

## ВИВЧЕННЯ СПЕРМІЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕЛЮ ДЛЯ ГІНЕКОЛОГІЇ

**Ключові слова:** гель, сперміцидна активність, спермії кнурів, кнури, хінозол, метронідазол, допоміжні речовини

Розвиток наукових досліджень у галузі біофармації свідчить, що ефективність фармако-терапії в певній мірі залежить від правильно обраної лікарської форми та допоміжних речовин (ДР), які забезпечують не тільки зручність застосування лікарського засобу (ЛЗ), а й цілеспрямовану доставку активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ). З цієї точки зору застосування полімерних матеріалів для створення ЛЗ з високою biodostupnistiu у вигляді гелів, відкриває нові можливості для застосування як інноваційних, так і давно відомих АФІ.

У гінекологічній практиці м'які лікарські засоби (МЛЗ) широко застосовують як для лікування запальних захворювань, так і з метою контрацепції [1, 3, 4]. Контрацептивні МЛЗ, що мають певні реологічні властивості, легко розмащуються по слизовій порожнині, змішуються з природним секретом піхви, тим самим вони справляють одночасно і змашувальну дію, що може бути необхідною при коїтусі у разі недостатнього виділення природного секрету. Крім того, МЛЗ за рахунок підвищеної в'язкості створює додаткову перешкоду на шляху сперміїв [8]. Таким чином, за наявності інших ЛФ, МЛЗ не витрачають свою актуальність.

Подальші дослідження, спрямовані на реалізацію розроблених нами методологічних підходів [2], присвячені створенню вагінальних матричних терапевтичних систем – носіїв тих АФІ, які були відібрані нами в якості потенційних антимікробних засобів зі сперміцидною активністю. Вибір об'єктів досліджень зумовлено їх затребуваністю в гінекологічній практиці, високою фармакологічною активністю, а також перспективністю їх застосування [6].

Метою роботи є вивчення сперміцидної активності розробленого МЛЗ у вигляді гелю для гінекологічної практики на сперміях кнурів методом *in vitro*.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на базі кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин ННІ ветеринарної медицини та якості й безпеки продукції Національного університету біоресурсів і природо-користування України.

Для досліджень було використано свіжоотриману і розбавлену розбавником для короточасного зберігання «Minitube» (Німеччина) сперму кнурів породи великої білої. Кожний еякулят оцінено за макро- та мікроскопічними показниками: колір, запах, об'єм, консистенція, рухливість, концентрація сперміїв [7].

Визначення рухливості сперми проводили в препараті «роздавлена крапля» під мікроскопом зі збільшенням у 100–180 разів на столику з підігрівом. Для визначення рухливості на предметне скло теплою стерильною скляною паличкою наносили невелику краплю сперми і накривали покривним склом. Підрахунок сперміїв проводили не менш ніж у трьох полях зору мікроскопа. Підраховували кількість сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом, окремо кількість сперміїв з неправильним рухом (манежним, коливальним) та мертвих сперміїв.

Рухливість (*P*) сперміїв визначали за формулою:

$$P_c = \frac{n_1 \cdot 10}{n}, \quad (1)$$

де:  $n$  – загальна кількість підрахованих спермій;

$n_1$  – кількість підрахованих спермій з прямолінійно-поступальним рухом;

10 – постійний коефіцієнт.

Визначення кількості мертвих спермій ( $H_c$ ) проводили методом диференціального фарбування за формулою:

$$H_c = \frac{C^+}{C^- + C^+}, \quad (2)$$

де:  $C^+$  – кількість спермій із зафарбованими голівками;

$C^-$  – кількість спермій із незафарбованими голівками.

Визначення концентрації спермій проводили у лічильній камері Горяєва. Сперму розріджували у меланжері 3 % розчином натрію хлористого, вносили її під покривне скельце камери і при малому збільшенні у затемненому полі підраховували кількість спермій у п'яти великих (80 малих) квадратах, розміщених по діагоналі.

У чисті, сухі, стерильні, підігріті до температури 38 °С флакони на 10 мл (зберігаються у термостаті), вносили по 0,5 мл препаратів сперміцидної дії різної концентрації та консистенції: флакони 1, 2, 3 – розчини; 3, 4 – гель. У другій серії досліджень: 1, 4 – розчини; 2, 3 – гель. Через 5 хв у кожен флакон додавали 0,5 мл досліджуваної сперми, змішували. Вплив препаратів на сперму оцінювали у препараті «роздавлена крапля» та мазку для визначення мертвих спермій одразу, через 1, 5, 10, 20, 30 хв та 1 год інкубації. У контролі використовували фізіологічний розчин та ЛЗ «Контрацептин Т», що містить 30 мг хінозолу, 300 мг борної кислоти та 30 мг танину.

### Результати дослідження та їх обговорення

У першу чергу нами було вивчено якість спермій кнурів (табл. 1).

Т а б л и ц я 1

Показники якості сперми кнурів

Плідник	Концентрація, млрд.	Рухливість, бали	Патологічні спермії, %	pH
1	0,28	7,5	7	7,22
2	0,18	7,2	10	7,2
3	0,20	7,0	8	7,15

Нами вивчено вплив як окремих ДР (ДМСО, ПГ, камедь), так і їх різні комбінації та концентрації на якість сперми кнурів-плідників. За результатами досліджень встановлено, що після змішування ПГ зі спермою (через 30 с – 1 хв) рухливість спермій значно знизилась і становила  $1,0 \pm 0,2$  проти  $5,6 \pm 0,4$  у контролі. Через 5 хв інкубації рухливість спермій була  $0,4 \pm 0,2$ , а після 10 хв виявлялись тільки колові, коливальні й в одному випадку одиничні спермії з прямолінійним рухом. Через 15 хв інкубації спермії у всіх зразках були мертвими.

Після змішування ДМСО зі спермою (через 30 с – 1 хв) рухливість спермій знизилась і становила  $2,6 \pm 0,4$  проти  $5,6 \pm 0,4$  у контролі. Через 5 хв інкубації рухливість спермій була  $1,1 \pm 0,1$ , через 10 хв –  $0,3$  і близько 20 % – з коловими та коливальними рухами. Через 15 хв інкубації у всіх зразках виявлялись тільки колові та коливальні рухи спермій, які становили відповідно 5 % та 10 %. Через 20 хв у зразках виявили поодинокі коливальні рухи спермій, а через 30 хв усі спермії були мертвими.

Змішування розчину камеді зі спермою (через 30 с – 1 хв) призводило до загибелі всіх спермій. Це зумовлено високою в'язкістю розчину камеді. Встановлено, що змішування модельних зразків гелю в різних концентраціях зі спермою кнурів *in vitro* у співвідношенні 1:1, виявило ефективну сперміцидну дію на спермії, викликаючи їхню загибель одразу після змішування. Аналогічні дані отримані також при додаванні до основи гелю молочної кислоти. У зв'язку з тим, що картина дослідження не змінюється з додаванням

молочної кислоти (сперміцидна дія спостерігається через 30 с – 1 хв), її концентрація – 0,125 % визначається як результат кореляції рН системи гелю.

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення оптимальної сперміцидної концентрації розчину хінозолу (табл. 2).

Т а б л и ц я 2

*Вплив розчину хінозолу на спермії кнурів*

Розчин хінозолу, %	Час контакту сперми зі зразками	Кнур 1	Кнур 2	Кнур 3
0,025	30 с – 1хв	5,3	1,3	2,3
	5 хв	2,7	0,7	0,7
	10 хв	1,3	Коливальні	0,3
	20 хв	0,7	Одиничні коливальні	Коливальні
	30 хв	0,3	-	-
0,05	30 с - 1хв	5,7	2,0	3,3
	5 хв	4,3	1,0	2
	10 хв	3,3	0,7	0,7
	20 хв	1,7	0,3	0,3
	30 хв	0,7	Одиничні колові, коливальні	-
0,06	30 с - 1хв	5,7	1,7	3,0
	5 хв	3,0	1	1,3
	10 хв	2,3	0,3	0,3
	20 хв	1,3	Одиничні колові, коливальні	Одиничні колові, коливальні
	30 хв	0,3	-	-
0,1	30 с - 1хв	2,1	1,7	1,0
	2 хв	Коливальні	Коливальні, поодинокі колові	Коливальні
	5 хв	-	-	-
0,2	30 с - 1хв	1,3	1,7	1,0
	2 хв	Коливальні	Коливальні, поодинокі колові	Коливальні
	5 хв	-	-	-
0,5	30 с - 1хв	0	0	0
0,75	30 с - 1хв	0	0	0
1,0	30 с - 1хв	0	0	0
Контрацептин Т	30 с - 1хв	0	0	0

Отримані результати досліджень свідчать, що зразки № 1 – 3 виявили різну сперміцидну ефективність, яка, однак, є невисокою, бо дозволяла сперміям зберігати рухливість (прямолінійно-поступальний рух) через 20 хв після їх змішування з модельними зразками. Зразки № 4, 5 при змішуванні з сперміїв через 5 хв виявляють сперміцидну активність.

Високу сперміцидну ефективність (спермії гинули одразу після їх контакту із дослідними зразками) виявляли зразки № 6 – 8. Після змішування сперміїв із зразками «роздавлена крапля» не виявила жодних форм руху сперміїв у всіх зразках, тобто активність була 0 балів і всі спермії загинули одразу після контакту із досліджуваними зразками. Отже, 0,5 % розчин хінозолу виявляє сперміцидну активність. Але дослідження показали, що сперміцидну активність також мають системи з високою в'язкістю. Крім того, попередніми мікробіологічними дослідженнями [5] доведено, що оптимальну антимікробну активність виявляє гель при таких концентраціях ДР: хінозолу – 0,05 %, метронідазолу – 0,5 % і молочної кислоти – 0,125 %. Отже, 0,05 % розчин хінозолу у складі гелю є достатнім для виявлення як антимікробної активності, так і сперміцидної дії препарату.

Проведений експеримент щодо визначення сперміцидної активності вищезазначеного гелю свідчить, що вже через 30 с – 1 хв після змішування гелю зі сперміїв кнурів відмічали тільки коливальні рухи, а через 2 хв – всі спермії загинули.

## В и с н о в к и

1. Вивчено сперміцидну активність гінекологічного антимікробного гелю з метронідазолом, хінозолом і молочною кислотою методом *in vitro* на спермії кнурів.

2. Встановлено взаємозв'язок між сперміцидною активністю та в'язкістю системи. Гель заповнює задне зведення піхви і за рахунок високої в'язкості закриває отвір зіву шийки матки. Завдяки цьому блокується проникнення сперматозоїдів у порожнину матки.

Молочна кислота створює перешкоду пересування сперматозоїдів через зсув лужної реакції слизу в шийці матки в кислий бік.

3. Визначення сперміцидної активності гелю показало доцільність створення лікарського засобу, до складу якого входить 0,05 % хінозолу, 0,5 % – метронідазолу та молочної кислоти – 0,125 %.

1. Камаева С.С., Мухина И.В., Поцелуева Л. А., Жемарина Н.В., Проданец Н.Н. // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2009. – вып. 1. – Сер. 11. – С. 168 – 174.

2. Полищук Ю.П. // Всеукр. мед. журнал мол. вчених /VII між нар. медико-профілактична конф. студентів і мол. вчених 8-9 квітня, 2010. – Чернівці. – 2010. – вип.12. – 135 с.

3. Полищук Ю.П. // XIV між нар. мед. конгрес студентів та мол. вчених 13-15 квітня 2010 р., м.Тернопіль / Тернопіль: Укрмедкнига. – 2010. – 304 с.

4. Полищук Ю.П., Давтян Л.Л.// Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 15–17 вересня 2010 р.). У 2 т. /За ред.В.П. Черних. – Х.: НФаУ, 2010. – Т. 2. – 267 с.

5. Полищук Ю.П., Давтян Л.Л.//Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім. П.Л.Шупика. – 2010. – вип. 19. – Кн. 3. – С. 533 – 538.

6. Полищук Ю. П., Давтян Л.Л., Бірюкова С.В., Колоколова О.Б. // Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім П.Л.Шупика. – 2011. – вип.20. – Кн. 3. – С. 390 –394.

7. Шевченко Е. А., Артифексов С. Б. //Уч. пособие. – Н. Новгород – 2003. –28с.

8. Christine Mauck // Evidence-based Obstet. Gynecol. 2002. –Vol. 4. – N 4. – P. 177–178.

Надійшла до редакції 08.11.2011.

Ю.П.Полищук, Л.Л.Давтян, В.М.Лакатош

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕРМИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ ДЛЯ ГИНЕКОЛОГИИ

**Ключевые слова:** гель, спермицидная активность, сперма кабанов, хинозол, метронидазол, вспомогательные вещества

Проведены исследования по изучению спермицидной активности (метод *in vitro*) геля, содержащего метронидазол, хинозол и молочную кислоту. Установлена взаимосвязь между спермицидной активностью и вязкостью системы.

Y.P.Polishchuk, L.L.Davyan, V.M.Lakatosh

## STUDY ACTIVITY SPERMICIDAL GEL of GYNECOLOGY

**Key words:** gel spermicidal activity, sperm boar, hinozol, metronidazole, auxiliary substances

## S U M M A R Y

Conducted a study on spermicidal activity (method of *in vitro*) gel containing metronidazole hinozol and lactic acid. The relationship between the spermicidal activity and viscosity of the system.