

УДК 615.014:615.454:615.322:633.791

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2020.75.48.002>

## НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ ИНТРАВАГИНАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С ЭКСТРАКТОМ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО

**Г.В. Аюпова**, канд. фарм. наук, доцент, доцент кафедры фармации ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [ayupova2007@mail.ru](mailto:ayupova2007@mail.ru)

**Г.М. Латыпова**, доктор фарм. наук, доцент, профессор кафедры фармации ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [79177525174@yandex.ru](mailto:79177525174@yandex.ru)

**Ю.Л. Борцова**, канд. биол. наук, старший науч. сотрудник ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [juliabaim@yandex.ru](mailto:juliabaim@yandex.ru)

**Е.Д. Батырова**, соискатель кафедры фармации ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [farmkaf@mail.ru](mailto:farmkaf@mail.ru)

**Р.М. Киреева**, канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [kireeva\\_rm@mail.ru](mailto:kireeva_rm@mail.ru)

**Р.Г. Баламетова**, студентка 2 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО БГМУ), г. Уфа, [rbalametova@yandex.ru](mailto:rbalametova@yandex.ru)

---

Представлены результаты исследований по разработке технологической схемы производства и изучения антиоксидантной активности интравагинальной лекарственной формы. Исследования методом хемилюминесценции продемонстрировали прямое антиоксидантное действие, снижение процессов образования свободных радикалов в модельных системах.

**Ключевые слова:** биодegradируемые коллагеновые пластины с экстрактом хмеля обыкновенного, фармацевтическая разработка, антиоксидантные свойства

Разработка составов для лекарственных форм вагинального применения является актуальным направлением в фармацевтической технологии в связи с тем, что широкое

распространение воспалительных заболеваний женской половой сферы влияет на микроэкобиотоз влагалища, репродуктивные функции женщины и в целом на демографические показатели в РФ.

Для снижения проявлений возможных побочных реакций местной антибактериальной терапии и увеличения сроков ремиссии воспалительных гинекологических заболеваний рекомендуется комплексный, многоуровневый подход и рационально выбранная лекарственная форма [2].

Перспективная лекарственная форма для профилактики и лечения гинекологических заболеваний – интравагинальные биодegradируемые коллагеновые пластины (БКП). Удачное сочетание технологических и потребительских свойств, таких как простота состава

и технологии, стабильность в процессе хранения, комбинация адгезии и влагопоглощения, равномерное распределение во влажной жидкости, выведение естественным путем без дополнительных промываний и спринцеваний, обосновывает актуальность разработки БКП.

БКП обладают осмотической активностью и имеют биофармацевтические преимущества, в частности высокую биодоступность, связанную со значительной биоадгезией, что дает возможность пролонгирования действия биологически активных веществ (БАВ) [1,4,9].

Перспектива применения лекарственных средств на растительной основе в гинекологической практике является очевидной ввиду многоуровневого воздействия на причины возникновения воспалительных заболеваний.

Источником получения для фармацевтической разработки интравагинальной лекарственной формы служит хмель обыкновенный, распространенный на территории Республики Башкортостан. Проведенные ранее исследования показали наличие в изучаемом сырье разнообразного комплекса гидрофильных и липофильных БАВ, среди которых значимыми по количественному и качественному составу являются полифенольные соединения (флавоноиды, катехины, фенолкарбоновые, оксикоричные кислоты и имеющие особое значение фитоэстрогены), горькие гликозиды (производные ацилфлороглюцидов – гумулон, лупулон и др.), эфирные масла и терпеноиды [1,3]. Такое разнообразие химического состава обуславливает комплексное фармакологическое действие (противовоспалительное, антиоксидантное, антимикробное, капилляропротективное, фитоэстрогенное, болеутоляющее) хмеля обыкновенного [3,5,7].

Объектом наших предыдущих исследований стал жидкий экстракт на основе соплодий хмеля обыкновенного (ЖЭСХО) как фармацевтическая субстанция с установленными фармацевтико-технологическими свойствами.

**Цель** исследований – разработка технологической схемы производства БКП с ЖЭСХО и оценка ее антиоксидантной активности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментального обоснования рецептуры и технологической схемы производства БКП на основе 2% уксуснокислого раствора коллагена использовали ЖЭСХО.

Проведенные исследования показали, что оптимальным экстрагентом для максимального извлечения БАВ из сырья и обладающего наилучшими технологическими свойствами для разработки БКП явился 50% спирт этиловый с модулем экстракции «сырье: экстрагент» 1:10, способ экстракции – бисмацерация. Стандартизация ЖЭСХО проведена по качественному и количественному содержанию наиболее значимых групп БАВ (суммы флавоноидов (по рутину), суммы АФГ, экстрактивных веществ).

Наличие в ЖЭСХО фенольных и липофильных БАВ предполагает наличие антиоксидантной активности.

Антиокислительные свойства исследуемых препаратов оценивали по влиянию на железоиндуцированную хемилюминесценцию (ХЛ) с применением отечественного аппаратно-программного комплекса ХЛМ-003, для чего нами были задействованы стандартные тест-системы, в которых протекают процессы свободнорадикального окисления (СРО) [6]. В используемых модельных системах происходят процессы образования активных форм кислорода (АФК) и реакции процессов липопероксидации (ПОЛ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Технологическая схема производства БКП на основе ЖЭСХО для вагинального

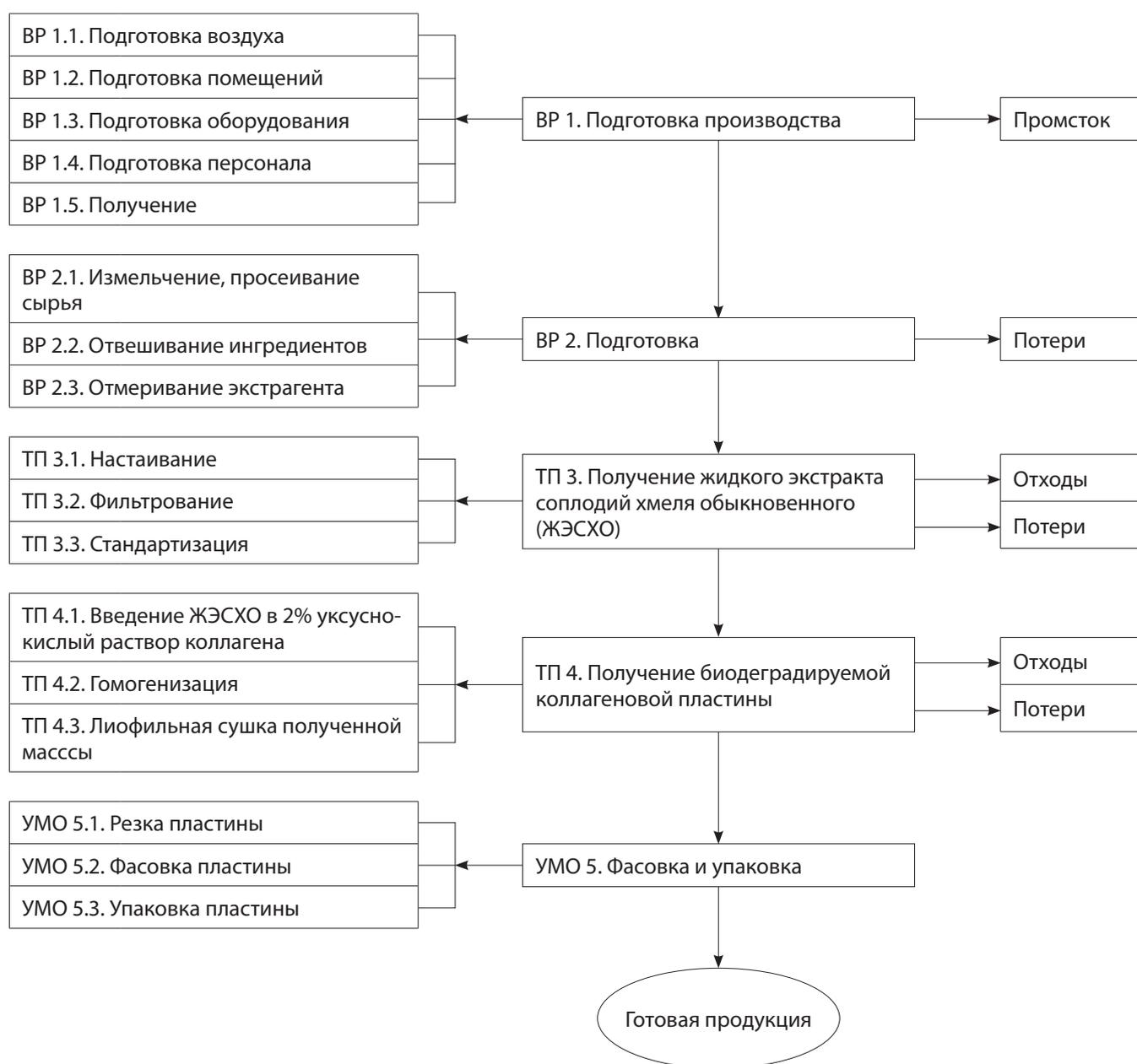
применения состоит из нескольких этапов – подготовки производства, подготовки сырья, этапа получения полупродукта, собственно процесса лиофильной сушки пластин, стадий фасовки, упаковки и маркировки (рис. 1).

Изучение влияния на железо-индуцированную хемилюминесценцию, имитирующую образование АФК, проводилось инструментально. Результаты экспериментов оценивали по степени изменения показателей свечения

в добавлении исследуемых образцов и пересчитывали в % от контроля. Исследуемые пробы разводили в физиологическом растворе, отбирали по 1,0 мл исследуемых растворов и прибавляли в тест-системы.

В качестве контроля служили модельные системы без добавления растворов лекарственных препаратов (с добавлением физиологического раствора в тех же объемах).

Методики выполнения эксперимента и приготовления реактивов изложены в ин-



**РИС.1.** Технологические этапы производства БКП на основе ЖЭСХО

струкциях к аппаратно-программному комплексу ХЛМ-003.

### **Изучение влияния исследуемых образцов на показатели антиоксидантной системы**

В качестве первой системы, где генерировались АФК, использовали 20 мл фосфатного буфера (20 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 105 мМ  $\text{KCl}$ ) с добавлением раствора люминола ( $10^{-5}$  М) и цитрата натрия (50 мМ). Величину рН полученного раствора доводили до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором едкого калия. В 20 мл модельной системы вносили по 1 мл исследуемых растворов: 1 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 2 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 3 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 4 – ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация; 1:10). Для иницирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводили 1 мл 50 мМ раствора солей  $\text{Fe}^{2+}$ . Регистрация свечения продолжалась в течение 5 минут при постоянном перемешивании.

Хемилюминесценция модельных систем характеризовалась спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками хемилюминесценции служили амплитуда максимального свечения и светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения.

### **Изучение влияния исследуемых образцов на образование продуктов липопероксидации**

Для исследования была использована модельная система, в которой протекают реакции образования конечных продуктов пероксидации. Влияние исследуемых образцов на ПОЛ изучали в липидах куриного желтка, имеющих сходство по своему составу с липидами крови. Липиды получали путем гомогенизации куриного желтка в фосфатном

буфере в соотношении 1:5 и последующим разбавлением в 20 раз, отбирали 20 мл. В 20 мл модельной системы вносили по 1 мл исследуемых растворов: 1 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 2 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 3 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г;  $t = 40^\circ\text{C}$ ), 4 – ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация; 1:10).

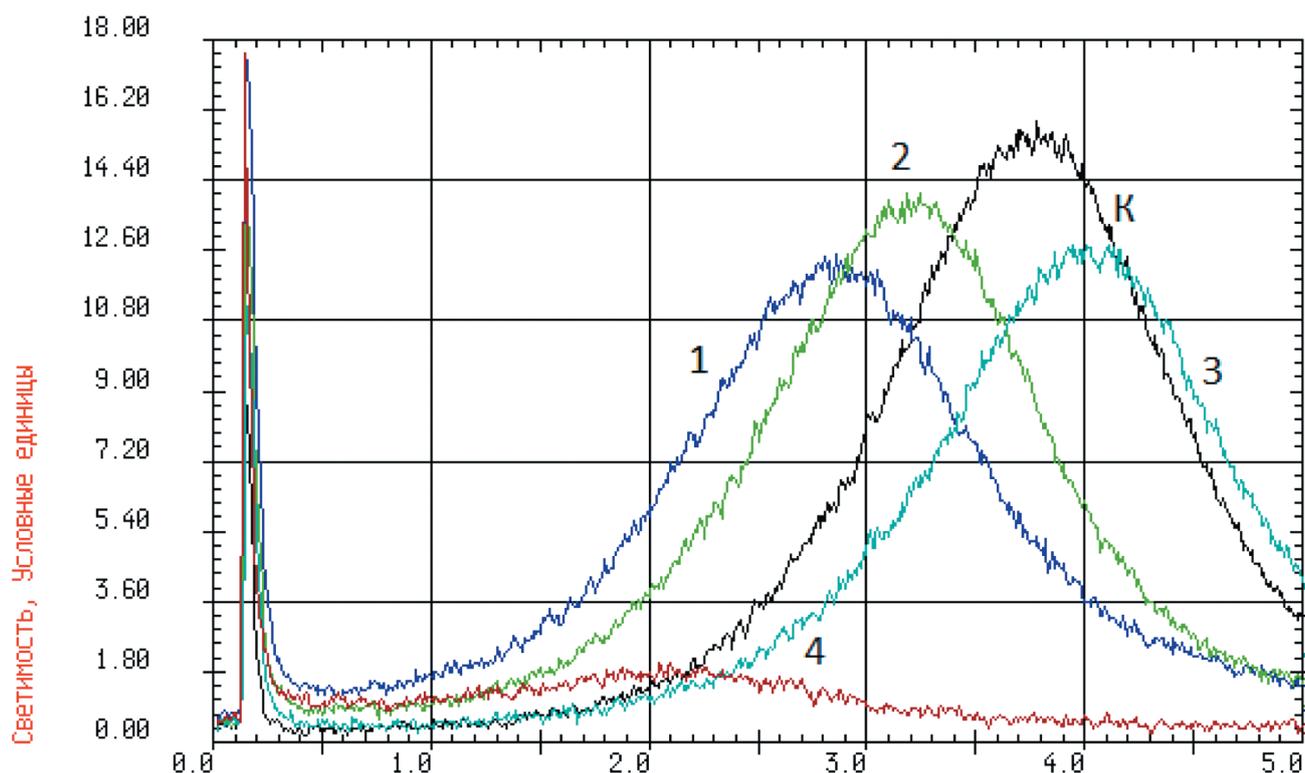
Добавление в систему 1 мл 50 мМ раствора  $\text{Fe}^{2+}$  вело к иницированию процессов окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, и образованию конечных продуктов липопероксидации, что сопровождалось свечением. Уровень спонтанного свечения характеризовал интенсивность процессов перекисного окисления липидов до введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражала скорость окисления ионов  $\text{Fe}^{2+}$  и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелировала с антиоксидантной активностью исследуемого препарата. Величина светосуммы свечения определяла способность липидов подвергаться окислению.

Данные о влиянии исследуемых образцов на ХЛ в модельной системе, генерирующей АФК, представлены на рис. 2.

Количественные характеристики влияния исследуемых образцов на СРО представлены в табл. 1.

Добавление в модельную систему водных растворов БКП с ЖЭСХО различной концентрации укорачивали латентный период, для БКП с ЖЭСХО в концентрациях 4,0 и 2,0 и свежеприготовленного ЖЭСХО медленная вспышка начиналась и угасала раньше. Все образцы растворов БКП с ЖЭСХО различной концентрации дозозависимо снижали показатели светосуммы свечения ХЛ МС, наиболее эффективным оказался раствор БКП с ЖЭСХО в концентрации 0,8 г.

Свежеприготовленный ЖЭСХО, являющийся основой для получения БКП, почти в 3,5–4



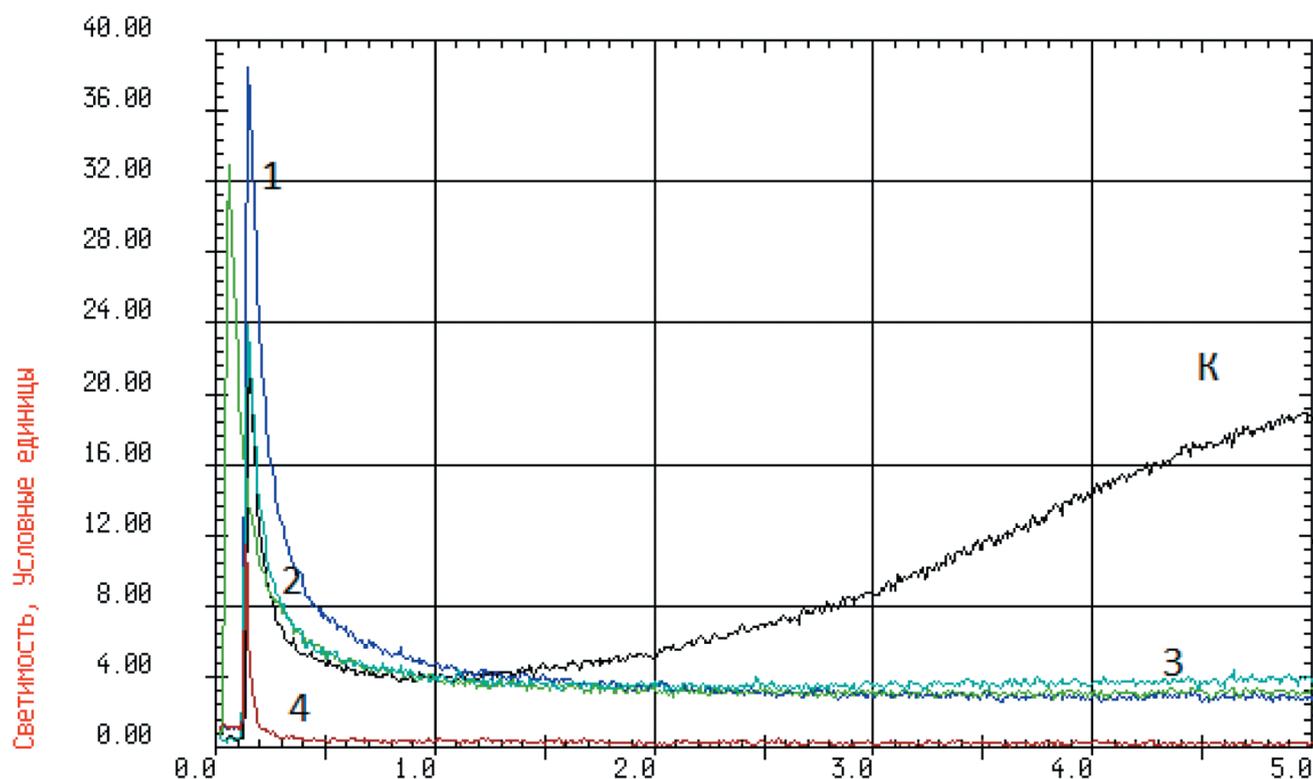
**РИС. 2.** Влияние БКП с ЖЭСХО и ЖЭСХО на процессы СРО в модельной системе АФК.  
 Обозначения: К – контроль, 1 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г; t = 40°C), 2 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г; t = 40°C), 3 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г; t = 40°C), 4 – ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация; 1:10)

Таблица 1

**ВЛИЯНИЕ БКП С ЖЭСХО И ЖЭСХО НА СВЕТОСУММУ ХЛ МС, ГЕНЕРИРУЮЩЕЙ АФК**

№	Проба исследуемых продуктов	Светосумма		Спонт. светимость абс.	Вспышка абс.	Макс. светимость	
		абс.	% относит. контроля			абс.	% относит. контроля
1.	Контроль	26,63	100	0,45	8,96	15,91	100
2.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г; t = 40°C)	25,64	96,2	0,70	17,47	12,49	78,5
3.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г; t = 40°C)	25,98	97,6	0,52	13,55	14,09	88,6
4.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г; t = 40°C)	22,35	83,9	0,51	11,16	12,77	80,2
5.	ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация; 1:10)	6,45	24,2	1,21	16,53	2,25	14,1

Примечание. Интенсивность свечения модельных систем без добавления исследуемых веществ принята за 100%. Приведены средние данные 6 измерений. \* – отмечены достоверные отличия (p < 0,05)



**РИС. 3.** Влияние БКП с ЖЭСХО и ЖСХО на процессы СРО в модельной системе конечной липопероксидации. Обозначения: К – контроль, 1 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г;  $t = 40^{\circ}\text{C}$ ), 2 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г;  $t = 40^{\circ}\text{C}$ ), 3 – водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г;  $t = 40^{\circ}\text{C}$ ), 4 – ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация; 1:10)

Таблица 2

**ВЛИЯНИЕ БКП С ЖЭСХО И ЖСХО НА СВЕТОСУММУ ХЛ МС, В КОТОРОЙ ПРОТЕКАЮТ ПРОЦЕССЫ КОНЕЧНОЙ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ**

№	Проба исследуемых продуктов	Светосумма		Спонт. светимость абс.	Вспышка абс.	Макс. светимость	
		абс.	% относит. контроля			абс.	% относит. контроля
1.	Контроль	45,32	100	0,53	22,77	18,96	100
2.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (4,0 г; $t = 40^{\circ}\text{C}$ )	21,56	47,6	1,13	38,48	10,60	55,9
3.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (2,0 г; $t = 40^{\circ}\text{C}$ )	20,28	44,7	18,84	32,89	7,22	38,1
4.	Водный раствор БКП с ЖЭСХО (0,8 г; $t = 40^{\circ}\text{C}$ )	20,48	45,1	0,48	23,94	6,96	36,7
5.	ЖЭСХО свежеприготовленный (50% спирт этиловый; бисмацерация 1:10)	1,86	4,1	1,16	11,39	0,68	3,6

раза уменьшал самый значимый показатель ХЛ по сравнению с растворами БКП с ЖЭСХО и контролем.

Далее для исследования была использована модельная система, в которой протекают процессы конечной липопероксидации. Данные о влиянии исследуемых образцов на ХЛ в данной модельной системе представлены на рис. 3.

Внесение в МС желточных липопропротеидов исследуемых образцов также сопровождалось уменьшением параметров светосуммы и амплитуды максимального свечения (рис. 2).

Количественные характеристики исследуемых параметров представлены в табл. 2.

Результаты исследования показали, что все образцы растворов БКП с ЖЭСХО различной концентрации дозозависимо снижали величину светосуммы свечения и максимальную светимость ХЛ МС, наиболее эффективным оказался раствор БКП с ЖЭСХО в концентрации 0,8 г.

Уровень свечения МС при добавлении свежеприготовленного ЖЭСХО, являющегося основой для получения БКП, подавлялся практически до нулевого значения.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана технологическая схема производства БКП с ЖЭСХО.

2. Исследования показали, что в обеих модельных системах исследуемые образцы действовали в одинаковом направлении: снижали процессы образования свободных радикалов, проявляли прямое антиоксидантное действие.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аюпова Г.В., Батырова Е.Д. Технологические аспекты создания интравагинальных

биodeградируемых коллагеновых пластин с экстрактом хмеля обыкновенного // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15. №3 (5). С. 1550–1554.

2. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2012. – 472 с.

3. Латыпова Г.М. Экспериментально-теоретическое обоснование рационального использования растений рода *Primula L.* и рода *Humulus L.*: автореферат дисс. ... д-ра фарм. наук: 14.04.02. – Самара, 2015. – 46 с.

4. Аюпова Г.В., Федотова А.А., Давлетшина Р.Я., Лиходед В.А., Иксанова Д.В., Дайнеко Е.А., Баянов Д.Р., Романко Т.В. Средство для лечения бактериального вагиноза. Патент №2325148 РФ. Заявитель и патентообладатель: Башк. гос. мед. ун-т. №2007114974; заявл. 04.09.07; опубл. 27.05.08.

5. Латыпова Г.М., Гильмутдинова Л.Т., Закиева С.В., Галеева А.Х., Круглова Н.Н., Камалетдинов С.Х., Янтурина Н.Х., Сыртланова Э.Р., Галимов Ш.Н., Искандарова З.М., Бубенчикова В.Н., Давлетшина Р.Я., Шафилова С.Ф., Лукманова Г.Ф. Антиоксидантное средство растительного происхождения. Патент №2372931 РФ. Заявитель и патентообладатель – Башк. гос. мед. ун-т. №2008125593; заявл. 23.06.08; опубл. 20.11.09.

6. Павлов В.Н., Рахматуллина И.Р., Фархутдинов Р.Р., Пушкарев В.А., Данилко К.В., Галимова Э.Ф., Баймурзина Ю.Л., Петрова И.В., Мочалов К.С. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы // Креативная хирургия и онкология. 2017. Т. 7, №2. С. 54–61.

7. Bocquet L., Sahpaz S., Bonneau N., Beaufay C., Mahieux S., Samaille J.R., Jacquin J., Bordage S., Hennebelle T., Chai F., Quetin-Leclercq J., Neut C., Riviere C. Phenolic Compounds from *Humulus*

- lupulus as Natural Antimicrobial Products: New Weapons in the Fight against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus, Leishmania mexicana and Trypanosoma brucei Strains // Molecules. 2019. Vol. 24, №6.*
8. Dai Z., Ronholm J., Tian Y., Sethi B., Cao X. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications // *Journal of Tissue Engineering. 2016. Vol., №7. P. 1–13.*

---

---

## **SOME QUESTIONS ABOUT PHARMACEUTICAL OF DEVELOPMENT INTRAVAGINAL BIODEGRADABLE COMPOSITION BASED ON COLLAGEN AND CONTAINING EXTRACT OF HUMULUS LUPULUS**

**G.V. Ayupova, G.M. Latypova, J.L. Borcova, E.D. Batyrova, R.M. Kireeva, R.G. Balametova**

*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

*The paper presents the results of the studies on development of technological scheme of production and study of antioxidant activity of intravaginal drug form. Research by the chemiluminescence method has demonstrated direct antioxidant effect reduction of free radical formation processes of formation of free radicals in model systems.*

Keywords: biodegradable compositions based on collagen and containing extract of Humulus lupulus, pharmaceutical development, antioxidant properties