментальном TNBS-ИК представлены в табл. 3. На третьи, пятые и восьмые сутки у животных группы 2 (TNBS-ИК без лечения)

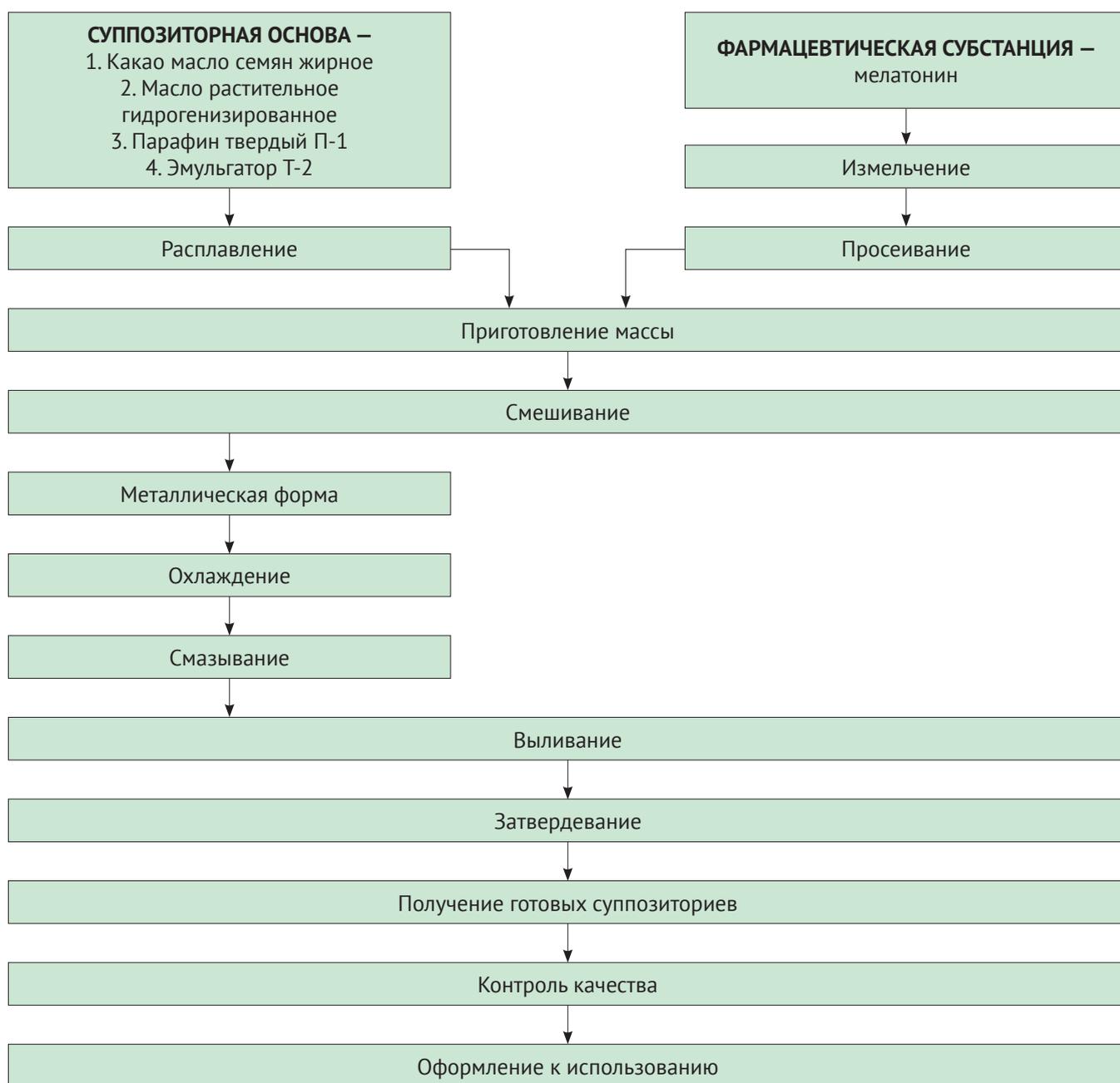


РИС. 4. Технология получения суппозитория МТ методом выливания

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА СУППОЗИТОРИЕВ С МЕЛАТОНИНОМ

Показатель	Нормируется	Метод	Результат
Описание	Суппозитории светло-желтого цвета, однородные на поперечном срезе	Визуальный	Светло-желтый цвет
Подлинность	На хроматограмме должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета	ТСХ	Соответствует
Размер частиц	Округлые частицы до 50 мкм	Оптическая микроскопия	Не более 100 мкм
Растворение	Через 15 мин. в раствор должно перейти не менее 75% (Q) мелатонина	ОФС «Суппозитории»	75,5%
Температура плавления	Не более 37°C	ОФС «Суппозитории»	35,7°C
Средняя масса и однородность дозирования	В соответствии с требованиями	ОФС «Суппозитории»	Средняя масса – 2,82 г
ВПД	Не более 15 мин.	ОФС «Суппозитории»	8 мин. 30 сек.
Количественное определение	Мелатонин в 1 суппозитории 0,08–0,1 г	УФ-спектрофотометрия	0,095 г
Микробиологическая чистота	Категория 3А	ОФС Лекарственные формы»	Соответствует

зафиксировано увеличение частоты дефекаций, снижение массы тела на 7–10% от исходной, наличие примеси крови в кале, что нашло отражение в значимом увеличении DAI на третьи, пятые и восьмые сутки. Кроме того, в данной группе животных зафиксировано увеличение содержания в кале кальпротектина на третьи, пятые и восьмые сутки, в динамике TNBS-ИК содержание в кале кальпротектина на 5-е сутки выше ($p < 0,05$), чем на 3-и сутки, а на 8-е сутки выше ($p < 0,05$), чем на 3-и и 5-е сутки. Таким образом, на основании оценки клинических признаков и содержания кальпротектина в кале TNBS-ИК соответствовал проявлениям ВЗК [19].

В условиях применения МТ в составе ректальных суппозиториях при TNBS-ИК на третьи, пятые и восьмые сутки наблюдения у животных отмечалась оформленная консистенция кала без визуальной примеси крови, DAI значимо снижался на 5-е и 8-е сутки по сравнению с группой 2, при этом показатель DAI был выше, чем в группе интактных животных, во все сутки наблюдения. В динамике на 5-е и 8-е сутки не обнаружено значимых изменений DAI по сравнению с тремя

сутками, а на 8-е сутки – по сравнению с пятью сутками. В условиях применения МТ в составе ректальных суппозиториях при TNBS-ИК на третьи, пятые и восьмые сутки было зафиксировано снижение содержания кальпротектина в кале, при этом содержание кальпротектина в кале было выше, чем в группе интактных животных, во все сутки наблюдения. В динамике содержания кальпротектина в кале на 8-е сутки снижалось по сравнению с 5-ю сутками.

В условиях применения ректальных суппозиториях с 5-АСК у животных с TNBS-ИК параметр DAI снижается на третьи, пятые и восьмые сутки наблюдения по сравнению с группой 2, при этом показатель DAI был выше, чем в группе интактных животных, во все сутки наблюдения. Содержание кальпротектина в кале уменьшается на 3-и и 8-е сутки, при этом содержание кальпротектина в кале было выше, чем в группе интактных животных, во все сутки наблюдения. В динамике у животных с TNBS-ИК при применении 5-АСК на 5-е и 8-е сутки не обнаружено значимых изменений DAI и содержания кальпротектина в кале по сравнению с 3-мя сутками, а на 8-е сутки – по сравне-

ОЦЕНКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЭФФЕКТА РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ С МТ ПРИ TNBS-ИК (МЕ [Q₁; Q₃])

Показатели	Группа 1 Интактные (n=18)	Группа 2 TNBS-ИК (n=18)			Группа 3 TNBS-ИК + МТ (n=18)			Группа 4 TNBS-ИК + 5-АСК (n=18)		
		3 суток (n=5)	5 суток (n=7)	8 суток (n=6)	3 суток (n=5)	5 суток (n=8)	8 суток (n=5)	3 суток (n=5)	5 суток (n=8)	8 суток (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]*#
Кальпро- тектин, 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]*#

Примечания: * – значимые (p≤0,05), согласно критерию Манна – Уитни, различия с группой 1, # – с группой 2; \$ – с группой 3; & – с группой 4; € – различия в группах с 3-мя сутками, €€ – с 5-ю сутками. TNBS-ИК – TNBS-индуцированный колит, МТ – мелатонин, 5-АСК – 5-аминосалициловая кислота

нию с 5-ю сутками. Показательно, что показатель DAI, а также содержание кальпротектина в кале при TNBS-ИК в условиях применения МТ и применения 5-АСК статистически значимо не отличались на третьи, пятые и восьмые сутки наблюдения.

Полагаем, что отмеченные нами противовоспалительные эффекты МТ в составе ректальных суппозиторий при TNBS-ИК могут быть обусловлены его антиоксидантными свойствами в очаге повреждения, антиапоптогенными, ограничивающими альтерацию, иммуномодулирующими, стимулирующими репарацию эффектами за счет взаимодействия с рецепторами МТ1, МТ2, МТ3, RORα [3,16,17].

ВЫВОДЫ

1. На основании сравнительных фармацевтико-технологических исследований представлена оптимальная композиция состава суппозиторных основ, обеспечивающая необходимые технологические и биофармацевтические характеристики суппозиторий ректальных с МТ для проведения доклинических исследований на крысах в количестве на 1 суппозиторий: МТ – 0,09 г, какао семян масло жирное – 1,0 г, масло растительное гидрогенизированное – 1,4 г, парафин твердый П-1-0,3 г, эмульгатор Т-2-0,03 г.

2. Установлен противовоспалительный эффект ежедневного применения суппозиторий

ректальных с МТ при экспериментальном TNBS-ИК за счет снижения индекса активности болезни DAI и уменьшения содержания в кале кальпротектина на третьи, пятые и восьмые сутки наблюдения. При сравнительной оценке эффективности применения при TNBS-ИК ректальных суппозиторий с МТ и ректальных суппозиторий с 5-АСК противовоспалительные эффекты МТ сопоставимы с эффектами 5-АСК.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

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; 106(3-4): 169-176. DOI: 10.1159/000510252. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32937627.
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 Behav. Immun*. 2021 Mar; 93: 245-253. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.01.034. Epub 2021 Feb 10. PMID: 33581247; PMCID: PMC7979486
3. Патопфизиология плейотропных эффектов и перспективы применения мелатонина / М.В. Осиков, И.В. Грекова, В.А. Ушакова и др. // *Современные проблемы науки и образования*. –

2023. – №1. – С. 91. – DOI 10.17513/spno.32443. – EDN LMLSNZ.
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 Nov; 61(4): 470–478. DOI: 10.1111/jpi.12361. Epub 2016 Aug 31. PMID: 2750055
 5. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. 2024. – URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 04.09.2024).
 6. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. – М.: Мир, 1991, с. 17.
 7. Улащик В.С. Мелатонин и его место в современной медицине / Улащик В.С. // *Российский медицинский журнал.* – 2006. – Т. 14, №4, с. 269–273.
 8. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. – Текст: электронный // Council of Europe [сайт]. – Страсбург, 1986. – URL: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8>
 9. Best W.R. Development of a Crohn's disease activity index / W.R. Best, J.M. Bechtel, J.W. Singleton, F.Jr. Kern // *Gastroenterology.* – 1976. – Vol. 70, №3. – P. 439–444.
 10. Bryce C., Bucaj M. Fecal Calprotectin for the Evaluation of Inflammatory Bowel Disease // *Am.Fam. Physician.* 2021 Sep 1; 104(3): 303–304. PMID: 34523882.
 11. 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; 10(1): 19–28. <https://www.vedomostincesmp.ru/jour/article/view/279>
 12. Зырянов О.А. Разработка состава и технологии получения лекарственной формы на основе триазатрициклотетрадекана, потенциально-го модулятора АМРА-рецептора: дисс. ... канд. фарм. наук: специальность 14.04.01 – Технология получения лекарств / Зырянов Олег Анатольевич; Моск. гос. ун-т им. И.М. Сеченова. – Москва, 2021. – 186 с. – Текст: непосредственный.
 13. Орлова Т.В. Выбор суппозиторной основы в технологии суппозиторий / Т.В. Орлова, Т.А. Панкрушева // *Фармация.* – 2014. – №1. – С. 34–38.
 14. Патент №2819721 С1 Российская Федерация, МПК А61К 9/02, А61К 31/4045, А61Р 29/00. Средство с мелатонином для терапии воспалительных заболеваний кишечника в форме ректальных суппозиторий: №2023114954: заявл. 07.06.2023; опубл. 23.05.2024 / М.В. Осиков, В.А. Ушакова, И.В. Грекова и др.; заявитель – Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ. – EDN HVCXRS.
 15. Immunological aspects of the use of melatonin in experimental thermal trauma / M.V. Osikov, A.A. Ageeva, M.S. Boyko, Yu.I. Ageev // *Medical Immunology (Russia).* – 2023. – Vol. 25, №3. – P. 715–720. – DOI: 10.15789/1563-0625-IAO-2706. – EDN TXXKKZ.
 16. The Effectiveness of Local Application of Melatonin in the Original Dermal Film in Experimental Thermal Trauma / M.V. Osikov, A.A. Ageeva, Yu.I. Ageev et al. // *International Journal of Biomedicine.* – 2021. – Vol. 11, №4. – P. 581–589. – DOI: 10.21103/Article11(4)_OA30.
 17. Gerald P. Morris, Paul L. Beck, Margaret S. Herridge, William T. Depew, Myron R. Szewczuk, John L. Wallace, Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon // *Gastroenterology.* Vol. 96, №3, 1989, Pp. 795–803, DOI: 10.1016/0016-5085(89)90904-9.
 18. Stidham R.W., Xu J., Johnson L.A., Kim K., Moons D.S., McKenna B. J., Rubin J.M., Higgins P.D. Ultrasound elasticity imaging for detecting intestinal fibrosis and inflammation in rats and humans with Crohn's disease // *Gastroenterology.* 2011. 141(3): 819–826. e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.027.

SELECTION OF THE OPTIMAL COMPOSITION AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF RECTAL SUPPOSITORIES WITH MELATONIN

M.V. Osikov^{1,2}, V.A. Ushakova¹, I.V. Grekova¹, M.S. Boyko¹, I.A. Makeikina¹, A.V. Shelomentsev¹

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

² Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk

Currently, as part of the development of new dosage forms of melatonin (MT), as well as import substitution, it is of interest and importance to create rectal suppositories with MT of optimal composition for possible use in inflammatory bowel diseases. The purpose of the study is to select the optimal composition based on a complex of biopharmaceutical and pharmaceutical-technological studies, to evaluate the anti-inflammatory effect of rectal suppositories with MT. To select the optimal composition, fatty cocoa seed oil, hydrogenated vegetable oil, solid paraffin, emulsifier T-2, polyethylene glycol (PEG) – 1500, PEG-6000, colliphor P 407, cremophor RH 40 were used as excipients. For the manufacture of suppositories with MT, the method of pouring with the introduction of a medicinal substance according to the type of suspension was used. To determine the rate and completeness of MT release from suppositories, a "Dissolution" test was used, and an OFS test was used to assess the quality of suppositories 1.4.1.0013 "Suppositories". The MT content in the samples was assessed using UV spectrophotometry. The anti-inflammatory effect of MT suppositories was studied on a 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid – induced colitis (TNBS-IC) model in 72 Wistar rats. In the comparison group, suppositories with 5-aminosalicylic acid (5-ASA) were used. Suppositories with MT and 5-ASA were used rectally every 24 hours for 7 days. The studies were conducted on the 3rd, 5th and 8th days. The disease activity index (DAI) was calculated, and the activity of calprotectin in the fecal supernatant was analyzed by enzyme immunoassay. Statistical processing of the obtained data was carried out using the program IBM SPSS Statistics v. 23. Based on comparative pharmaceutical and technological studies, an optimal composition of the composition of suppository bases is presented, providing the necessary technological and biopharmaceutical characteristics of rectal suppositories with MT, per 1 suppository: MT 0.09 mg, cocoa seed oil 1.0 g, vegetable hydrogenated oil 1.4 g, solid paraffin P-1 0.3 g, emulsifier T-2 0.03 g. The anti-inflammatory effect of daily use of rectal suppositories with MT in experimental TNBS-IC was established due to a decrease in the disease activity index DAI and a decrease in calprotectin content in feces on the 3rd, 5th and 8th days of observation. In a comparative assessment of the effectiveness of the use of rectal suppositories with MT and rectal suppositories with 5-ASA in TNBS-IC, the anti-inflammatory effects of MT are comparable to those of 5-ASA.

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