

ФАЗОВЫЕ ДИАГРАММЫ БИНАРНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ СИСТЕМЫ «ДИКЛОФЕНАК – МЕКСИДОЛ»: ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ДВОЙНОЙ ЭВТЕКТИКИ

М.Л. Ткаченко

к.х.н., доцент, фармацевтический факультет,
Самарский государственный медицинский университет (г. Самара)
E-mail: tka-mikhail@yandex.ru

М.А. Лосева

к.х.н. доцент, кафедра аналитической и физической химии,
Самарский государственный технический университет (г. Самара)

Л.Е. Жнякина

к. фарм. н., провизор-аналитик,
ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» (г. Самара)
E-mail: si5w1245@yandex.ru

А.В. Лямин

к.м.н., доцент, кафедра общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии,
Самарский государственный медицинский университет (г. Самара)
E-mail: avlyamin@rambler.ru

Эвтектики часто считают фармацевтическими несовместимостями из-за возможных осложнений в технологии лекарственных форм, тем не менее сами эвтектики могут представлять интерес как перспективная формообразующая основа для разработки новых лекарств с прогнозируемыми биофармацевтическими характеристиками.

С целью установления свойств бинарной лекарственной системы «диклофенак – мексидол» исследованы фазовые равновесия в твердой дисперсной системе «диклофенак – мексидол», а также проведены доклинические испытания противовоспалительной активности эвтектического состава рассматриваемой системы.

Исследование бинарной системы «диклофенак – мексидол» проводили на дифференциальном сканирующем калориметре ДСК-500, обеспеченном пакетом прикладных программ для автоматической обработки результатов эксперимента. В настоящей работе под названием «диклофенак» использована соответствующая кислота, а именно 2-[(2,6-дихлорфениламино) фенил] уксусная кислота (CAS—15307–86–5), полученная осаждением из раствора натрия диклофенак (ФС 42-0260-07) минеральной кислотой и затем очищенная многократной перекристаллизацией из этанола до получения одинаковой температуры плавления (ДСК) вещества в двух последних фракциях ($T_{пл}$ 158,3±0,2 °С). Также использован мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сулфонат), код CAS 127464-43-1 (Обнинская химико-фармацевтическая компания), который оказывает антигипоксическое, мембранопротекторное, ноотропное, противосудорожное и анксиолитическое действие, повышает устойчивость организма к стрессу ($T_{пл}$ 112 °С). Доклинические испытания противовоспалительной активности эвтектической смеси диклофенака с мексидолом осуществляли в сравнении с чистым диклофенаком на 30 интактных лабораторных беспородных крысах обоего пола средней массой 200–250 г.

Получена и испытана новая лекарственная модель противовоспалительного и болеутоляющего препарата на основе эвтектической системы «диклофенак – мексидол». Приведены данные фазовых равновесий системы «диклофенак – мексидол».

Установлено, что эвтектика реализуется при соотношении 30:70 мол. % (33,2:66,8 масс. %) с температурой плавления 92 °С. Противовоспалительная активность эвтектики оказалась более чем в 6 раз выше активности диклофенака.

Ключевые слова: дифференциальная сканирующая калориметрия, диклофенак, мексидол, эвтектика, диаграмма фазовых равновесий, каррагинин, противовоспалительная активность.

Для цитирования: Ткаченко М.Л., Лосева М.А., Жнякина Л.Е., Лямин А.В. Фазовые диаграммы бинарной лекарственной системы «диклофенак – мексидол»: противовоспалительная активность двойной эвтектики. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(2):35–41. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-06>

Твердые фармацевтические препараты, как правило, представляют собой гетерогенные дисперсные системы, состоящие из активных фармацевтических ингредиентов и определённого коли-

чества так называемых вспомогательных веществ. Некоторые компоненты этой дисперсии могут взаимодействовать, образуя, например, низкотемпературные эвтектические сплавы или стабильные

химические соединения (сокристаллы). Такую возможность всегда необходимо учитывать при разработке лекарств, поскольку низкотемпературные эвтектики могут усложнить некоторые стадии производства таблеток [1], а формирование сокристаллов может влиять на биодоступность активных фармацевтических ингредиентов [2]. Несмотря на то, что эвтектики часто считают фармацевтическими несовместимостями из-за возможных осложнений в технологии производства лекарственных форм, сами эвтектики могут представлять интерес как перспективная формообразующая основа для разработки новых лекарств с прогнозируемыми биофармацевтическими характеристиками. Подробнее об этом изложено в [3]. Некоторые из эвтектических систем были успешно применены ещё в 1889 г. Бонейном в оториноларингологии [4]. Оригинальная смесь, приготовленная им, состояла из фенола, кокаина и ментола в эквивалентных количествах. Сегодня почти в каждой аптеке имеется EMLA-крем, составными частями которого является эвтектическая смесь двух местноанестезирующих веществ: прилокаина и лидокаина. Сообщалось, что удивительно высокая проникающая способность через биологические мембраны активных его веществ, в том числе через неповрежденную кожу, связана с тем, что действующие вещества находятся в эвтектическом соотношении [5].

Информацию о возможности взаимодействия между компонентами лекарственных форм полу-

чают из фазовых диаграмм. Фазовые диаграммы могут быть построены на основе экспериментальных данных или на основе теоретических расчетов, если доступны соответствующие термодинамические характеристики веществ. Одним из действенных методов для построения фазовых диаграмм бинарных систем, содержащих органические вещества с относительно низкой температурой плавления, как например рассматриваемые диклофенак и мексидол, является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) [6].

Цель работы – изучение фазовых равновесий в твердой дисперсной системе «диклофенак – мексидол» а также проведение доклинических испытаний противовоспалительной активности эвтектического состава рассматриваемой системы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование бинарной системы «диклофенак – мексидол» проводили на дифференциальном сканирующем калориметре ДСК-500, обеспеченном пакетом прикладных программ для автоматической обработки результатов эксперимента [7].

В настоящей работе под названием «диклофенак» использовали соответствующую кислоту, а именно 2-[(2,6-дихлорфениламино) фенил] уксусную кислоту (CAS—15307–86–5), которая получена путём осаждения из раствора натрия диклофенак (ФС 42-0260-07) минеральной кислотой и затем очищена многократной перекристаллизацией из этанола до получения одинаковой температуры плавления (ДСК) вещества в двух последних фракциях ($T_{пл}$ 158,3±0,2 °С).

Также использовали мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат), код CAS 127464-43-1, производитель – Обнинская химическая фармацевтическая компания (ЗАО ОХФК), который оказывает антигипоксическое, мембранопротекторное, ноотропное, противосудорожное и анксиолитическое действие повышает устойчивость организма к стрессу ($T_{пл}$ 112 °С). Структурные формулы веществ представлены на рис. 1.

Составы для термического анализа готовили во всем диапазоне соотношений через 1–2 мольных процента путем растирания в ступке рассчитанных масс исходных веществ в присутствии небольшого количества спирта для большей эффективности измельчения и смешивания компонентов до полного его испарения.

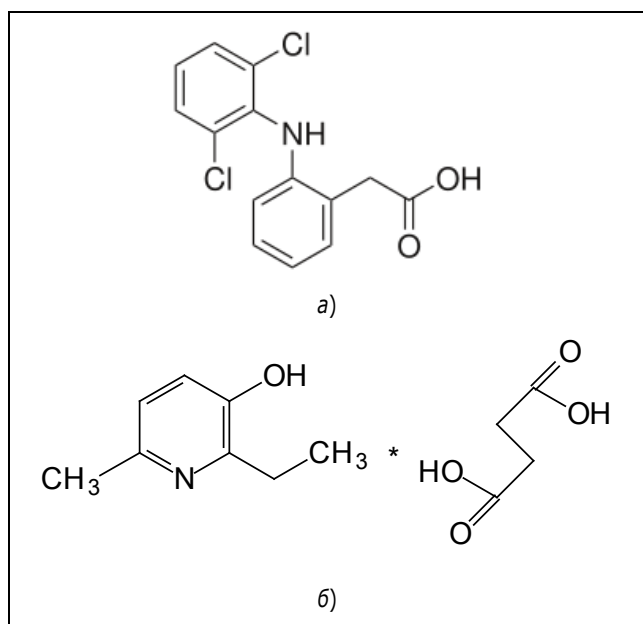


Рис. 1. Структурные формулы веществ: а – диклофенак; б – мексидол

Доклинические испытания противовоспалительной активности эвтектической смеси диклофенака с мексидолом проводили в сравнении с чистым диклофенаком на 30 интактных лабораторных беспородных крысах обоего пола средней массой 200–250 г. Эксперименты выполняли в соответствии с правилами качественной лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в Российской Федерации [8], а также согласно Международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986) [9]. Животных содержали в виварии в стандартных условиях.

Для эксперимента крыс делили на три группы: 1-я – контрольная; 2-я и 3-я – опытные. Контрольная группа получала с помощью внутрижелудочного зонда только воду (2% от массы тела), а опытные группы тем же путем – исследуемые препараты: 2-я – диклофенак; 3-я – система «диклофенак – мексидол» (эвтектика).

Острую воспалительную реакцию (отек) воспроизводили общепринятым методом – субплантарным введением 0,1 мл 1%-ного раствора лямбда-карагенина («Sigma») в задние лапы [10].

Выраженность воспалительной реакции оценивали через 3 ч после индукции воспаления из-

мерением длины окружности отекающей лапы. Исследуемые образцы, а именно диклофенак и эвтектическую систему «диклофенак – мексидол» в дозе, аналогичной предыдущему введению, в пересчете на чистый диклофенак, вводили зондом в желудок за 1 ч до введения карагенина. Эффективность противовоспалительного действия определяли по уменьшению отека измерением окружности лапы крысы. Измерения проводили при помощи широко применяющегося в технике так называемого индикатора часового типа, с точностью измерений до $\pm 0,01$ мм. Результаты исследования обработаны с помощью программы Statistika 6.0 и представлены как $M \pm s$ (M – среднее значение, s – среднее квадратическое отклонение). Для оценки достоверности разницы между группами использовали критерий Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Термический анализ модельной бинарной системы проводили в интервале температур от 20 до 170 °С в режиме нагревания со скоростью 8 °С/мин в атмосфере воздуха. Масса навески опытных образцов составляла 20 ± 1 мг. Результаты исследований 14 образцов, включая исходные субстанции диклофенака и мексидола, приведены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты термических исследований системы «диклофенак – мексидол»

№ п/п	Соотношение в системе «диклофенак – мексидол»		Температура термоэффекта, °С	
	масс. %	мол. %	Первичный (эвтектический)	Вторичный (ликвидус)
1	0:100	0:100	112	–
2	22,5:77,3	20:80	92	108
3	24,7:75,3	22:78	90	105
4	29:71	26:74	92	103
5	31,1:68,9	28:72	91	101
6	33,2:66,8	30:70	92	–
7	34,3:65,7	31:69	92	100
8	35,3:64,7	32:68	91,4	103
9	43,6:56,4	40:60	92	104
10	45,2:54,8	50:50	92,6	112
11	63,5:36,5	60:40	91	123
12	78,6:21,4	76:24	92	133
13	91,3:8,7	90:10	91	148
14	100:0	100:0	–	158,3

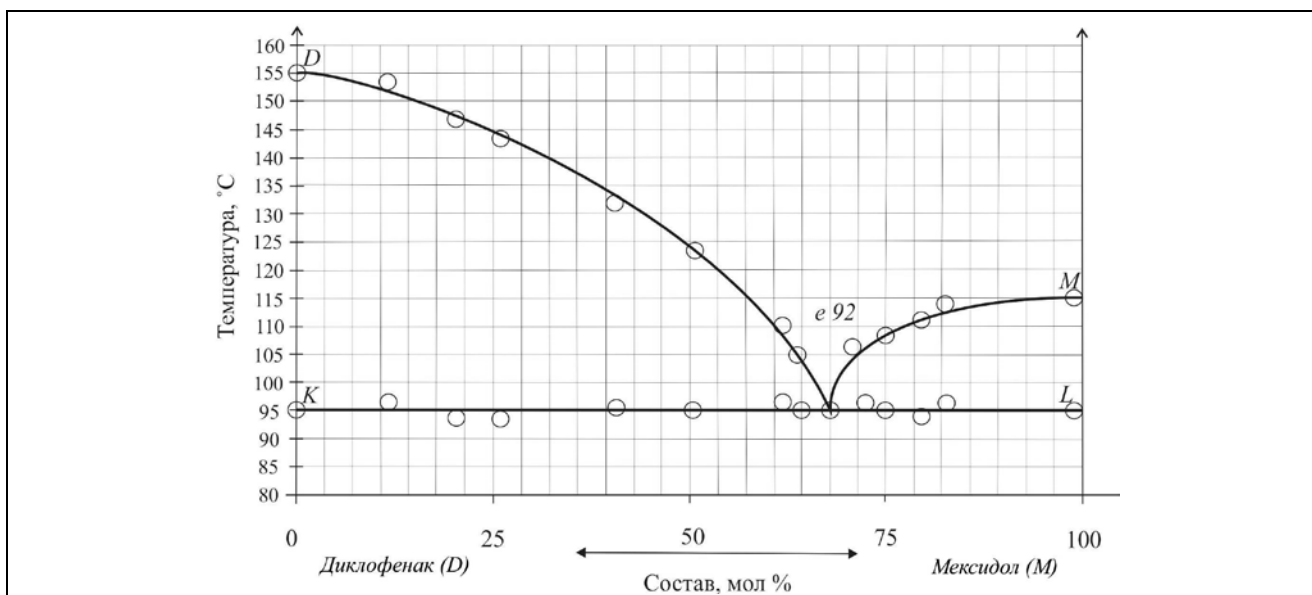


Рис. 2. Фазовая диаграмма состояния (плавкости) системы «диклофенак – мексидол». Ось абсцисс (барицентрическая) – состав, мол. %; ось ординат – температура, градусы Цельсия

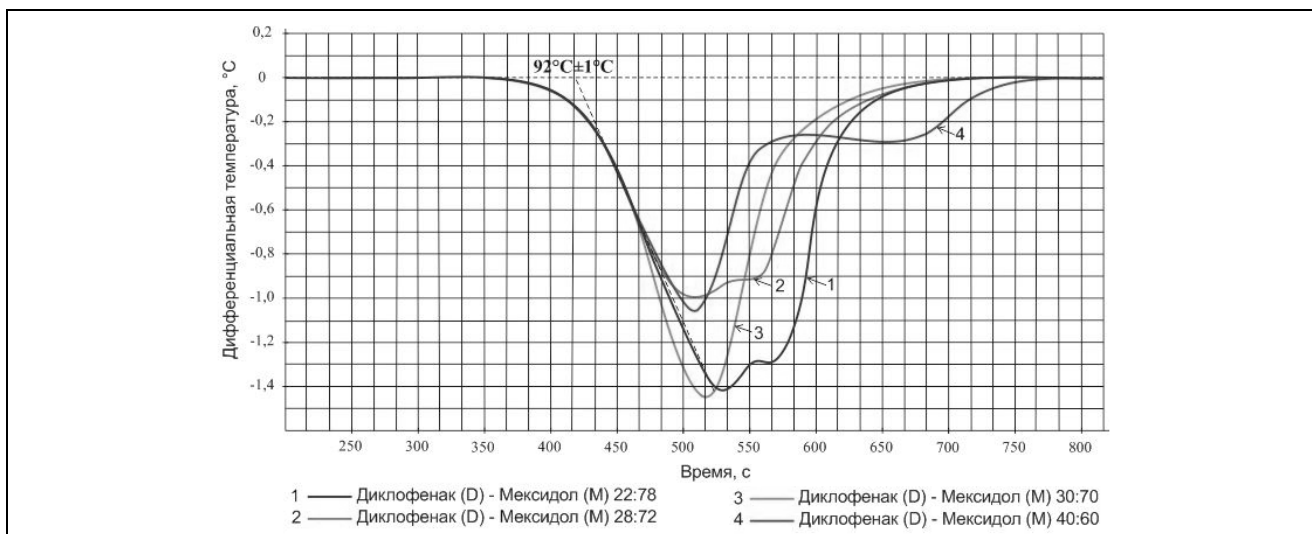


Рис. 3. Совмещённые термограммы системы «диклофенак – мексидол» (мол. %). Ось ординат: дифференциальная температура, градусы Цельсия, ось абсцисс – время, с

По данным термического анализа построена фазовая диаграмма состояния (плавкости) системы (рис. 2). Конгруэнтное равновесие для данной системы реализуется при соотношении 33,2 масс. % (30 мол. %) диклофенака и 66,8 масс. % (70 мол. %) мексидола. Температура плавления эвтектического состава – 92 °С. Характерный вид линий ликвидуса, соединяющих точки плавления вторично кристаллизующегося компонента, которые сходятся в точке невариантного равновесия (*e*), свидетельствует о принадлежности исследуемой системы «диклофенак – мексидол» к классу простых эвтектик, согласно классификации Гиббса–Розебома [11].

На рис. 3 представлены четыре термограммы, совмещенные по началу термоэффекта разных составов обсуждаемой системы «диклофенак – мексидол», демонстрирующие закономерности, характерные для простых эвтектик. В качестве кривой под номером 1 представлена термограмма состава «диклофенак – мексидол» в соотношении 22:78 мол. %, относящаяся к разряду, условно называемых «до эвтектическими». Достаточно большая площадь первого эндотермического пика указывает на то, что в данном составе в существенном количестве присутствует эвтектика. Второй эндотермический пик на кривой 1 (мень-

ший по высоте) отражает присутствие в составе данного образца так называемого вторично кристаллизующегося компонента, в качестве которого в данном составе выступает мексидол, находящийся в избытке к тому его количеству, который есть в составе эвтектики (первый пик).

Вторая термограмма принадлежит составу «диклофенак – мексидол» в соотношении 28:72 мол. %, которая также относится к разряду «до эвтектических». Здесь площадь первого (эвтектического) пика существенно «выросла» за счёт заметного уменьшения площади второго эндотермического пика.

Третья термограмма отвечает эвтектическому (нонвариантному) составу исследуемой системы «диклофенак – мексидол» и отвечает соотношению компонентов 30:70 мол. % с температурой плавления 92 °С. Как видно из характера термограммы этого состава, эндотермический пик, по сравнению с другими аналогичными пиками сравниваемых термограмм, симметричный и наибольший по площади (при одинаковых массах образцов, взятых для

сканирования сравниваемых термограмм). Здесь нет перегибов ни на восходящей, ни на нисходящей частях кривой эндотермического пика, а также других признаков неоднородности, что характерно для индивидуального вещества. Именно так ведёт себя эвтектика в чистом виде.

Четвёртая термограмма отвечает составу 40:60 мол. % и относится к категории так называемых «за эвтектических» составов. Аналитический сигнал на термограмме представлен в виде двух довольно чётко разделившихся пиков, первый из которых, более сильный, связан с присутствием в образце эвтектики, а второй – с присутствием вторично кристаллизующегося компонента, в качестве которого выступает диклофенак.

Выполнено сравнение противовоспалительной активности чистого диклофенака и смеси его в составе эвтектики с мексидолом в доклинических исследованиях на лабораторных беспородных крысах. Результаты сравнения противовоспалительного эффекта диклофенака и эвтектической системы «диклофенак – мексидол» представлены в табл. 2.

Таблица 2. Сравнение противовоспалительного эффекта диклофенака и эвтектической системы «диклофенак – мексидол»

Группа животных	Окружность лапы, см	
	до введения каррагинена	после введения каррагинена
1-я (контроль)	2,77±0,34	3,3±0,36
2-я (получавшая диклофенак)	2,97 ± 0,3	3,1 ± 0,68
3-я («диклофенак – мексидол» (эвтектика))	2,83 ± 0,26	2,85 ± 0,15

Примечание: число вариантов – 10.

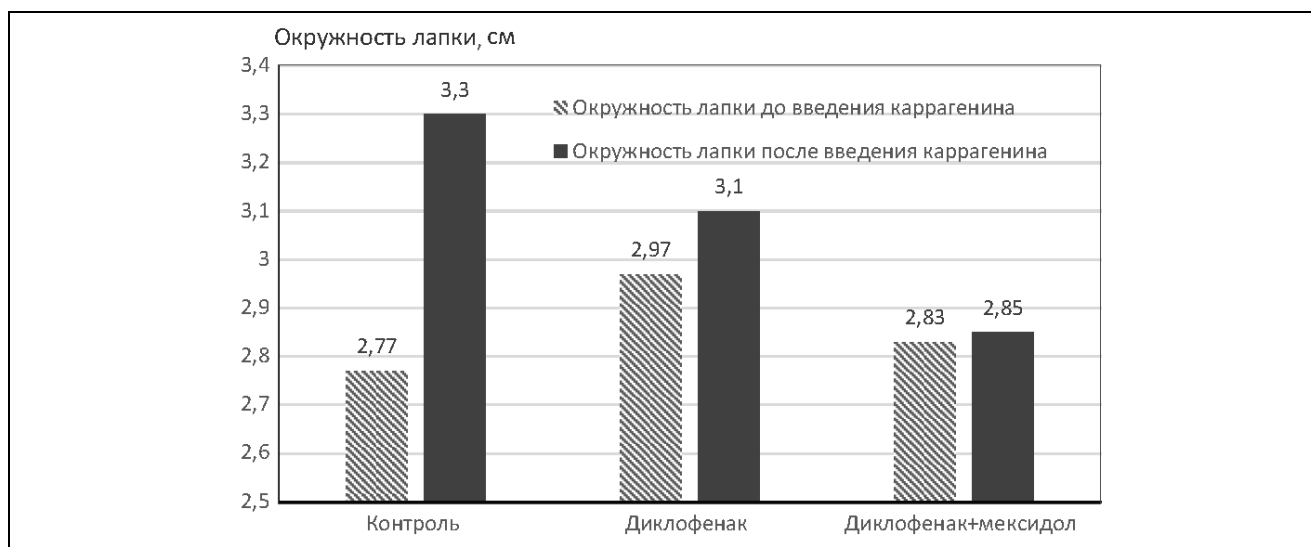


Рис. 4. Сравнение противовоспалительного эффекта диклофенака и эвтектической системы «диклофенак – мексидол»

Как видно из табл. 2, окружность лапы после введения каррагинина в контрольной группе достоверно увеличилась на 0,53 (3,3–2,77) см. На фоне ранее введённого (за 1 ч до введения каррагинина) диклофенака увеличение составило 0,13 (3,1–2,97) см, а в опытной группе с эвтектической системой «диклофенак – мексидол» увеличение произошло только на 0,02 (2,85–2,83) см.

Для наглядности результаты представлены на диаграмме (рис. 4).

Таким образом, получена и испытана новая лекарственная модель противовоспалительного и болеутоляющего препарата на основе эвтектической системы «диклофенак – мексидол». Экспериментальное сравнение диклофенака и лекарственной эвтектической дисперсии показало, что модельный препарат на основе эвтектической системы более чем в 16 раз (0,33/0,02) уменьшает экссудацию в сравнении с группой животных, которым не вводили никаких нестероидных противовоспалительных препаратов, тогда как наблюдалось лишь четырехкратное (0,53/0,13) уменьшение эффекта каррагининового воспаления от действия чистого диклофенака, что в сравнении с модельным препаратом более чем в 6 раз (0,13/0,02) эффективнее последнего в одинаковой дозе, считая на диклофенак.

ВЫВОДЫ

1. По результатам проведенных экспериментов установлено, что система «диклофенак – мексидол» относится к системам с простой эвтектикой. Конгруэнтное равновесие реализуется при соотношении 30:70 мол. % (33,2:66,8 масс. % соответственно) с температурой плавления эвтектического состава 92 °С.

2. Противовоспалительная активность эвтектической смеси «диклофенак – мексидол» в шесть раз превышает активность диклофенака в чистом виде в одинаковой дозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Zalac S., Zahirul M., Khan I., Tudja M., Mestrovic E., Romih M.* Paracetamol-Propyphenazone Interaction and Formulation Difficulties Associated with Eutectic Formation in Combination Solid Dosage Form. *Chem. Pharm. Bull.* 1999; 47: 302–307.
2. *Chiarella R.A., Davey R.J., Peterson M.L.* Cryst. Making Crystals - The Utility of Ternary Phase Diagrams. *Growth Des.* 2007: 1223–1226.
3. *Ткаченко М.* Дисперсии лекарственных веществ эвтектического типа как основа для конструирования эффективных лекарств. LAP LAMBERT Academic Publishing. 2019. 170 с.
4. *Bonain A.* Note au sujet de l'anesthésique local employé en otorhinolaryngologie sous la domination liquide de Bonain. *Ann Malad Oreille Larynx* 1907; 33: 216–217.
5. *Fiala S., Jonesa S.A., Brown M.B.* A fundamental investigation into the effects of eutectic formation on transmembrane transport. *International Journal of Pharmaceutics.* 2010; 393: 68–73.
6. *Matsuoka M., Ozawa R.* Determination of solid-liquid phase equilibria of binary organic systems by differential scanning calorimetry. *J. Cryst. Growth.* 1989; 96: 596–604.
7. *Моценский Ю.В.* Приборы и техника эксперимента. 2003; 6: 143–144.
8. Об утверждении Правил лабораторной практики: Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. №708н: зарегистр. в Минюсте РФ 13 октября 2010 г. №18713. *Рос. газ.* 2010. 22 октября.
9. Европейская конвенция «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». 1986-<http://conventions.coe.int/Treaty/rus/Treaties/Html/123.htm>.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Изд. 2-е, перераб. и доп. Под ред. *Р.У. Хабриева.* М.: Медицина, 2005.
11. *Аносов В.Я., Озерова М.И., Фиалков Ю.Я.* Основы физико-химического анализа. М.: Наука. 1976: 86–99.

Поступила после доработки 18 ноября 2020 г.

THE PHASE DIAGRAM OF THE DIKLOFENAK – MEXIDOLE BINARY MEDICINAL SYSTEM: ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF THE BINARY EUTECTIC SYSTEM

© Authors, 2021

M.L. Tkachenko

Ph.D. (Chem.), Associate Professor,
Department of Chemistry of Pharmaceutical Faculty, Samara State Medical University (Samara)
E-mail: tka-mikhail@yandex.ru

M.A. Loseva

Ph.D. (Chem.), Associate Professor,
Samara State Technical University

L.E. Zhnyakina

Dr.Sc. (Pharm.), Pharmacist-Analyst,
SFHI «Center of Quality Control of Drags of the Samara Region» (Samara)
E-mail: si5w1245@yandex.ru

A.V. Lyamin

Ph.D. (Med.), Associate Professor,
Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology,
Samara State Medical University (Samara)
E-mail: avlyamin@rambler.ru

Eutectics are quite often considered pharmaceutical incompatibilities due to possible complications in the technology for the production of dosage forms; nevertheless, the eutectics themselves may be of interest as a promising form-forming basis for the development of new drugs with predictable biopharmaceutical characteristics. The aim of this work is to study phase equilibria in the solid dispersed system «Diclofenac - Mexidol» and also to conduct preclinical tests of the anti-inflammatory activity of the eutectic composition of the system under consideration. The study of the binary system «Diclofenac - Mexidol» was carried out on a DSC-500 differential scanning calorimeter provided with a package of applied programs for automatic processing of the experimental results. In this work, under the name «Diclofenac», we used the corresponding acid, namely 2 - [(2,6-dichlorophenylamino) phenyl] acetic acid (CAS-15307-86-5), obtained by us by precipitation of diclofenac from a sodium solution (FS 42-0260-07) with mineral acid and then purified by repeated recrystallization from ethanol to obtain the same melting point (DSC) of the substance in the last two fractions (m.p. 158.3 ± 0.2 °C). Mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate), CAS code: 127464-43-1, manufacturer - Obninsk Chem.Pharm. company (JSC OHFK). It has antihypoxic, membrane protective, nootropic, anticonvulsant and anxiolytic effects, increases the body's resistance to stress, melting temperature 112 °C. Preclinical tests of the anti-inflammatory activity of the eutectic mixture of Diclofenac with Mexidol were carried out in comparison with pure Diclofenac on 30 intact laboratory outbred rats of both sexes with an average weight of 200-250 g. The experiments were carried out in accordance with the rules of good laboratory practice (GLP) during preclinical studies in the Russian Federation, as well as the rules and International Recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used in Experimental Research (1986). The data of phase equilibria of the «diclofenac-mexidol» system are presented. It has been found that the eutectic is realized at a ratio of 30: 70 mol% (33.2: 66.8% by weight) with a melting point of 92 °C. The anti-inflammatory activity of the eutectic was more than 6 times higher than that of diclofenac.

Key words: diclofenac; mexidol, differential scanning calorimetry; phase equilibrium; phase diagram; eutectic; carrageenan, anti-inflammatory activity.

For citation: Tkachenko M.L., Loseva M.A., Zhnyakina L.E., Lyamin A.V. The phase diagram of the diklofenak-mexidole binary medicinal system: antiinflammatory activity of the binary eutectic system. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(2):35-41. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-06>

REFERENCES

1. Zalac S., Zahurul M., Khan I., Tudja M., Mestrovic E., Romih M. Paracetamol-Propyphenazone Interaction and Formulation Difficulties Associated with Eutectic Formation in Combination Solid Dosage Form. Chem. Pharm. Bull. 1999; 47: 302-307.
2. Chiarella R.A., Davey R.J., Peterson M.L. Cryst. Growth Des. 2007: 1223-1226.
3. Tkachenko M. Dispersii lekarstvennyh veshhestv jevtekticheskogo tipa kak osnova dlja konstruirovaniya jeffektivnyh lekarstv. LAP LAMBERT Academic Publishing. 2019. 170 s.
4. Bonain A. Note au sujet de l'anesthesique local employe en otorhinolaryngologie sous la domination liquide de Bonain. Ann Malad Oreille Larynx 1907; 33: 216-217.
5. Fiala S., Jonesa S.A., Brown M.B. A fundamental investigation into the effects of eutectic formation on transmembrane transport. International Journal of Pharmaceutics. 2010; 393: 68-73.
6. Matsuoka M., Ozawa R. Determination of solid-liquid phase equilibria of binary organic systems by differential scanning calorimetry. J. Cryst. Growth. 1989; 96: 596-604.
7. Moshenskij Ju.V. Pribory i tehnika jeksperimenta. 2003; 6: 143-144.
8. Ob utverzhdenii Pravil laboratornoj praktiki: Prikaz Minzdravsocrazvitija RF ot 23 avgusta 2010 g. №708n: zaregistr. v Minjuste RF 13 oktjabrja 2010 g. №18713. Ros. gaz. 2010. 22 oktjabrja.
9. Evropejskaja konvencija «O zashhite pozvonocnyh zhivotnyh, ispol'zuemyh dlja jeksperimentov ili v inyh nauchnyh celjah». 1986-<http://conventions.coe.int/Treaty/rus/Treaties/Html/123.htm>.
10. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskijh veshhestv. Izd. 2-e, pererab. i dop. Pod red. R.U. Habrieva. M.: Medicina,. 2005.
11. Anosov V.Ja., Ozerova M.I., Fialkov Ju.Ja. Osnovy fiziko-himicheskogo analiza. M.: Nauka. 1976: 86-99.