

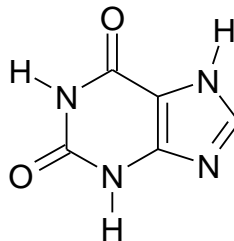
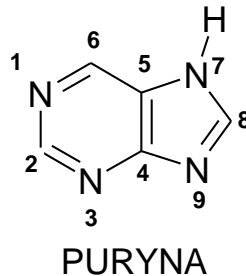
## CEL ĆWICZENIA

### Analiza jakościowa i ilościowa teofiliny w wybranych preparatach farmaceutycznych

#### 1) Część teoretyczna

##### WSTĘP

Pochodne metyloksantyn (teofilina, teobromina, kofeina) należą do grupy puryn. Są to pochodne układu dwupierścieniowego (pierścień sześcioczłonowy pirymidyny jest skondensowany z pierścieniem imidazolu).



KSANTYNA (2,6-dioksypuryna)

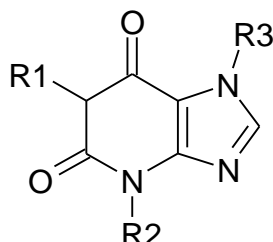
#### POCHODNE METYLOKSANTYN - WYSTĘPOWANIE W SUROWCACH ROŚLINNYCH I RYS HISTORYCZNY

Teobromina występuje w ziarnach kakao, herbacie, kawie, herbacie paragwajskiej, w mniejszych ilościach w orzechach cola i w liściach guarany. Została ona odkryta w 1842 r. przez Woskresensky w nasionach kakao.

Teofilina została odkryta w liściach herbaty w 1888 r. przez Kossela.

Kofeina została odkryta w nasionach kawy prawie równocześnie w 1820 r. przez Rungego i Robiqueta, a rok później przez Pelletiera i Caventou. Występuje ona w herbacie, w guaranie, w herbacie paragwajskiej, w herbacie maté, w kola.

Obecnie, do celów przemysłowych, naturalne alkaloidy ksantynowe otrzymuje się na drodze syntezy chemicznej. Do izomerycznych dimetyloksantyn należy teofilina i teobromina, natomiast kofeina jest trimetyloksantyną.



R1	R2	R3	Substancja	M. mol. (g/mol)
-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	Kofeina (1,3,7- trimetyloksantyna)	194,19
-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	Teofilina (1,3-dimetyloksantyna)	180,2
-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	Teobromina (3,7-dimetyloksantyna)	180,2

*Synonimy: teobromina (dimetyloksantyna, 3,7-dimetylo-2,6-dioksypuryna), teofilina (1,3-dimetyloksantyna, 1,3-dimetylo-2,6-dioksypuryna, teocyna), kofeina (teina, guaranina, metyloteobromina, 1,3,7-trimetyloksantyna, 1,3,7-trimetylo-2,6-dioksypuryna)*

## ROZPUSZCZALNOŚĆ I INNE WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE POCHODNYCH METYLOKSANTYN

Teofilina i teobromina mają charakter amfoteryczny z przewagą właściwości kwasowych, natomiast kofeina jest słabą zasadą. Wszystkie trzy pochodne trudno rozpuszczają się w wodzie [kofeina (1 część kofeiny rozpuszcza się w 80 częściach wody w 15 °C > teofilina (1 część teofiliny rozpuszcza się w 127 częściach wody w temp. 25 °C) > teobromina (1 część teobrominy rozpuszcza się w 3282 częściach wody w temp. 20 °C)]. Teobromina ma postać bezbarwnego i bezwonnego proszku. Sublimuje ona w okolicach 260

°C. Teofilina krystalizuje w postaci bezbarwnych i bezwonnych ziaren. Kofeina tworzy bardzo lekkie białe kryształy.

Teofilina i teobromina tworzą z zasadami łatwo rozpuszczalne sole. Najbardziej znaną solą teofiliny jest teofilinian etylenodiaminy (aminofilina). Teobrominę wykorzystuje się w postaci wolnej lub w postaci soli podwójnych np. z salicylanem sodu lub salicylanem wapnia. Z kolei kofeina tworzy sole z kwasami, które w roztworze wodnym ulegają hydrolizie z odczynem kwasowym (cytrynian kofeiny). Trwalszymi połączeniami są rozpuszczalne w wodzie sole podwójne kofeiny z benzoesanem sodu lub salicylanem sodu.

## DZIAŁANIE FARMAKOLOGICZNE POCHODNYCH METYLOKSANTYN

Teofilina, teobromina i kofeina to tak zwane leki psychostymulujące (środki tonizujące psychicznie, psychoanaleptyki). Zwiększają one aktywność psychiczną, a ich stosowanie ma na celu usunięcie uczucie zmęczenia i wyczerpania oraz zwiększenie zdolności koncentracji i sprawności. Jednakże, przy dużym przedawkowaniu stają się one truciznami wywołującymi drgawki. Wszystkie trzy pochodne metyloksantyn stymulują ośrodkowy układ nerwowy, działają spazmolytycznie na mięśnie gładkie, szczególnie oskrzeli, wykazują działanie stymulujące mięsień sercowy (dodatni efekt inotropowy) i nasilają diurezę. Poszczególne metyloksantyny wykazują zróżnicowaną aktywność.

Kofeina bardzo silnie pobudza ośrodkowy układ nerwowy (zarówno ośrodki autonomiczne podwzgórza i rdzenia przedłużonego jak i korę mózgu). W typowych dawkach rzędu 50-200 mg kofeina działa głównie na korę mózgową. Pobudzenie kory mózgu powoduje nasilenie aktywności psychicznej, ułatwienie percepcji wrażeń, polepszenie postrzegania i kojarzenia. Tak więc efektem działania kofeiny jest ułatwienie pracy umysłowej, przyspieszenie i usprawnienie procesów myślowych, zniesienie uczucia zmęczenia i senności. Większe dawki kofeiny pobudzają ośrodek oddechowy oraz ośrodek naczynioruchowy. Mimo to ciśnienie krwi nie wzrasta, ponieważ w wyniku działania obwodowego ulegają jednocześnie rozszerzeniu naczynia wieńcowe, skóry i nerek. Korzystne działanie kofeiny przy naczynioruchowych bólach głowy uwarunkowane jest zwężeniem naczyń mózgowych i obniżeniem ciśnienia płynu mózgowo-rdzeniowego. Kofeina pobudza również inne ośrodki autonomiczne (ośrodek przemiany materii- nasilenie glikolizy i lipolizy, ośrodek termoregulacji- podwyższenie temperatury ciała). W zwiększonych dawkach kofeina może zmniejszać zdolność koncentracji powodując „gonitwę myśli”, stan niepokoju, drżenie mięśniowe oraz długotrwałą, męczącą bezsenność, a w pewnych warunkach zaburzenia rytmu serca. Kofeina jest regularnie przyjmowana przez dużą część ludności w napojach pobudzających (kawa, herbata, cola). Po spożyciu kawy działanie kofeiny pojawia się stosunkowo szybko, osiąga po ok. 30 min swoją wartość maksymalną i ustępuje stopniowo w ciągu 2-3 h. Po spożyciu herbaty początek działania jest opóźniony, natomiast jego trwanie przedłużone.

Teofilina działa rozszerzająco na oskrzela oraz zmniejsza obrzęk ich błony śluzowej. Stabilizuje ona komórki tuczne, hamuje uwalnianie prostaglandyn powodujących skurcz oskrzeli oraz mediatorów reakcji uczuleniowej antygen-przeciwciało. Jest trudno rozpuszczalna w wodzie, podawana jest więc doustnie, rzadziej doodbytniczo. W przewodzie pokarmowym wchłania się w 90-100%. Z powodu różnic w szybkości metabolizmu wątrobowego i niskiego współczynnika terapeutycznego oraz wielu objawów niepożądanych korzystniejsze jest stosowanie preparatów teofiliny o przedłużonym działaniu, pozwalających utrzymać jej równomierne stężenie we krwi (*Euphyllin CR retard*, *Theospirex retard*).

Aminofilina to rozpuszczalna w wodzie sól teofiliny z etylenodiaminą. Etylenodiamina jest rozpuszczalnikiem dla teofiliny zwiększającym ok. 20-krotnie jej rozpuszczalność. Aminofilina w postaci dożylnych i domięśniowych iniekcji była produkowana przez firmę PLIVA Kraków i stosowana w astmie oskrzelowej. Ze względu na konieczność weryfikacji technologii jej produkcja w Polsce została zakończona. Na światowym rynku dostępne są preparaty będące roztworami do wstrzykiwań (*Aminophylline hydrate 25 mg/mL*, *Concordia Interntional* i *Aminophylline injection BP 25 mg/mL*, *Hameln Pharmaceuticals*) oraz tabletki (*Minomal SR 600 mg*, *Pacific Pharmaceuticals*).

Działanie rozszerzające oskrzela mają również 7-hydroksyalkilowe pochodne teofiliny: etofilina (*Etofyllinum*), proksyfilina (*Proxiphyllinum*), diprofilina (*Diprophyllinum*) oraz bamifilina (*Bamifyllinum*).

Profil działania pochodnych ksantyny

Substancja	Stymulacja OUN	Zwiększenie częstości akcji serca i jego kurczliwości	Rozszerzenie oskrzeli	Zwiększenie diurezy
Kofeina	+++	+	+	+
Teofilina	++	+++	+++	+++
Teobromina	-	++	++	++

## MECHANIZM DZIAŁANIA

Działanie farmakologiczne teofiliny, teobrominy i kofeiny jest wynikiem ingerencji w procesy biochemiczne zachodzące na poziomie komórkowym. Leki te mają zdolność hamowania fosfodiesteraz, powodują w ten sposób zwiększenie stężenia głównie cAMP. Pochodne metyloksantyn wpływają również na przesunięcia jonów wapnia między przestrzenią wewnątrz-i zewnątrzkomórkową, doprowadzając do zwiększonej kurczliwości włókien mięśniowych (mięsień sercowy) lub hiperpolaryzacji błony komórkowej (działanie spazmolityczne). Ponadto, pochodne metyloksantyn są nioselektywnymi antagonistami receptorów adenozynowych A1 i A2.

## WPŁYW BUDOWY CHEMICZNEJ NA KIERUNEK I SIŁĘ DZIAŁANIA POCHODNYCH METYLOKSANTYN

Podstawienie zamiast ugrupowań metyloowych dłuższych, lipofilnych podstawników w położeniu 1 i 3 nasila aktywność metyloksantyn we wszystkich kierunkach. Z kolei wprowadzenie ugrupowań aromatycznych lub cykloalifatycznych w położenie 8 powoduje zwiększenie powinowactwa do receptorów adenozynowych, a osłabienie działania hamującego fosfodiesterazy.

### METABOLIZM KOFEINY

Po doustnym podaniu kofeina wchłania się szybko i całkowicie oraz ulega w organizmie częściowemu demetylowaniu i utlenieniu. Głównymi produktami wydalania w moczu są di- i monometyloksantyna oraz kwas trimetylo-, dimetylo- i monometylomoczowy.

### ZASTOSOWANIE POCHODNYCH METYLOKSANTYN

#### **Kofeina:**

- zapaść pochodzenia sercowego i naczyniowego
- jako środek tonizujący w okresie rekonwalescencji
- w stanach znużenia, wyczerpania fizycznego i umysłowego.

Ze względu na działanie kurczące naczynia mózgowe kofeina wchodzi w skład preparatów stosowanych w bólach głowy

#### **Teofilina i teobromina:**

Wywierają znacznie słabszy wpływ pobudzający ośrodkowy układ nerwowy, stosuje się je głównie jako leki moczopędne.

**Teofilina** stosowana jest w astmie oskrzelowej.

### DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

W doświadczeniach na zwierzętach bardzo duże dawki kofeiny miały wpływ teratogeny. U kobiet w ciąży przy dawkowaniu ponad 600 mg dziennie wzrasta niebezpieczeństwo poronień i przedwczesnych porodów.

## PREPARATY ZAWIERAJĄCE METYLOKSANTYNY DOSTĘPNE NA POLSKIM RYNKU FARMAEUTYCZNYM

Preparaty zawierające **teofilinę** (Pharmindex 2018):

- 1) Baladex- syrop z guajefenezyną (50 mg + 30 mg/5 mL)
- 2) Euphyllin CR retard- tabletki o przedłużonym uwalnianiu (250 mg)
- 3) Euphyllin long- kapsułki o zmodyfikowanym uwalnianiu, twarde (200 mg, 300 mg)
- 4) Theophyllinum Baxter- roztwór do infuzji (1,2 mg/mL)
- 5) Theospirex- roztwór do infuzji i wstrzykiwań (20 mg/mL)
- 6) Theospirex retard- tabletki o przedłużonym uwalnianiu (150 mg, 300 mg)
- 7) Theovent 100- tabletki (100 mg)
- 8) Theovent 300- tabletki o przedłużonym uwalnianiu (300 mg)

Aminofilina: surowiec farmaceutyczny (Pharma Cosmetic, Amara, Galfarm)

Przykłady preparatów złożonych zawierających **kofeinę**:

Cardiol C, krople doustne, roztwór 40 g (Pharmindex 2018)  
Cardiamid-Coffein-krople 15 mL  
Cefalgin, tabl  
Coldrex MaxGrip C, tabl.  
Etopiryna tabl.  
Panadol Extra, tabl.  
Saridon, tabl.  
Apap Extra, tabl.  
Kopiryna tabl.  
Etopiryna tabl.  
Solpadeine, tabl. musujące  
Tabletki przeciw grypie  
Kofex, pastylki  
Neopyrin, tabl.  
Coffepirine, tabl.  
Aspirin Extra, tabl.

Preparaty złożone zawierające **teobrominę**:

Emphysal, płyn, tabl. (kofeina, teobromina)- lek stosowany w astmie

## 2) Część praktyczna

### Badane preparaty farmaceutyczne zawierające teofilinę:

Baladex- syrop z guajefenezyną (50 mg + 30 mg/5 mL) 150 mL  
Euphyllin long- kapsułki o zmodyfikowanym uwalnianiu, twarde (300 mg)  
Theophyllinum Baxter- roztwór do infuzji (1,2 mg/mL) 250 mL  
Theovent 100- tabletki (100 mg)  
Theovent 300- tabletki o przedłużonym uwalnianiu (300 mg)

### Zadanie 1 (Analiza jakościowa)

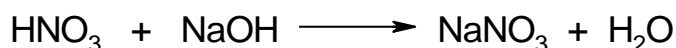
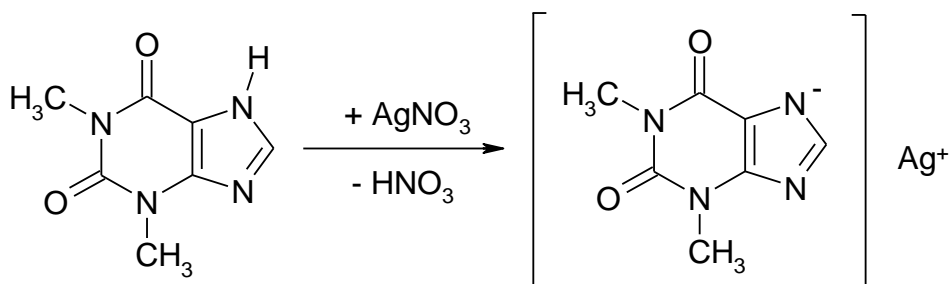
Proszę wykonać wszystkie reakcje potwierdzające tożsamość teofiliny (podręcznik: *Ocena jakości substancji i produktów leczniczych*).

### Zadanie 2 (Analiza ilościowa)

Proszę oznaczyć zawartość teofiliny w wybranym preparacie farmaceutycznym.

Oznaczanie zawartości teofiliny wg FP XI (2017) tom III, s. 4168

Rozpuścić 0,150 g substancji badanej w 100 mL wody OD, dodać 20 mL roztworu azotanu srebra (0,1 mol/L) RM i wytrząsnąć. Dodać 1 mL roztworu czerwieni fenolowej. Miareczkować roztworem wodorotlenku sodu (0,1 mol/L) RM. 1 mL roztworu wodorotlenku sodu (0,1 mol/L) RM odpowiada 18,02 teofiliny ( $C_7H_8N_4O_2$ ).

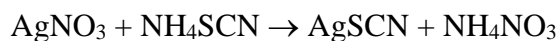
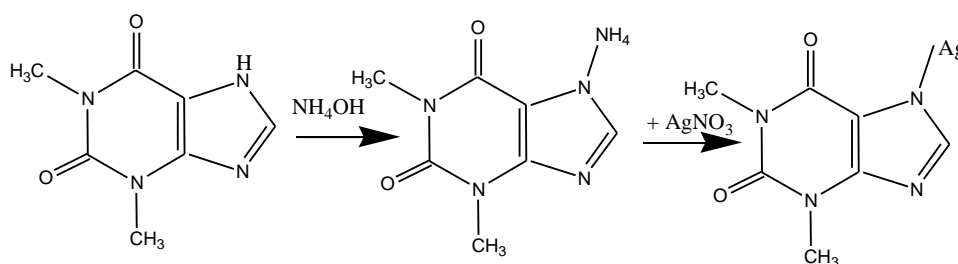


1000 ml roztworu wodorotlenku sodu (1 mol/l) RM odpowiada M. mol. teofiliny

1 ml roztworu wodorotlenku sodu (0,1 mol/l) RM odpowiada 18,02 mg teofiliny (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)

### Metoda argentometryczna

Odważyć dokładnie około 0,200 g substancji, rozpuścić w 50 ml ciepłej wody, dodać 5 ml 10% NH<sub>4</sub>OH i 20,0 ml 0,1 mol/l roztworu AgNO<sub>3</sub>, ogrzewać 15 min ma łaźni wodnej. Ochłodzić, przesączyć (osad przemyć wodą około 30 ml). Do przesączu dodać 10 ml 25% HNO<sub>3</sub> i nadmiar AgNO<sub>3</sub> odmiareczkować 0,1 mol/l roztworem NH<sub>4</sub>SCN wobec wskaźnika - (NH<sub>4</sub>)Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.



1000 ml roztworu azotanu srebra (1 mol/l) RM odpowiada M. mol. teofiliny

1 ml roztworu azotanu srebra (0,1 mol/l) RM odpowiada 18,02 mg teofiliny (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)

### PYTANIA PROBLEMOWE

- 1) Proszę omówić wykonanie poszczególnych reakcji potwierdzających tożsamość teofiliny.
- 1) Proszę wymienić substancje pomocnicze występujące w badanych postaciach leku zawierających teofilinę (lub inne substancje aktywne w przypadku preparatów złożonych) i wskazać ich ewentualny wpływ na wyniki przeprowadzonej analizy jakościowej.
- 2) Proszę wskazać metody analizy jakościowej różnicujące poszczególne pochodne metyloksantyn.
- 3) Proszę wymienić metody analizy ilościowej teofiliny oraz wskazać metodę preferowaną do konkretnej postaci farmaceutycznej.



**Piśmiennictwo:**

- 1) A. Zejc, M. Gorczyca, Chemia leków, Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2008
- 2) P. Lebeau , M.M. Janot, Traité de Pharmacie Chimique, Tome IV, Chimie Organique, Masson & Cie, 1955-56.
- 3) E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, M. Schäfer-Korting, Farmakologia i toksykologia, wydanie I polskie pod red. A. Danysza, Urban & Partner 2004
- 4) Pharmindex 2018, Kompendium Leków, Pharminex Poland Sp. z o.o.