

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ БЕРБЕРИНА БИСУЛЬФАТА

А.Г. Пальвинский

аспирант, кафедра фармацевтической технологии, Институт фармации имени А.П. Нелюбина, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Е.О. Бахрушина

к.фарм.н., доцент, кафедра фармацевтической технологии, Институт фармации имени А.П. Нелюбина, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)
E-mail: bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

П.А. Холина

студентка, Од Института фармации имени А.П. Нелюбина, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

И.И. Краснюк

д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, Институт фармации имени А.П. Нелюбина, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Актуальность. Отсутствие единых требований к дизайну фармацевтической разработки стоматологических гелей – особенно в аспекте единых биорелевантных подходов к оценке высвобождения активного ингредиента *in vitro* – затрудняет гармонизацию результатов международных исследований между собой и замедляет выход на рынок новых эффективных препаратов.

Цель работы – провести апробацию комплекса биофармацевтических тестов – диффузии в агаровый слой и биодеградации в биологической жидкости, на примере стоматологического геля берберина бисульфата.

Материал и методы. В эксперименте сравнивали образцы стоматологических гелей берберина бисульфата, полученные в предыдущих исследованиях, на основе гидроксиэтилцеллюлозы и комбинации полоксамеров. Диффузию проводили в слое стерильного агарового геля, при закладывании 1,0 г геля в лунку диаметром 10,0 мм, по величине диаметра окрашенной зоны при термостатировании (37 °С) в течение 60 мин. Биодеградацию в среде ротовой полости изучали на тестере «Растворение» ERWEKA DT-800, аппарате «Вращающаяся лопасть» (скорость вращения 50 об/мин) в среде калий-фосфатного буферного раствора pH 7,0 при температуре 37±0,1 °С для 1,0 г геля в течение 60 мин.

Результаты. Показано преимущество использования комбинированной гелевой основы полоксамеров перед гидроксиэтилцеллюлозой и ее влияние на скорость высвобождения берберина бисульфата. Экспериментальный образец геля на основе полоксамеров подвергался биодеградации в течение часа, что вместе с высокими показателями мукоадгезии дает возможность предположить длительную экспозицию препарата при применении *in vivo*.

Выводы. Для анализируемых составов стоматологических гелей берберина бисульфата, изготовленных на основе комбинации полоксамеров и гидроксиэтилцеллюлозы, было показано различие в кинетике и полноте высвобождения методом диффузии в агар. Биодеградация стоматологического геля берберина бисульфата на основе комбинации полоксамеров оценивалась в течение 60 мин и была полной. Необходимо также отметить, что образец оставался адгезивным к подложке в течение первой половины испытания и практически не подвергался деструкции.

Ключевые слова: берберина бисульфат, стоматологический гель, диффузия в агар, тест растворение, полоксамеры.

Для цитирования: Пальвинский А.Г., Бахрушина Е.О., Холина П.А., Краснюк И.И. Биофармацевтическое изучение стоматологического геля берберина бисульфата. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(3):10–14. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-03-02>

Фитопрепараты находят широкое применение в терапии различных заболеваний полости рта, одним из самых распространенных среди которых является пародонтит [1, 2]. Разработка стоматологических гелей для лечения пародонтита представляет интерес научного сообщества ввиду преимуществ гелей по

сравнению с аналогичными формами для стоматологического применения – растворами для полоскания, таблетками для рассасывания и др. [1].

Для лекарственных форм, применяемых в полости рта, проведение оценки полноты и кинетики высвобождения активного ингредиента является

одним из обязательных параметров для оценки не только в процессе разработки, но и стандартизации. Например, нитроглицерин, бупренорфин, фентанил, золпидем и апоморфин в США применяются в качестве лекарственных форм, применяемых в полости рта: таблетки защечные, таблетки подъязычные, пленки защечные и пленки подъязычные. Данные лекарственные препараты присутствуют в базе данных методов растворения FDA [3].

Согласно данным ведущих мировых нормативных баз, представлены следующие методы и методики для проведения теста «Растворение» лекарственных форм, применяемых в полости рта: для подъязычных пленок используется аппарат 5 USP (Лопасть над диском), для таблеток – аппарат 1 или 2 USP (Вращающаяся лопасть, Вращающаяся корзинка), для защечных пленок – аппарат 1 USP (Вращающаяся лопасть). В качестве среды рекомендуется к использованию вода очищенная и буферные растворы: ацетатный, фосфатный и бис-трис-гидрохлоридный. Значение pH среды варьируется в диапазоне от 6,4 до 7,0 в зависимости от препарата. Скорость мешалки от 50 до 100 оборотов в минуту [3, 4].

Таким образом, несмотря на отсутствие специфических тестеров для определения качества лекарственных форм в виде стоматологического геля, FDA USP предлагает для оценки высвобождения из них активного ингредиента использование классических для твердых и мягких лекарственных форм методов и методик. Необходимо отметить, что производители современного оборудования для проведения тестов «Растворение» оснащают некоторые модели тестеров дополнительными приспособлениями для анализа форм для применения в ротовой полости. Например, тестер растворения ERWEKA DT-600 (ERWEKA, Германия) снабжен стаканами уменьшенного объема (до 500 мл) и вращающимися лопастями подходящей величины.

Стоматологический гель объединяет в себе особенности, которые необходимо учитывать при проведении теста «Растворение»: он является мягкой лекарственной формой, а также предназначен для применения в полости рта.

Современные мировые нормативные базы не содержат рекомендаций по анализу параметра высвобождения активных ингредиентов из мягких форм для стоматологического применения. Однако, согласно анализу научной литературы, при разработке стоматологических гелей исследовате-

ли используют следующие методы для оценки высвобождения: диффузия в агар, аппараты «Вращающаяся корзинка», «Вращающаяся лопасть» и «Лопасть над диском», диализ через полупроницаемую мембрану по Кривчинскому [5–9].

Для моделирования нахождения стоматологического геля в ротовой полости, а также удобства работы с мягкой формой, методики для аппаратов 1 и 2 часто модифицируют. В исследовании Raszewski Z. et al. для имитации выделения и движения слюны в полости рта скорость мешалки составляла 300 об/мин [7]. В работе Alkhalidi, Hala M. аппарат 1 использовался в виде модификации: образцы помещались в цилиндрические трубки и прикреплялись вместо корзинки, на нижней стороне трубки находилась полупроницаемая мембрана. В качестве буферного раствора использовался фосфатный буфер с pH 7,4 [9].

Важно отметить, что не все методы, традиционно применяемые для оценки высвобождения из мягких лекарственных форм активных ингредиентов, одинаково подходят для стоматологических гелей. Являясь лекарственной формой для местного применения, имеющей прямой контакт со слизистой, стоматологические гели имеют гораздо больше общего с пленками защечными и пленками для наклеивания на десну, чем с дерматологическими формами и трансдермальными пластырями, а также таблетками для рассасывания.

Традиционные методы исследования профилей высвобождения действующих веществ из твердых лекарственных форм подразумевают растворение их в большом объеме среды, моделирующей биологические жидкости. Такой подход целесообразен для исследования таблеток и капсул для перорального применения, а также суппозиториев, таблеток для рассасывания, жевательных резинок, диспергируемых таблеток, леденцов и т.д., то есть для лекарственных форм, растворение которых происходит первично в среде биологической жидкости, за чем следует абсорбция. Для стоматологических гелей, наряду с защечными пленками и трансдермальными формами, необходим другой подход, поскольку эти формы имеют прямой контакт со слизистой или кожным покровом в процессе применения. Активное высвобождение действующих веществ из стоматологических гелей в среду слюнной жидкости не всегда будет свидетельствовать об эффективности исследуемого препарата в локусе применения. Напротив, факт быстрого растворения активного ингредиента в

слоне может изменять ее привкус и провоцировать пациента к проглатыванию, что ведет к потере эффективности местного действия лекарственного препарата. Таким образом, группы методов, использующие полупроницаемую мембрану (аппарат 5 по USP и диализ по Кривчинскому), а также тесты на аппаратах 1 и 2 не являются полностью биорелевантными для изучаемых лекарственных форм, а оптимальными для оценки параметров можно назвать диффузию в агар.

Ц е л ь р а б о т ы – сравнительная оценка высвобождения активного ингредиента из стоматологического геля методами диффузии в агар и

биodeградации при проведении теста «Растворение» на аппарате «Вращающаяся лопасть».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили экспериментальные образцы стоматологических гелей берберина бисульфата, изготовленные на базе лаборатории кафедры фармацевтической технологии Института фармации имени А.П. Нелюбина [10]. После исследований показателей стабильности, мукоадгезии, реологии и pH, были отобраны два оптимальных состава для скрининга по параметру высвобождения берберина бисульфата (табл. 1).

Таблица 1. Состав экспериментальных образцов

Наименование действующего и вспомогательных веществ	Содержание веществ, %	
	Состав 1	Состав 2
Берберина бисульфат (ЗАО «Вифитех», Оболенск, Московская область, РФ)	0,1	0,1
Полоксамер 407 (BASF, Германия)	17,6	–
Полоксамер 338 (BASF, Германия)	16,0	–
Гидроксиэтилцеллюлоза (Natrosol HHR, Ashland, США)	–	1,5
Kollidon 90F (BASF, Германия)	–	2,0
Натрия хлорид (Sigma-Aldrich, Германия)	0,8	–
Пропиленгликоль (BASF, Германия)	10,4	10,4
Вода очищенная (ФС.2.2.0020.15)	до 100,0	

Диффузия в агар. В стерильном агаровом геле (4,0%) делали лунки диаметром 10 мм, дозировали 1,0 г экспериментального образца по массе. Термостатировали в климатической камере при постоянной температуре $37 \pm 0,5$ °C в течение 60 мин. В качестве контроля использовали замер диаметра окрашенного пятна вокруг лунки с помощью микрометра.

Биodeградация в среде ротовой полости. Изучение биodeградации геля на 1,0 г экспериментального образца проводили в течение 60 мин на тестере «Растворение» ERWEKA DT-800, аппарате «Вращающаяся лопасть» (скорость вращения 50 об/мин) в среде калий-фосфатного буферного раствора pH 7,0 при температуре $37 \pm 0,1$ °C. Для оценки биodeградации образец геля был однородно распределен по полупроницаемой мембране OrDial D14b 50×50 мм с размером пор 12–14 кДа (Orange Scientific, Бельгия), помещенной в стакан тестера. Биodeградация оценивалась визуально с помощью фотофиксации на камеру Xiaomi Redmi Note 8 по уменьшению размеров образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены результаты измерений диаметра пятна берберина бисульфата в агаровом слое, иллюстрирующие динамику его высвобождения из геля в четырех повторностях.

Экспериментальный состав 1, содержащий в качестве основы комплекс полоксамеров 407 и 338, на протяжении первых 30 мин демонстрировал пре-

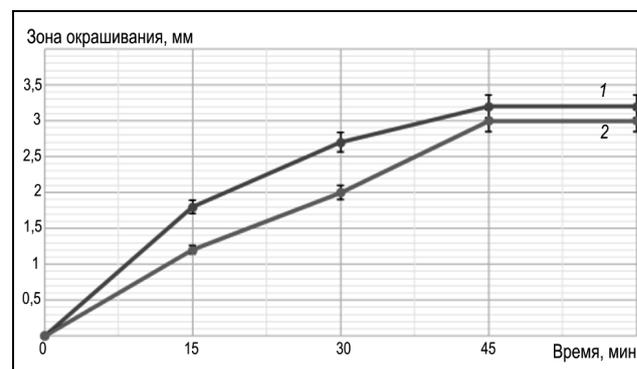


Рис. 1. Результаты проведения эксперимента по методу диффузии в агар для экспериментальных составов 1 (кривая 1) и 2 (кривая 2) (n=4)

имущество над составом на основе гидроксиэтилцеллюлозы – за 15 мин эксперимента диаметр окрашенной зоны состава 1 оценивался как $1,8 \pm 0,1$ см, состава 2 – $1,2 \pm 0,1$ мм; за 30 мин наблюдений – $2,7 \pm 0,1$ мм и $2,0 \pm 0,1$ мм соответственно. Этот факт объясняется специфическими свойствами поллоксамеров как эксципиентов, обладающих поверхностной активностью и ускоряющих проникновение активного ингредиента в клетки и ткани.

Рост диаметров окрашенной зоны агарового слоя для обоих экспериментальных образцов прекратился на 45-й минуте испытания – с диаметром примерно $3,1 \pm 0,1$ мм анализируемые образцы сравнялись между собой.

Таким образом, по итогам диффузии в агар был выбран состав 1.

При изучении биodeградации оптимального образца на тестере «Растворение» (аппарат 1) были получены следующие результаты: за первые полчаса пребывания в среде калий-фосфатного буфера, моделирующего слюнную жидкость, образец, нанесенный на подложку из полупроницаемой мембраны, практически не подвергся визуальной деструкции, его уменьшение в размерах было зафиксировано с помощью фотосъемки как не превышающее 15% (рис. 2). При дальнейшем проведении теста биodeградация образца усилилась, вероятно, ввиду эрозии, и к завершению времени эксперимента (60 мин) образец на подложке наблюдался лишь частично (менее 5,0% от начального размера), а большая его часть была растворена в среде.

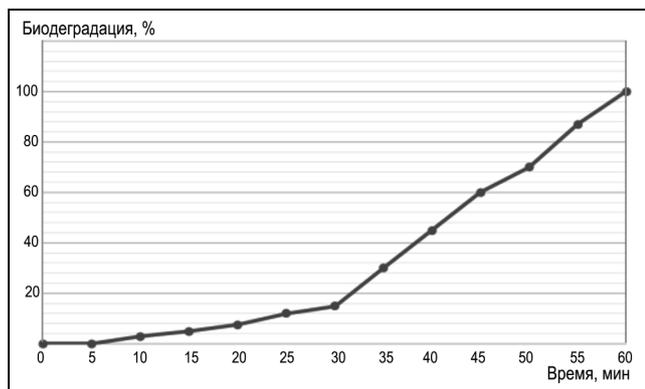


Рис. 2. Биodeградация образца состава 1 в среде калий-фосфатного буферного раствора (pH 7,0)

Выводы

В ходе проведенных исследований были выбраны и обоснованы методы для проведения экспериментов по оценке высвобождения активного

ингредиента из стоматологического геля. Для анализируемых составов стоматологических гелей берберина бисульфата, изготовленных на основе комбинации поллоксамеров и гидроксиэтилцеллюлозы, было показано различие в кинетике высвобождения активного ингредиента методом диффузии в агар. Хотя этот метод не является количественным и не может описывать полноту высвобождения, его применение может быть оправдано на этапе скрининга для сравнительной оценки распространения активного ингредиента в агаровом слое путем пассивной диффузии.

Биodeградация стоматологического геля берберина бисульфата на основе комбинации поллоксамеров оценивалась в течение 60 мин и была полной. Необходимо также отметить, что образец оставался адгезивным к подложке в течение первой половины испытания и практически не подвергался деструкции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Духанина И.В., Никитина А.С., Никитина Н.В., Феськов С.А., Романов В.А. Обоснование антибактериального действия стоматологических гелей на основе *Monarda fistulosa* L. экстракта жидкого. 2019; DOI: <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-01-07>.
2. Новиков О.О., Жилкова Е.Т., Цимбалитов А.В., Трифонов Б.В., Малютина А.Ю., Писарев Д.И. Новый взгляд на проблему профилактики и лечения заболеваний пародонта. Научные результаты биомедицинских исследований. 2016; 2(3): 64–69.
3. FDA Dissolution Methods Database. URL: <http://www.oim.ru/reader.asp?nomer=366> (дата обращения: 23.10.2021).
4. The United States Pharmacopeia: {711} DISSOLUTION URL: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/_harmonization/gen-method/stage_6_monograph_25_feb_2011.pdf (дата обращения: 23.10.2021).
5. Маслий Ю.С., Рубан Е.А. Изучение биофармацевтических и адгезионных характеристик стоматологического геля. Вестник фармации. 2018; 1: 28–32. <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2188>.
6. Загоруйко Е.Ю., Караваева А.С. Подходы к выбору вспомогательных веществ для геля стоматологического с цетилпиридиния хлоридом. Фармация и фармакология. 2021; 9(1): 54–63. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-1-54-63>.
7. Raszewski Z., Nowakowska-Toporowska A., Weżgowiec J., Nowakowska D. Design and characteristics of new experimental chlorhexidine dental gels with anti-staining properties. Advances in Clinical and Experimental Medicine. 2019; 28(7): 885–890. DOI: 10.17219/acem/94152.
8. Heba A. Gad, Mohamed A. El-Nabarawi, Seham S. Abd El-Hady. Formulation and Evaluation of Secnidazole or Doxycycline Dento-Oral Gels. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2008; 34(12): 1356–1367. <https://doi.org/10.1080/03639040802122944>.
9. Alkhalidi Hala M., Khaled M. Hosny, Waleed Y. Rizg. Oral Gel Loaded by Fluconazole–Sesame Oil Nanotransfersomes: Development, Optimization, and Assessment of Antifungal

Activity. *Pharmaceutics*. 2021; 13(1): 27; <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010027>.

10. Пальвинский А.Г., Бахрушина Е.О., Козлова Ж.М., Синицына А.А., Краснюк И.И. Разработка терморевверсивного

стоматологического геля с бербериним. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2020; 4(9): 88–92; <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-4-88-92>.

Поступила 14 декабря 2021 года

BIOPHARMACEUTICAL STUDY OF BERBERINE BISULPHATE DENTAL GEL

© Authors, 2022

A.G. Palvinskiy

Post-graduate Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University) (Russia, Moscow)

E.O. Bakhrushina

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University) (Russia, Moscow)

P.A. Kholina

Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University) (Russia, Moscow)

I.I. Krasnyuk

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University) (Russia, Moscow)

Abstract. The lack of uniform design requirements for the pharmaceutical development of dental gels - especially in terms of common biorelevant approaches to assessing the release of an active ingredient *in vitro* - complicates the harmonization of international research results with each other and slows down the entry of new effective drugs into the market.

Aim. To conduct approbation of a complex of biopharmaceutical tests - diffusion into an agar layer and biodegradation in a biological fluid using a sample of berberine bisulfate dental gel.

Materials and methods. In the experiment, samples of dental gels of berberine bisulfate obtained in previous studies, based on hydroxyethyl cellulose and a combination of poloxamers, were compared. Diffusion was carried out in a layer of sterile agar gel, when 1.0 g of the gel was placed in a well with a diameter of 10.0 mm, according to the size of the diameter of the colored zone with thermostating (37 °C) for 60 minutes. Biodegradation in the oral cavity was studied on the "Dissolution" ERWEKA DT-800 tester, "Rotating paddle" apparatus (rotation speed 50 rpm) in a potassium-phosphate buffer solution pH 7.0 at 37 ± 0.1 °C for 1.0 g of gel in 60 minutes.

Results. In the course of the studies, the advantage of using a combined gel base of poloxamers over hydroxyethyl cellulose and its effect on the rate of release of berberine bisulfate was shown. An experimental sample of a gel based on poloxamers underwent biodegradation within an hour, which, together with high rates of mucoadhesion, makes it possible to assume a long exposure of the drug when used *in vivo*.

Conclusion. For the analyzed compositions of dental gels of berberine bisulfate, made on the basis of a combination of poloxamers and hydroxyethyl cellulose, a difference in the kinetics and completeness of release by the method of diffusion into agar was shown. Biodegradation of the dental gel of berberine bisulfate based on the combination of poloxamers was evaluated within 60 minutes and was complete. It should also be noted that the sample remained adhesive to the substrate during the first half of the test and practically did not undergo degradation.

Key words: berberine bisulfate, dental gel, agar diffusion, dissolution test, poloxamers.

For citation: Palvinskiy A.G., Bakhrushina E.O., Kholina P.A., Krasnyuk I.I. Biopharmaceutical study of berberine bisulphate dental gel. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2022;25(3):10–14. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-03-02>

REFERENCES

- Duhanina I.V., Nikitina A.S., Nikitina N.V., Fes'kov S.A., Romanov V.A. Obosnovanie antibakterial'nogo dejstvija stomatologicheskikh gelej na osnove Monarda Fistulosa I. jekstrakta zhidkogo. 2019; 1: DOI: <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-01-07>.
- Novikov O.O., Zhiljakova E.T., Cimbalistov A.V., Trifonov B.V., Maljutina A.Ju., Pisarev D.I. Novyj vzgljad na problemu profilaktiki i lechenija zabojevanij parodontata. *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskih issledovanij*. 2016; 2(3): 64–69.
- FDA Dissolution Methods Database. URL: <http://www.oim.ru/reader.asp?nomer=366> (data obrashhenija: 23.10.2021).
- The United States Pharmacopeia: (711) DISSOLUTION URL: https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-method/stage_6_monograph_25_feb_2011.pdf (data obrashhenija: 23.10.2021).
- Masliy Yu.S., Ruban E.A. Izuchenie biofarmaceuticheskikh i adgezionnykh harakteristik stomatologicheskogo gelya. *Vestnik farmacii*. 2018; 1: 28–32. <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2188>.
- Zagorul'ko E.Ju., Karavaeva A.S. Podhody k vyboru vspomogatel'nykh veshhestv dlja gelja stomatologicheskogo s cetilpiridinija hloridom. *Farmacija i farmakologija*. 2021; 9(1): 54–63. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-1-54-63>.
- Raszewski Z., Nowakowska-Toporowska A., Wezgowiec J., Nowakowska D. Design and characteristics of new experimental chlorhexidine dental gels with anti-staining properties. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2019; 28(7): 885–890. DOI: 10.17219/acem/94152.
- Heba A. Gad, Mohamed A. El-Nabarawi, Seham S. Abd El-Hady. Formulation and Evaluation of Secnidazole or Doxycycline Dento-Oral Gels. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2008; 34(12): 1356–1367. <https://doi.org/10.1080/03639040802122944>.
- Alkhalidi Hala M., Khaled M. Hosny, Waleed Y. Rizg. Oral Gel Loaded by Fluconazole–Sesame Oil Nanotransfersomes: Development, Optimization, and Assessment of Antifungal Activity. *Pharmaceutics*. 2021; 13(1): 27. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010027>.
- Palvinskiy A.G., Bakhrushina E.O., Kozlova Zh.M., Sinicyna A.A., Krasnyuk I.I. Razrabotka termoreversivnogo stomatologicheskogo gelja s berberinom. *Razrabotka i registracija lekarstvennykh sredstv*. 2020; 4(9): 88–92. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-4-88-92>.