

Catedra de chimie farmaceutică a I.M.F. Cluj (cond.: conf. V. Arieșan)

CONTRIBUȚII LA STUDIUL CONTROLULUI CALITATIV AL UNOR MEDICAMENTE CU STRUCTURA PURINICĂ

V. Arieșan, Z. Cojocaru, A. Tîlincea

Cafeina, teobromina și teofilina, medicamente cu structură purinică, larg utilizate în practica medicală, au constituit și constituie o problemă importantă în ceea ce privește controlul lor chimic, încă nici azi pe deplin rezolvată.

Aceste substanțe au puncte de topire foarte ridicate, teobromina, chiar desficarea lor ca reacție comună — reacția murexidului; pentru diferențierea lor, în cazul cafeinei — precipitare cu iod în mediu acid; pentru teobromină — precipitare cu azotat de argint amoniacal; iar pentru teofilină nu se dă nici o reacție specifică. Nu se arată comportarea la topire a teobrominei și nici faptul că toate aceste substanțe sublimă la încălzire. Pentru determinarea cafeinei ca impuritate în teobromină F. R. VII admite cel mult 1% și folosește o metodă de determinare nespecifică, bazată pe diferența de solubilitate. De asemenea nu se dau reacții de diferențiere între teofilină și eufilină

În dorința de a contribui la îmbunătățirea noii ediții a farmacopeei și de a da un ajutor efectiv laboratoarelor de control, în ceea ce privește controlul calitativ al derivaților purinici, ne-am propus efectuarea unui studiu critic, sistematizarea datelor din literatură, ca și propunerea unor noi reacții în scopul unei mai nete diferențieri.

În cercetările noastre am utilizat în afară de metodele clasice prevăzute și de actuala farmacopee și metode mai noi, rapide, cum ar fi metoda microtermică și microcristaloscopică, înscrise în unele farmacopei mai noi (2).

Am determinat punctele de topire și comportarea acestor substanțe la sublimare cu microscopul termic tip Boëtius. În cazul cafeinei și teofilinei punctele de topire au coincis cu cele date în literatură și în actuala farmacopee; în cazul teobrominei punctul de topire a corespuns cu cel din literatură (6). Credem că ar fi indicat ca această constantă să fie prevăzută în noua ediție a farmacopeei.

Am studiat și comportarea lor în timpul încălzirii. S-a crezut că temperatura de sublimare ar putea constitui o constantă fizico-chimică. Unele date din literatură (6) și cercetările noastre constată că temperatura la care începe sublimarea variază cu condițiile de lucru, deci nu poate fi considerată caracteristică. Experimental, spre deosebire de alți autori, noi am obținut pentru cafeină temperatura de sublimare 110—113°C, pentru teobromină 140—142°C, iar pentru teofilină 170°C. În schimb microsublimatele obținute de noi, fiind caracteristice pot constitui obiectul unei diferențieri.

Propunem ca noua farmacopee să indice proprietatea de a sublima la încălzire pentru acești produși, după cum indică și alte farmacopei (2, 5).

Aceste substanțe au puncte de topire foarte ridicate, teobromina, chiar descompunându-se. Acest inconvenient s-ar putea înlătura prin determinarea punctelor de topire pentru amestecurile obținute cu unele substanțe etalon. În aceste cazuri prin formarea de amestecuri eutectice, punctele de topire mai scăzute

se pot determina cu ușurință, așa cum indică și *M. H. Gluzman și Rubțova* (18) și *A. Sekera* (19). Cercetări în legătură cu această problemă vor constitui obiectul unei alte lucrări.

Farmacopeea maghiară (3) și unele tratate de specialitate (10) utilizează pentru diferențierea purinelor, comportarea față de fenolftaleina și hidroxid de sodiu, la rece și la cald. Astfel prin agitarea cafeinei, teofilinei și teobrominei cu un amestec de 5 ml apă, o picătură hidroxid de sodiu, 0,1 n și două picături sol. de fenolftaleină 1%, în cazul cafeinei soluția nu se decolorează, în cazul teofilinei se decolorează imediat, iar cu teobromina numai la fierbere.

Medicamentele purinice se pot diferenția și pe baza solubilității lor în diferiți solvenți.

Solubilitatea lor în mediu apos în prezența anumitor substanțe (10, 12) cum ar fi acidul citric, benzoatul de sodiu, antipirina, bromura de potasiu, etc. În cercetările noastre microtermice și microcristaloscopice am constatat că atât cafeina cit și teofilina formează cu antipirina un compus molecular de genul celui indicat în literatură pentru compuşii formați cu acidul benzoic și acidul salicilic (6). Produsul format are o solubilitate mai mare.

Solubilizarea lor în acizi duce la formarea de săruri (12) a căror formă cristalină este caracteristică, pe care o propunem pentru diferențierea lor.

Ca reacție generală pentru nucleul purinic se consideră reacția murexidului. Aceasta constă în oxidarea nucleului purinic cu apă oxigenată, apă de clor, apă de brom, etc., la acid amalic și transformarea lui în prezența amoniacului în tetrametilurexid de culoare roșie-purpură (11).

O altă reacție se bazează pe oxidarea cu clorat de potasiu sau brom în mediu acid, cu formarea dimetilaloxanului; în prezența sulfatului feros și a amoniacului duce la formarea unui complex colorat în albastru indigo (5, 8).

Am considerat interesant să aplicăm la acest grup de substanțe și reacția caracteristică grupării metil, care constă în oxidarea cu permanganat de potasiu în mediu de acid sulfuric conc. și cuplarea cu fenoli. Se obține o colorație roșie-zmeură.

Tot printre reacțiile generale se pot considera comportarea față de reactivul Dragendorf și soluția de tanin.

Pentru diferențierea acestor medicamente purinice prezentăm unele reacții pe care le considerăm mai caracteristice.

Cafeina și teobromina dau precipitate amorfe de culoare roșie-portocalie cu tetraiodobismutit de potasiu (12) în mediu acid. (Reactiv proaspăt preparat).

În ceea ce privește reactivul, ne-am oprit asupra celui dat de *Kahla* și colab. (15). Ei obțin cristale caracteristice numai pentru cafeină. Noi am obținut cristale caracteristice și pentru teobromină, recristalizându-se precipitatul inițial format prin încălzire precută și ușoară agitare la răcire.

Complexul tetraiodobismutit de potasiu-cafeină în cazul unor concentrații mici de cafeină se prezintă sub forma unor prisme oblice, unele dispuse în druze; la concentrații mai mari se formează prisme conglomerate sau așezate în formă de znopi. Complexul tetraiodobismutit de potasiu-teobromină formează cristale de forma unor ace subțiri dispuse în concrețiuni sferice. Ambii complecși prezintă la microscop în lumina polarizată, un pleocroism net. Reacția are sensibilitate de ordinul g/na.

Cu soluție de clorură mercurică 5% (12, 17) cafeina formează un depozit cristalin. Se obțin pe lamă ace subțiri strălucitoare, dispuse fie solitar, fie în znopi. Teobromina formează un precipitat cristalin nespecific. Teofilina depune după 2—3 minute cristale de formă complexă, cu aspectul unor concrețiuni sferoidale, alcătuite din ace subțiri în formă de fire dispuse radial, foarte caracteristice.

Cu clorura de paladiu soluție 0,5% în mediu de acid clorhidric se citează în literatură (20) cristale caracteristice numai pentru cafeină. În soluție hidroacetică se obțin cristale mai mari.

Tabelul nr. 1.

Reacția	Cafeină	Teobromină	Teofilină
Murexid		roșu purpuriu	
Oxidare + fenoli		roșu smeură	
Oxidare + sulfat feros + amoniac		albastru indigo	
Tanin		precipitat alb solubil în exces	
Dragendorf		precipitat	
Iodobismutit de potasiu	pp. oranj crist caracteristice	pp. oranj cristale caracteristice	—
Clorură mercurică	cristale caracteristice	—	cristale caracteristice
Clorură de paladuu	cristale caracteristice	Cristale caracteristice	pp. amorf
Acetat mercuric	cristale caracteristice	—	cristale caracteristice
Clorură aurică	cristale caracteristice	—	—
Clorură aurică + bromură de sodiu	cristale caracteristice	—	—
Azotat de argint amoniacal	pp. gri-negricios	pp. gelatinos apoi pulverulent	masă gelatinoasă transparentă
Iod iodurat	pp. roșu	pp. negru	pp. brun închis
Zwicker	—	—	colorație verde
Parry	—	—	color. și pp. violet

Tabelul nr. 11.

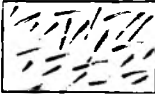
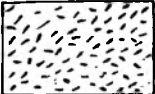











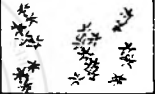




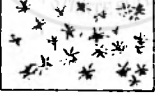
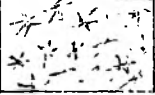
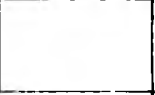
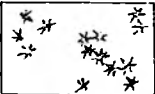

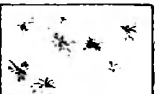
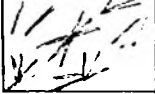


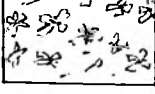




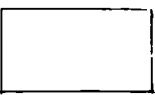
Reacția	Hidrolizate de		
	cafeină	teobromină	teofilină
Acid fosfomolibdenic pH 2—3		precipitate	
Acid fosfowolframic pH 2—3		precipitate	
Acid fosfomolibdenic pH 8—10		colorație albastră	
Acid fosfowolframic pH 8—10		colorație albastră	
p-dimetilamino-benzaldehidă		colorație vișinie	
Cuplare cu amine diazotate		colorații	
Mayer	cristale galbene	—	—
Nessler	pp. amorf cristalin	pp. amorf	pp. amorf
Sol. permanganat, iod, brom		decolorare	

Noi am aplicat acest reactiv și la teobromină și teofilină și am obținut cristale caracteristice și în cazul teobrominei, iar pentru teofilină un precipitat amorf. Sensibilitate de ordinul γ ama.

Cu acetat mercuric în mediu neutru sau acid, atât cafeina cât și teofilina formează cristale caracteristice (12).

Clorura de aur soluție 5% formează cu cafeina cristale prismatice acidulare galbene

V. ARIEȘAN: CONTRIBUȚII LA STUDIUL CONTROLULUI CALITATIV AL UNOR
MEDICAMENTE

	Cafemă	Teobromină	Teofilină
Sublimat			
Acid clorhidric			
Acid azotic			
Acid oxalic			
Iodobismutit de potasiu			
Clorură mercurică			
Clorură de paladiu			
Acetat mercuric			
Clorură de aur			
Clorură de aur + bromură de sodiu			
Reactiv Mayer			

(17). Dacă alături de clorură de aur se adaugă o picătură de soluție de bromură de sodiu se formează complexul bromoaurat de cafeină cristalizată în rozete galbene, caracteristice (12).

Cu azotat de argint amoniacal la fierbere, cafeina formează un precipitat gri-negricios, teobromina un gel, apoi precipitat alb pulverulent, iar teofilina un precipitat alb gelatinos (1, 12, 11).

Cu iod iodurat în soluție clorhidrică cafeina formează un precipitat roșu solubil la încălzire. Prin răcire depune un precipitat amorf (1). Teofilina formează un precipitat asemănător. Teobromina da un precipitat negru de asemenea solubil la cald.

Cu ioni reactivi generali ai barbituricelor, pirinele dau reacții pozitive (16). Noi am constatat că numai teofilina dă cu reactivul Zwicker o colorație verde, iar cu reactivul Parry un precipitat și o colorație violetă.

Toate aceste substanțe hidrolizează în mediu alcalin. *Arzamasov* (21) arată că prin hidroliză cu alcalii 2—5% la rece, cafeina se transformă în acid cafeidin-carbonic, care prin decarboxilare trece în cafeidină. Teobromina și teofilina hidrolizează cu alcalii concentrați (50%) și la fierbere timp de 1 minut.

Prin încercările noastre în cazul cafeinei și teofilinei am obținut rezultate asemănătoare, iar în cazul teobrominei hidroliza se produce numai la o fierbere mai îndelungată, pînă la apariția unui precipitat gelatinos insolubil la cald.

Considerăm că hidroliza acestor substanțe poate constitui un bun criteriu de diferențiere și poate fi aplicat la determinarea cafeinei ca impuritate în teobromină.

Produsul de hidroliză neutralizat cu acid acetic în prezența albastrului de bromtimol, au fost supuși la diferite reacții de precipitare, adădire, reducere, etc. Astfel după indicațiile din literatura (21) și cercetările noastre cu acidul fosfowolframic și acidul fosfomolibdenic la pH 2—3 dau precipitate, iar la pH 8—10 formează colorații albastre. Sensibilitatea de ordinul gama. Cu para-dimetil-aminobenzaldehidă dau colorație vișnie. Cu amine aromatice diazotate dau compuși intens colorați, solubili în cloroform, eter, stabili în mediu alcoolic.

Pentru produsii de hidroliză ai cafeinei noi am obținut un precipitat cristalin caracteristic al reactivului Mayer. De asemenea cu reactivul Nessler în cazul cafeinei un precipitat amorf solubil la cald și care la rece depune cristale caracteristice. Producții de hidroliză ai teobrominei și teofilinei dau precipitate amorfe de culoare albă-gălbuie.

Toate rezultatele cercetărilor noastre sînt prezentate în tabelele 1 și 2, iar formele cristaline caracteristice slabite sînt redată în tabloul 1.

Am considerat necesar să efectuăm un studiu, pentru o diferențiere mai netă, și pentru eufilină.

Farmacopeea Română dă reacția murexidului caracteristică teofilinei și precipitarea cu acid clorhidric diluat a teofilinei din eufilină.

Unii autori (10) indică pentru eufilină ca reacție de diferențiere comportarea față de reactivul Nessler.

Sintem de parere că ar fi necesar ca noua ediție a farmacopeei să prevadă ca reacții de identificare a eufilinei și reacții caracteristice etilendiaminei. În acest scop am căutat să aplicăm la identificarea eufilinei o serie de reacții caracteristice etilendiaminei. Astfel, etilendiamina, ca agent, formează cu ionii de cupru, cadmiu și argint cationi complecși de forma $[Cu(en)_2]^{2+}$ și $[Ag(en)_2]^+$. Acești cationi în prezența anionilor $[Co(SCN)_4]^{2-}$ și $[HgI_4]^{2-}$ formează combinații chelate, greu solubile și intens colorate (9).

Propunem pentru identificarea etilendiaminei din eufilină, combinația formată cu ionul de cupru și anionul complex $[Co(SCN)_4]^{2-}$ de culoare roșie și cea formată cu ionul de cupru și anionul complex $[HgI_4]^{2-}$ de culoare albastră violacee. La 1 ml soluție de eufilină 1% se adaugă 1—2 picături soluție de sulfat de cupru (R) cînd se obține o colorație violetă. Dacă la această soluție se adaugă 1—2 picături reactiv tetrasulfocianocobaltat de amoniu (azotat de cobalt, 1,5 g, sulfocianura de amoniu 6 g, apă distilată 10 ml) se obține o colorație și un precipitat roșu solubil la cald și care depune la rece. Dacă la complexul de culoare violetă obținut cu soluția de sulfat de cupru și eufilină se adaugă 1—2 pic. reactiv Mayer și se obține o colorație și un precipitat albastru violaceu.

Soluțiile apoase de teofilină și eufilină, datorită diferenței de pH dau colorații dife-

rite cu albastru de brom timol și indicator universal. Astfel teofilina dă colorație galbenă, iar eufilina albastră.

Concluzii

— S-a sistematizat un material bogat cu redarea reacțiilor celor mai caracteristice și utile.

— S-a lărgit aplicabilitatea unor reacții și s-au propus unele noi.

— S-a aplicat metoda microtermică a microcristaloscopiei la studiul acestui grup de substanțe medicamentoase, cu stabilirea formelor cristaline caracteristice.

— Se fac unele propuneri în legătură cu controlul calitativ al acestor derivați purinici pentru noua ediție a farmacopeei și pentru laboratoarele de control al medicamentelor.

Sosit la redacție: 18 aprilie 1960.

Bibliografie:

1. Farmacopeea Română. Ed. VII-a; 2. Ceskoslovensky Lekopis. Ed. 11; 3. Magyar Gyógyszerkönyv. Ed. V.; 4. Pharmacopeia Internationalis Ed. 1.; 5. The Pharmacopeia of the United States of America. Ed. XV; 6. KOFLER, A., BRANDSTATER M.: Thermomikro-Methoden. Innsbruck (1957); 7. Gosudarstvenaja farmacopeea Souza Sovietskih Soțialisticeskih Respublik. Ed. VIII. supl.; 8. KOLLO C.: Manual de farmacie; 9. BLOK N. I.: Analiza chimică calitativă. Ed. Tehn. (1955); 10. BERAL H., STANCIU N., VASILIEV R.: Indreptar pentru controlul medicamentelor la masa de analiză din farmacie. Ed. Med. (1957); 11. PERELMAN M., BRODSKI B. A.: Analiza formelor medicamentoase. Ed. Stat (1952); 12. LEBEAU P., JANOT M.: Traité de pharmacie chimique. Masson et C^{ie}. (1955—1956); 13. MALEAROV C. I.: Microanaliza chimică calitativă. Ed. Tehn. (1953); 14. OSADCENKO P. I.: Analiza calitativă a medicamentelor în farmacie. Ed. de Stat (1953); 15. KAHLA H., MOLDENHAUER H., WOLF K.: Die Pharmazie (1959) 9, 519; 16. STEINER C., LAPIERE CH., TIEGE S., de: Ann. Ph. Fr. (1956). XIV, 384; 17. CLARKE E. G., C., WILLIAMS M.: Journ. of Pharm. and Pharmacolog (1955) 255; 18. GLUZMAN M. H., RUBTOVA V. P.: Aptec. Delo (1957) 1, 10; 19. ALES SEKERA. KRACMAROVA J.: Ceskod. Farn. (1957), 5, 255; 20. KNIJKO P. Q.: Nekotorie voprosti farmații. Kiev. (1956) 63; 21. ARZAMAȘTEV A. P.: Apt. Delo. (1958) 5, 72.