

dr MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA  
mgr ANNA OSYTEK  
dr MAŁGORZATA POŚNIAK  
dr inż. MAGDALENA GALWAS-  
GRZESZKIEWICZ  
Centralny Instytut Ochrony Pracy –  
Państwowy Instytut Badawczy  
00-701 Warszawa  
ul. Czerniakowska 16

# Diprofilina

## – metoda oznaczania

Numer CAS: 479-18-5

---

**Słowa kluczowe:** diprofilina, analiza powietrza, stanowisko pracy, substancje farmaceutyczne, wysokosprawna chromatografia cieczowa.

**Keywords:** diphrophyllinum, air analysis, workplace, pharmaceutical substances, high performance liquid chromatography.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń diprofiliny w powietrzu na stanowiskach pracy podczas przeprowadzania kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Metoda polega na zatrzymaniu diprofiliny na filtrze z włókna szklanego, wmywaniu analitu wodą destylowaną i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

Oznaczość metody wynosi 0,01 mg/m<sup>3</sup>.

### UWAGI WSTĘPNE

Diprofilina to lek z grupy metyloksantyn będący połączeniem teofiliny z dihydroksychloropropanem (tab. 1). Ma działanie analogiczne do teofiliny, które polega m.in. na hamowaniu aktywności fosfodiesterazy i podwyższeniu stężenia c-AMP, ale jej działanie jest mniej drażniące. Działa spazmolitycznie na mięśnie gładkie oskrzeli i naczyń krwionośnych, zwiększa kurczliwość mięśnia sercowego i jego zapotrzebowanie na tlen, działa także chronotropowo dodatnio. Poprawia kurczliwość przepony, pobudza ośrodek oddechowy i przyspiesza transport rząskowy. Zwiększa przepływ nerkowy i nasila diurezę. Działa promocyjnie w stosunku do katecholamin. Jest lekiem łatwo rozpuszczalnym w wodzie. Dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego, przechodzi przez łożysko i do mleka matki. Jest lekiem metabolizowanym w wątrobie, a wydalany z moczem i z żółcią. Okres półtrwania leku jest zmienny osobniczo i zależy od wielu czynników; T<sub>0,5</sub> wynosi 3 h. Dzieci metabolizują lek szybciej niż dorośli.

Diprofilina jest wskazana jako lek wspomagający w przewlekłej chorobie obturacyjnej płuc, astmie oskrzelowej, przewlekłych chorobach płuc z objawami niewydolności oddechowej oraz pomocniczo w niewydolności krążenia i udarze mózgowym.

Wśród działań niepożądanych leku obserwowano: nudności, wymioty, biegunkę, działanie drażniące na błonę śluzową przewodu pokarmowego, objawy refluksu żołądkowo-przelykowego, niepokój, zaburzenia snu, bóle głowy, drżenia mięśniowe, tachykardię, częstoskurcz, hiperglikemię, a u osób starszych: trudności w oddawaniu moczu wskutek relaksacji pęcherza moczowego, poliurię, hipokaliemię, osłabienie siły mięśni i bardzo rzadko zwłóknienie pozaotrzewnowe.

**Tabela 1.**

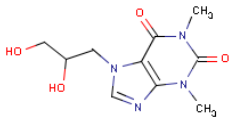
**Klasyfikacja diprofiliny**

Symbol grupy	Nazwa grupy
R	układ oddechowy
R 03	leki stosowane w chorobach obturacyjnych dróg oddechowych
R 03 D	inne leki stosowane w chorobach obturacyjnych dróg oddechowych do stosowania wewnętrznego
R 03 DA	pochodne puryny
R 03 DA 01	diprofilina

Diprofilina działa drażniąco na skórę i błony śluzowe oczu, przewodu pokarmowego i oddechowego. Należy do substancji niecałkowicie przebadanych pod względem działania toksycznego. Została sklasyfikowana jako substancje szkodliwa (X<sub>n</sub>), działa szkodliwie po połknięciu (R22). Podstawowe właściwości fizykochemiczne i toksykologiczne substancji przedstawiono w tabeli 2.

**Tabela 2.**

**Właściwości diprofiliny**

Nazwa	Diprofilina (diprophyllinum)
Wzór sumaryczny	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>
Numer CAS	479-18-5
Synonimy	(RS)-7-(2,3-dihydroksypropylo)-1,3-dihydroksymetylo-3,7-dihydroksy-1H-puryno-2,6-dion 7-(2,3-dihydroksypropyl)-3,7-dihydro-1,3-dimethyl-1H-purine-2,6-dion 7-(2,3-dihydroksypropyl)-1,3-dimethylxanthine (1,2-dihydroksy-3-propyl)theophyllin 1,3-dimethyl-7-(2,3-dihydroksypropyl)xanthine
Wzór strukturalny	
Kolor	biały
Kształt	krystaliczny amorficzny proszek
Temperatura wrzenia	brak danych

cd. tab. 2.

Nazwa	Diprofilina (diprophyllinum)
Temperatura topnienia	161,5 °C
Masa molowa	254,25
logK <sub>ow</sub>	-1,460
Rozpuszczalność	lek bardzo dobrze rozpuszczalny w wodzie (rozpuszczalność 3,33 · 10 <sup>5</sup> mg/l w temp. 25 °C) rozpuszczalny w etanolu (rozpuszczalność w alkoholu 2,00 · 10 <sup>4</sup> mg/l) rozpuszczalny w chloroformie (rozpuszczalność 1,00 · 10 <sup>4</sup> mg/l) praktycznie nierozpuszczalny w eterze etylowym
Prężność par	2,59 · 10 <sup>-13</sup> mmHg (w temp. 25 °C)
Inne właściwości	bardzo gorzki smak stała prawa Henry`ego = 8,43 · 10 <sup>-17</sup> atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> w temp. 25 °C stała reakcji rodnikowania hydroksylowego w temp. 25 °C = 3,5 · 10 <sup>-11</sup> cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>
Toksyczność	mysz: dożylnie – LD <sub>50</sub> 1080mg/kg droga pokarmowa – LD <sub>50</sub> 1954mg/kg dootrzewnowo – LD <sub>50</sub> 195 mg/kg szczur: dożylnie – LD <sub>50</sub> 860mg/kg droga pokarmowa – LD <sub>50</sub> >400mg/kg podskórnice – LD <sub>50</sub> 1253 mg/kg

## PROCEDURA ANALITYCZNA

### 1. Zakres metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości diprofiliny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną.

Najmniejsze stężenie diprofiliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,01 mg/m<sup>3</sup>.

### 2. Norma powołana

PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 „Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników”.

### 3. Zasada metody

Metoda polega na zatrzymaniu aerozolu diprofiliny na filtrze z włókna szklanego, wmywaniu analitu wodą destylowaną i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

### 4. Wytyczne ogólne

#### 4.1. Czystość odczynników

Podczas analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

#### 4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

#### 4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z diprofiliną należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem.

Zużyte roztwory oraz odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji uprawnionym instytucjom.

### 5. Odczynniki, roztwory i materiały

#### 5.1. Diprofilina

Stosować diprofilinę o czystości według punktu 4.1.

#### 5.2. Metanol

Stosować metanol o czystości według punktu 4.1.

#### 5.3. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

#### 5.4. Diwodorofosforan potasu

Stosować diwodorofosforan potasu o czystości według punktu 4.1.

#### 5.5. Roztwór wzorcowy podstawowy

Do ważonej kolby pomiarowej o pojemności 100 ml należy odważyć około 16 mg diprofiliny według punktu 5.1., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski wodą destylowaną według punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie diprofiliny w tak przygotowanym roztworze wynosi około 0,16 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

#### 5.6. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 i 4 ml roztworu wzorcowego podstawowego według punktu 5.5., uzupełnić do kreski wodą według punktu 5.3. i wymieszać. Obliczyć dokładną zawartość diprofiliny w 1 ml tak przygotowanych roztworów.

#### 5.7. Roztwór do wyznaczania współczynnika odzysku

Do ważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odmierzyć 4,5 ml roztworu podstawowego według punktu 5.4., uzupełnić do kreski wodą destylowaną według punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie diprofiliny w tak przygotowanym roztworze wynosi około 72 µg/ml.

Roztwory przygotowane według punktów 5.5., 5.6. i 5.7. przechowywane w chłodziarce są trwałe przez 10 dni.

#### 5.9. Filtry z włókna szklanego

Do pobierania próbek powietrza stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm lub inne filtry równoważne.

Czystość stosowanych filtrów należy zbadać chromatograficznie oraz wyznaczyć współczynnik odzysku diprofiliny według punktu 11.

#### 5.10. Nasadki filtracyjne

Do filtrowania analizowanych roztworów stosować nasadkę filtracyjną z filtrem z włókna szklanego o wielkości porów 0,45 µm

### 6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

#### 6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym UV/VIS i pętlą dozowniczą o pojemności 50 µl oraz elektronicznym integratorem.

### 6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział diprofiliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową Partisil 10 ODS o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm oraz uziarnieniu 5  $\mu\text{m}$ .

### 6.3. Mikrostrzykawkki

Stosować mikrostrzykawkki do cieczy o pojemności: 100; 500; 1000 i 2500  $\mu\text{l}$ .

### 6.4. Kolby Erlenmayera do wymywania

Stosować kolby Erlenmayera o pojemności około 25 ml z korkami zapewniającymi szczelne zamknięcie kolb.

### 6.5. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości według punktu 7.

### 6.6. Kolby pomiarowe

Stosować kolby szklane o pojemności 10 i 100 ml.

### 6.7. Pipeta szklana

Stosować pipetę do cieczy o pojemności 5 ml.

## 7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004. W miejscu pobierania próbek przez filtr szklany według punktu 5.9. przepuścić 480 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 2 l/min. Pobrane próbki przechowywane w lodówce są trwałe przez 30 dni.

## 8. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać warunki pracy chromatografu, aby uzyskać rozdział diprofiliny od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny o parametrach według punktu 6.2., oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

– faza ruchoma	dwuwodorofosforan potasu/metanol 60: 40 (v/v) v/v
– przepływ fazy ruchomej	1,5 ml/min
– temperatura kolumny	pokojowa
– długość fali analitycznej	275 nm
– pętla dozownicza	50 $\mu\text{l}$ .

## 9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić za pomocą pętli dozowniczej po 50  $\mu\text{l}$  roztworów wzorcowych roboczych według punktu 5.6. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż  $\pm 5\%$  tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość diprofiliny w 1 ml roztworów wzorcowych w miligramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

## 10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przenieść filtr z włókna szklanego do kolb Erlenmayera według punktu 6.4. Następnie dodać po 3 ml roztworu wody destylowanej według punktu 5.3., kolby szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, wstrząsając ich zawartością co pewien czas. Następnie wykonać oznaczenie chromatograficzne roztworu z nad filtra w warunkach określonych według punktu 8. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików diprofiliny według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż  $\pm 5\%$  tej wartości. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość oznaczanej substancji w 1 ml badanego roztworu.

## 11. Wyznaczanie współczynnika odzysku

W pięciu kolbach Erlenmayera według punktu 6.4. umieścić filtry z włókna szklanego i następnie dodać po 100  $\mu$ l roztworu do wyznaczenia współczynnika odzysku według punktu 5.7. za pomocą mikrostrzykawki o pojemności 100  $\mu$ l według punktu 6.3. W szóstej kolbie przygotować próbkę kontrolną zawierającą czysty filtr. Kolby szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia do wyschnięcia. Następnie dodać po 3 ml wody destylowanej według punktu 5.3. i wstrząsać zawartością kolb przez 30 min.

Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji, co najmniej w trzech roztworach porównawczych przygotowanych przez dodanie do 3 ml wody destylowanej według punktu 5.3. po 100  $\mu$ l roztworu do wyznaczenia współczynnika odzysku według punktu 5.7. Oznaczanie badanej substancji wykonać według punktu 10.

Współczynnik odzysku diprofiliny ( $d$ ) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_d - P_o}{P_p},$$

w którym:

$P_d$  – średnia powierzchnia pików diprofiliny na chromatogramach roztworów po desorpcji,

$P_o$  – średnia powierzchnia pików o czasie retencji diprofiliny na chromatogramach roztworu kontrolnego,

$P_p$  – średnia powierzchnia pików diprofiliny na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników odzysku diprofiliny ( $\bar{d}$ ) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości ( $d$ ).

Współczynnik odzysku należy zawsze oznaczać dla każdej nowej partii stosowanych do pochłaniania filtrów z włókna szklanego.

## 12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenia diprofiliny ( $X$ ) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{C_1}{V \cdot d} \cdot 3,$$

w którym:

- $C_1$  – stężenie diprofiliny w roztworze z nad filtra odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,
- $V$  – objętość przepuszczonego powietrza przez filtr, w litrach sześciennych,
- $\bar{d}$  – średnia wartość współczynnika odzysku wyznaczonego według punktu 11.,
- 3 – objętość wody destylowanej do wymywania diprofiliny z filtra.

## INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf ciekowy z detektorem UV/VIS DAD firmy Elite La-Chrom firmy Merck-Hitachi, wyposażony w kolumnę Partisil 10 ODS o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4 mm.

Na podstawie wyników przeprowadzanych badań otrzymano następujące dane walidacyjne:

– zakres pomiarowy	1,6 ÷ 32,0 µg/ml (0,01 ÷ 0,4 mg/m <sup>3</sup> – dla próbki powietrza 480 l)
– granica wykrywalności, $x_{gw}$	0,013 µg/ml
– granica oznaczania ilościowego, $x_{ozn}$	0,042 µg/ml
– współczynnik korelacji, $R$	0,9999
– całkowita precyzja badania, $V_C$	2,82 ÷ 3,82%
– niepewność całkowita metody	5,8%.

## PIŚMIENNICTWO

Fisherei (2004) MSDS 73304.

EP V (2005) ChemIDplus.

---

MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA, ANNA OSYTEK, MAŁGORZATA POŚNIAK,  
MAGDALENA GALWAS-GRZESZKIEWICZ

### Diphrophyllinum – determination method

#### Abstract

This method is based on deposition of diphrophyllinum on glass fiber filters, desorption with distilled water and chromatographic (HPLC) analysis of the resulting solution.

The determination limit of this method is 0.01 mg/m<sup>3</sup>.