

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAN TEOFİLİN DÜZEYLERİNİN İZLENMESİNDE
KULLANILABİLECEK YÖNTEMLER ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR

Ecz. Mohammad CHAREHSAZ

Farmasötik Toksikoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gönül ŞAHİN

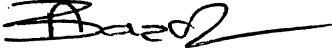
ORTAK TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Aylin GÜRBAY

Ankara
2009

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne:

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmasötik Toksikoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:


Prof. Dr. Nurşen Başaran
Hacettepe Üniversitesi

Tez Danışmanı:


Prof. Dr. Gönül Şahin
Hacettepe Üniversitesi

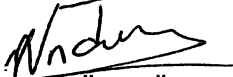
Ortak Tez Danışmanı:


Doç. Dr. Aylin Gürbay
Hacettepe Üniversitesi

Üye:


Prof. Dr. Yalçın Duydu
Ankara Üniversitesi

Üye:


Doç. Dr. Ülkü Ündeğer
Hacettepe Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Hakan S. Orer (V.)
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenciliğimden tez çalışmamın tamamlanmasına kadar geçen her aşamada emeği olan, bilgi ve tecrübeleriyle sürekli yardımcı olan, tez danışmanım ve kıymetli hocam sayın **Prof. Dr. Gönül Şahin**'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında bilgi ve yardımlarından dolayı değerli yardımcı danışman hocam **Doç. Dr. Aylin Gürbay**'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında emeği geçen **Uzm. Ecz. Gözde Girgin, Uzm. Ecz. Sevtap Aydın, Uzm. Ecz. Suna Atasayar** başta olmak üzere bütün **asistan arkadaşlarıma** teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma ve tüm arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Başta **annem** ve **babam** olmak üzere her zaman yanımda olan **sevgili aileme** tüm kalbimle sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Charehsaz, M. Kan teofilin düzeylerinin izlenmesinde kullanılabilecek yöntemler üzerine çalışmalar. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2009. Teofilin bronkodilatör ilaç olarak astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı tedavisinde etkin ve ucuz olması nedeniyle yaygın kullanılmaktadır. Terapötik indeksinin dar olması ve optimum kan düzeylerinin 10- 20 µg/ml arasında değişmesi; 20 µg/ml'nin üzerinde ise ciddi yan etkiler görülmesi veya 10 µg/ml'nin altında etkinliğinin azalması nedeniyle teofilin kan konsantrasyonlarının izlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada teofilinin farmakokinetik özellikleri dikkate alınarak ilacın plazma ve idrar gibi biyolojik sıvılarda iki ayrı yöntemle ölçümü gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, spektrofotometrik bir yöntemle 275 nm'de gerçekleştirilen ölçümleri takiben kan ve idrar teofilin standart eğrileri elde edilmiştir. Plazma ve idrardaki doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları sırasıyla $y = 0,0034x - 0,0037$, $R^2 = 0,9981$ ve $y = 0,0036x + 0,0012$, $R^2 = 0,9999$ 'dır. Plazma ve idrar örneklerinde uygulanan spektrofotometrik yöntemin ortalama geri kazanım oranı sırasıyla $98,27 \pm 3,71$ ve $95,25 \pm 9,27$ 'dir. Yöntemin tekrarlanabilirliği yapılmıştır ve % varyasyon katsayısı olarak verilmiştir. Plazma ve idrar örnekleri için bu ortalama değerler sırasıyla gün içi $4,19 \pm 1,93$; $2,49 \pm 1,11$ ve günler arası $2,26 \pm 1,47$; $6,16 \pm 3,39$ olarak bulunmuştur. Doğrusal olduğu aralık 5-100 µg/ml, duyarlılığı 5 µg/ml'dir. İkinci olarak 1-50 µg/ml konsantrasyon aralığındaki teofilin örnekleri metanol ve idrar kullanılarak hazırlanmıştır. Teofilin ölçümleri, Oktadesil Silikajel 2-Spherisorb C18 (25 cm x 4,6 mm, 5 µm) kolon, mobil faz olarak metanol:su (60:40, h/h); 280 nm'de UV detektör ile 0,75 ml/dk akış hızında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile yapılmıştır. Teofilin için iki yöntem, laboratuvarımız koşullarında modifiye edilerek uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Teofilin, astım, spektrofotometre, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ABSTRACT

Charehsaz, M. Studies on the methods using in monitoring of blood theophylline levels. Hacettepe University Health Sciences Institute MSc Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2009. Theophylline is widely used as a bronchodilator drug in asthma and chronic obstructive lung disease due to being effective and inexpensive. Theophylline blood concentrations should be monitored since its therapeutic index is narrow, its optimum blood levels range from 10 to 20 µg/ml; its serious side effects take place over 20 µg/ml; its efficacy falls below 10 µg/ml blood concentrations. In the present study, measurement of theophylline in biological fluids such as plasma and urine has been carried out by two separate methods by taking into account its pharmacokinetic properties. For this purpose, blood and urine theophylline standard curves have been obtained following measurements by spectrophotometric method at 275 nm. Its plasma and urine standard curves equation and correlation coefficient values were $y = 0,0034x - 0,0037$, $R^2 = 0,9981$ and $y = 0,0036x + 0,0012$, $R^2 = 0,9999$, respectively. Mean values of recovery ratio of applied spectrophotometric method for plasma and urine samples were % $98,27 \pm 3,71$ and $95,25 \pm 9,27$, respectively. Reproducibility of the method was performed and given as a percentage of variation coefficient. These mean values for plasma and urine were $4,19 \pm 1,93$; $2,49 \pm 1,11$ for within days, and $2,26 \pm 1,47$; $6,16 \pm 3,39$ for between days, respectively. Range of its linearity was 5-100 µg/ml, its sensitivity was 5 µg/ml. Secondly, theophylline samples ranged from 1 to 50 µg/ml were prepared by using methanol and urine. Theophylline measurements have been done by high performance liquid chromatography by using Octadecil Silicagel 2- Spherisorb C18 column (25 cm x 4,6 mm, 5 µm); methanol:water (60:40, v/v) as a mobile phase, and by UV detector at 280 nm, and 0,75 ml/min flow rate. Two methods in our laboratory conditions have been applied by modifying in order to detect theophylline in biological fluids.

Keywords: Theophylline, asthma, spectrophotometer, high performance liquid chromatography

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Bronşiyal Astım	2
2.1.1. Astımın Sınıflandırılması	2
2.1.2. Bronşiyal Astımın Patojenezi	5
2.1.3. Astım Epidemiyolojisi	9
2.1.4. Astımı Tetikleyen Risk Faktörleri	11
2.1.5. Astım Tedavisi	12
2.2. Teofilin	15
2.2.1. Bulunuşu ve Tarihçesi	15
2.2.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	16
2.2.3. Teofilinin Farmakokinetik Özellikleri	17

2.2.3.1.	Absorpsiyon	17
2.2.3.2.	Dağılım	18
2.2.3.3.	Metabolizma	19
2.2.3.3.1.	Teofilin Metabolizmasında Rolü Olan Enzim Aktivitelerinin İlaç, Bitkisel Ürünler ve Besin/Ksenobiyotikler Tarafından Etkilenmesi	21
2.2.3.4.	Atılım	28
2.4.	Teofilinin Farmakodinamik Özellikleri	31
2.4.1.	Teofilinin Bronkodilatör ve Antiinflamatuvar Etki Mekanizmaları	31
2.4.1.1.	Fosfodiesteraz Enzim İnhibisyonuna Dayanan Mekanizma	32
2.4.1.2.	Adenozin Reseptör Antagonizması ile İlişkili Mekanizma	35
2.4.1.3.	Histon Deasetilaz (HDAC) ile İlişkili Mekanizma	35
2.4.1.4.	Oksidatif Stres ile İlişkili Mekanizma	36
2.4.1.5.	İnflamatuvar Genlerin Transkripsyonu ve Nükleusa Translokasyonunu Etkileme ile İlişkili Mekanizma	36
2.4.1.6.	Kinazlar ve Kemotaksi Üzerine Etki ile İlişkili Mekanizma	37
2.4.1.7.	Apoptoz Aracılıklı Mekanizma	37
2.4.1.8.	Diğer Mekanizmalar	37
2.4.2.	Teofilinin Solunum Sistemi Dışında Diğer Sistemlere Etkileri	38
2.4.2.1.	Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkisi	38

2.4.2.2.	Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkisi	38
2.4.2.3.	Renal Sistem Üzerindeki Etkisi	38
2.4.2.4.	Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkisi	39
2.4.3.	Teofilinin Koruyucu Etkisi	39
2.5.	Teofilinin Yan Etkileri	40
2.6.	Teofilin ile Zehirlenme ve Tedavi Yaklaşımı	40
2.7.	Teofilinin Hamilelikte ve Laktasyonda Kullanımı	41
2.8.	Teofilinin Pediatrik Kullanımı	43
2.9.	Teofilinin Geriatrik Kullanımı	43
2.10.	Türkiyede Bulunan Teofilin İçeren Preparatlar	43
2.11.	Biyolojik Sıvıda Teofilin Ölçüm Yöntemleri	44
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1.	Gereç	46
3.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	46
3.1.2.	Kullanılan Aletler	46
3.2.	Yöntem	48
3.2.1.	Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	48
3.2.2.	Örnek Seçimi	48
3.2.3.	Spektrofotometrik Yöntemin Prensibi ve Uygulanışı	49
3.2.4.	Teofilinin Standart Doğrusunun Hazırlanması	50
3.2.4.1.	Teofilinin Su ve Metanoldeki Çözeltileri ile Standart Doğrusunun Hazırlanması ve Stok Çözeltinin Dayanıklılığının İzlenmesi	50

3.2.4.2.	Plazma ve İdrar Kullanarak Standart Doğrunun Hazırlanması	50
3.2.4.3.	Teofilinin Çözöldüğü Ortamın Standart Doğru Eğimi Üzerindeki Etkisi	51
3.2.4.4.	pH Değeriinin Etkisinin İncelenmesi	51
3.2.5.	Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi	51
3.2.6.	Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi	51
3.2.7.	Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi	52
3.2.8.	Yöntemin Özgünlüğünün İncelenmesi	52
3.3.	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Metanol ve İdrar Örneklerinde Teofilin Düzeylerinin Saptanması	52
3.3.1.	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi Yönteminde Kullanılmak Üzere Standart Çözeltilerin Hazırlanması	52
3.3.2.	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Teofilin Ölçümü	52
3.4.	İstatistiksel Analiz	53
4.	BULGULAR	54
4.1.	Teofilinin Su ve Metanoldeki Çözeltileri ile Hazırlanan Standart Doğru ve Teofilinin Metanolik Çözeltisinin Dayanırlılığın İzlenmesi	54
4.2.	Teofilinin Kan ve İdrardaki Çözeltileri ile Hazırlanan Standart Doğru	55
4.3.	Teofilinin Çözöldüğü Ortamın Standart Doğru Eğimi Üzerindeki Etkisi	56

4.4.	pH Değerinin Etkisinin İncelenmesi	57
4.5.	Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi	57
4.6.	Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi	60
4.7.	Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi	61
4.8.	Yöntemin Özgünlüğünün İncelenmesi	61
4.9.	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Elde Edilen Teofilin Ait Kromatogram Örnekleri	63
4.10.	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Hazırlanan Standart Eğri Örnekleri	65
5.	TARTIŞMA	66
	KAYNAKLAR	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

Abs	Absorbans
ADE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ATP	Adenozin trifosfat
BDP	Beklometazon dipropionat
BOS	Beyin-omurilik sıvısı
BUD	Budesonid
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMİT	Çoklu enzim immunoassay tekniği (Enzyme multiplied immunoassay technique)
FDE	Fosfodiesteraz enzimi
FEV	Zorlu dışa verilen hava hacmi (forced expiratory volume)
FP	Flutikazon propionat
GC-MS	Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
GFH	Glomerüler filtrasyon hızı
GLC	Gaz -sıvı kromatografisi
GTP	Guanozin trifosfat
HDAC	Histon deasetilaz
HPİTK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi- ince tabaka kromatografisi
İg	İmmünoglobülin
İL	İnterlökin
İTK	İnce tabaka kromatografisi
KLL	Kronik lenfositik lösemi
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
NaOH	Sodyum hidroksit
NAT	N-asetil transferaz
NF-κB	Nüklear faktör kappa-B
NH ₄ Cl	Amonyum klorür

PEF	Dışa verilen en yüksek hava akımı (peak expiratory flow)
PKA	Protein kinaz A
PKG	Protein kinaz G
RIA	Radyoimmonoassay
sAMP	Siklik adenosin monofosfat
sGMP	Siklik guanosin monofosfat
SİOK	Siklooksijenaz
Sit P450	Sitokrom P450
SOR	Serbest oksijen radikali
Th	Yardımcı lenfosit
TNF- α	Tümör nekroze edici faktör-alfa
USP	Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia)
UV	Ultraviyole
YBSK	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil No		Sayfa
2.1.	Etiyolojisine göre astımın sınıflandırılması	3
2.2.	Astmatik immün yanıtın dayandığı temel olaylar	7
2.3.	Astımın küresel prevalansı	10
2.4.	Astım gelişmesinde rolü olan iç (konakçı) ve dış (çevresel tetikleyiciler) faktörler	11
2.5.	Teofilinin kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü	16
2.6.	Ksantin alkaloidleri	16
2.7.	Teofilinin metabolizması	20
2.8.	Teofilinin fosfodiesteraz enzimi üzerine etkisi	32
2.9.	PDE4 inhibitörlerinin olası antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri	34
4.1.	Teofilinin sudaki çözeltileri ile spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği	54
4.2.	Teofilinin metanoldeki çözeltileri ile spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği	54
4.3.	Teofilinin stok çözeltisinin -20°C'de 1 ay süreyle dayanıklılığı	55
4.4.	Teofilinin plazma standart çözeltileri kullanılarak spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği	55
4.5.	Teofilinin idrar standart çözeltileri kullanılarak spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği	56
4.6.	Teofilinin çözöldüğü ortamın standart doğru eğimi üzerindeki etkisi	56
4.7.	Teofilin ölçümlerine pH değerinin etkisinin incelenmesi	57
4.8.	Teofilinin metanoldeki çözeltisine ait spektrum	62
4.9.	Teofilinin idrarda hazırlanmış çözeltisine ait spektrum	62
4.10.	Metanol çözeltisine ait örnek bir kromatogram	63
4.11.	Teofilin içeren (20 µg/ml) metanol çözeltisine ait örnek bir kromatogram	63
4.12.	Teofilin eklenmemiş, kör olarak kullanılan idrar örneğine ait bir kromatogram	64
4.13.	Teofilin içeren (20 µg/ml) idrar örneğine ait bir kromatogram	64
4.14.	Teofilinin metanol çözeltileri kullanılarak YBSK ile elde edilen standart eğri örneği	65
4.15.	Teofilinin idrar çözeltileri kullanılarak YBSK ile elde edilen standart eğri örneği	65

TABLOLAR

Tablo No		Sayfa
2.1.	Astımın genel sınıflandırılması	3
2.2.	Astımın klinik özelliklerinin şiddetine göre sınıflandırılması ve önerilen tedavi yaklaşımı	4
2.3	Astımın kontrol edilebilme düzeyine göre sınıflandırılması	5
2.4.	Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar	12
2.5.	Astımın erişkinde basamaklı tedavi şeması	13
2.6.	Astımın çocukta basamaklı tedavisi	14
2.7.	Ksantinlerin farmakolojik gücü	17
2.8.	Sitokrom P450 enzimlerini indükleyen ve inhibe eden ilaçlar	21
2.9.	Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler	23
2.10.	Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bazı diyet bileşenleri ve sigara içme ile kırmızı şarabın etkisi	27
2.11.	Oral verilen teofilinin çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlardaki ana kinetik bilgileri	29
2.12.	Formülasyon tipinin teofilinin kinetiğine etkileri	30
2.13.	Türkiye’de Bulunan Teofilin İçeren Preparatlar	44
4.1.	Teofilinin plazma düzeyleri sonuçlarının gün içi değişimi	58
4.2.	Teofilinin plazma düzeyleri sonuçlarının günler arası değişimi	58
4.3.	Teofilinin idrar düzeyleri sonuçlarının gün içi değişimi	59
4.4.	Teofilinin idrar düzeyleri sonuçlarının günler arası değişimi	59
4.5.	Yöntemin plazmadaki geri kazanım yüzdesi	60
4.6.	Yöntemin idrarda geri kazanım yüzdesi	61

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anhidr şeklinin molekül formülü $C_7H_8N_4O_2$, moleküler ağırlığı 180,17 olan teofilinin kimyasal yapısı 3,7-dihidro-1,3-dimetil-1H-pürin-2,6-dion şeklinde veya 1,3-dimetil ksantin olarak ifade edilmektedir (1). Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalıklarının (KOAH) tedavisinde bronkodilatör olarak yaygın şekilde kullanılan bir ilaçtır (2).

Teofilinin farmakokinetik özellikleri, yaş, hastalık, diyet, sigara alışkanlığı ve ilaç etkileşimleri gibi birçok faktörden etkilenir. Bu nedenle ilacın dozu, başta serum teofilin konsantrasyonları olmak üzere, hastaların klinik yanıtına bağlı olarak solunum fonksiyon testlerini düzeltici etkisi ve gözlenen yan etkiler de dikkate alınarak ayarlanmalıdır (3).

Teofilinin terapötik indeksi düşüktür. Optimum terapötik kan konsantrasyonları 10-20 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Toksik etkiler daha yaygın olarak 20 $\mu\text{g/ml}$ 'nin üzerinde görülür. Tehlikeli yan etkilerin ve teofiline bağlı ölümün, genellikle 40 $\mu\text{g/ml}$ 'nin üstündeki kan konsantrasyonlarında görüldüğü bildirilmiştir (2, 3).

Bu nedenle bu tez kapsamında, kan teofilin düzeylerinin, spektroskopik ve YBSK gibi iki farklı yöntemle belirlenmesi, klinik laboratuvarlarda kolaylıkla uygulanabilecek yöntemlerin kendi koşullarımıza uyarlanması ve uygulanabilir hale getirilmesi amaçlanmıştır. Her bir yöntemin validasyonu, tekrarlanabilirlik, doğruluk, duyarlılık ve özgünlüğü ile ortaya konarak irdelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

Metilksantin türevi olan teofilin, ülkemiz dahil olmak üzere tüm dünyada ucuz ve etkili olması nedeniyle astım tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Bronkodilatör etkisinin yanı sıra antiinflamatuvar ve immünomodülasyon yapıcı etkisine ait kanıtlar bulunmaktadır (2).

2.1. Bronşiyal Astım

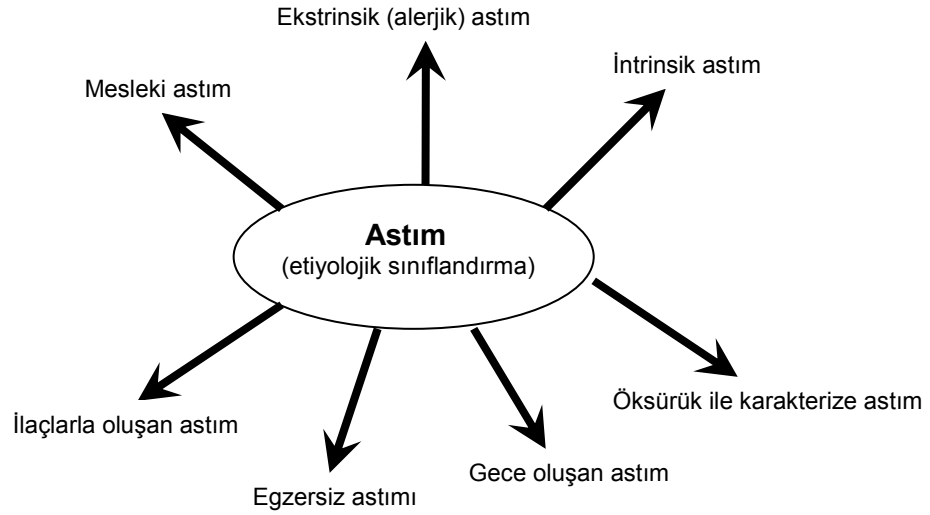
Bronşiyal astım, hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Bronşiyal astım, başka bir hastalığa bağlı olmayan, geri dönüşümlü hava yollarının tıkanması hali olup, çeşitli uyaranlara karşı hava yollarının hiperreaktivite (aşırı yanıt verirlilik) göstermesidir (2, 5). Astım dünyada her yaş grubundaki insan için ciddi bir toplumsal sağlık sorunudur. Astım, kontrolsüz olduğunda yaşam kalitesini ciddi boyutlarda kısıtlayan, sürekli tıbbi bakım ve tedavi gerektiren, hatta ölüme neden olabilen bir hastalıktır (6).

2.1.1. Astımın Sınıflandırılması

Astım farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Tablo 2.1’de yıllardır astım için kabul edilen genel sınıflandırma (2, 5, 7) ile Şekil 2.1’de astımın etiyolojisine göre yapılan bir sınıflandırma verilmiştir (8). Bu sınıflandırmalar daha sonra yerini, hastalığın şiddetine göre yapılan sınıflandırmaya bırakmıştır. Hastalığın şiddetine göre sınıflandırma, hem hastalığın şiddeti, hem tedaviye yanıtı içermektedir. Tablo 2.2’de astımın şiddetine göre yapılan sınıflama gösterilmiştir (9, 10). Son yıllarda en son önerilen ve çok daha yararlı olacağı vurgulanan bir sınıflama ise hastalığın kontrol edilme düzeyine göre yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflama Tablo 2.3’de gösterilmiştir (9).

Tablo 2.1. Astımın genel sınıflandırılması (2, 5, 7).

Astım tipi	Tetikleyici faktör	Mekanizma
Ekstrinsik		
Atopik (alerjik)	Özgül alerjenler	Tip I (İgE) immün reaksiyon
Mesleki	Kimyasal maddeler	Tip I immün reaksiyon
Alerjik bronkopulmoner asperjiloz	Spor (Antijen olarak)	Tip I ve tip II immün reaksiyon
İntrinsik		
Atopik olmayan	Hava yolları enfeksiyonu	Bilinmiyor, hiperreaktif hava yolları
Farmakolojik	Aspirin, steroidal olmayan antiinflatuar ilaçlar	Prostaglandinlerin azalması ve lökotrienlerin artması

**Şekil 2.1.** Etiyolojisine göre astımın sınıflandırılması (8)

Tablo 2.2. Astımın klinik özelliklerinin şiddetine göre sınıflandırılması (9) ve önerilen tedavi yaklaşımı (10).

Astım şiddeti	Klinik özellikler	Önerilen tedavi yaklaşımı
Hafif aralıklı	- Haftada < 1 kez - Kısa süren astım krizi - Gece oluşan belirtiler < 2 kez/ay - FEV₁* veya PEF** > % 80 öngörülen - FEV₁ veya PEF < % 20 değişken	Günlük ilaç yok Gerektiğinde kısa etkili β_2 -agonist
sürekli	- Haftada > 1 kez ancak her gün değil - Astım krizi aktivite ve uyku durumunu etkileyebilir - Gece oluşan belirtiler > 2 kez/ay - FEV₁ veya PEF > % 80 öngörülen - FEV₁ veya PEF < % 20-30 değişken	Gerektiğinde kısa etkili β_2 -agonist, düşük doz inhale kortikostreoidler veya diğer antiinflamatuvarlar
Orta sürekli	- Günlük belirtiler - Astım krizi aktiviteyi ve uykuyu etkileyebilir - Gece oluşan belirtiler > 1 kez/ Hafta - FEV₁ veya PEF % 60- 80 öngörülen - FEV₁ veya PEF > % 30 değişken	Gerektiğinde kısa etkili β_2 -agonist, orta doz inhale kortikostreoidler veya düşük doz inhale kortikostreoidler ile uzun etkili bronkodilatör
Şiddetli sürekli	- Günlük belirtiler - Sık oluşan astım krizleri - Sık oluşan gece belirtileri - Fiziksel aktivitenin kısıtlanması - FEV₁ veya PEF < % 60 öngörülen - FEV₁ veya PEF > % 30 değişken	Gerektiğinde kısa etkili β_2 -agonist, yüksek doz inhale kortikostreoidler, kortikostreoidler ile uzun etkili bronkodilatör ve oral kortikostreoidler

*FEV= Zorlu dışa verilen hava hacmi (*forced expiratory volume*)

**PEF= Dışa verilen en yüksek hava akımı (*peak expiratory flow*)

Tablo 2.3. Astımın kontrol edilebilme düzeyine göre sınıflandırılması (9).

Özellik	Kontrol altında	Kısmen kontrol altında	Kontrol altına alınmamış
Gündüz belirtileri	- (< 2 kez/ hafta)	> 2 kez/ hafta	Bir hafta içinde kısmen kontrol altında olan astımın 3 veya daha fazla özelliğinin bulunması
Aktivite kısıtlanması	-	+/-	
Gece belirtileri/ uyanmaları	-	+/-	
Rahatlatıcı/ kurtarıcı ilaç gereksinimi	- (< 2 kez/ hafta)	> 2 kez/ hafta	
Akciğer fonksiyonu (PEF veya FEV₁)*	Normal	< % 80 öngörülen	Herhangi bir haftada 1 kez
Alevlenmeler	-	> 1 kez/ yıl	

* Akciğer fonksiyon testleri 5 yaş ve daha küçük çocuklar için güvenli değildir.

2.1.2. Bronşiyal Astımın Patojenezi

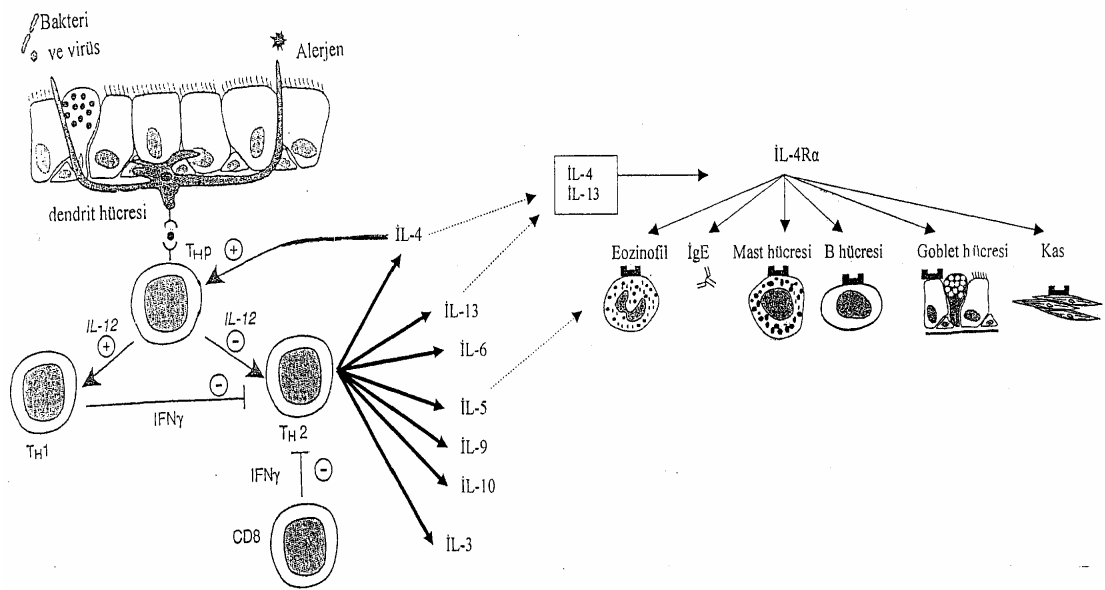
Bronşiyel astım, patojenik olarak solunum yolu epitelinde çoklu anormal patolojik değişiklikler ve fizyolojik olarak da hava akışında tıkanma, hırıltı, dispne ve balgam üretimi ile karakterize kompleks bir hastalıktır (2, 11). Fizyopatolojik yönden bronşiyal astımın üç ana bulgusu, **(i)** düz kasların büzülmesi sonucu hava yolu kalibresinin azalması, **(ii)** bronş çeperinde ödem ve yaygın iltihap, **(iii)** koyu yapışkan mukus salgılanmasıdır (2). Astım patojenezi oldukça karmaşık olup, tam olarak aydınlatılmamıştır. Astım nöbetlerini tetikleyen faktörlerin alerjen niteliğinde olup olmamasına göre astımın, ekstrasik (veya alerjik) ve intrinsik (veya idiyosenkratik) olarak temel iki tipi olduğu daha önce belirtilmiştir. Bütün hastalar bu iki tipten birine uymayabilir ve hastaların bir bölümü kısmen bir tipin ve kısmen de diğer tipin özelliğini gösterebilir. En fazla veri alerjik astım tipi konusunda bulunmaktadır (5). Bronşiyal astımda hava yollarının tıkanması, olguların yaklaşık 1/3'ünde

allerjiye bağlı spazmdan ileri gelir. Geri kalanlarda ise bronş düz kasları hiperreaktif durumdadır ve alerjik olmayan çeşitli etkenler bronkospazmı artırarak nöbet tarzında solunum güçlüğü yaparlar (2, 5).

Ekstrinsik astımda hastanın özgeçmişinde ve/veya soy geçmişinde rinit, ürtiker, ekzema vb. bir alerjik hastalık öyküsü ve alerjik zeminle ilgili patolojik kanıtlar bulunur. Bu tip astım genellikle çocuklukta başlar. Serum immünoglobülin E (İgE) düzeyleri genellikle yüksektir (5). Hastalar yeterli miktarda alerjen inhalasyonuna maruz kalırlarsa, bifazik yanıt verirler. Birinci faz hemen başlayan erken astmatik yanıttır. Devam süresi 30 dakika ile 2 saat arasındadır. Bu fazı, geç astmatik faz olan ikinci faz takip eder. Havayolu tıkanıklığı 12 saat kadar sürer, fakat artmış bronş hiperreaktivitesi günlerce veya haftalarca devam eder. Bu ikitür yanıt tek başlarına veya kombine şekilde meydana gelebilir (5).

Bronşlarda düz kaslar, salgı bezleri ve damar yatağını kapsayan hiperreaktifliğin altında, son görüşlere göre, bronş çeperi ve onu inerve eden gangliyonlar ve afferent sinir lifleri düzeyinde gelişen immün ve nöral mekanizmaların etkileşmesine bağlı bir inflamasyon yatar. Bu inflamasyonun efektör hücreleri, eozinofil lökositler, bronş mukozasının kalıcı hücreleri olan mast hücreleri ve Tip 1 ve Tip 2 yardımcı lenfositler (Th-1 ve Th-2 lenfositler)'dir. Kemotaksi olayında rol oynayan kemoatraktan sitokinler olan kemokinler, büyüme faktörleri ve koloni stimüle edici faktörler ile lenfositlerin ve makrofajların salgıladıkları sitokinler iltihabı yönlendirirler. Bu yönlendirmede, özellikle Th-2 lenfositlerin salgıladığı interlökin, İL, (İL-3, İL-4, İL-5, İL-6, İL-9, İL-10 ve İL-13) gibi sitokinlerin rolü büyüktür. İL-4 mast hücrelerinde bir taraftan antijene özgü İgE üretimini stimüle ederken, diğer taraftan bu hücrelerin proliferasyonunu artırır. İL-4 ayrıca damar endotel hücrelerinin eozinofil lökositlere yönelik adhezyon molekülü sentez etmelerini stimüle eder. Antijene özgü İgE molekülleri mast hücrelerinin yüzeyinde yerleşmiş yüksek afiniteli İgE reseptörlerine bağlanarak orada konuşlanırlar. Antijen moleküllerinin yan yana duran iki İgE molekülüne bağlanıp çapraz

bağ oluşturmaları mast hücrelerini uyarak iltihap mediyatörü olan otakoidlerin salgılanmasına neden olur. İL-5, eozinofillerin depo yerlerinden kana salınmasını artırır ve onların kandaki ve dokudaki ömürlerini uzatır. Th-1 lenfositler, salgıladıkları interferon- γ aracılığı ile İgE sentezini ve öncül hücrelerin olgun Th-1 lenfositlere (kendilerine) dönüşmesini artırır ve böylece inflamasyonu stimüle ederler. Th-2 lenfositlere dönüşmeyi inhibe ederler. Bu duruma göre Th-1'ler koruyucu immünite sağlarlar. Th-1 ve Th-2 arasındaki dengenin bozulması, Th-1 lenfositlerin etkinliğinin azalmasına (daha az interferon- γ salgılanması) ve onun baskıladığı Th-2 lenfositlerin baskıdan kurtularak proinflamatuvar sitokinleri daha fazla salgılamasına neden olacağından astımın gelişmesinde rol oynar (2, 11). Şekil 2.2'de astmatik immün yanıtın dayandığı temel olaylar gösterilmiştir (11).



Şekil 2.2. Astmatik immün yanıtın dayandığı temel olaylar (11)

In vitro deneylerde epitelden bronş gevşetici ve yapısı henüz tam olarak bilinmeyen endojen bir maddenin veya maddelerin salıverildiği saptanmıştır. Buna dayanarak epitel harabiyetinin astımda bronşlardaki hiperreaktiviteye katkısının olabileceği ileri sürülmüştür. Astım patojenezi ile ilgili olarak, bazı hastalarda bronş düz kaslarının β -adrenerjik reseptör dansitesinin ve/veya endojen uyaranlarına (adrenalin ve noradrenalin) afinitesinin azalmasına bağlı β -adrenerjik hipoaktivitenin veya bronş düz kaslarının adrenerjik agonistler tarafından büzülmesine aracılık eden α -adrenerjik reseptör mekanizmasının aşırı etkinliğinin rol oynadığı birer varsayım olarak ileri sürülmüştür. Kısıtlı sayıda hastada β -reseptörleri kapatan antikörlerin olduğu gösterilmiştir (2). Genetik pozisyonun astım oluşmasına katkısı varsa da bunun derecesi aydınlatılmamıştır. Astım oluşmasında rol oynayan atopi de kalıtsal niteliktedir. İkisinin birlikte olması astım gelişmesini kolaylaştırır (5).

İntrinsik astımda ise hastanın özgeçmişinde alerji öyküsü kural olarak yoktur. Hastalık genellikle orta yaşlarda başlar. Solunum yolu enfeksiyonları (özellikle viral enfeksiyonlar), egzersiz, duygu durumu değişiklikleri, ozon, kükürt dioksit ve benzeri irrite edici gazların inhalasyonu, aspirin ve diğer bazı streoidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlar veya β -blokör ilaç alınması veya duyarlı kılınmış kişilerde ev tozu, polen ve benzeri alerjenlere maruz kalma gibi normal kimselerin havayolunu etkilemeyen uyaranların, astımlı hastalarda bronşlar ve bronşiyollerde belirgin derecede bir spazm yapmasıdır. Bunun sonucu olarak akut havayolu tıkanması semptomları olan hırıltılı nefes alıp verme, göğüste sıkışma ve nefes darlığı meydana gelir. Bu nedenle histamin, metakolin, asetilkolin ve sodyum metabisülfid gibi maddelerin normal kimsede etkisiz bulunan eşik-altı konsantrasyondaki çözeltisinden hazırlanan aerosollerin solunması astımlılarda bronkospazma neden olur. Bu maddeler bronkoprovokasyon testleri için kullanılabilirler. Serum İgE düzeyi normaldir. Cilt testlerinin sonuçları negatiftir (5).

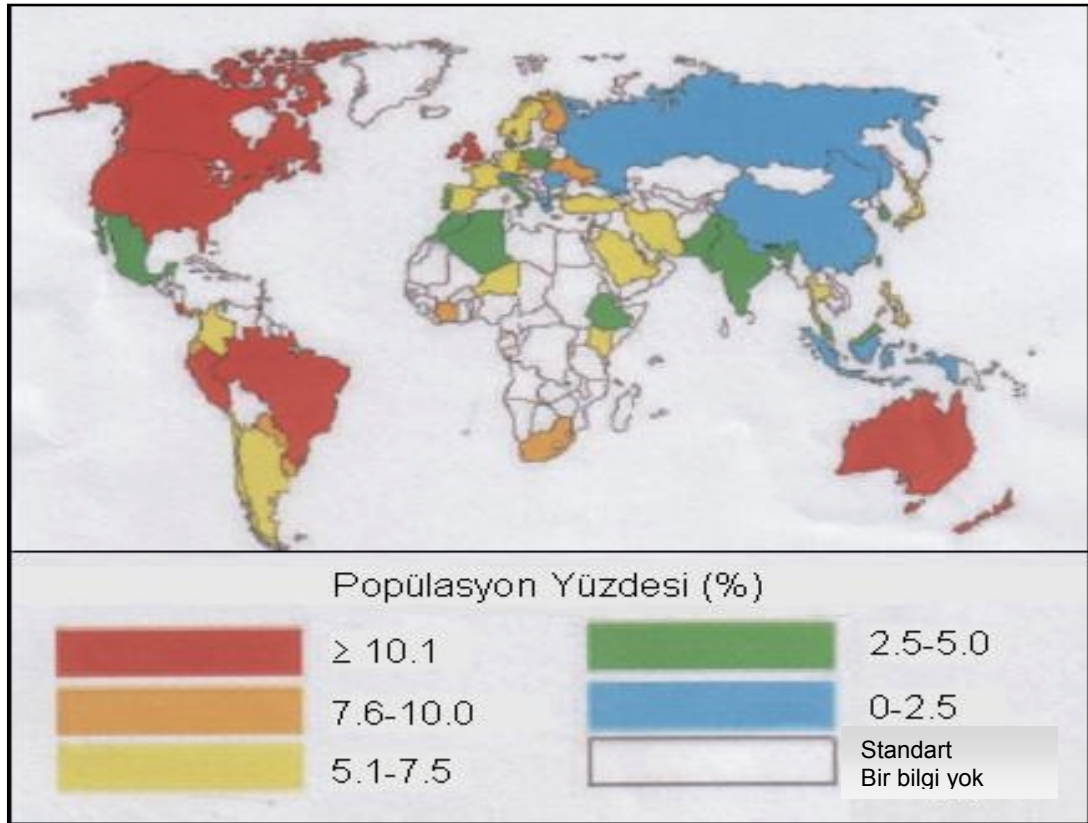
Mesleki astım, işyerinde bazı mesleki duyarlılaştırıcılarla karşılaşma sonucu ikincil gelişen astım türü olup, gelişmesi için ay ve/veya yıllar gerekmektedir (2). Günümüzde çok sayıda mesleki etkenin işyeri ortamında astım gelişimine yol açtığı bildirilmiştir. Hayvansal ve bitkisel antijenler, küf mantarları, formaldehit, penisilin preparatları gibi kimyasal antijenler ve tolüen gibi solvan buharları çalışanlarda astım gelişimine neden olmaktadır (5).

Bazı ilaçlar alerjik reaksiyon sonucu astım krizine benzeyen bronkospazm nöbetine neden olabilirler. Bu tür reaksiyonlar astımlılarda, astımlı olmayan kişilerdekinden daha sık ve genellikle daha şiddetli olur. Ayrıca, astımlılar, doğrudan farmakolojik etkileriyle bronkospazm eğilimi oluşturan β -blokör ilaçlara çok duyarlıdırlar; bunların göz damlası şeklinde lokal uygulanması bile astımlıda ağır nöbete neden olabilir. Bu oluşan nöbet teofilin ile tedavi edilebilir ancak β -mimetik ilaçlarla kolaylıkla düzeltilemez. Anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörü ilaçlar da astımın klinik tablosunu daha da ağırlaştırır. Aspirin ve diğer steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar da nöbete yol açabilir. Aspirine duyarlı astım, genellikle idiyosenkratik astımlı erişkinlerde görülür (2, 11). Steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlar siklooksijenaz-1 (SİOK-1)'i inhibe etme güçleri ile orantılı olarak astımı tetiklerler, buna karşılık meloksikam, nimesulid ve benzerleri gibi SİOK-2'yi daha güçlü inhibe eden bu grup ilaçlar ile parasetamol, dekstropoksifen gibi analjezik ilaçlar astımlılarda daha güvenlidir (2).

2.1.3. Astım Epidemiyolojisi

Bugün dünya çapında yaklaşık 300 milyon astım hastası olduğu ileri sürülmekle birlikte, astımın kesin ve genel kabul gören bir tanımının olmaması, dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilen sıklık değerlerinin güvenilir bir karşılaştırmasının yapılmasını güçleştirmektedir (12, 13). Bununla birlikte, çocuklarda ve erişkinlerde astım hastalığının sıklığını değerlendirmek için uygulanan standart yöntemlere dayanılarak, astımın küresel prevalansının

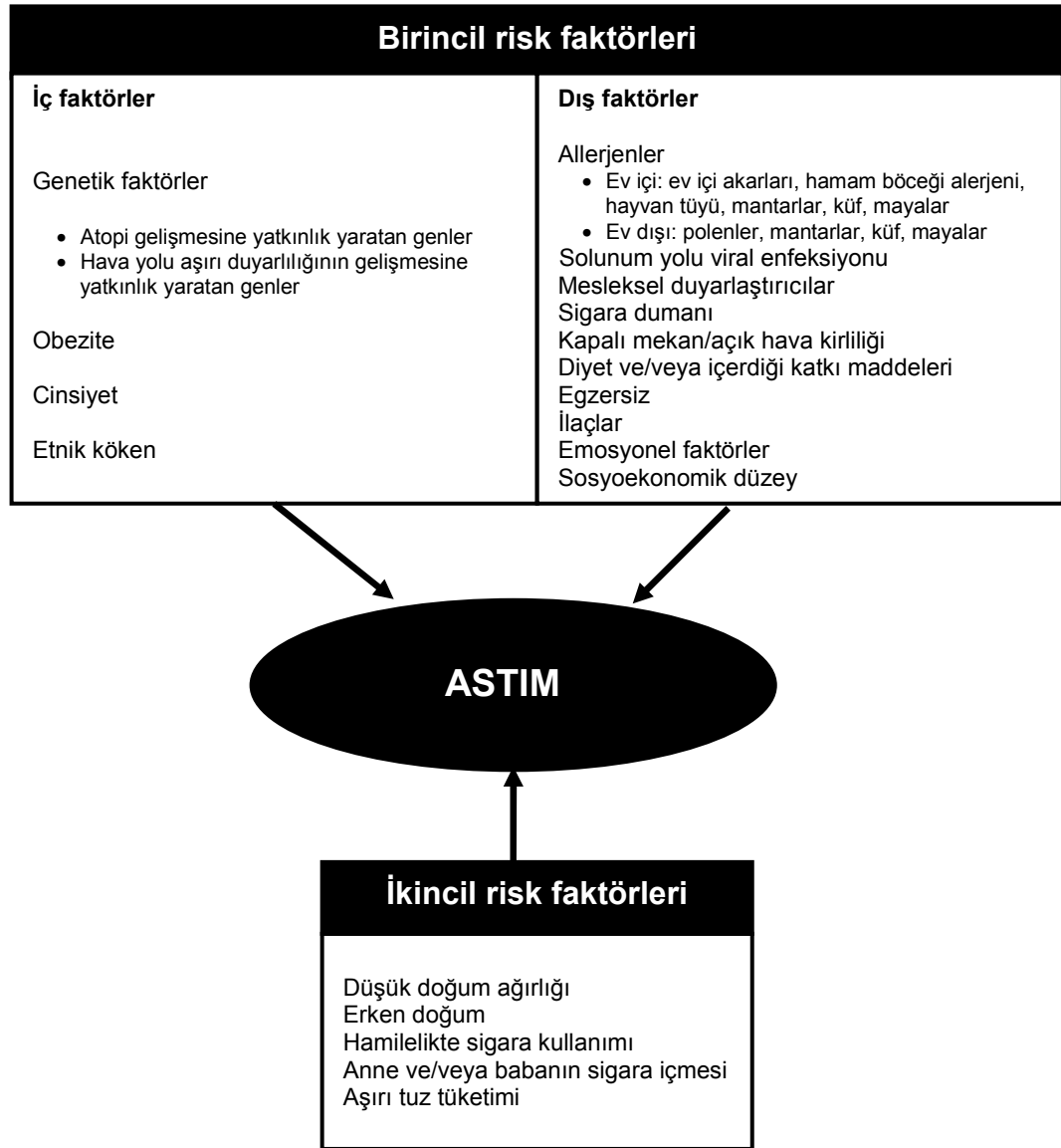
dünyanın farklı ülkelerinde yaşayan toplumlarda % 1 ile % 18 arasında olduğu öngörülmektedir (13). Hastalığın küresel prevalansı Şekil 2.3'de gösterilmiştir (14). Astımın, görülme sıklığı ülkeden ülkeye hatta aynı ülkede bir bölgeden diğerine göre farklılık göstermektedir. Dünyada her yıl astıma bağlı 250,000 ölüm vakası görüldüğü ve hastalığın sıklığı ile mortalite arasında doğrusal bir ilişki bulunmadığı bildirilmektedir (13). Astımın, çocukluk çağı kronik hastalıkları arasında da birinci sırada görüldüğü bildirilmektedir. Avrupa ülkelerine kıyasla astımın Türkiye'de saptanan prevalans rakamları genellikle daha düşük düzeylerde (Şekil 2.3). Yenilerde Türkiye'de yapılan bir çalışmada, coğrafi bölgeye bağlı olarak hastalığın çocuklardaki sıklığı % 2-15, erişkinlerde ise bu oranın % 2-5 olduğu bildirilmektedir (15).



Şekil 2.3. Astımın küresel prevalansı (14)

2.1.4. Astımı Tetikleyen Risk Faktörleri

Çok çeşitli iç ve dış faktör astım gelişmesinde tetikleyici rol oynamaktadır. Şekil 2.4’de bu faktörler toplu olarak gösterilmiştir (11, 13, 16, 17).



Şekil 2.4. Astım gelişmesinde rolü olan iç (konakçı) ve dış (çevresel tetikleyiciler) faktörler (11, 13, 16, 17)

2.1.5. Astım Tedavisi

Son yıllara kadar astım, hava yolu düz kas spazmı ile karakterize bir hastalık olarak kabul edilmekte ve tedavide öncelikle bronkodilatör ilaçlar kullanılmaktaydı. Günümüzde astım tedavisinin temel hedefi hava yollarındaki kronik inflamasyonun baskılanması ve böylece hastalığın kontrol altına alınması ve bunun sürdürülmesidir (2). Bu amaçla, astım tedavisinde kullanılan ana ilaçlar aşağıda verilmiştir:

- Kortikosteroidler
- β_2 – agonistler
- Antimuskarinik ilaçlar
- Antialerjik bileşikler
- Fosfodiesteraz inhibitörleri

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ve rahatlatıcı ilaçlar olarak ikiye ayrılır. Kontrol edici ilaçlar esas olarak antiinflamatuvar etkileri yoluyla astımın kontrol altında tutulmasını sağlamak üzere her gün ve uzun süreli kullanılan ilaçlardır. Rahatlatıcı ilaçlar ise hızla etki ederek bronkokonstriksiyonu düzelteren, semptomları gideren ve gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Bu iki grup ilaç Tablo 2.4’de verilmiştir (13).

Tablo 2.4. Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar (13).

Kontrol edici ilaçlar	Rahatlatıcı ilaçlar
İnhale ve sistemik steroidler	Hızlı etkili inhale β_2 -agonistler
Sodyum kromoglikat	İnhale antikolinerjikler
Yavaş salınan teofilin	Kısa etkili teofilin
Antilökotrienler	Kısa etkili oral β_2 -agonistler
İnhale steroidler ile birlikte kullanılan uzun etkili inhale β_2 -agonistler	

Astımın erişkinde ve çocukta basamaklı tedavi şeması sırasıyla Tablo 2.5 ve 2.6'da verilmiştir (18).

Tablo 2.5. Astımın erişkinde basamaklı tedavi şeması (18).

Hafif aralıklı	Hafif sürekli	Orta sürekli	Şiddetli sürekli
	3 ayda yanıt alınmazsa sevk	Tüm çocuk hastaları sevk et, erişkinlerde yanıt alınmazsa sevk et	Tüm hastaları sevk et
Kontrol edici ilaca gerek yok	Kontrol edici ilk seçenek düşük doz inhale steroid BDP: 250 µg/gün veya BUD:200-400 µg/gün veya FP: 125 µg/gün	Kontrol edici ilk seçenek düşük-orta doz inhale steroidler BDP: 250 µg/gün veya BUD:200-400 µg/gün veya FP: 125 µg/gün ile birlikte Formoterol 12-24 µg veya Salmeterol 50-100 µg	Sevk edilemiyorsa kontrol edici ilk seçenek yüksek doz inhale steroid BDP: > 1000 µg/gün veya BUD: > 800 µg/gün veya FP:> 500 µg/gün ile birlikte uzun etkili β ₂ -agonist ve gerektiğinde aşağıdakilerden biri veya fazlası eklenebilir: Yavaş salınan teofilin Oral steroid (5-10 gün, 30-40 mg/gün)
	Diğer seçenekler: yavaş salınan teofilin veya lökotrien reseptör antagonisti	Diğer seçenekler: orta doz inhale steroid eklenen yavaş salınan teofilin veya lökotrien reseptör antagonisti	
Semptom gidericiler			
Her basamakta gereksinim halinde inhale hızlı etkili β ₂ -agonistler (salbutamol 100 µg veya terbutalin 250 µg) 1-2 püskürtme			
BDP: Beklometazon dipropionat, BUD: Budesonid, FP: Flutikazon propionat			

Tablo 2.6. Astımın çocukta basamaklı tedavisi (18).

Hafif aralıklı	Hafif sürekli	Orta sürekli	Şiddetli sürekli
Kontrol edici ilaca gerek yok	Kontrol edici ilk seçenek düşük doz inhale steroid BDP: 100-400 µg/gün veya BUD: 100-200 µg/gün veya FP: 100-200 µg/gün	Kontrol edici ilk seçenek orta doz inhale steroid BDP: 400-800 µg/gün veya BUD: 200-400 µg/gün veya FP: 200-500 µg/gün	Kontrol edici ilk seçenek yüksek doz inhale steroid veya gerektiğinde aşağıdakilerden biri veya daha fazlası eklenebilir yüksek doz inhale steroid BDP: > 800 µg/gün veya BUD: > 400 µg/gün veya FP:> 500 µg/gün ile birlikte yavaş salınan teofilin veya uzun etkili β ₂ -agonist veya lökotrien reseptör antagonisti veya oral steroid 5-10 gün 20-30 mg/gün
	Diğer seçenekler: yavaş salınan teofilin veya kromonlar veya lökotrien reseptör antagonisti	Diğer seçenekler: orta doz inhale steroide eklenen yavaş salınan teofilin veya lökotrien reseptör antagonisti veya uzun etkili β ₂ -agonist	
Semptom gidericiler			
Her basamakta gereksinim halinde inhale hızlı etkili β ₂ -agonist (salbutamol 100 µg veya terbutalin 250 g) 1-2 püskürtme			

Astım tedavisinde yer alan ve tez konusu kapsamında çalışılan fosfodiesteraz inhibitörü önemli bir ilaç olan teofilin hakkında detaylı bilgi 2.2’de verilecektir.

2.2. Teofilin

Yaklaşık 70 yıldır teofilin, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA)’nın tedavisinde kullanılmaktadır (19).

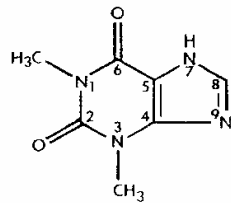
2.2.1. Bulunuşu ve Tarihçesi

Teofilin, 1888 yılında Alman biyolog Albrecht Kossel tarafından çay yapraklarından ekstre edilmesini takiben (20), klinikte ilk kez 1907 yılında Minkowski ve bir grup doktor tarafından kardiyak ve renal kaynaklı ödemlerde diüretik olarak kullanılmıştır. 1918 yılında Amerikan Farmakopesi’ne (USP) girmiş olup, 1970 ve 1980’li yıllarda farmakokinetik bilim dalının gelişmesiyle beraber teofilinin farmakokinetik özellikleri, plazma düzeyi ile bronkodilatör etki ve toksisite ilişkisi yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Bu bilgiler ışığında teofilin astım tedavisinde yaygın kullanılan bir ilaç haline gelmiştir (21).

1960’lardan başlayarak, inhalasyonla verilen kortikosteroidlerin ve β -agonist ilaçların astım tedavisinde klinik kullanıma girmesi, teofilinin bu amaçla kullanımının önemini azaltmakla birlikte, ilacın güçlü profilaktik etkinliği ve ucuz oluşu, günümüzde de astım nöbeti profilaksisinde yaygın olarak kullanımını sağlamaktadır. Ancak astım nöbetleri ve benzeri klinik durumlarda teofilin, β_2 -mimetik ve kortikosteroid ilaçlarla beraber ilk tedavi yaklaşımı olarak kullanılmaktadır (2).

2.2.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Teofilin, kokusuz, acı, beyaz kristal toz şeklinde bir maddedir. Alkali çözeltilerde, amonyak ve mineral asitlerde çözünür. Su ve alkolde çözünürlüğü azdır (3, 22, 23). pK_a değeri 8,77'dir (1). Sudaki çözünürlük sorunu nedeniyle parenteral formu yoktur. Bu amaçla, teofilinin etilendiaminle yaptığı suda çözünür bir kompleks olan aminofilin kullanılır (2). Şekil 2.5'de teofilinin kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü gösterilmiştir (3, 22, 23).



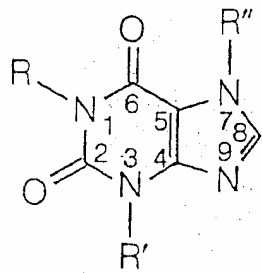
Molekül ağırlığı : 180,17

Kapalı formülü : $C_7H_8N_4O_2$

Açık formülü : 1H-pürin-2,6-dion,3,7-dihidro-1,3-dimetilksantin

Şekil 2.5. Teofilinin kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü (3, 22, 23).

Çay, kahve ve kakao gibi çeşitli bitkilerde bulunan teofilin, kafein ve teobromin, metilksantin türevi alkaloidlerdir. Bu alkaloidlerin yapısı Şekil 2.6'da gösterilmiştir (24).



Ksantin	R	R'	R''	Kaynak
Kafein	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Kahve, çay
Teofilin	CH ₃	CH ₃	H	Çay
Teobromin	H	CH ₃	CH ₃	Kakao

Şekil 2.6. Ksantin alkaloidleri (24)

Bu bileşikler, genellikle hafif bazik ve bazılarının asidik özellikleri nedeniyle gerçek alkaloid olarak kabul edilmezler. Yapılarında DNA'da bulunan adenin ve guanin nükleotidleri gibi pürin halkası içerirler. Farmakolojik özelliklerini N-

metil grubu belirlemektedir (21). Bu bileşiklerin etki güçleri Tablo 2.7’de karşılaştırmalı olarak verilmiştir (24).

Tablo 2.7. Ksantinlerin farmakolojik gücü (24).

	Kafein	Teofilin	Teobromin
SSS stimülasyonu	1*	2	3
Bronşiyal stimülasyon	1	2	3
Diüretik etki	3	1	2
Kardiyak stimülasyon	3	1	2
Çizgili kas stimülasyonu	1	2	3

*1: En güçlü. Rakam arttıkça farmakolojik güç azalmaktadır.

2.2.3. Teofilinin Farmakokinetik Özellikleri

2.2.3.1. Absorpsiyon

Absorpsiyon hız ve oranı teofilinin kullanıldığı farmasötik şekle göre değişmektedir. Çözelti veya eliksir şeklindeki müstahzarları ile kapsül ve kaplanmamış tabletler şeklinde uygulandığında teofilinin absorpsiyonu genellikle hızlı ve tamdır (3, 22, 25). Tabletten dissolüsyon, dolayısıyla absorpsiyon hızı, suda az çözünen bir bileşik olması nedeniyle kısıtlanabilir. Uzun süreli yatmayı gerektiren durumlarda ve uyku sırasında absorpsiyon yavaşlamaktadır (2). Kaplanmamış tabletler, kapsüller ve sıvı preparatlar halinde alındıktan 1-2 saat sonra teofilin serumda maksimum konsantrasyona ulaşır. Hızlı salınan teofilin tablet veya kapsülleri, çabuk absorbe edilmeleri nedeniyle daha sık yan etkiye neden oldukları için tercih edilmezler. Kontrollü salınım tabletleri ise alındıktan 4 saat sonra maksimum kan konsantrasyonuna ulaşır (3). Bu preparatların absorpsiyonu yetersiz olabilir. Enema şeklinde preparatlarının rektal absorpsiyonu hızlıdır (3). Ancak süpozituarların absorpsiyonu yavaş ve düzensiz olabilmektedir (3,25). Teofilinin intramusküler absorpsiyonu yavaş ve azdır (3).

Besinler teofilin absorpsiyon hız ve miktarını formülasyona bağlı olarak çeşitli düzeylerde etkilemektedir. Bu konu ile ilgili kapsamlı bilgi 2.2.3.3.1’de verilecektir.

Teofilinin kan düzeyleri ile bronkodilator etkisi arasında yakın bir ilişki vardır. Maksimum bronkodilator etki için kan düzeylerinin 10-20 µg/ml arasında olmasının sağlanması önemlidir (2, 19). Ancak 6-8 µg/ml konsantrasyonda bile astımlı çocukların akciğer fonksiyonlarında belirgin düzelme yapabildiği saptanmıştır. Teofilinin 6-10 µg/ml’lik kan düzeyinde optimal antiinflamatuvar etki sağladığı bulunmuştur (2). Kan düzeylerinin 20 µg/ml üzerinde olması yan etki olasılığını artırmaktadır (2, 19). Çünkü erişkin astım hastalarında terapötik indeksi 10-20 µg/ml, yenidoğan apnesi olanlarda ise 6-11 µg/ml’dir (26).

2.2.3.2. Dağılım

Teofilin sistemik dolaşıma girdikten sonra % 40 oranında başta albümin olmak üzere plazma proteinlerine bağlanır. Serbest kısım vücut sıvılarında yüksek oranda ve vücut yağlarında az miktarda dağılır. Dağılım hacmi yaklaşık 0,45 l/kg (0,3-0,7 l/kg)’dır (23).

Teofilin, plasenta, süt ve beyin omurilik sıvısı (BOS)’na geçer. Plazma proteinlerine düşük oranda bağlandığı için tükürüğe geçişi yüksek orandadır. Teofilinin tükürük/kan düzeyleri oranı 0,5-0,6’dır. Diğer bir deyişle tükürük teofilin konsantrasyonu kandaki serbest ilaç konsantrasyonunun göstergesidir (23, 27).

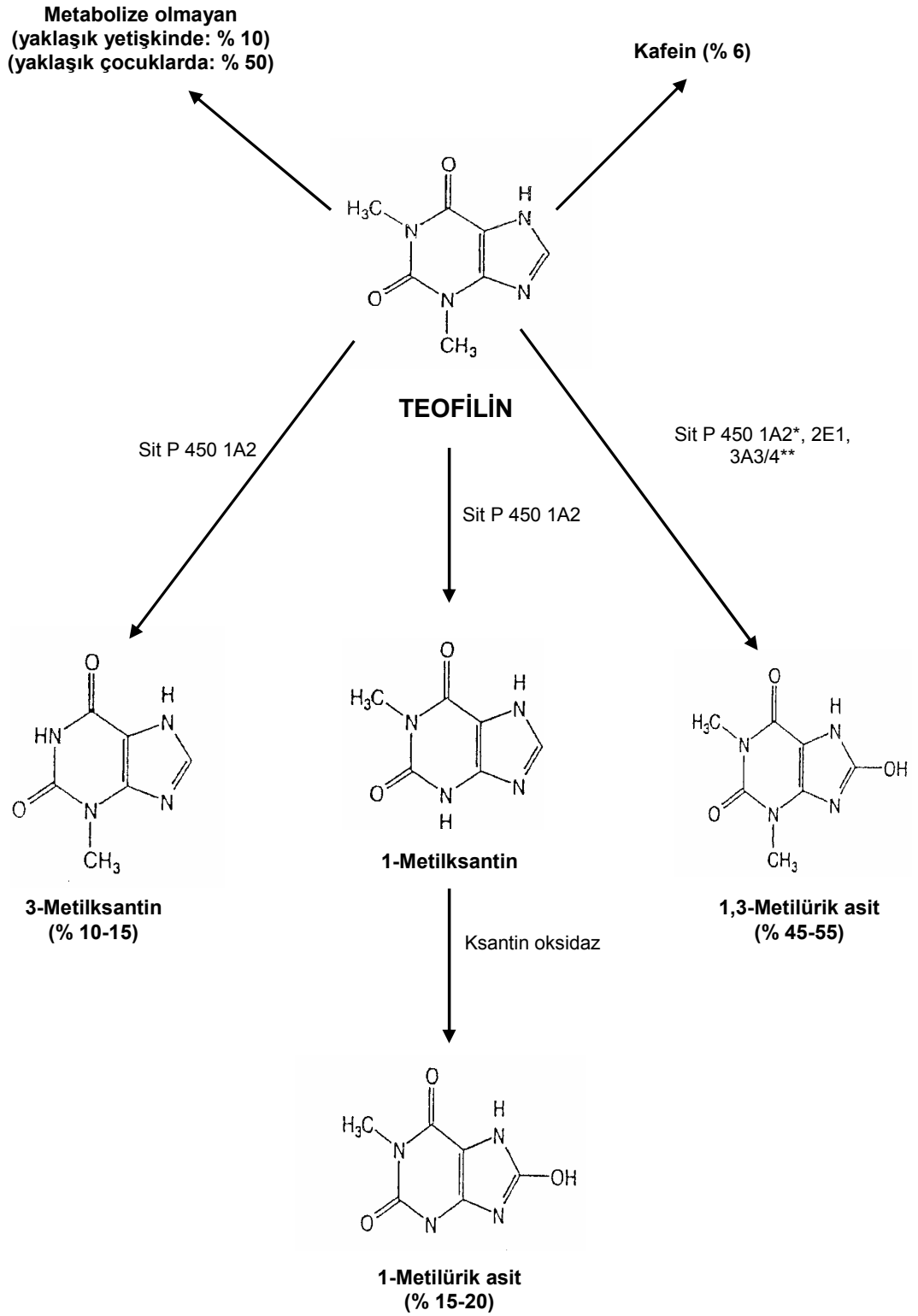
Proteine bağlanma oranı, hamileliğin 3. dönemi ile yeni doğan ve yaşlılıkta, prematürelde, böbrek ve karaciğer hastalarında, belirgin oranda azaldığı için, teofilinin dağılım hacmi artar. Buna bağlı olarak teofilin kan düzeyi ani artış gösterir. İlacın terapötik aralığı dar olduğundan toksisite belirtileri görülebilir (23).

2.2.3.3. Metabolizma

Genel olarak ilaçların karaciğerdeki metabolizması çeşitli oranlarda yaş, cinsiyet, diyet, sigara tüketimi, hastalıklar ve ilaç etkileşimleri gibi faktörlerle değişikliğe uğramaktadır. Teofilinin metabolizma hızı da bireyler arasında büyük değişkenlik göstermektedir (22, 28). Örneğin, 1 ile 15 yaş arasında erkek ve kız çocuklarında yapılan teofilin klerens çalışmasında klerensin, erkek çocuklarında kız çocuklarına kıyasla yaklaşık % 25 oranında yüksek olduğu saptanmıştır (28).

Yetişkinlerde ve 1 yaşın üzerindeki çocuklarda % 90'ı karaciğerde Sit P450 1A2 başta olmak üzere metabolize edilir ve % 10'u metabolize olmaz. Teofilin'in % 6'sı N-metilasyona uğrar ve kafein meydana gelir (3, 22, 23, 25, 29). Teofilinin metabolizması Şekil 2.7'de verilmiştir (30).

Yeni doğanlarda genel olarak enzimlerin düşük aktiviteye sahip olması nedeniyle teofilin yeni doğanda yaklaşık % 50 oranında metabolizmaya uğramaz (23). Ancak kararlı konsantrasyonunun 1/3'ü, N7 pozisyonundan metilasyona uğrayarak kafein oluşturur. Oluşan kafeinin ileri metabolizmasında rolü olan enzimlerin yetersizliği ve kafeinin atılımındaki yetersizlikler kafeinin bu gruplarda birikimine yol açar (3). Ancak erişkinlerde düşük oranda meydana gelen kafein hızla metabolize olur ve birikmez (3, 23). Teofilinin metabolitlerinden sadece kafein ve 3-metilksantin farmakolojik olarak aktiftir (3, 23).



*Ana enzim 1A2, ** Daha az ölçüde rolü vardır

Şekil 2.7. Teofilinin metabolizması (30)

2.2.3.3.1. Teofilin Metabolizmasında Rolü Olan Enzim Aktivitelerinin İlaç, Bitkisel Ürünler ve Besin/Ksenobiyotikler Tarafından Etkilenmesi

Teofilin metabolizmasında önemli rol oynayan enzimler üzerine inhibitör ve indükleyici etkisi olan ilaç, bitkisel ürün ve besin veya ksenobiyotikler, teofilinin yazgısını önemli ölçüde değiştirirler. Bu nedenle yukarıda belirtilen etkilerle ilgili en önemli örnekler sırasıyla Tablo 2.8, 2.9 ve 2.10'da verilmiştir.

Tablo 2.8. Sitokrom P450 enzimlerini indükleyen ve inhibe eden ilaçlar.

Enzim	İnhibisyon	İndüksiyon
Sit P450 1A2	Antiaritmik ilaçlar: Propafenon, meksiletin, amiodaron, bepridil, aprindin, lidokain, flekainin (31) Florokinolon: Enoksazin*, siprofloksazin**, nalidiksik asit, norfloksazin, lomefloksazin, ofloksazin (32) Diğer ilaçlar: Etinil östradiol, simetidin (2), flovuksamin (2, 33), tiklopidin (34), alosetron (35), izoniazid (2, 36), allopürinol*** (2), meksiletin, oral kontraseptifler (37)	Rifampisin (36), fenitoin (2), karbamazepin (37), omeprazol (37,38), lanzoprazol (38)

Tablo 2.8. (Devam) Sitokrom P450 enzimlerini indükleyen ve inhibe eden ilaçlar.

Sit P450 3A4	Makrolid antibiyotikler: Eritromisin, klaritromisin (39, 40). Antidepresanlar: Fluvoksamin, nefazodon (2). Azol antifungaller: Ketakonazol, mikonazol, flukonazol (2). Kalsiyum kanal blokörleri: Nifedipin, nikardipin, diltiazem, verapamil (2), Kortikosteroidler: Metilprednizolon, prednizolon, prednizon (2) Antiretroviral ilaçlar: Ritanavir > indinavir > sakonavir (41) Diğer ilaçlar: Etinil östradiol, kinin, norfloksasin (2), zafirlukast****(42), raloksifen, gestoden, tamoksifen, floksetin, midazolam (43), izoniazid (2, 36)	Aminoglutetimid, barbitüratlar, rifabutin, fenitoin, karbamazepin, deksametazon, pioglitazon, griseofulvin, rifabutin (42), armodafinil (44), rifampisin (2, 39)
Sit P450 2E1	Propofol (45), disülfiram (46)	Etil alkol (4)

* Florokinolonlar arasında oral en düşük dozda uygulandığında teofilinin yarı ömrünü iki kat uzatan ilaçtır.

** Siprofloksazin ve teofilini aynı anda kullanan hastalarda şiddetli ve fatal reaksiyonlar gözlenmiştir. Bu reaksiyonlar kardiyak arrest, kriz, status epilepticus ve solunum yetmezliğidir.

*** Allopürinol ksantin oksidaz enziminin inhibitörüdür.

**** İn vitro inhibitör olduğu gösterilmiştir ancak teofilin üzerindeki etkisi tartışmalıdır.

Tablo 2.9. Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler.

Bitki adı	Familiya	Kullanım amacı ve Sit P450'lerin üzerine etkisi
<i>Angelicae dahuricae</i> (Melekotu)	<i>Apiaceae</i>	<i>Angelicae dahuricae</i> kökünün ekstraktının sıçanda Sit P450 3A , 2C ve 2D1 gibi karaciğer mikrozomal enzimlerinin inhibisyon una neden olduğu, ancak insanda, Sit P450 1A2 'yi inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu nedenle teofilin gibi Sit P450 1A2 tarafından metabolize olan ilaçlarla etkileşme olasılığı nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır (47,48).
<i>Allium sativum</i> (Sarımsak)	<i>Alliaceae</i>	<i>Allium sativum</i> , tansiyon düşürücü, kolesterol düzeylerini azaltıcı, antineoplastik ve antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Sarımsağın içerdiği diallil sülfür bileşenlerinin sıçan Sit P450 enzimlerinde indüksiyona neden olduğu gösterilmiştir. Büyük olasılıkla insan Sit P450 3A4 enzimi üzerine benzer etki yaptığı ileri sürülmektedir. Ancak sarımsağın Sit P450 enzimleri üzerine bu etkisi henüz kanıtlanmamış olup, indüksiyon yerine tam tersine inhibisyon yaptığına dair çelişkili bulgular vardır. Söz konusu etkiler henüz netlik kazanmamıştır (47).
<i>Boswellia türleri</i> (Frankincense)	<i>Burseraceae</i>	<i>Boswellia</i> ağacının reçineleri eski çağlardan buyana inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Boswellic asidin <i>in vitro</i> olarak orta dereceden şiddetli düzeye kadar değişen ölçüde Sit P450 1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 ve 3A4 'ü inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle özellikle Sit P450 3A4'ün etkin olduğu ilaç metabolizmalarında değişikliklere yol açması beklenmektedir (47).
<i>Commiphora mukul</i>	<i>Burseraceae</i>	Hindistan'da kolesterolü düşürmek için kullanılan mukul ağacının reçine ekstresidir. Resin ekstresindeki guggulipidlerin sarı kantaron ile aynı derecede Sit P450 3A4 'ü indüklediği bildirilmiştir (47).
<i>Camellia sinensis</i> (çay)	<i>Theaceae</i>	Siyah ve yeşil çayın <i>in vitro</i> ortamda Sit P450 3A4 ve 2C9, 2C19, 2D6 üzerinde inhibitör etkileri vardır. Buna karşılık yeşil çay Sit P450 1A2 ve 4A1'i indükler (47).

Tablo 2.9. (Devam) Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler.

<i>Cimicifuga racemosa</i>	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Cimicifuga racemosa</i> 'nın kökleri ve rizomları menopoz semptomlarının ve menstrüel düzensizliklerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. 12 gönüllü ile yapılan bir araştırmada Sit P450 2D6 üzerinde hafif bir inhibitör etkisi olmasına karşın Sit P450 3A4 üzerinde önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır (47, 49).
<i>Citrus paradisi</i> (Greyfurt)	<i>Rutaceae</i>	Greyfurt suyuyla etkileşen ilaçlar, karaciğer ya da intestinal bölümde sitokrom P-450 enzim sistemiyle metabolize olan ilaçlardır. Greyfurt suyunun içerdiği flavonoidler (naringin) ve furanokumarinler (bergamotin) bu enzim sistemine bir substrat gibi bağlanarak enzimi inhibe etmekte ve biyoyararlanımı bozmaktadır. Greyfurt suyu intestinal Sit P450 3A4'ün inhibitörüdür ve etki 24 saat kadar uzayabilir. Ayrıca bergamotin insan karaciğerinde Sit P450 3A4 , 1A2 , 2E1 ve 2A6, 2C9, 2C19, 2D6 inhibitör üdür (47, 49, 50).
<i>Citrus grandis</i> (pumelo)	<i>Rutaceae</i>	Pumelonun insan Sit P450 3A4 inhibitörü olduğu bildirilmiştir (47).
<i>Citrus reticulata</i> (Mandalina)	<i>Rutaceae</i>	Mandalinada bulunan tangeretin flavonoidi <i>in vitro</i> ortamda Sit P450 3A4 indüksiyonu yapar (47).
<i>Coffea arabica</i> (Kahve)	<i>Rubiaceae</i>	Kahve, Sit P450 1A2 ve 4A1'i indükler (47).
<i>Echinacea purpurea</i> (<i>Echinacea</i>)	<i>Asteraceae</i>	Echinacea, <i>E. purpurea</i> 'nın toprak üstü kısımlarından ya da köklerinin taze sıkılmış suyundan elde edilir. Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde ve soğuk algınlığı semptomlarının giderilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Echinacea purpurea ekstraktının Sit P450 3A4 ve 2E1, 2C19, 2C9, 2D6'yı <i>in vitro</i> olarak inhibe ettiği, <i>in vivo</i> olarak ise hepatik Sit P450 3A4'ü indüklediği ve intestinal Sit P450 3A4'ü inhibe ettiği, aynı şekilde Sit P450 1A2'yı inhibe ettiği bildirilmiştir (47, 49).
<i>Evodia rutaecarpa</i>	<i>Rutaceae</i>	Bitkinin en önemli alkaloidi rutakarpindir. Yapılan bir araştırmaya göre rutakarpinin sıçanlarda Sit P450 1A2 indüksiyonuna neden olduğu ve bu nedenle insanda da teofilin metabolizmasını etkileyebileceği saptanmıştır (51).

Tablo 2.9. (Devam) Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler.

<i>Ginkgo biloba</i> (Japon eriği)	Ginkgoaceae	Ginkgo bilobanın beyinde kanlanmayı artırarak bellek ve konsantrasyon yeteneğini güçlendirdiği kanıtlanmıştır. Ginkgo bilobada bulunan ginkolik asit I ve II'nin <i>in vitro</i> olarak insan Sit P450 1A2 , 3A4 ve 2C9, 2C19, 2D6 enzimlerini inhibe ettiği saptanmıştır. Ginkgo bilobanın Sit P450 3A4 tarafından metabolize olan ilaçlarla etkileşme olasılığı vardır ancak bu durum klinik verilerle kanıtlanmamıştır (47, 49). Ancak ginkgo bilobanın ekstresinde bulunan flavonoidler ve bazı bileşenlerin <i>in vivo</i> olarak sıçanda yapılan bir araştırmada Sit P450 1A2 ve diğer Sit P450 enzimlerini indüklediği bu nedenle teofilinin metabolizma ve farmakokinetik özelliklerinde önemli değişiklikler yapabileceği ileri sürülmektedir (52).
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (Meyan)	Fabaceae	Bu bitkinin kökünün ekstresinde bulunan glabridin, antitussif ve antiinflamatuvar, sitotoksik, antimikrobiyal, östrojenik ve meme kanserinde antiproliferatif etki gibi farmakolojik etkilerden sorumludur. Glabridinin <i>in vitro</i> ortamda insan Sit P450 3A4 inhibitörü olduğu saptanmıştır (43, 47, 53).
<i>Glycine max</i> (Soya)	Fabaceae	Soya ve özellikle soyada bulunan genistein ve daidzein gibi isoflavonlar <i>in vitro</i> ortamda Sit P450 3A4 'ü güçlü bir şekilde inhibe ederler. Sit P450 3A4 tarafından metabolize olan ilaçları büyük olasılıkla etkiler (47).
<i>Hypericum perforatum</i> (Sarı kantaron, binbir delik otu)	Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i> yapısında en az 9 adet biyolojik olarak aktif kimyasal grup tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlileri naftodiantronlar (hiperisin gibi); flavonoidler (kamferol, kersetin, hiperosid v.b.); floroglusinoller (hiperforin gibi) ve esansiyel yağlardır. Hiperisin ve hiperforin, sarı karantonun antidepresan etkisi dahil olmak üzere gösterdiği klinik etkilerin çoğundan sorumlu tutulduğu için üzerinde en çok durulan bileşenleridir. Sarı kantaron enzim sisteminde yaptığı indüksiyon veya inhibisyon nedeniyle terapötik ilaç düzeyinin değişmesine neden olabilir. Hiperforinin insanlarda Sit P450 3A4 transkripsiyonunu artırarak karaciğerde Sit P450 3A4 ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca hiperisinin Sit P450 1A2 indüksiyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Diğer Sit P450 izozimleri üzerine olan etkisi konusunda görüşler tartışmalıdır (47, 54, 55).

Tablo 2.9. (Devam) Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler.

<i>Matricaria chamomilla</i> (papatya)	<i>Asteraceae</i>	<i>Matricaria chamomilla</i> 'nın Sit P450 3A4 ve 2C9, 2C19, 2D6'yı <i>in vitro</i> ortamda inhibe ettiği saptanmıştır. Ayrıca Sit P450 1A2 'yi sıçanda inhibe ettiği gösterilmiştir (47).
<i>Mentha piperitae</i> (Nane)	<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha piperitae</i> 'nin sıçanda Sit P450 1A2 aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (47).
<i>Panax ginseng</i> (Kore ginsengi)	<i>Araliaceae</i>	Geleneksel olarak tonik ve direnç artırıcı olarak kullanılır. Ginsengin insan Sit P450 izozimlerinden 3A4 ve 2C9, 2C19 ve 2D6'yı <i>in vitro</i> ortamda inhibe ettiği ileri sürülmüştür (47, 49).
<i>Piper methysticum</i> (Kava kava)	<i>Piperaceae</i>	<i>Piper methysticum</i> bitkisinin kök kısımlarından hazırlanan ekstrakt, anksiyolitik ve sedatif özelliklerinden dolayı Batı ülkelerinde bitkisel preparat olarak kullanılmaktadır. İçerdiği kavalaktonlar bu aktivitelerden sorumludur. Bunlardan kavain, yangonin ve metistisin aktivitenin % 95'ini oluşturur. Kava <i>in vitro</i> ortamda Sit P450 3A4 ve 1A, 2C9, 2C19 ve 2D6'yı güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve bu nedenle teofilin gibi Sit P450 3A4 tarafından metabolize olan ilaçlarla etkileşme olasılığı nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır (47, 49).
<i>Piper nigrum</i> (Karabiber)	<i>Piperaceae</i>	<i>Piper nigrum</i> 'da bulunan piperinin <i>in vivo</i> ortamda Sit P450 1A , 3A4 ve 2D6'yı inhibe ettiği belirlenmiştir (49).
<i>Polygonum multiflorum</i> (Fo-Ti)	<i>Polygonaceae</i>	<i>Polygonum multiflorum</i> kökünün yüksek konsantrasyonda Sit P450 1A2 , 3A4 ve 2C8, 2C9, 2C19, 2D6'yı inhibe ettiği saptanmıştır (49).
<i>Punica granatum</i> (Nar)	<i>Lythraceae</i>	Nar suyunun <i>in vitro</i> ortamda intestinal Sit P450 3A 'nın güçlü inhibitörü olduğu bildirilmiştir. Ancak hepatik Sit P450 3A üzerinde bir etkisi saptanmamıştır (47).
<i>Silybum marianum</i> (Meryemana Dikeni)	<i>Asteraceae</i>	Karaciğer fonksiyon bozukluklarında kullanılmaktadır. Meryemana dikeninde bulunan silibinin <i>in vitro</i> ortamda bir Sit P450 3A4 inhibitörü olduğu, <i>in vivo</i> bir çalışmada ise 3A4 aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (47, 49).
<i>Tanacetum parthenium</i>	<i>Asteraceae</i>	Migren tedavisinde ve profilaksisinde kullanılır. <i>In vitro</i> ortamda Sit P450 2C9, 2C19, 2D6 ve özellikle 3A4'ü inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Büyük olasılıkla Sit P450 3A4 tarafından metabolize olan ilaçların metabolizmasını etkileyebileceği düşünülmelidir (47).

Tablo 2.9. (Devam) Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bitkiler.

<i>Taraxacum officinale</i> (karahindiba)	<i>Asteraceae</i>	Sit P450 1A2 'yi sığanda inhibe ettiği belirlenmiştir (47).
<i>Trifolium pratense</i>	<i>Fabaceae</i>	İnsan Sit P450 3A4 enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir (47).
<i>Uncaria tomentosa</i> (Kedi pençesi)	<i>Rubiaceae</i>	Romatoid artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Bir Sit P450 3A4 inhibitörü olup , diğer Sit P450 izozimleri üzerine etkisiz olduğu bildirilmiştir (47).
<i>Valeriana officinalis</i> (Kediotu)	<i>Valerianaceae</i>	Uyku bozukluklarında kullanılan bir bitki olup, genellikle Sit P450 3A4 , 2C19 ve 2D6'yı <i>in vitro</i> olarak inhibe ettiği bildirilmiş, ancak klinikte bu etki saptanmamıştır. Akşamları aşırı dozda alınan kediotu ekstrelerinin Sit P450 3A4 aktivitesi üzerinde minimal etki gösterdiği, ancak 2D6 üzerinde herhangi bir etki yapmadığı saptanmıştır (47, 49).
<i>Vaccinium macrocarpon</i> (Cranberry)	<i>Ericaceae</i>	Sit P450 3A4 tarafından metabolize olan ilaçların biyoyararlanımının artması olasılığı vardır (47).

Tablo 2.10. Sitokrom P450 izozimlerinin aktivitesini etkileyen bazı diyet bileşenleri ve sigara içme ile kırmızı şarabın etkisi.

Besin/ksenobiyotik	Sit P 450'lerin aktiviteleri üzerine inhibisyon/indüksiyon etkileri
Karbonhidrat, protein	Düşük karbonhidrat, yüksek protein içeren diyet ve kömürde pişirilmiş ette bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar teofilin eliminasyonunu artırır (4).
Kırmızı şarap	Kırmızı şarapta bulunan bileşikler, özellikle resveratrol, Sit P450 3A4 , 1A ve 2E1 inhibisyonundan sorumludur. Bu etkileşme beyaz şarap ile görülmez (47).
Brokoli, Brüksel lahanası gibi sebzeler	Brokoli, Brüksel lahanası gibi sebzeler teofilin eliminasyonunu artırır (37).
Balık yağı	Balık yağının <i>in vitro</i> olarak Sit P450 3A4 ve 2C19, 2D6'yı inhibe ettiği belirlenmiştir (47).
Sigara	Sigara Sit P450 1A2 izozim indüksiyonu yapar. Sigara içenlerde teofilin klerensi sigara içmeyenlere göre % 58-100 daha fazladır (56).

2.2.3.4. Atılım

Teofilinin yeni doğanlarda yaklaşık olarak % 50'si değişmeden idrarla atılmaktadır. Ancak 3 aylıktan itibaren bu oran % 10'a düşer. Ana metabolitleri olan 1,3-dimetilürik asit (% 45-55), 1-metilürik asit (% 15-20) ve 3-metilksantin (% 10-15) idrarla atılır. Başta yeni doğanlarda olmak üzere kan teofilin konsantrasyonlarını izlemek etkin tedavi için önemlidir, ancak renal hastalığı olan kişilerde ise kaçınılmazdır (23). N-demetilasyon ve hidroksilasyon gibi oksidasyon reaksiyonuyla meydana gelen yukarıda belirtilen ana metabolitlerin oluşma oranı, metabolizmanın çeşitli faktörlere ve bu yolların kısıtlı kapasitelerine bağlı olarak değişir ve idrarla atılım, bazı hastalarda doğrusal olmayan kinetik modeli ile teofilinin 1 ml kanda 10 µg'dan düşük düzeylerinde başlayabilir (23). Çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda teofilinin oral yoldan uygulanmasını takiben elde edilen ana kinetik bilgiler Tablo 2.11'de verilmiştir. Tablo 2.12'de ise formülasyon tipinin teofilinin kinetiğine etkileri gösterilmiştir.

Tablo 2.11. Oral verilen teofilinin çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlardaki ana kinetik bilgileri (3, 4, 23, 26).

	C_{maks} (µg/ml)	Plazma proteinlerine bağlanma(%)	Sanal dağılım hacmi(l/kg)	t_{1/2} (saat)	T_{maks} (saat)	Klerens (ml/kg/dakika)
Oral						
Yetişkin sigara içmeyen	7,9 ± 0,6	Yaklaşık 40	0,50 ± 0,16	3-12	1-2	0,65 ± 0,20
Sigara içen	-	-	-	4	-	↑
Yaşlılık	-	↓	↔	1,6-18	-	0,21-0,61
Hamilelik	-	↓	↔	-	-	↔
Obezite	-	↓	↓	-	-	↓
Siroz	-	< % 36	↔	10-56	-	↓
Kronik kalp yetmezliği	-	-	-	↑	-	↓
Kistik fibrozis	-	↔	↑	↓	-	↑
KOAH	-	-	-	-	-	↔
Sağ kalp yetmezliği	-	-	-	↑	-	↓
Hepatit	-	-	-	↑	-	↓
Hipotiroidizm	-	-	↔	↑	-	↓
Hipertiroidizm	-	-	↔	↓	-	↑
Böbrek hastalıkları	-	-	↔	↔	-	↔
Pnömoni	-	-	-	-	-	↓
Ateş	-	-	-	-	-	↓
Çocuk	-	-	-	-	-	-
Sağlıklı yeni doğan	-	< % 36	-	24	-	↓
Prematüre bebek	-	-	↑	24-30	-	↓
4-52 haftalık bebek	-	-	-	3-14	-	-

↓ azalıyor; ↑ çoğalıyor, ↔ etki yok, - bilgi yok

Tablo 2.12. Formülasyon tipinin teofilinin kinetiğine etkileri (57-60).

	C_{maks} (µg/ml)	Sanal dağılım hacmi(l/kg)	t_{1/2} (saat)	T_{maks} (saat)	Klerens (ml/dakika/kg)	t_{1/2} abs (saat)
Oral						
Tablet						
Yetişkin						
½ x 250 mg	3,0-6,7	0,40-0,72	6,5-10,8	1,0-2,0	0,026-0,061	0,07-0,99
250 mg	5,0-12,1	0,38-0,57	5,9-10,4	1,0-3,0	0,028-0,048	0,14-1,21
3/2 x 250 mg	6,7-15,0	0,46-0,60	7,0-11,3	0,5-3,0	0,029-0,065	0,09-0,53
2 x 250 mg	10,7-20,5	0,38-0,74	6,6-12,4	0,5-3,0	0,026-0,051	0,10-1,37
Sürekli salınımlı tablet						
Yetişkin						
İncelenen 1.ilaç (350 mg)	2,3-10,9	-	-	5,3 ± 0,6	-	1,9 ± 0,26
İncelenen 2.ilaç (300 mg)	2,5-12,0	-	-	7,1 ± 0,8	-	2,9 ± 0,39
İncelenen 3.ilaç (250mg)	2,4-11,0	-	-	5,2 ± 0,4	-	2,0 ± 0,43
İncelenen 4.ilaç (250 mg)	2,1-10,0	-	-	5,6 ± 0,7	-	1,6 ± 0,25
Çocuk						
İncelenen 1.ilaç (250 mg)	14,6 ± 4,8	-		3,7 ± 2,4	-	
İncelenen 2.ilaç (250 mg)	11,1 ± 4,9	-		4,6 ± 3,4	-	
Süpozituar						
Yetişkin (500 mg)	14 ± 0,9	-	1,934	0,5	-	0,129
Çocuk			-	-	-	

2.4. Teofilinin Farmakodinamik Özellikleri

Daha önceden belirtildiği üzere teofilin, ana olarak solunum sistemi üzerinde bronkodilatör ve antiinflamatuvar etkisi nedeniyle uzun yıllardır astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca solunum sistemi dışında birçok sistem üzerinde de etkileri vardır.

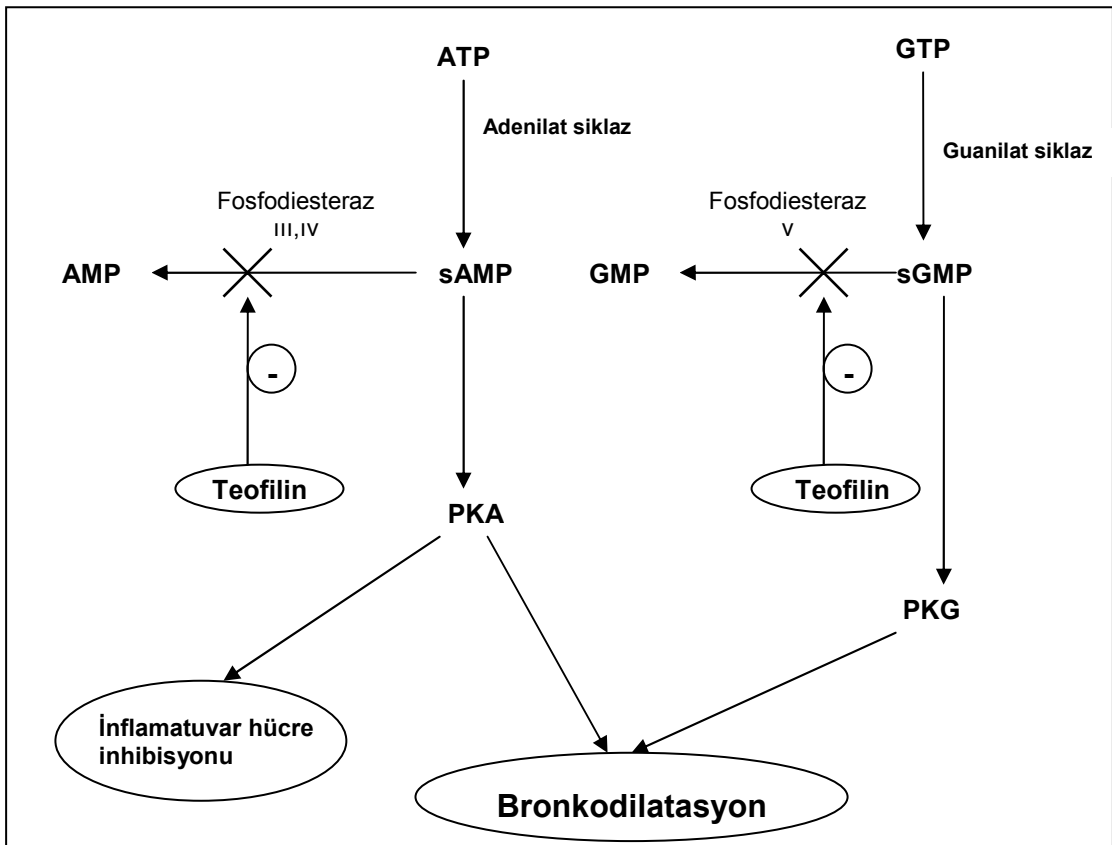
2.4.1. Teofilinin Bronkodilatör ve Antiinflamatuvar Etki Mekanizmaları

İlacın bronkodilatör etkisi için *fosfodiesteraz enzim inhibisyonu* ve *adenozin reseptör antagonizmasına* dayanan iki temel mekanizma ileri sürülmektedir. Antiinflamatuvar etki mekanizması için ise FDE inhibisyonu dahil pek çok mekanizma bildirilmektedir (19). Teofilinin etkisi altında yatan ana biyokimyasal mekanizmalar şu şekilde sıralanabilir (19):

- Nonselektif fosfodiesteraz enzim inhibisyonu
- Adenozin reseptör antagonizması (A_1 , A_{2A} , A_{2B} , $P2Y_{15}$)
- İL-10 salınımında artış
- Kateşolamin (epinefrin) salınımının stimülasyonu
- Mediyatör inhibisyonu (Prostaglandinler, $TNF-\alpha$)
- Hücre içi kalsiyum salınımının inhibisyonu
- Nükleer translokasyonun inhibisyonu ($NF-\kappa B$ inhibisyonu)
- Fosfoinozitol 3-kinaz inhibisyonu
- Baskılanmış apoptozisin indüklenmesi
- Histon deasetilaz aktivitesinin artırılması (kortikosteroidlerin etkinliğini arttırıcı etki)

2.4.1.1. Fosfodiesteraz Enzim İnhibisyonuna Dayanan Mekanizma

Teofilinin, bronş düz kaslarını, hücre içindeki siklik 3,5-adenozin ve siklik 3,5-guanozin monofosfat (sAMP ve sGMP)'lar gibi siklik nükleotidlerin yıkımından sorumlu olan fosfodiesteraz enzimini (FDE'ler) nonselektif olarak inhibe ederek başta hücre içi sAMP düzeyini yükseltmek suretiyle gevşettiği ileri sürülmüştür (2, 19, 61, 62). İlâveten teofilin, inflamasyon hücrelerindeki mediyatör maddelerin sentez ve salınımının inhibisyonuna neden olur. FDE enzimleri bir süper gen ailesi olup, çok sayıda izozimi vardır. Bunlardan hücre işlevleri bakımından en önemlileri FDE1-FDE6 izozimleridir. Teofilinin bronş düz kaslarında baskın olan FDE3 başta olmak üzere FDE izozimlerini inhibe etmesi bronkodilatör etki göstermesine neden olmaktadır (2). Şekil 2.8'de teofilinin fosfodiesteraz enzimi üzerine etkisi gösterilmiştir (63).

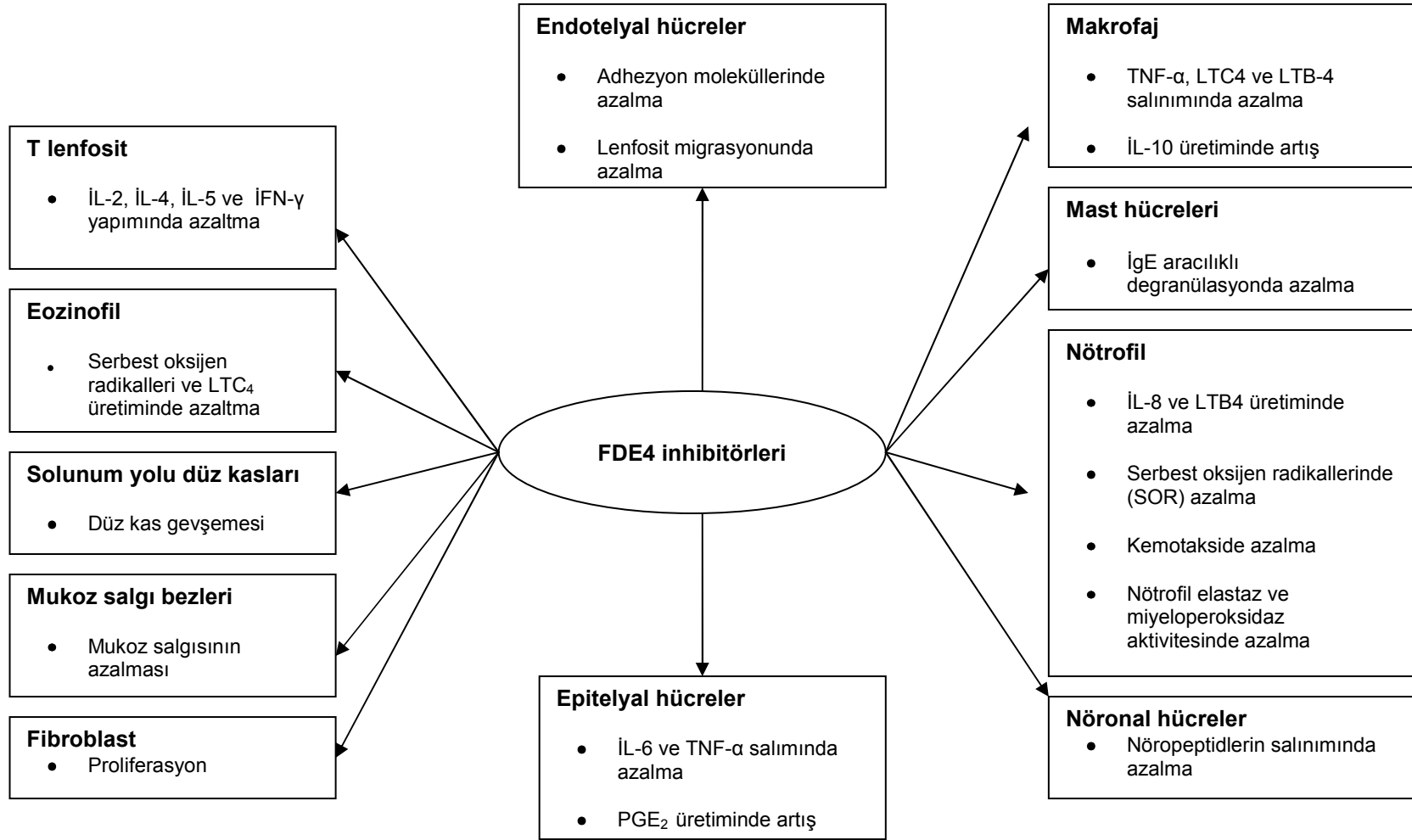


* PKA- Protein Kinaz A, ** PKG- Protein Kinaz G

Şekil 2.8. Teofilinin fosfodiesteraz enzimi üzerine etkisi (63)

Teofilinin astma ve KOAH'daki antiinflamatuvar etkisi hakkında her geçen gün kanıtlar artmaktadır (19). Antiinflamatuvar etkisi zayıf olsa da bu etkisinin altında yatan birçok mekanizma ileri sürülmektedir. Bunlar arasında en önemli mekanizma FDE4 inhibisyonuna dayalı mekanizmadır (64). Teofilin proinflamatuvar hücrelerde baskın olan FDE6 ve özellikle FDE4 izozimlerini inhibe ederek antiinflamatuvar ve immonomodulator etki göstermektedir. Teofilin gibi FDE4 inhibitörlerinin olası antiinflamatuvar ve immünomodulator etkileri Şekil 2.9'da gösterilmektedir (65).

KOAH ve astım inflamasyonunda önemli rol oynayan FDE4, nötrofil, eozinofil, makrofaj, mast hücreleri ve lenfositler gibi solunum yolunda bulunan proinflamatuvar hücrelerde tanımlanmıştır (62, 64). Teofilinin KOAH'lı olgularda, balgamda nötrofil, eozinofil ve diğer inflamatuvar hücrelerin oranında ve İL-8, İL-5 gibi sitokinlerin konsantrasyonunda düşmeye ve nötrofil kemotaktik yanıtın azalmasına neden olduğu saptanmıştır (19, 61, 66). KOAH'lı hastalarda yapılan başka bir araştırmada 4 haftalık teofilin tedavisinden sonra nötrofil, İL-8 ve miyeloperoksidaz düzeyinde önemli azalma görülmüştür (66). Diğer taraftan yüksek dozlardaki teofilin, yaygın antiinflamatuvar etkileri olan İL-10 salımını artırır (19, 61).



Şekil 2.9. PDE4 inhibitörlerinin olası antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri (65).

2.4.1.2. Adenozin Reseptör Antagonizması İle İlişkili Mekanizma

Adenozinin normal solunum yolu düz kası üzerindeki etkileri oldukça zayıftır. Ancak astım hastalarının solunum yollarında histamin ve lökotrien salınımını tetikleyerek bronkokonstrüksiyona neden olmaktadır (61). Bu olaylara insandaki A_{2B} ve sıçandaki benzer rolü olan A_3 reseptörünün aracılık ettiği bildirilmektedir (2, 67). 2004 yılında yeni bir AMP reseptörü olarak $P2Y_{15}$ tanımlanmıştır (68). Terapötik dozlarda teofilin, adenozin reseptör antagonisti olması nedeniyle bronkodilatasyona yol açmaktadır. Özellikle A_1 ve A_2 reseptörleri üzerindeki inhibitör etkisi, A_3 reseptörlerinden daha fazladır. Ayrıca teofilin, $P2Y_{15}$ reseptörünün güçlü bir inhibitörüdür. Bu nedenle, bu reseptör, klinik olarak önem taşımaktadır (2, 19, 68). Teofilinin kardiyak aritmi ve epileptik nöbete benzer ciddi yan etkilerinden A_1 reseptör blokajının sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (19, 65).

2.4.1.3. Histon Deasetilaz (HDAC) ile İlişkili Mekanizma

Teofilinin düşük/terapötik dozlarda HDAC aktivitesini artırdığı ve böylece inflamatuvar genlerin ifadesini baskıladığı gösterilmiştir (19, 61). Teofilinin terapötik konsantrasyonlarında ortaya çıkan bu etki, daha yüksek konsantrasyonlarda kaybolmaktadır (19, 61, 69). Bu etkinin FDE inhibisyonundan bağımsız olduğu ileri sürülmektedir (70). Düşük/terapötik doz teofilinin HDAC üzerindeki etkisinin altında yatan mekanizmalar henüz bilinmemesine rağmen, düşük doz teofilinin astım hastalarının bronşiyal biyopsi örneklerinde HDAC aktivitesinde önemli ölçüde artışa neden olduğu saptanmış ve bu artışın hava yollarındaki eozinofil düzeyindeki azalma ile orantılı olduğu bildirilmiştir (70). Teofilinin hücrenin nükleus kısmında etkili olduğu ve membran reseptörlerine gereksinim göstermediği bildirilmektedir (70). Bu olayın altında oksidatif stres ile ilişkili olan veya olmayan sinyal ileti mekanizmalarının olduğu ve/veya antioksidan savunma mekanizmalarının, -kesinleşmemekle birlikte- etkilendiği, bunun sonucu olarak oksidatif stres üretiminin teofilin ile azaltıldığı veya önlendiği ileri sürülmektedir. Oksidatif stres etkisi ile azalan HDAC aktivitesi, teofilin ile yeniden normale döndüğü

için, teofilinin HDAC üzerindeki bu etkisinin oksidatif stres üretiminin arttığı durumlarda belirginleştiği bildirilmektedir (19, 70). Düşük/terapötik doz teofilinin HDAC üzerindeki etkisi nedeniyle kortikosteroidlerin antiinflamatuvar etkisine direnci kırdığı ve teofilin bu ilaçlarla birlikte kullanıldığında daha güçlü antiinflamatuvar etki beklenebileceği ileri sürülmüştür (61, 69, 71, 72).

2.4.1.4. Oksidatif Stres ile İlişkili Mekanizma

Astım, solunum yolunun kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Bu nedenle serbest oksijen radikalleri (SOR), lenfosit, eozinofil, nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerden ve inflamatuvar olmayan solunum epitel hücrelerinden salınarak inflamasyon alanındaki doku hasarında önemli rol oynar (73). İnflamatuvar olaylarda oksijen radikallerinin salınımının artması, bu radikallerin astım patofizyolojisinde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (74). Çeşitli çalışmalarda teofilinin alveoler makrofajlar ve mononükleer hücrelerden süperoksit salınımını önemli ölçüde azalttığı ve insan alveoler makrofajlarında hidrojen peroksit oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (75, 76). 2007 yılında yapılan bir çalışmada (74) da teofilinin insan monositlerinde SOR üretimini doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir. Teofilinin antiinflamatuvar etki mekanizması altında SOR aracılıklı etkilerin de önemli olduğu açıktır.

2.4.1.5. İnflamatuvar Genlerin Transkripsiyonu ve Nükleusa Translokasyonunu Etkileme ile İlişkili Mekanizma

Yüksek doz teofilin, transkripsiyon düzeyinde, bir proinflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin nükleusa translokasyonunu önlemektedir. Böylece astım ve KOAH'daki inflamatuvar genlerin ekspresyonunu azaltır (19, 65).

2.4.1.6. Kinazlar ve Kemotaksi Üzerine Etki ile İlişkili Mekanizma

Teofilinin doğrudan fosfoinozitol 3-kinazları inhibe ettiği gösterilmiştir. Teofilinin, oksidatif strese yanıtta rol oynayan, fosfoinozitol 3-kinaz (p110) δ alt birimini daha yüksek güçte inhibe ettiği ve buna karşılık da nötrofil ve monositlerin kemotaktik yanıtında rol oynayan fosfoinozitol 3-kinaz γ alt birimini daha zayıf şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu bilgiler teofilinin kemotaksi üzerindeki inhibitör etkisini açıklamamaktadır (19).

2.4.1.7. Apoptoz Aracılıklı Mekanizma

KOAH'taki kronik inflamasyonda apoptozun baskılanması sonucu granülositlerin yaşam sürelerinin uzaması önemli olabilir. Teofilinin *in vitro* ortamda nötrofillerde, apoptozisi tetiklediği bildirilmiştir. Ayrıca teofilinin antiapoptotik bir protein olan Bcl-2'nin azalmasına yol açtığı ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Diğer yandan teofilin, T lenfositlerinde apoptozisi indükler ve bu durum lenfositlerin yaşam süresini azaltır (19).

2.4.1.8. Diğer Mekanizmalar

Yüksek doz teofilinin, endojen kateşolamin salınmasında artışa, inflamatuvar hücrelere kalsiyum girişinin inhibisyonuna, prostaglandinlerin inhibisyonuna ve TNF- α 'nın antagonize olmasına neden olduğu bildirilmektedir. Teofilinin bu etkilerinin antiinflamatuvar etki mekanizmasına katkı yapabileceği ileri sürülmektedir (19).

2.4.2. Teofilinin Solunum Sistemi Dışında Diğer Sistemlere Etkileri

2.4.2.1. Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkisi

Teofilin santral sinir sistemini stimüle eder ancak bu etkisi, diğer bir metilksantin türevi ilaç olan kafein kadar güçlü değildir. Metilksantinlerin SSS'ni stimüle edici etkilerinin, bu ilaçların nöronların fosfodiesteraz enzimini bloke etmelerine ve böylece sAMP düzeyini yükseltmelerine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca metilksantinlerin stimulan etkisi, SSS'deki adenozerjik nöromodülatör sistemin sinir uçlarından salıverilen veya diğer tür sinirlerin uçlarından bir nöromodülatör olarak salınan adenozeni antagonize etmelerine bağlıdır. Teofilin, beyin omurilik sıvısı (BOS)'nın oluşumunu ve basıncını, beyin damarlarını büzmesine bağlı olarak azaltır (2).

2.4.2.2. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkisi

Teofilinin kardiyovasküler sistem üzerinde belirgin etkileri vardır. Kalpte orta ve yüksek dozlarda belirgin pozitif inotrop ve kronotrop etki yapar. Bu etkiler, endojen adenozen'in etkisini antagonize etmesine ve hücrede sAMP düzeyini ve Ca^{++} 'un hücre içine girişini arttırmasına bağlıdır. Teofilin, kalbin debisini, yaptığı işi ve oksijen tüketimini fazlalaştırır ve koroner kan akımını artırır. Beyin damarları hariç damarlarda genellikle genişleme yapar ve periferel damar rezistansını düşürür (2, 63).

2.4.2.3. Renal Sistem Üzerindeki Etkisi

Metilksantinler, özellikle teofilin, glomerüler filtrasyon hızı (GFH)'nı arttırarak ve sodyumun geri emilmesini azaltarak hafif diüretik etki gösterirler (63). Ayrıca teofilinin kontrast madde nefropatisinin proflaksisinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Kontrast madde nefropatisi, iyotlu kontrast maddelerin tanısall ve tedavi amaçlı kullanımının artmasıyla birlikte, akut böbrek yetersizliğinin önemli nedenlerinden birisi haline gelmiştir. Renal

vazokonstriktör etkileri olduğu bilinen adenezine karşı, teofilin gibi antiadenozin ilaçların nefroprotektif etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (77).

2.4.2.4. Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Etkisi

Teofilin, kafein kadar olmasa bile midede asit ve pepsin salgısını artırır. Bu etkinin, midenin asit salgılayan hücrelerinde sAMP üzerinden meydana gelmediği, bu etkinin oluşmasında lokal refleksle pentagastrin-histamin sisteminin ve kolinerjik sistemin uyarılmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Asit salgısı üzerindeki etki, atropinle kısmen ve histamin H₂-reseptör blokörleri ile tamamen inhibe edilir (2).

2.4.3. Teofilinin Koruyucu Etkisi

Teofilinin anti-kanser etkinliğinde değişik mekanizmaların rol alması mümkündür. Deney hayvanlarındaki bir melanom modelinde teofilinin tümör hacmini azalttığı ve anjiyogenez sürecini anlamlı derecede kısalttığı tespit edilmiştir (78). Teofilin, melanom hücrelerinin çoğalmalarını baskılamakta, Tip IV kollagen 'laminin'e bağlanma yeteneğini düşürdüğünden tümörün invazyon ve metastaz potansiyelini de azaltmaktadır (79) Teofilin, hücre iskeletini oluşturan mikrotübül ağının özgün bileşenlerini fosforile ederek hücre iskeletini yeniden yapılandırır ve kanser hücrelerinin hareket yeteneğini değiştirir (80, 81). Teofilin, insan meme kanseri hücrelerinde DNA, protein sentezini azaltmakta (82), ayrıca bu hücrelerde SOR üretimini artırmaktadır (83). Bu nedenle belirli kanser türleri için anti kanser etkinliği olduğu bildirilmektedir. Deneysel çalışmalarda anti-kanser etkinliği bildirilen teofilinin tedavide kullanılan dozlarındaki etkinliği de araştırılmıştır. Teofilinin 20-25 µg/ml konsantrasyonlarda insan over, prostat ve akciğer kanseri hücrelerinde düşük oranda apoptozu indüklediği, daha düşük konsantrasyonlarda ise cisplatin gibi bazı kanser ilaçlarının apoptoz yapıcı etkilerini arttırdığı bildirilmiştir. Bu nedenle teofilin, sitotoksik ilaçlarla birlikte kullanıldığında aynı

düzeyde apoptoz oluşması için gereken sitotoksik ilaç dozlarının 2-3 kat azalmasına olanak sağlamıştır. Teofilinin sAMP düzeylerini arttırmasına bağlı olarak apoptozu artırıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Çünkü sAMP artışının Bcl-2'nin ve p53 geni üzerindeki etkisi ile apoptoz tetiklenir (80, 84). Teofilinin yukarıda tanımlanan kanserler dışında kronik lenfositik lösemi (KLL) hücrelerinde de apoptozu arttırdığı gösterilmiştir (85).

2.5. Teofilinin Yan Etkileri

Teofilinin yan etkilerinin görülme sıklığı plazma konsantrasyonuyla yakından ilişkilidir. Plazma düzeyi 20 µg/ml'yi aştığında yan etkiler sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Terapötik plazma konsantrasyonuna ulaşana kadar yavaş yavaş doz artırılmalıdır. Böylece olası yan etkiler azaltılır (19). Baş ağrısı, bulantı, kusma, gastroözofajiyal reflü, dispeptik yakınmalar ve diürez, teofilinin en sık görülen yan etkileridir. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise konvülziyonlar, kardiyak aritmi ve ölüm görülebilir (2, 19).

Santral sinir sistemi stimülasyonu, kardiyak aritmiler, gastrik hipersekresyon, gastroözofajiyal reflü, diürez ve epileptik nöbete benzer gibi yan etkilerin adenosin reseptör, özellikle A1 reseptör, antagonizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu yan etkiler selektif FDE inhibitörleri ile görülmez (19). Diğer yandan bulantı, kusma, gastrointestinal semptomlar ve baş ağrısı gibi yan etkiler, belirli FDE'ların inhibisyonuna bağlıdır (19, 65). Teofilinin yan etkilerini önlemek için uygulanan teofilin dozunun önemi kadar teofilin ile birlikte kullanılan ilaç, ksenobiyotik, bitki ve alınan besinler ile etkileşmelerine dikkat edilmelidir (19).

2.6. Teofilin ile Zehirlenme ve Tedavi Yaklaşımı

Teofilin ile zehirlenme, ilacın akut alımından ziyade kronik alımı nedeniyle meydana gelir (4). Teofilin zehirlenmesinin başlıca belirtileri hiperventilasyon, masküler tremor, taşikardi, ajitasyon, karın ağrısı, bulantı ve

kusmadır. Şiddetli zehirlenmelerde hipokalemi, hiperglisemi, laktik asidoz, kardiyak aritmiler, hipotansiyon, konvülsiyonlar, epileptik nöbetler ve ölüm görülebilir. Kişide var olan karaciğer hastalığı, kalp hastalığı, metabolik asidoz, önceden bulunan hipokalemi ve ileri yaş, teofilin ile zehirlenme riskini artırır (2, 86, 87). Ayrıca aşırı doz teofilin pankreatit gelişimini tetikleyebilir. Bu komplikasyonda erken tanı ve destekleyici tedavi önemlidir (88). Prematüre apnesi için teofilin alan yenidoğanlarda, teofilin, uyku durumu bozukluklarına neden olabilir. Ancak davranış ve algılama üzerine etkileri henüz kesinleşmemiştir. Bununla beraber astmatik çocuklarda teofilinin depresyona ve hiperaktiviteye ve diyabetik ketoasidoza neden olabileceği hakkında bazı veriler mevcuttur (4, 89). Akut teofilin zehirlenmesi olgusunun potansiyel olarak fatal kabul edilmesi ve hastanın yakından izlenmesi gerekir (2). Tedavisi için, kardiovasküler ve pulmoner sistem desteklenmeli ve aritmiler kontrol altında alınmalı, elektrolit ve asit-baz denge bozukluğu, özellikle hipokalemi, acilen düzeltilmelidir. Mide yıkanır, ağızdan aktif kömür verilerek absorpsiyon azaltılır ve ağır olgularda, olanak varsa hemoperfüzyon veya hemodiyaliz uygulanmalıdır (2, 86). Konvülsiyon ve nöbetlerin tedavisi ve profilaksisine karşı i.v. diazepam tek başına, gerekirse fenitoin veya fenobarbital ile birlikte uygulanır (2). Ayrıca ventriküler aritmilerde fenitoin, lidokain yerine iyi bir seçenektir (4). Sonuç olarak teofilinin, kronik ve yüksek dozda özellikle geriyatrik grupta kullanımı zehirlenme açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle plazma teofilin düzeylerinin izlenmesi gerekmektedir (4, 86).

2.7. Teofilinin Hamilelikte ve Laktasyonda Kullanımı

Teofilinin gebelerde kullanımına ilişkin insanda yapılmış yeterince araştırma yoktur. Ancak farelerde ve sıçanlarda teratojenite riskinde bir artış görülmüştür. Teofilinin teratojenik etkisi olmadığı ve gebelerde kullanılabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte genel kural olarak mecbur kalınmadığı sürece ilacın kullanılmaması önerilmektedir. Gebelikte kullanım sınıflandırılması C kategorisinde yapılmaktadır (23).

Teofilin astım tedavisinde senelerce kullanılmasına rağmen, ilaca bağlı konjenital malformasyon rapor edilmemiştir. Teofilinin preklampsi oluşturmada, preklampsiyi azalttığı veya arttırdığı veya hiç ilişkili olmadığı konusunda çelişkili görüşler vardır. Ancak bu konu açıklık beklemekte olan bir konudur (90, 91).

Hamilelik dönemi teofilinin eliminasyonu üzerinde değişik düzeyde etki yapar. Glomerüler filtrasyon hızındaki artış teofilinin hamilelikteki eliminasyon hızındaki artış ile ilişkilidir. Buna karşın, teofilinin karaciğerdeki metabolik eliminasyonu azalır. Hamileliğin 3. trimestirinde teofilin eliminasyon hızında yaklaşık % 30 oranında bir azalma meydana gelir (4). Hamilelik döneminde Sit P450 1A2 ve NAT2 düzeylerinde azalma yönünde değişiklik olmasının, teofilin metabolizmasında önemli değişikliklere yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (92).

Teofilinin anne ve kordon kanında yaklaşık aynı düzeyde olduğu saptanmıştır (3). Teofilinin anne kanındaki düzeyi 20 µg/ml'den yüksek olduğunda fötusda taşikardi meydana gelebilir. Yeni doğanda teofilin düzeyleri 10 µg/ml'den yüksek olduğunda ise kusma, taşikardi, huzursuzluk gibi toksisite belirtileri rapor edilmiştir. Doğum sırasında anne kanındaki teofilin düzeyi > 12 µg/ml ise bu belirtiler daha sıklıkla görülmektedir (4). Hamilelik dönemlerine ve bu dönemdeki farklı beslenme düzenlerine bağlı olarak teofilinin metabolizmasında görülen değişiklikler önemli bireysel farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle kan ve idrar düzeylerinin izlenmesi gerekmektedir (4).

Teofilin anne sütü içinde itrah edilir ve sütteki konsantrasyonu yaklaşık anne serumundaki konsantrasyonuna eşittir. Bu nedenle annenin serum teofilin konsantrasyonu toksik düzeyde olmadığı sürece bebekte zehirlenme oluşturmaz (23).

2.8. Teofilinin Pediatrik Kullanımı

Çocuk hastalardaki onaylanmış indikasyonlarda teofilin kullanımı güvenli ve etkilidir. Pediatrik hastalarda teofilinin klerensindeki değişimlerden dolayı teofilinin idame dozu dikkatli seçilmelidir (22, 23). Bir yaş altındaki çocuklarda metabolik yollar yeterince olgunlaşmadığı için doz seçimine özellikle dikkat edilmeli ve teofilinin serum düzeyleri sıklıkla izlenmelidir (23).

2.9. Teofilinin Geriatrik Kullanımı

Yaşlı hastalar, teofilinin yaşa bağlı olarak farmakodinamik ve farmakokinetik değişikliklerden dolayı meydana gelebilecek ciddi toksisite açısından önemli bir risk grubunu oluştururlar. 60 yaşından daha büyük hastalarda teofilinin klerensinin azalması, serumdaki konsantrasyonlarında artışa neden olur. Proteinlere bağlanma oranı yaşlılarda azalabilir ve buna bağlı olarak kanda teofilinin farmakolojik olarak aktif olan, bağlı olmayan formu artar. Ayrıca geriatrik grup, gençlerle karşılaştırıldığında kronik olarak aşırı alımlarda teofilin toksisitesine daha duyarlıdır. Bundan dolayı 60 yaş üzeri grupta doz ayarlanması büyük önem taşımaktadır (22, 23).

2.10. Türkiye’de Bulunan Teofilin İçeren Preparatlar

Tablo 2.13’de Türkiye’de bulunan teofilin içeren preparatlara ait bilgiler verilmiştir (93).

Tablo 2.13. Türkiye’de Bulunan Teofilin İçeren Preparatlar (93).

Preparat İsmi	Etken Madde	Firma	Farmasötik şekil	Etken Madde Miktarı
AMİNOCARDOL i.v. Ampul	<u>Teofilin</u> <u>etilendiamin</u>	<u>Novartis</u>	Ampul	240 mg
BRONKOLİN 300 (Retard Tablet)	<u>Teofilin</u> anhidr	Adeka	Tablet	300 mg
PIRASMİN Tablet	<u>Teofilin</u>	Carlo Erba	Tablet	250 mg
TALOTREN Kapsül	<u>Teofilin</u>	Novartis	Kapsül	200 mg, 30 pellet kapsül. 350 mg, 30 pellet kapsül
TEOBAG Solüsyon	<u>Teofilin</u> (% 5 dekstroz çözeltilisinde)	<u>Eczacıbaşı-</u> <u>Baxter</u>	Solüsyon	80- 200 mg/100 ml
TEOKAP SR Mikropellet Kapsül	<u>Teofilin</u>	Nobel	Kapsül	100- 200-300 mg
THEO-DUR Tablet	<u>Teofilin</u>	<u>Schering</u> <u>Plough</u>	Tablet	100- 200-300 mg
XANTHIUM 200 Mikropellet Kapsül	<u>Teofilin</u> <u>monohidrat</u>	<u>Galephara</u>	Kapsül	200 mg

2.11. Biyolojik Sıvıda Teofilin Ölçüm Yöntemleri

Teofilin ülkemizde ve dünyada yaygın olarak uzun yıllardır astım ve KOAH tedavisinde hem yetişkin, hem de çocuklarda kullanılmaktadır. Teofilinin etkin ve güvenli kullanımı, daha önce belirtildiği üzere, uygun ve doğru dozlanmasıyla mümkündür. Doğru dozlanması başta kan düzeyi olmak üzere çeşitli biyolojik sıvılarda izlenmesi ile sağlanmaktadır.

Bu nedenle ilk olarak 1949 yılında, Schack ve Waxler tarafından teofilinin kandan ekstraksiyonunu takiben serumda ölçülmesini sağlayan spektrofotometrik bir yöntem tanımlanmıştır (94). Bu yöntem 1975’de Jatlow tarafından modifiye edilmiştir (94). 1978’de ise Hohnadel ve arkadaşları tarafından teofilin için bir ultraviyole spektrofotometrik mikroölçüm yöntemi tanımlanmıştır (95, 96). Bu tez çalışmasında da bu yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Literatürde teofilin analizi için çeşitli spektrofotometrik yöntemler uygulanmıştır (97-99). Teofilin için ayrıca, biyolojik sıvılara ekstraksiyonu takiben ince tabaka kromatografisi (İTK) ve plak okuyucu kullanarak nicel tayin tanımlanmıştır (100). Teofilin analizi için florometrik bir ölçüm yöntemi ile (101) proton manyetik rezonans spektroskopik bir yöntem bildirilmiştir (102).

Teofilinin biyolojik sıvılarda saptanması amacıyla, gaz-sıvı kromatografisi (GLC) (103), gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) (104-106), sıvı-kromatografi-kütle spektroskopisi (LC-MS) (107-110), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) (111-115), yüksek performanslı sıvı kromatografisi-ince tabaka kromatografisi (YPİTK) (116), çoklu enzim immunoassay tekniği (EMİT) (99, 117-119) ve radyoimmunoassay (RIA) (120) yöntemleri kullanılmaktadır.

Teofilin kan (97, 110, 113), idrar (114, 121), tükürük (118-120) ve göz yaşı (122) gibi biyolojik sıvılarda çeşitli ön işlemler (111, 121, 123-126) kullanarak yukarıda belirtilen yöntemlerle ölçülebilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Teofilin	Nobel ilaç firmasından sağlandı
Metanol	Fluka
Metanol (YBSK'ne uygun)	Sigma
Kloroform	Merck
İzopropanol	Fluka
Amonyum klorür	Merck
Sodyum hidroksit	Riedel

3.1.2. Kullanılan Aletler

Spektrofotometre	Shimadzu UV-1601
YBSK sistemi	Hewlett Packard, Agilent 1100 serisi
Otomatik Örnekleyici	Agilent 1100 serisi (G1313A)
Pompa	Agilent 1100 serisi (G1311A)
Ultraviyole detektör	HP Agilent 1100 serisi, (G1314A), 280 nm
Kolon	
Oktadesil Silikajel 2-Spherisorb C18 (25 cm x 4,6 mm), 5 µm	Capital HPLC Ltd.
Koruyucu Kolon 5C18-10C	Hichrom
Bilgisayar	HP
Bilgisayar programı (YBSK için)	HP ChemStation
Yazıcı	HP Lazer 1310
Deiyonize su cihazı	Barnstead
Hareketli faz süzme düzeneği	Neuberger
Filtre Kağıdı (0,2 µm)	Alltech Associates Inc

pH-metre	NEL, pH 890
pH-metre elektrodu	Hanna, HI 1131
Manyetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Terazi	Schimadzu Libror EB-330D
Mikroterazi	AND GR-202
Mikropipet (100, 1000 µl)	Eppendorf
Kuvartz küvet	Hellma
Santrifüj cihazı	Hettich Universal 30 RF
Etüv	Dedeoğlu
Vorteks	Janke & Kunkel VF 2
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Buzdolabı	Arçelik
Plastik polipropilen vida kapaklı tüp (12 x 1,7 cm)	
Vida kapaklı cam tüp (10 x 1,4 cm)	
Amber vial (32 x 11,6 mm)	

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- a) **0.03 M Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisi:** 0.3 g sodyum hidroksit tartılıp balon joje içerisinde deiyonize su ile çözülerek 250 ml'ye tamamlandı.
- b) **2 M Amonyum Klorür (NH₄Cl) Çözeltisi:** 2.674 g amonyum klorür tartılıp balon joje içerisinde deiyonize su ile çözülerek 25 ml'ye tamamlandı.
- c) **Teofilin Stok Çözeltisi (1 mg/ml):** 250 mg teofilin balon joje içerisinde metanol ile çözülerek 250 ml'ye tamamlandı. -20°C'de ışıktan korunarak saklandığında en az bir ay süreyle dayanıklıdır.
- d) **Ekstraksiyon Çözücü Sistemi:** Kloroform/ izopropanol (20:1, h/h).
- e) **Hareketli faz:** Metanol: Su, (60: 40, h/h)

3.2.2. Örnek Seçimi

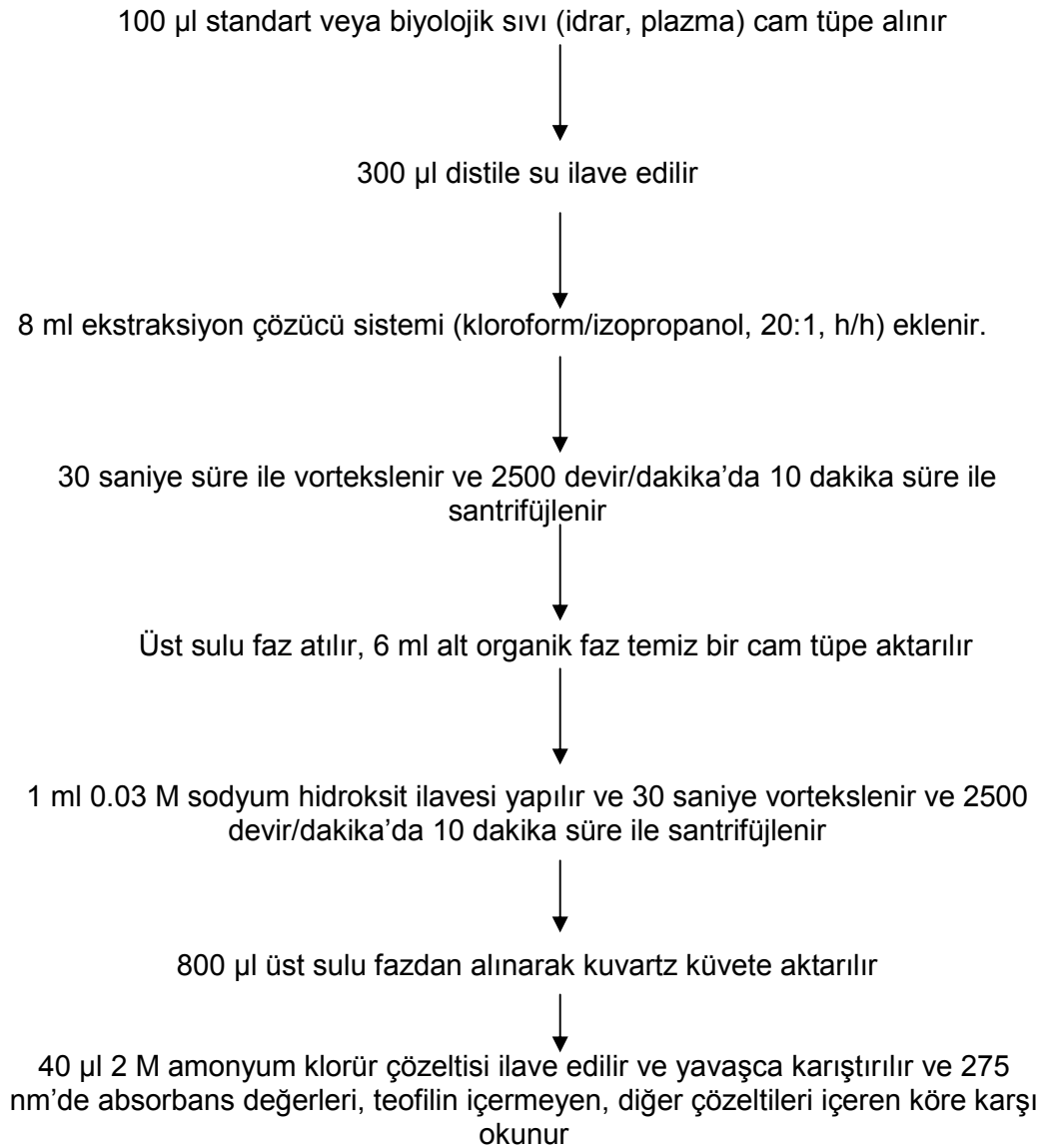
Teofilin ölçümlerinde kullanılmak üzere Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Kan Bankası'ndan teofilin kullanmadığı sorgulanan donörlerden alınan, ancak kullanılmayan, kan örnekleri sağlandı. İdrar örnekleri ise teofilin kullanmayan gönüllü personelden alındı.

Kan örnekleri 15 dakika süre ile 3500 devir/dakika'da santrifüj edildikten sonra elde edilen plazma örnekleri küçük porsiyonlar halinde analize kadar -20°C'de saklandı. İdrar örnekleri ise analiz günü alınarak kullanıldı. Her bir idrar örneğinin pH ölçümü yapılarak kaydedildi.

3.2.3. Spektrofotometrik Yöntemin Prensibi ve Uygulanışı

Bu çalışmalarda uygulanan yöntemin temel prensibi; örneklerden teofilin öncelikle bir organik çözücü sistemine ekstrakte edilir. Takiben organik çözücü fazı alınıp sodyum hidroksit çözeltisi ile geri ekstraksiyon yapılır. Sodyum hidroksit fazı kuvartz küvete alınıp üzerine amonyum klorür çözeltisi ilave edilerek absorbansın UV spektrofotometrede 275 nm'de ölçülmesi esasına dayanır (95, 96).

Yöntemin uygulanışının detayları:



3.2.4. Teofilinin Standart Doğrusunun Hazırlanması

3.2.4.1. Teofilinin Su ve Metanoldeki Çözeltileri ile Standart Doğrunun Hazırlanması ve Stok Çözeltinin Dayanıklılığının İzlenmesi

Teofilinin 190 ile 500 nm arasındaki spektrum örneği alındı. Teofilin standart doğru çalışmaları, teofilinin su veya metanol ile hazırlanan stok çözeltisinden (1 mg/ml'lik stok çözelti) hareketle 5, 10, 20, 50 ve 100 µg/ml'lik standart çözeltilerinin hazırlanması ve uygulanan spektrofotometrik yöntemi takiben elde edilen absorbans değerlerinin y eksenine ve konsantrasyonların x eksenine yazılması ile standart doğrular oluşturuldu.

Teofilinin metanoldeki stok çözeltisinin -20°C'de en az bir ay süreyle depolandığında dayanıklılığını incelemek amacıyla 3 farklı konsantrasyondaki teofilin çözeltisinin absorbans değerleri aynı yöntemle, farklı tarihlerde saptandı.

3.2.4.2. Plazma ve İdrar Kullanarak Standart Doğrunun Hazırlanması

-20°C'de saklanan plazma örnekleri analiz gününde oda sıcaklığına getirildikten sonra su ve metanoldeki standart çözeltilerinde belirtilen konsantrasyonlarda elde edilecek şekilde teofilin, plazma örneklerine eklenerek ve 3.2.3'de anlatılan yöntem uygulanarak plazma standart doğrusu hazırlandı.

İdrar standart doğrusu hazırlamak amacıyla deneyin yapılacağı gün alınan idrar örneklerinin pH değerlerinin saptanmasından sonra su ve metanoldeki çözeltilerinde standart çözelti hazırlanırken belirtilen konsantrasyonlar elde edilecek şekilde teofilin idrar örneklerine eklenerek ve 3.2.3'de anlatılan yöntem uygulanarak idrar standart doğrusu hazırlandı.

3.2.4.3. Teofilinin Çözöldüğü Ortamın Standart Doğru Eğimi Üzerindeki Etkisi

Su, metanol, plazma ve idrar kullanarak hazırlanan standart doğruların eğimleri kıyaslandı.

3.2.4.4. pH Değerinin Etkisinin İncelenmesi

Normal idrar pH'sı 4.5-8 değerleri arasında değıştiğı için analizlerde idrar örneğı kullanıldığında pH değışikliklerinin sonuçlara etkisinin olup olmadığı incelendi.

3.2.5. Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi

Çalışılan plazma ve idrar ortamındaki teofilin konsantrasyonlarının gösterdiği değışiklikler, gün içinde çeşitli konsantrasyonlarda çoklu ölçümler yapılarak incelendi. % varyasyon katsayısı hesaplandı. Günler arası değışiklikler, çeşitli konsantrasyonlarda ve çeşitli ortamlarda hazırlanan teofilin çözeltileri kullanılarak, farklı günlerde yapılan ölçümlerdeki değışikliklerin incelenmesi ve yüzde varyasyon katsayısının hesaplanması yoluyla gerçekleştirildi.

3.2.6. Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi

Teofilinin geri kazanım oranı, farklı ortamlarda ve farklı konsantrasyonlarda çalışarak hesaplandı. Teofilinin metanoldeki çözeltileri kullanılarak düşük ve yüksek konsantrasyonlarda plazma ve idrara eklenen teofilin düzeyleri, 3.2.3'de belirtilen yöntem ile çalışarak % verim hesaplandı.

3.2.7. Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi

Standart teofilin çözeltileri kullanılarak analizin yapıldığı yöntemle tespit edilebilen en düşük düzey bulundu.

3.2.8. Yöntemin Özgünlüğünün İncelenmesi

Aynı spektrofotometrik koşullarda ve aynı konsantrasyonlarda, standart ve biyolojik materyaldeki teofilin spektrumları kıyaslandı.

3.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Metanol ve İdrar Örneklerinde Teofilin Düzeylerinin Saptanması

3.3.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Yönteminde Kullanılmak Üzere Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Metanol ve idrar deiyonize su ile 1/10 (h/h) oranında dilüe edildi. Bunu takiben her iki ortamda 1, 2, 5, 10, 20, 50 µg/ml konsantrasyonlarda standart teofilin çözeltileri hazırlandı.

3.3.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Teofilin Ölçümü

3.3.1.'de anlatıldığı şekilde hazırlanan teofilin içeren metanol ve idrar standart örnekleri 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek 25 µl hacimde YBSK'ne enjekte edildi.

Hareketli faz olarak metanol: su (60: 40, h/h) kullanıldı. Örnekler 0,75 ml/dakika akış hızında koruyucu kolon (Hİ-5C18-10C) ve ODS 2- Spherisorb C18 kolondan geçirilerek 280 nm'de UV dedektör yardımı ile belirlendi.

Yöntemin duyarlılığı ve özgünlüğü hem metanolik standart, hem de dilüe idrar örnekleri ile belirlendi.

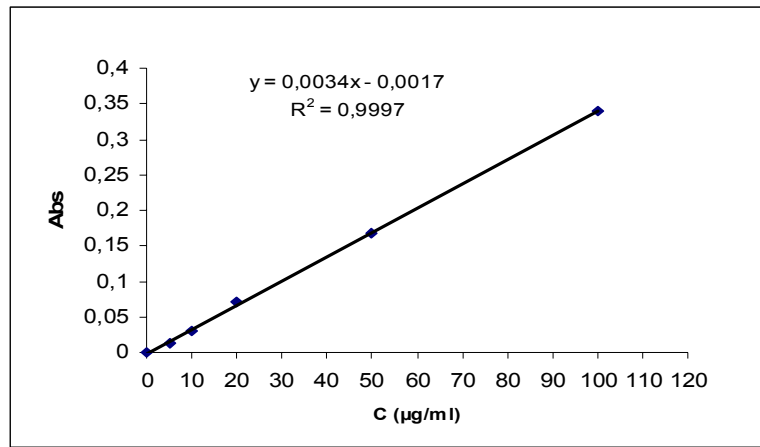
3.4. İstatistiksel Analiz

Bu çalışma kapsamında yapılan tüm ölçümler çift çalışılmıştır. Eğer 'n' değeri ikiden fazla ise ilgili yerlerde belirtilmektedir. Teofilinin 3.2. ve 3.3.'de anlatılan her iki yöntem ile standart doğrularının hazırlanmasında doğrusal regresyon analizi kullanıldı.

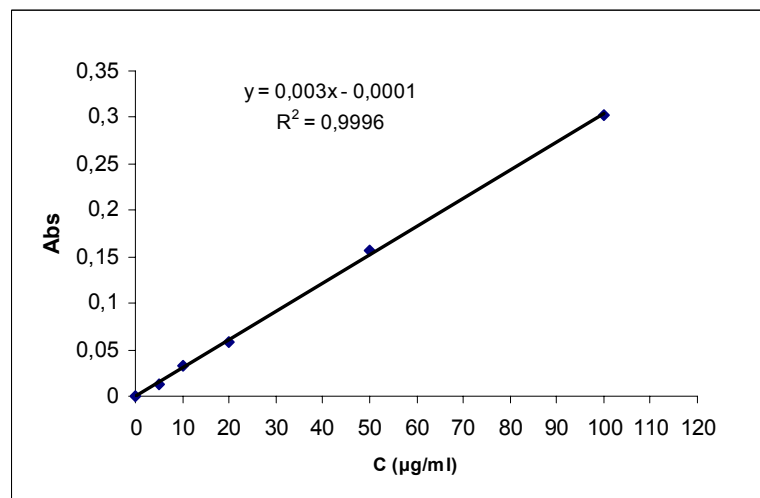
4. BULGULAR

4.1. Teofilinin Su ve Metanoldeki Çözeltileri ile Hazırlanan Standart Doğru ve Teofilinin Metanolik Çözeltilerinin Dayanıklılığın İzlenmesi

3.2.4.1'de anlatılan koşullarda ve 3.2.3'de belirtilen spektrofotometrik yöntemle elde edilen teofilinin su ve metanoldeki çözeltilerine ait standart doğrular sırasıyla Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

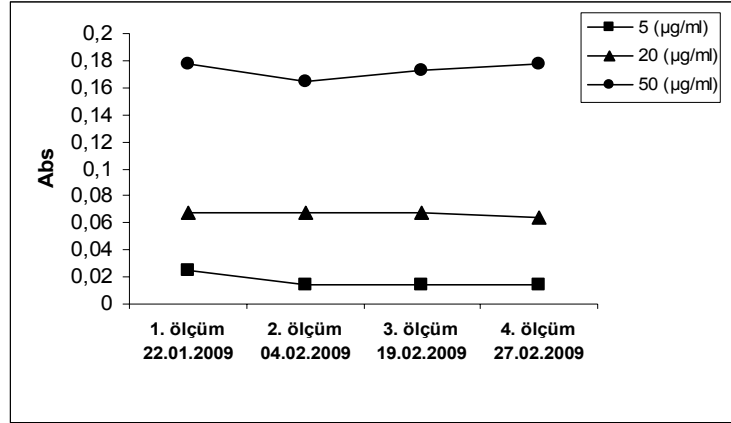


Şekil 4.1. Teofilinin sudaki çözeltileri ile spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği



Şekil 4.2. Teofilinin metanoldeki çözeltileri ile spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği

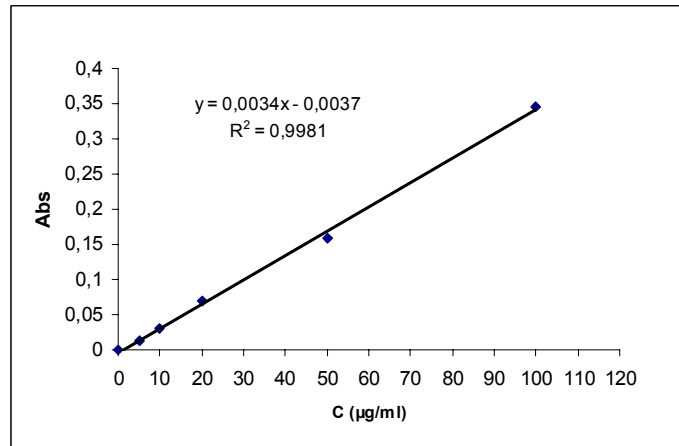
Teofilinin metanoldeki stok çözeltisinin -20°C'de yaklaşık bir ay süreyle saklanmak kaydıyla ölçümlere bir etkisi olmadığı ve kullanılabileceği belirlenmiştir. Şekil 4.3'de bir ay süreyle teofilin çözeltisinin dayanıklılığı gösterilmiştir.



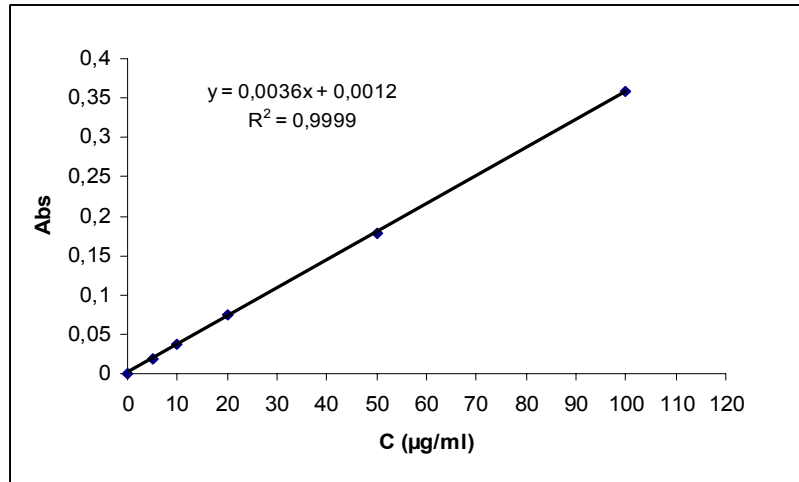
Şekil 4.3. Teofilinin stok çözeltisinin -20°C'de 1 ay süreyle dayanıklılığı

4.2. Teofilinin Plazma ve İdrardaki Çözeltileri ile Hazırlanan Standart Doğru

Teofilin plazma örneği ile hazırlanan standart doğrusu Şekil 4.4.'de verilmiştir. İdrar ile hazırlanan standart doğrusu ise Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.



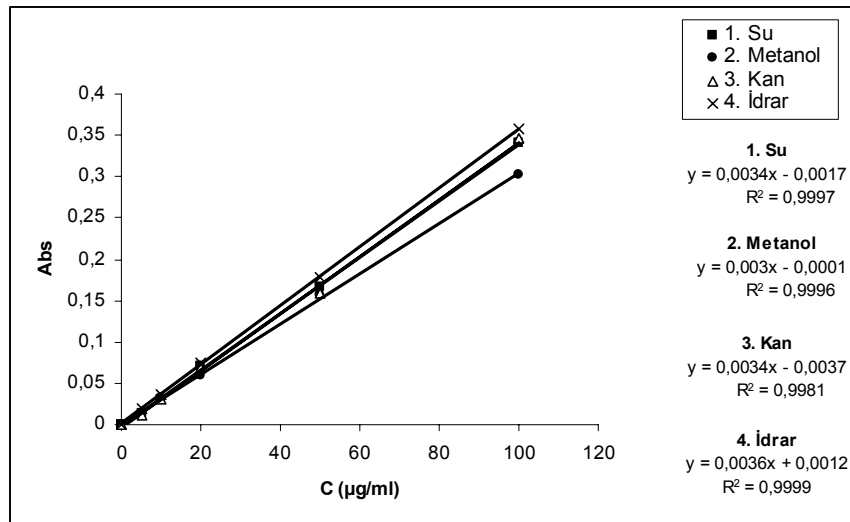
Şekil 4.4. Teofilinin plazma standart çözeltileri kullanılarak spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru örneği



Şekil 4.5. Teofilinin idrar standart çözeltileri kullanılarak spektrofotometrik yöntemle elde edilen standart doğru eğimi

4.3. Teofilinin Çözündüğü Ortamın Standart Doğru Eğimi Üzerindeki Etkisi

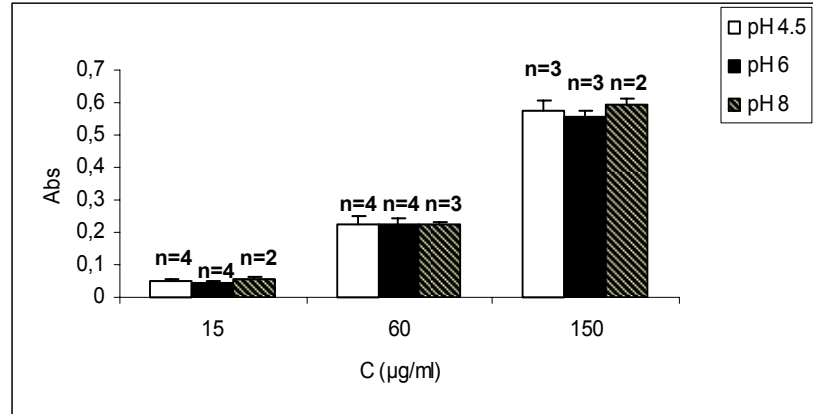
Teofilin standartlarının hazırlanmasında kullanılan su, metanol, plazma ve idrar gibi farklı ortamların standart doğru eğimi üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır. Dört farklı ortama ait standart doğrular ve denklemleri Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Teofilinin çözündüğü ortamın standart doğru eğimi üzerindeki etkisi

4.4. pH Değerinin Etkisinin İncelenmesi

Normal idrar pH aralığı olan 4,5-8 değerleri arasında olan pH değişiminin teofilin ölçümlerine etkisi olmadığı saptanmıştır. Şekil 4.7.'de sonuçlar görülmektedir.



Şekil 4.7. Teofilin ölçümlerine pH değerinin etkisinin incelenmesi

4.5. Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin İncelenmesi

Gün içi ve günler arası değişim % varyasyon katsayısı olarak (% VK) hesaplanmıştır. Tablo 4.1, 4.2'de plazma teofilin düzeylerinin gün içi ve günler arası değişimi, Tablo 4.3, 4.4'de ise idrar teofilin düzeylerinin gün içi ve günler arası değişimi verilmiştir. Sonuçlardan görüleceği üzere % VK değerleri % 10'un altındadır.

Tablo 4.1. Teofilinin plazma düzeyleri sonuçlarının gün içi değişimi.

Örnek Sıra No	Ölçüm Sayısı, (n)	Ortalama Teofilin Düzeyi $\pm$ SS ($\mu\text{g/ml}$)	% Varyasyon Katsayısı
1. Örnek	5	9,52 $\pm$ 0,60	6,30
2. Örnek	5	14,64 $\pm$ 0,59	4,03
3. Örnek	5	28,57 $\pm$ 1,70	5,95
4. Örnek	5	62,52 $\pm$ 1,84	2,94
5. Örnek	5	79,29 $\pm$ 1,40	1,76
% Ortalama Varyasyon Katsayısı $\pm$ SS = 4,19 $\pm$ 1,93			

Tablo 4.2. Teofilinin plazma düzeyleri sonuçlarının günler arası değişimi.

Örnek Sıra No	Ölçüm Sayısı, (n)	Ortalama Teofilin Düzeyi $\pm$ SS ($\mu\text{g/ml}$)	% Varyasyon Katsayısı
1. Örnek	3	9,91 $\pm$ 0,41	4,14
2. Örnek	3	14,77 $\pm$ 0,19	1,29
3. Örnek	3	29,13 $\pm$ 0,49	1,68
4. Örnek	3	60,13 $\pm$ 2,1	3,49
5. Örnek	3	78,63 $\pm$ 0,57	0,72
% Ortalama Varyasyon Katsayısı $\pm$ SS = 2,26 $\pm$ 1,47			

Tablo 4.3. Teofilinin idrar düzeyleri sonuçlarının gün içi değişimi.

Örnek Sıra No	Ölçüm Sayısı, (n)	Ortalama Teofilin Düzeyi $\pm$ SS ($\mu\text{g/ml}$)	% Varyasyon Katsayısı
1. Örnek	5	7,99 $\pm$ 0,34	4,25
2. Örnek	5	13,97 $\pm$ 0,32	2,29
3. Örnek	5	29,99 $\pm$ 0,74	2,47
4. Örnek	5	61,12 $\pm$ 0,72	1,18
5. Örnek	5	81,11 $\pm$ 1,83	2,26
% Ortalama Varyasyon Katsayısı $\pm$ SS = 2,49 $\pm$ 1,11			

Tablo 4.4. Teofilinin idrar düzeyleri sonuçlarının günler arası değişimi.

Örnek Sıra No	Ölçüm Sayısı, (n)	Ortalama Teofilin Düzeyi $\pm$ SS ($\mu\text{g/ml}$)	% Varyasyon Katsayısı
1. Örnek	4	10,11 $\pm$ 1,17	11,57
2. Örnek	4	14,61 $\pm$ 0,83	5,68
3. Örnek	4	29,30 $\pm$ 1,9	6,48
4. Örnek	4	60,25 $\pm$ 1,46	2,42
5. Örnek	4	81,54 $\pm$ 3,78	4,63
% Ortalama Varyasyon Katsayısı $\pm$ SS = 6,16 $\pm$ 3,39			

4.6. Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi

Spektrofotometrik yöntemin verimi, teofilinin plazma ve idrardaki düşük ve yüksek konsantrasyonlarında ayrı ayrı saptanmıştır ve plazma ortalama % 98,37, idrarda ise % 96,22 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.5. Yöntemin plazmadaki geri kazanım yüzdesi.

Teofilin Konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)				% Geri Kazanım
Başlangıç Düzeyi	Ölçüm Sayısı, (n)	Beklenen Düzey	Saptanan Düzey $\pm$ SS	
0	5	10	9,52 $\pm$ 0,599	95,2
0	5	15	14,64 $\pm$ 0,588	97,6
0	5	30	28,57 $\pm$ 1,705	95,23
0	5	60	62,52 $\pm$ 1,842	104,2
0	5	80	79,29 $\pm$ 1,399	99,11
Ortalama Geri Kazanım %'si $\pm$ SS = 98,27 $\pm$ 3,71				

Tablo 4.6. Yöntemin idrarda geri kazanım yüzdesi.

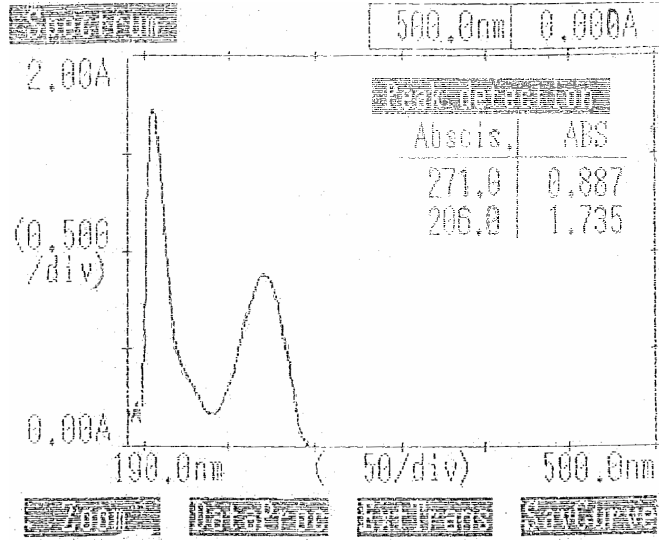
Teofilin Konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)				% Geri Kazanım
Başlangıç Düzeyi	Ölçüm Sayısı, (n)	Beklenen Düzey	Saptanan Düzey $\pm$ SS	
0	5	10	$7,99 \pm 0,337$	79,9
0	5	15	$13,97 \pm 0,325$	93,13
0	5	30	$29,99 \pm 0,737$	99,97
0	5	60	$61,12 \pm 0,724$	101,87
0	5	80	$81,11 \pm 1,83$	101,39
Ortalama Geri Kazanım %'si $\pm$ SS = $95,25 \pm 9,27$				

4.7. Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi

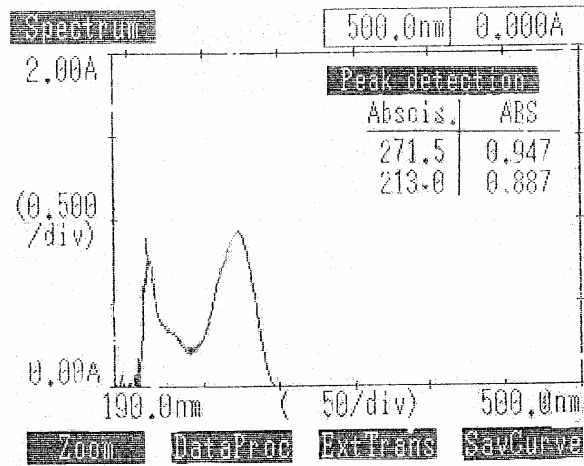
Teofilinin spektrofotometrik yöntemle saptanabilir en düşük düzeyi 2 $\mu\text{g/ml}$ olmakla birlikte bu çalışma sonucunda güvenilir sınır olarak 5 $\mu\text{g/ml}$ kabul edilmiş olup, standart doğru denklemleri hesaplanırken en düşük düzey olarak 5 $\mu\text{g/ml}$ değerleri göz önünde bulundurulmuştur.

4.8. Yöntemin Özgünlüğünün İncelenmesi

Teofilinin metanol ve idrarda 190-500 nm'de alınan spektrumları karşılaştırılmış ve teofilinin bilinen ve beklenen dalga boyundaki piklerinin aynı olduğu saptanmıştır. Şekil 4.8 ve 4.9.'da teofilin metanol ve teofilin idrar çözeltilerinin spektrum örnekleri görülmektedir.



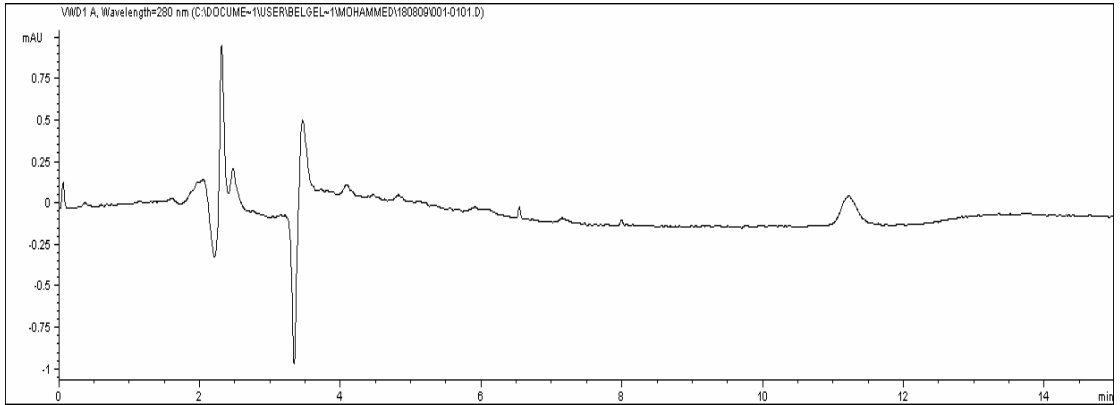
Şekil 4.8. Teofilinin metanoldeki çözeltisine ait spektrum



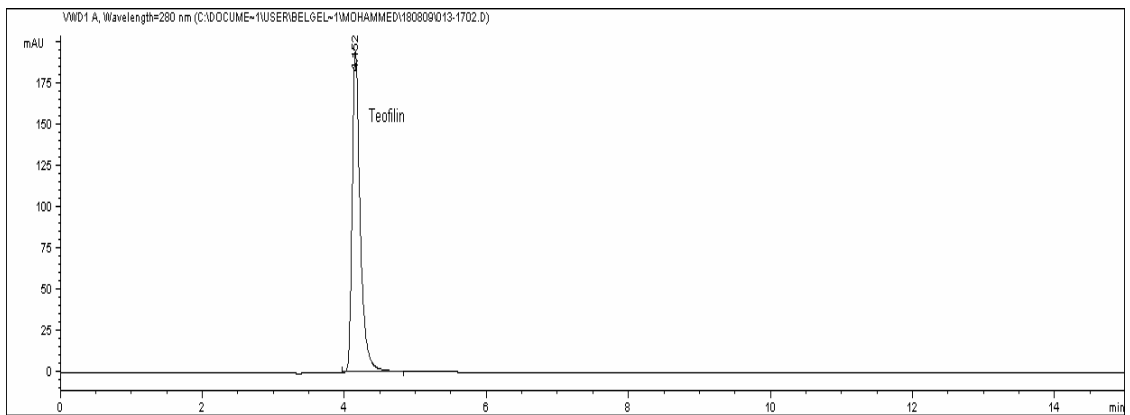
Şekil 4.9. Teofilinin idrarda hazırlanmış çözeltisine ait spektrum

4.9. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Elde Edilen Teofilin Ait Kromatogram Örnekleri

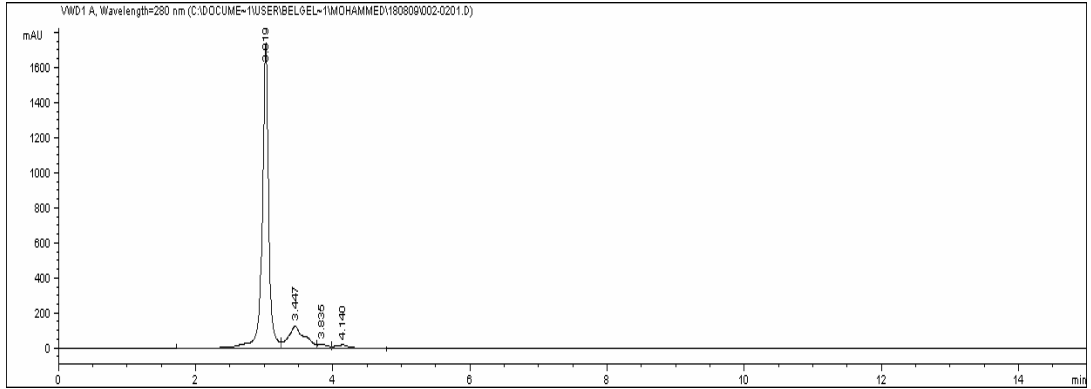
Bölüm 3.3.1.'de belirtildiği şekilde hazırlanan ve 3.3.2.'de detaylarıyla anlatılan kromatografik koşullarda YBSK'ne enjekte edilen kör çözücü denemesi için metanol çözeltisi, 20 µg/ml konsantrasyonda teofilinin metanoldeki çözeltisi ile kör idrar ve teofilinin idrarda hazırlanan 20 µg/ml konsantrasyondaki çözeltileri ile elde edilen kromatogram örnekleri sırasıyla Şekil 4.10, 4.11, 4.12 ve 4.13'de verilmiştir.



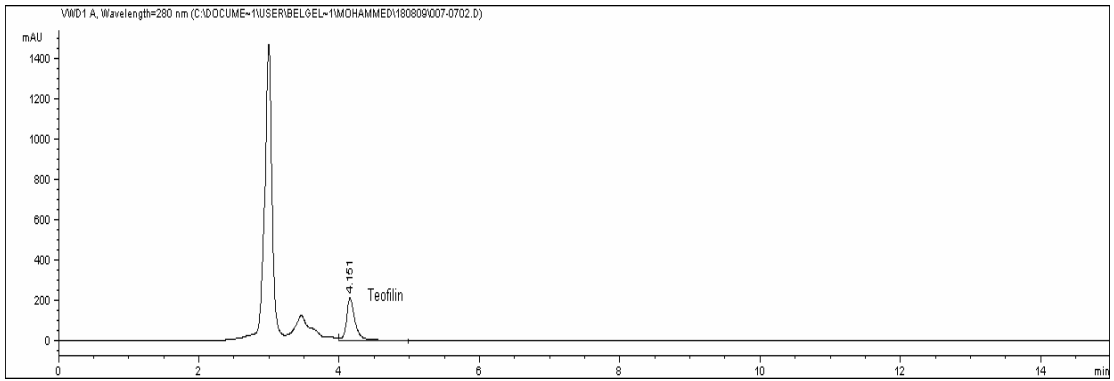
Şekil 4.10. Metanol çözeltisine ait örnek bir kromatogram



Şekil 4.11. Teofilin içeren (20 µg/ml) metanol çözeltisine ait örnek bir kromatogram



Şekil 4.12. Teofilin eklenmemiş, kör olarak kullanılan idrar örneğine ait bir kromatogram

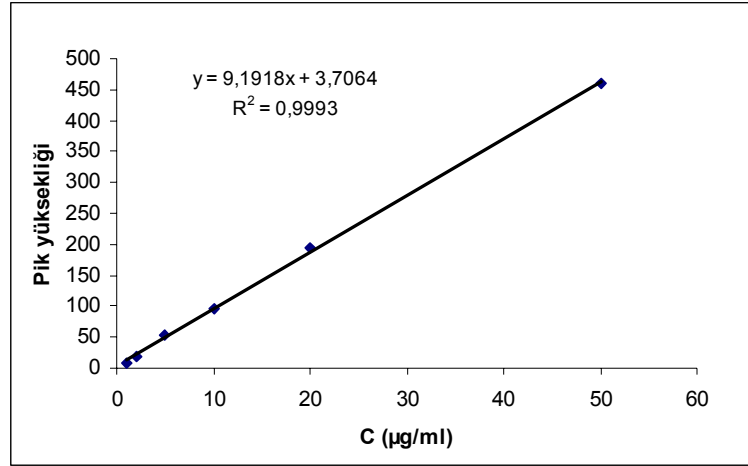


Şekil 4.13. Teofilin içeren (20 µg/ml) idrar örneğine ait bir kromatogram

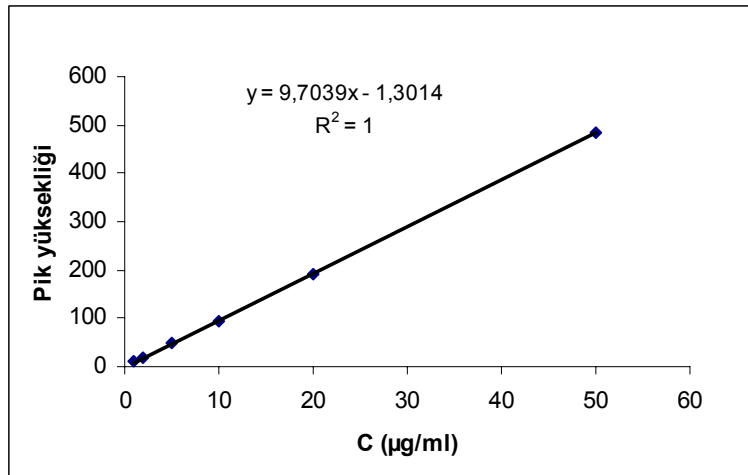
Yöntemin duyarlılık sınırının 1 µg/ml olduğu saptanmıştır. Alıkonma zamanları kıyaslanarak da özgünlük irdelenmiştir. Alıkonma zamanının çeşitli ortamlarda yapılan ölçümlerde ortalama $4,149 \pm 0,006$ dakika olduğu ve bu değer gün boyu önemli bir değişiklik göstermediği saptanmıştır.

4.10. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Hazırlanan Standart Eğri Örnekleri

Şekil 4.14 ve 4.15’de metanol ve idrar teofilin çözeltileri kullanılarak YBSK yöntemi ile elde edilen standart doğrular verilmiştir.



Şekil 4.14. Teofilinin metanol çözeltileri kullanılarak YBSK ile elde edilen standart eğri örneği



Şekil 4.15. Teofilinin idrar çözeltileri kullanılarak YBSK ile elde edilen standart eğri örneği

5. TARTIŞMA

Bugün dünyada 300 milyonu aşkın her yaş grubunda astım ve milyonlarca insanda KOAH görülmektedir. Etkin ve ucuz bir ilaç olan teofilin, uzun yıllardan beri bu hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Teofilin, bugün tek seçenek olmasa bile sözü geçen hastalıkların tedavisinde kullanılan kombine ilaç grupları arasında yer almaktadır (12, 13, 19- 21). Ancak teofilinin farmakokinetik özellikleri ve bu özelliklerin, teofilinin beraberinde kullanılan diğer bazı ilaç, bitki, diyet, alışkanlıklar, çeşitli nedenlerle maruz kalınan ksenobiyotikler ve kişide var olan bazı hastalıklar nedeniyle değişmesi söz konusudur. Bu nedenle, klinik olarak optimum etkinlik elde etmek ve ilacın dar terapötik pencereye sahip olması nedeniyle, kan düzeylerinin terapötik konsantrasyonlarında kararlı biçimde tutulması büyük önem taşımaktadır (23, 26, 30, 37, 47, 56). Sözü geçen bütün bu nedenlerle, klinikte, teofilinin kan düzeyleri başta olmak üzere diğer biyolojik sıvılarda izlenmesinin büyük bir önemi vardır.

Bu tez çalışması kapsamında, teofilin tedavisi sırasında karşılaşılan klinik sorunlara çözüm anlamında katkı yapmak ve öncelikle Toksikoloji Anabilim Dalımız eğitim ve araştırma programlarında kullanılabilecek ucuz, pratik, güvenilir, tekrarlanabilir spektrofotometrik ve YBSK gibi iki yöntemin uygulanması sağlanmıştır (95, 96). Bu yöntemler, literatürdeki yöntemler modifiye edilerek uygulanmış, kan ve idrar teofilin düzeylerinin saptanması amacıyla kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında, teofilinin çözündüğü su ve metanol gibi ortamlarda ve ilacın bulunması olası, girişim gerektirmeyen kan, idrar gibi biyolojik ortamlarda yapılan spektrofotometrik ölçümlerde, hesaplanan eğimler kıyaslanıp oranlanarak farklı ortamların eğim üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.6, eğimlerin oranı= ~ 1). Bu bulgu, kan, idrar, tükürük gibi biyolojik sıvılarda teofilin ölçümü gerektiği durumlarda,

ilgili biyolojik ortamda standart hazırlamak yerine, metanol standardı kullanılarak deney yapılabileceğini göstermektedir.

Spektrofotometrik yöntemle 275 nm’de gerçekleştirilen ölçümleri takiben ilacın kan ve idrardaki ölçümleri için saptanan doğru denklemleri ile korelasyon katsayıları kan ve idrar için sırasıyla $y = 0,0034x - 0,0037$, $R^2 = 0,9981$ ve $y = 0,0036x + 0,0012$, $R^2 = 0,9999$ ’dır. Kan ve idrar örneklerine uygulanan spektrofotometrik yöntemin ortalama geri kazanım oranı ise kan ve idrar için sırasıyla $\% 98,27 \pm 3,71$ ve $\% 95,25 \pm 9,27$ ’dir. Yöntemin gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliği irdelendiğinde, kan ve idrar örnekleri için elde edilen ortalama $\%$ varyasyon katsayısı değerleri sırasıyla gün içi $4,19 \pm 1,93$; $2,49 \pm 1,11$ ve günler arası $2,26 \pm 1,47$; $6,16 \pm 3,39$ olarak saptanmıştır. Bu yöntemin doğrusal olduğu aralık 5-100 $\mu\text{g/ml}$, duyarlılığı ise 5 $\mu\text{g/ml}$ ’dir. Uygulanan bu yöntem duyarlılık açısından değerlendirildiğinde, ilacın tedavi etkinliği düşük olduğunda, ya da yan ve toksik etki oluşturacak kan düzeylerine ulaşıldığında bile güvenilir biçimde ölçüm yapılabileceği açıktır.

Normal idrar pH’sı 4.5-8 arasında geniş bir aralıkta değiştiği için, özellikle idrar teofilin düzeylerinin ölçümünde, pH değişimlerinin absorbans değerlerine etkisinin olup olmadığı incelenmiş ve analiz öncesi idrar pH’sında herhangi bir değişiklik yapılmasının gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Analiz için 100 μl plazma veya biyolojik sıvı hacminin yeterli olduğu bu yöntem, her yaş grubundan, özellikle kan almanın sorun olduğu yenidoğan ve pediatrik gruptan, ufak miktarlardaki kan örneğinin alınması sağlanarak çalışma yapılmasına olanak sağlaması açısından da önem taşımaktadır. Az örnek hacminin yeterli olmasının yanı sıra yöntemde kullanılan maddelerin ucuz olması ve kolay olarak sağlanabilmeleri de bir avantajdır. Yöntemin çok basamaklı bir ön işlem gerektirmemesi de diğer bir üstünlüğüdür. Nitekim, literatürdeki bazı yöntemlerde uygulanan ön işlemlerde, pahalı kimyasallar ve

malzemelerin yanı sıra uygulaması zaman alıcı basamaklar bulunmaktadır (121, 123, 124).

Teofilinin genel olarak kullanım dozu erişkinlerde başlangıç için 2 x 200 mg ve daha sonra 2 x 300 mg, çocuklarda başlangıç için 2 x 100-150 mg ve daha sonra 2 x 150-200 mg'dır (93). Teofilin, idrarda % 10 oranında serbest ilaç olarak atıldığı için (23) gerektiğinde plazma yerine özellikle yenidoğan ve çocuk grubunda çok daha kolaylıkla alınabilecek idrar örneklerinin teofilin analizlerinde kullanılabilmesi söz konusu olmaktadır. Buna ilaveten, teofilin proteine düşük oranda bağlandığı için (23) tükürüğe kolaylıkla geçebilmekte ve tükürük/ serum oranının ~ 0,5 olduğu bilinmektedir (23, 27). Bu nedenle, aynı yaş grubunda, aynı analizler için yine kolaylıkla alınabilen tükürük örneklerinin de kullanılabilmesi, aynı yöntemin tükürüğe de uygulanabileceği kanısındayız. Sonuç olarak, yöntemin sahip olduğu avantajlar göz önüne alındığında, ilerideki çalışmalarımızda, daha az örnek hacmi ile çalışılarak tükürük gibi biyolojik materyallerde de bu yöntemin uygulanması amaçlanmaktadır.

İkinci olarak uygulanan YBSK, duyarlılığı spektrofotometrik yöntemle göre daha fazla olan, ancak daha pahalı donanım ve daha fazla deneyim gerektiren bir yöntemdir. Yeni doğan ve bebeklerde teofilin düzeylerinin izlenmesi ve/veya toksisite değerlendirme çalışmalarında idrarın çok daha kolay alınabilecek bir örnek çeşidi olması nedeniyle bu tez çalışması kapsamında sadece idrar örnekleri kullanılarak YBSK ile çalışmalar yapılmıştır. Ön işlem gerektireceğinden ve maliyeti arttıracığından analizlerde kan örnekleri ile çalışılmamıştır.

Bölüm 3.3.1'de belirtildiği şekilde hazırlanan ve 3.3.2'de detaylarıyla anlatılan kromatografik koşullarda YBSK'ne enjekte edilen teofilinin metanol ve idrardaki çözeltileri ile hazırlanan standart doğruların eğimleri ve korelasyon katsayıları sırasıyla $y = 9,1918x + 3,7064$, $R^2 = 0,9993$ ve $y = 9,7039x - 1,3014$, $R^2 = 1$ olarak hesaplanmıştır. Yöntemin duyarlılık

sınırının metanol ve idrar örnekleri için 1 µg/ml olduğu saptanmış, alıkonma zamanları kıyaslanarak özgünlük irdelenmiştir. Alıkonma zamanının çeşitli ortamlarda yapılan ölçümlerde ortalama $4,149 \pm 0,006$ dakika olduğu ve bu değerün gün boyu önemli bir değişiklik göstermediği belirlenmiştir.

Uyguladığımız yöntemde hemen her YBSK laboratuvarında bulunabilen ve çok özel niteliklere sahip olmayan bir kolon kullanılmasının yanı sıra, mobil fazın da yine aynı şekilde metanol ve su gibi kolay temin edilebilir çözücülerden hazırlanması da yöntemin avantajları arasında sayılabilir. Ancak YBSK'nin duyarlı bir yöntem olması nedeniyle, örnek alınan kişilerin içtikleri çay ve kahve gibi çeşitli içeceklerin yanı sıra besinler gibi değişik faktörlerin teofilin sonuçlarını etkilemesi söz konusu olabilir. Bu nedenle, örnekleme yapılırken mutlaka örneğin alınacağı kişilerin yanı sıra örneği toplayacak kişilerin uyarılması, örnek alınacak kişilere çay, kahve, çikolata tüketimlerinin yanı sıra diğer ilaç ve besin kullanımları konusunda sorgulama yapılması, doğru sonuçların alınması açısından büyük önem taşımaktadır.

Teofilinin, kafein ve teobromin gibi özellikle çok tüketilen içeceklerde bulunan bileşiklerle birbirine yakın veya çakışan pikler vermesi analizlerde mobil faz pH'sının öneminin büyük olduğunu göstermektedir. Tajerzadeh ve Dadashzadeh (111), idrar örneklerinde YBSK yöntemi kullanılarak yaptıkları teofilinin analizinde, hareketli fazın pH'sının piklerin net olarak belirlenmesinde ve alıkonma süresinin azaltılmasında önemli ölçüde etki yaptığını göstermiş ve hareketli faz pH'sının 4,7 olmasının en uygun sonuçların alınması için gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar hareketli faz olarak sodyum asetat: asetonitril: tetrahidrofuran ve tetrabutylamonyum hidrojen sülfat içeren ve pH değeri 4,7 olan bir sistem kullanmışlardır. Bu bilgiler Muir ve ark.'ları (127)'nin verileri ile de uyum göstermektedir. Bispo ve ark.'ları (128) ise hareketli faz pH'sının < 3 değerine ayarlanması ile piklerin ayrımının başarı ile sağlandığını bildirmiştir.

YBSK çalışmalarımızın ilk bölümünde Tajerzadeh ve Dadashzadeh (111) ile aynı hareketli faz sistemi kullanarak deney yaptığımızda iyi bir ayırım gözleyemediğimiz için bu sistem yerine metanol: su, (60:40, h/h) kullanılmıştır.

Diğer taraftan Bispo ve ark.'ları (128)'nın yönteminde kullanılan hareketli faz, metanol: su: asetik asit veya etanol: su: asetik asitten (20:75:5, h/h/h) oluşmaktadır. Ancak hareketli fazda su oranı arttığında deneylerimizde kullandığımız ODS kolonun etkinliğinde azalma meydana gelmektedir. Bispo ve ark.'ları (128)'nın kullandığı kolon Bondesil C18'dir. Araştırmacılar, çalışmalarının bir bölümünde kafein, teofilin ve teobrominin ayırımını, su ağırlıklı [metanol: su (40: 60, h/h)] bir mobil faz olan ve pH değeri 6,14 olarak ölçülen ortamda denemişler, fakat iyi bir ayırım gözlememişlerdir. Ancak aynı araştırmacılar, mobil faza asetik asit ekleyerek pH'yı azalttıklarında (pH 3,12) ayırımın daha iyi olduğunu ileri sürmüşlerdir (128).

Teofilin, kafein ve teobromin ayırımı için pH'nın yanında polaritenin de önemli olduğu görülmektedir. pH'nın < 3 olması bizim deneylerimizde kullandığımız ODS kolon için alt sınırdaki bir pH değeri olduğu için kolon ömrünü kısaltıcı bir faktör olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, YBSK ile yaptığımız çalışmalar pH değerleri açısından değerlendirildiğinde, kullandığımız mobil faz pH'sının 6,01 olduğu ve bu mobil faz ile teofilin ayırımının net bir şekilde yapıldığı söylenebilir. Ancak çalışmaya kafein ve teobromin standartları kullanılarak devam edilmesi ile daha kesin bir yorum yapılması mümkün olacaktır. YBSK ile yapılan çalışmalarda internal standart kullanılmamıştır. Internal standart olarak β -hidroksietil teofilin kullanımı önerilmektedir (111). Ancak hasta örnekleriyle ileride yapılması planlanan çalışmalarda bu internal standart kullanılarak denemeler yapılması da düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmaları ile, klinik laboratuvarlarda da kullanılabileceğini düşündüğümüz, küçük örnek hacmi, ucuz malzeme ile

alışılabilecek, çok basamaklı olmayan iki yöntem laboratuvarımızda uygulanabilir hale getirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Susan, B. (1996). *The Merck Index*. (s. 9421). (12. bs.). United States of America: Merck Research Laboratories.
2. Kayaalp, S. O. (2005). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (s. 594-611). (11. bs.). Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık.
3. Sweetman, S. C. (2002). *Martindale the Complete Drug Reference*. (S. 777-785). (33. bs.). London: Pharmaceutical Press.
4. Udem, B. J. ve Lichtenstein, L. M. (2001). Drug Used in the Treatment of Asthma. J.G. Hardman, L.E. Limbird ve A. Goodman Gilman (Ed.). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. (s. 733-754) (10. bs.). New York: McGraw-Hill.
5. Kobzik, L., Schoen, F. J. (1994). The Lung. R. S. Cortan, S. L. Robbins ve V. Kumar (Ed.). *Robbins Pathologic Basis of Disease*. (s. 673-734) (5. bs.). United States of America: W. B. Saunders Company.
6. Hazar, A. ve Maraşlı, D. (2006). Astım Tedavisinde ve Kontrolünde Son Gelişmeler. *Akciğer*, 12(4), 173-178.
7. Kumar, P., Clark, M. (1998). *Clinical Medicine*. (s. 786) (4. bs.). London: W. B. Saunders Company.
8. Kocabaş, A. (1996). Bronşiyal Astım. G. İliçin, S. Ünal, K. Biberoğlu, S. Akalın ve G. Süleymanlar (Ed.). *Temel İç Hastalıkları* (s. 476-602). Ankara: Güneş Kitabevi.

9. Koshak, E. A. (2007). Classification of asthma according to revised 2006 GINA: evolution from severity to control. *Annals of Thoracic Medicine*, 2(2), 45-46.
10. Graham, L. M. (2006). Classifying Asthma. *Chest*, 130(1), 13S-20S.
11. Boushey, H. A., Corry, D. B. ve Fahy, J. V. (2000). Asthma. J. F. Murray ve J. A. Nadel (Ed.). *Textbook of Respiratory Medicine* (s. 1247-1285) (3. bs.). United States of America: W. B. Saunders Company.
12. Bateman, E., Hurd, S., Barnes, P., Bousquet, J., Drazen, J., Gibson, P. ve diğeri. (2008). Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *European Respiratory Journal*, 31(1), 143-178.
13. Global Initiative For Asthma. *Global Strategy For Asthma Management and Prevention*. (Aralık 2008). Erişim: 15 nisan 2009, <http://www.ginasthma.org>
14. Masoli, M., Fabian, D., Holt, S. ve Beasley, R. (2004). The global burden of asthma: executive summary of the GINA dissemination committee report. *Allergy*, 59, 469-478.
15. Yorgancıoğlu, A., Kalaycı, Ö., Kalyoncu, A., Khaltayev, N. ve Bousquet, J. (2008). Alerjik rinit ve astım üzerine etkisi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 56(2), 224-231.
16. Mungan, D. (2004). Astım tanı ve tedavisi. Erişim: 06 Ağustos 2009, <http://www.toraks.org.tr/mesleki-kurslar-1-ppt-pdf/dilsat-mungan.pdf>.

17. Brachen, M. B., Belanger, K., Cookson, W. O., Triche, E., Christiani, David C. ve Leaderer, B. P. (2002). Genetic and perinatal risk factors for asthma onset and severity: A review and theoretical analysis. *Epidemiologic Reviews*, 24(2), 176-189.
18. T.C. Sağlık Bakanlığı. (2003). *Birinci Basamağa Yönelik Tanı ve Tedavi Rehberleri*. (2. bs.) Ankara: Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı.
19. Barnes, P. J. (2005). Theophylline in chronic obstructive pulmonary disease. *The Proceedings of the American Thoracic Society*, 2, 334-339.
20. Baumann. T. W. (2006). Some thoughts on the physiology of caffeine in coffee- and a glimpse of metabolite profiling. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18(1), 243-251.
21. Scheindlin, S. (2007). A new look at the xanthine alkaloids. *Molecular Interventions*, 7(5), 236-242.
22. Sifton, D. J. (2003). *Physicians Desk Reference*. (s. 2844-2847). (57. bs.). Montvale: Thomson PDR.
23. Abernethy, D. R., Arnold, G. J., Azarnoff, D., Bill, R. L., Branch, R. A., Campbell, R. K. ve diğerleri. (2002). *Mosby's Drug Consult*. (s. 2694-2703). St. Louis: Mosby Inc.
24. Delgado, J. N. ve Remers, W. A. (1991). *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry* (s. 396) (9. bs.). Philadelphia: J. B. Lippincott Company.

25. Killion, K. H., Kastrup, E. K., Burnham, T. H., Wickersham, R. M., Novak, K. K., McCarron, S. M. ve diğerleri. (2003). *Drug Facts and Comparisons* (s. 734-739) (57. bs.). St. Louis: A Wolters Kluwer Company.
26. Pesce, A. J., Rashkin, M. ve Kotagal, U. (1998). Standards of laboratory practice: theophylline and caffeine monitoring. *Clinical Chemistry*, 44(5), 1124-1128.
27. Smith, R.V. ve Stewart, J.T. "t.y." *Textbook of Biopharmaceutic Analysis*. Philadelphia: Lea & Febiger.
28. Igarashi, T. ve Iwakawa, S. (2009). Effect of gender on theophylline clearance in the asthmatic acute phase in Japanese pediatric patients. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32(2), 304-307.
29. Jonkman, J. H. G., Nicholson, K. G., Farrow, P. R., Eckert, M., Grasmeijer, G., Oosterhuis, B. ve diğerleri. (1989). Effects of α -interferon on theophylline pharmacokinetics and metabolism. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 27, 795-802.
30. Ohnishi, A., Kato, M., Kojima, J., Ushima, Hi., Yoneko, M ve Kawai, H. (2003). Differential pharmacokinetics of theophylline in elderly patients. *Drug Aging*, 20(1), 71-84.
31. Kobayashi, K., Nakajima, M., Chiba, K., Yamamoto, T., Tani, M., Ishizaki, T. ve diğerleri. (1998). Inhibitory effects of antiarrhythmic drugs on phenacetin O-deethylation catalysed by human CYP1A2. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 45, 361-368.
32. Fuhr, U., Anders, E., Mahir, G., Sörgel, F. ve Staib, A. (1992). Inhibitory potency of quinolone antibacterial agents against

- cytochrome P4501A2 activity in vivo and in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(5), 942-948.
33. Yao, C., Kunze, K. L., Kharasch, E. D., Wang, Y., Trager, W. F., Ragueneau, I. ve diğeri. (2001). Fluvoxamine-theophylline interaction: gap between in vitro and in vivo inhibition constants toward cytochrome P4501A2. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 70(5), 415-424.
 34. Colli, A., Buccino, G., Cocciolo, M., Parravicini, R., Elli, G. M. ve Scaltrini G. (1987). Ticlopidine-theophylline interaction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 41(3), 358-362.
 35. Koch, K. M., Ricci, B. M., Hedayetullah, N. S., Jewell, D. ve Kersey, K. E. (2001). Effect of alosetron on theophylline pharmacokinetics. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52, 596-600.
 36. Ahn, H. C. ve Lee, Y. C. (2003). The clearance of theophylline is increased during the initial period of tuberculosis treatment. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 7(6), 587-591.
 37. Faber, M. S., Jetter, A. ve Fuhr, U. (2005). Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when? *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97, 125-134.
 38. Meyer, U. A. (1996). Interaction of proton pump inhibitors with cytochromes P450: consequences for drug interactions. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 69, 203-209.

39. Iliopoulou, A., Aldhous, M. E., Johnston, A. ve Turner, P. (1982). Pharmacokinetic interaction between theophylline and erythromycin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 14, 495-499.
40. Nahata, M. (1996). Drug interactions with azithromycin and the macrolides: an overview. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37, 133-142.
41. Eagling, V. A., Back, D. J. ve Barry, M. G. (1997). Differential inhibition of cytochrome P450 isoforms by the protease inhibitors, ritonavir, saquinavir and indinavir. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 44, 190-194.
42. Dekhuijzen, P. N. ve Koopmans, P. P. (2002). Pharmacokinetic profile of zafirlukast. *Clinical Pharmacokinetic*, 41(2). 105-114.
43. Zhou, S., Chan, E., Lim, L. Y., Boelsterli, U. A., Li, S. C., Wang, J. ve diğerleri. (2004). Therapeutic drugs that behave as mechanism-based inhibitors of cytochrome P450 3A4. *Current Drug Metabolism*, 5(5), 415-442.
44. Darwish, M., Kirby, M., Robertson, P. ve Hellriegel, E. T. (2008). Interaction profile of armodafinil with medications metabolized by cytochrome P450 enzymes 1A2, 3A4 and 2C19 in healthy subjects. *Clinical Pharmacokinetic*, 47(1), 61-74.
45. Lejus, C., Fautrel, A., Malledant, Y. ve Guillouzo, A. (2002). Inhibition of cytochrome P450 2E1 by propofol in human and porcine liver microsomes. *Biochemical Pharmacology*, 64, 1151-1156.

46. Frye, R. ve Branch R. (2002). Effect of chronic disulfiram administration on the activities of CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, and N-acetyltransferase in healthy human subjects. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 53, 155-162.
47. Nowack, R. (2008). Cytochrome P450 enzyme, and transport protein mediated herb-drug interactions in renal transplant patients: Grapefruit juice, St John's Wort- and beyond. *Nephrology*, 13, 337-347.
48. Yi, S., Cho, J., Lim, K., Kim, K., Kim, J., Kim, B. ve diğerleri. (2009). Effect of *Angelicae tenuissima radix*, *Angelicae dahuricae radix* and *Scutellariae radix* extracts on cytochrome P450 activities in healthy volunteers. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 5, 1-8.
49. Foti, R. S. ve Wahlstrom, J. L. (2008). The role of dietary supplements in cytochrome P450-mediated drug interactions. *Pharmacokinetics and Drug Metabolism*, 7(2), 66-84.
50. Tirillini, B. (2000). Grapefruit: the last decade acquisitions. *Fitoterapia*, 71, S29-S37.
51. Ueng, Y.F., Tsai, T.H., Don, M.J., Chen, R.M. ve Chen, T.L. (2005). Alteration of the pharmacokinetics of theophylline by rutaecarpine and alkaloid of the medicinal herb *Evodia rutaecarpa* in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(2). 227-236.
52. Tang, J., Sun, J., Zhang, Y., Li, L., Cui, F. ve He, Z. (2007). Herb-drug interactions: Effect of *Ginkgo biloba* extract on the pharmacokinetics of theophylline in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2441-2445.

53. Tian, M., Yan, H. ve Row, K. H. (2008). Extraction of Glycyrrhizic acid and Glabridin from Licorice. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 571-577.
54. Henderson, L., Yue, Q. Y., Bergquist, C., Gerden, B. ve Arlett, P. (2002). St John's Wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 54, 349-356.
55. Hammerness, P., Basch, E., Ulbricht, C., Barrette, EP., Foppa, I., Basch, S. ve diğeri. (2003). St. John's Wort: a systematic review of adverse effects and drug interactions for the consultation psychiatrist. *Psychosomatics*, 44, 271-282.
56. Braganza, G., Chaudhuri, R. ve Thomson, N. C. (2008). Treating patients with respiratory disease who smoke. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2(2), 95-107.
57. Sharma, J. N., Johnston, A., Blackett, A. ve Hathway, N. R. (1981), A single-dose comparison of four slow-release theophylline preparations in normal subjects. *Postgraduate Medical Journal*, 57, 153-155.
58. Tinkelman, D. G, Lutz, C. N, Crummie, A., Harrison, L. İ, McCarville, S. E. ve Bastyr, M. H. (1988). Steady-state evaluation of two controlled-release theophylline preparations in children. *Journal of Asthma*, 25(1), 27-31.
59. Rovei, V., Chanoine, F. ve Benedetti, M. S. (1982). Pharmacokinetics of theophylline: A dose-range study. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 14, 769-778.

60. Abou-basha, L. I., Wahman, L. F. ve Hamza, A. (2005). Pharmacokinetics of theophylline after administration of suppositories formulation. *Journal of Immunoassay & Immunochemistry*, 26, 251-258.
61. Bayram, H. (2009). Kronik obstrüktif akciğer hastalığının patogenezi, steroid direnci ve tedavide teofilinin yeri. *Tüberküloz ve Toraks*, 57(1), 115-124.
62. Brown, W. M. (2007). Treating COPD with PDE 4 inhibitors. *International Journal of COPD*, 2(4), 517-533.
63. Türk Toraks Derneği. (t.y.). Erişim: 04 Nisan 2009, http://www.toraks.org.tr/mesleki_gelisim_kursu.php?pid=95&sayfa=11
64. Currie, G. L., Butler, C. A., Anderson, W. J. ve Skinner, C. (2008). Phosphodiesterase 4 inhibitors in chronic obstructive pulmonary disease: a new approach to oral treatment. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65(6), 803-810.
65. Ito, K., Lim, S., Caramori, G., Cosio, B., Fan Chung, K., Adcock, I, M. ve diğerleri. (2002). A molecular mechanism of action of theophylline: induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proceeding of The National Academy of Sciences*, 99(13), 8921-8926.
66. Culpitt, S. V., Matos, C., Russell, R. E., Donnelly, L. E., Rogers, D. F. ve Barnes, P. J. (2002). Effect of theophylline on induced sputum inflammatory indices and neutrophil chemotaxis in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 1371-1376.

67. Mustafa, S. J., Nadeem, A., Fan, M., Zhong, H., Belardinelli, L. ve Zeng, D. (2007). Effect of a specific and selective A_{2B} adenosine receptor antagonist on adenosine agonist AMP and allergen-induced airway responsiveness and cellular influx in a mouse model of asthma. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320, 1246-1251.
68. Inbe, H., Watanabe, S., Miyawaki, M., Tanabe, E. ve Encinas, J. A. (2004). Identification and characterization of a cell-surface receptor, P2Y₁₅, for AMP and adenosine. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(19), 19790-19799.
69. Cosio, B. G. ve Soriano, J. B. (2009). Theophylline again? Reasons for believing, *European Respiratory Journal*, 34(1), 5-6.
70. Barnes, P. J., Adcock, I. M. ve Ito, K. (2005). Histone acetylation and deacetylation: importance in inflammatory lung diseases, *European Respiratory Journal*, 25(3), 552-563.
71. Cosio, B. G., Iglesias, A., Rios, A., Noguera, A., Sala, E., Ito, K. ve diğerkleri. (2009). Low-dose theophylline enhances the anti-inflammatory effects of steroids during exacerbations of COPD, *Thorax*, 64, 424-429.
72. Barnes, P. J. (2006). How corticosteroids control inflammation, *British Journal of Pharmacology*, 148, 245-254.
73. Flokkerts, G., Kloek, J., Muijsers, R. ve Nijkamp, F. P. (2001). Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 429, 251-262.

74. Chorostowska-Wynimko, J., Kus, J. ve Skopinska-Rozewska, E. (2007). Theophylline inhibits free oxygen radicals production by human monocytes via phosphodiesterase inhibition. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58(5), 95-103.
75. Dent, G., Giembycz MA., Rabe, KF., Wolf, B., Barnes, PJ. ve Magnussen, H. (1994). Theophylline suppresses human alveolar macrophage respiratory burst through phosphodiesterase inhibition. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 10(5), 565-572.
76. Calhoun, W. J., Stevens, C. A. ve Lambert, S. B. (1991). Modulation of superoxide production of alveolar macrophages and peripheral blood mononuclear cells by beta-agonists and theophylline. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 117(6), 514-522.
77. Bagshaw, S. M. ve Ghali, W. A. (2005). Theophylline for prevention of contrast-induced nephropathy. *Archives of Internal Medicine*, 165, 1087-1093.
78. Menon, L. G., Ingle, A. D., ve Gude, R. P. (2002). Tumor regression of B16F10 melanoma in vivo by prevention of neovascularization: study on theophylline. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 17(2), 213-217.
79. Lentini, A., Kleinman, H. K, Mattioli, P., Autuori-Pezzoli, V., Nicolini, L., Pietrini, A. ve diğerleri. (1998). Inhibition of melanoma pulmonary metastasis by methylxanthines due to decreased invasion and proliferation. *Melanoma Research*, 8(2), 131-137.

80. Hirsh, L., Dantes, A., Suh, B., Yoshida, Y., Hosokawa, K., Tajima, K. ve diğerleri. (2004). Phosphodiesterase inhibitors as anti-cancer drugs. *Biochemical Pharmacology*, 68, 981-988.
81. Caraglia, M., Marra, M., Giuberti, G., Beninati, S., Lentini, A., Pepe, S. ve diğerleri. (2002). Theophylline-induced apoptosis is paralleled by protein kinase A-dependent tissue transglutaminase activation in cancer cells. *Journal of Biochemistry*, 132(1), 45-52.
82. Theodore, A., Seidler, S. ve Seidler, F. Antimitotic and cytotoxic effects of theophylline in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 64, 259-267.
83. Crumpton, T. L., Seidler, F. J. ve Slotkin, T. A. (2001). Generation of reactive oxygen species by xanthine derivatives in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 66, 143-146.
84. Merimsky, O., Hirsh, L., Dantes, A., Land-Bracha, A., Suh, B. S. ve Amsterdam, A. (2005). Induction of apoptosis in non-small lung carcinoma cell line (H1299) by combination of anti-asthma drugs with gemcitabine and cisplatin. *International Journal of Oncology*, 26(2), 475-482.
85. Mabed, M., Aref, S., Fouda, M. ve El-Sharawy, S. (2004). Chlorambucil plus theophylline vs chlorambucil alone as a front line therapy for B-cell chronic lymphatic leukemia. *Leukemia and Lymphoma*, 45(10), 2029-2035.
86. Shannon, M. (1993). Predictors of major toxicity after theophylline overdose. *Annals of Internal Medicine*, 119, 1161-1167.

87. Koh, Y. I., Choi, I. S. (2002). Lactic acidosis associated with the usual theophylline dose in a patient with asthma. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 17(2), 147-149.
88. Liu, P. H., Lee, B. J., Wang, C. Y. ve Hung, D. Z. (2008). Acute pancreatitis after severe theophylline overdose. *Clinical Toxicology*, 46(10), 1103.
89. Polak, M., Rolon, M. A., Chouchana, A. ve Czernichow, P. (1999). Theophylline intoxication mimicking diabetic ketoacidosis in a child. *Diabetes & Metabolism*, 25, 513-515.
90. Stenius, B., Riikonen, S. ve Teramo, K. (1995). Slow-release theophylline in pregnant asthmatics. *Chest*, 107(3), 642-647.
91. Schatz, M. (2001). The efficacy and safety of asthma medications during pregnancy. *Seminars in Perinatology*, 25(3), 145-152.
92. Tsutsumi, K., Kotegawa, T., Matsuki, S., Tanaka, Y., Ishii, Y., Kodama, Y. ve diğeri. (2001). The effect of pregnancy on cytochrome P450 1A2, xanthine oxidase, and N-acetyltransferase activities in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 70, 121-125.
93. Ommatı, R. (2009). *Vademecum*. İstanbul: Medical Tribune Yayıncılık.
94. Chang, J., Gotcher, S., Gushaw, J. B., Gadsden, R. H., Bradley, C. ve Stewart, T. C. (1982). Homogeneous enzyme immunoassay for theophylline in serum and plasma. *Clinical Chemistry*, 28(2), 361-367.

95. Baselt, R. C. (1980). *Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology*. (s. 270-274). California: Biomedical Publications.
96. Orcutt, J. J., Kozak, P. O., Gillman, S. A. ve Cummins, L. H. (1977). Micro-scale method for theophylline in body fluids by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. *Clinical Chemistry*, 23, 599-601.
97. Goicoechea, H. C., Olivieri, A. C. ve de la Pena, A. M. (1999). Determination of theophylline in blood serum by UV spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) calibration. *Analytica Chimica Acta*, 384, 95-103.
98. Gupta, R. C. ve Lundberg, G. D. (1973). Quantitative determination of theophylline in blood by differential spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, 45(14). 2403-2405.
99. Goonetilleke, A. K. E., Munasinghe, T. M. J., Cooray, H. C., Balasuriya, W. K. ve Fernando, N. (2002). Theophylline blood levels in Sri Lankan asthmatics: comparison of two methods of assay. *Ceylon Medical Journal*, 47(2), 50-51.
100. Mirfazaelian, A., Goudarzi, M., Tabatabaiefar, M. ve Mahmoudian, M. (2002). A quantitative thin layer chromatography method for determination of theophylline in plasma. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 131-134.
101. Meola, J. M., Brown, H. ve Swift, T. (1979). Fluorometric measurement of theophylline. *Clinical Chemistry*, 25(10), 1835-1837.

102. Talebpour, Z., Maesum, S., Jalali, M. ve Shamsipour, M. (2003). Simultaneous determination of theophylline and caffeine by proton magnetic resonance spectroscopy using partial least squares regression techniques. *Analytical Sciences*, 19, 1079-1082.
103. Least, C. J., Johnson, G. F. ve Solomon, H. M. (1976). Gas-chromatographic micro-scale procedure for theophylline with use of a nitrogen-sensitive detector. *Clinical Chemistry*, 22(6), 765-768.
104. Saka, K., Uemura, K., Ishida, K. ve Yoshida, K. (2007). Acetic acid improves the sensitivity of theophylline analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 846, 240-244.
105. Brooks, K. E. ve Smith, N. B. (1989). Versatile efficient system for extracting drugs from urine for gas chromatographic/mass spectrometrics analysis. *Clinical Chemistry*, 35(10), 2100-2103.
106. Tserng, K. Y. (1983). Gas chromatographic-mass spectrometric quantitation of theophylline and its metabolites in biological fluids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(5), 526-529.
107. Song, J., Park, K., Park, H., Yoon, Y. ve Kim, J. (2004). High-throughput liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for plasma theophylline and its metabolites. *Clinical Chemistry*, 50(11), 2176-2179.
108. Hori, Y., Fujisawa, M., Shimada, K., Hirose, Y. ve Yoshioka, T. (2006). Method for screening and quantitative determination of serum levels of salicylic acid, acetaminophen, theophylline, phenobarbital, bromvalerylurea, pentobarbital, and amobarbital

using liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(1), 7-13.

109. Kanazawa, H., Atsumi, R., Matsushima, Y. ve Kizu, J. (2000). Determination of theophylline and its metabolites in biological samples by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 870, 87-96.
110. McLoughlin, D. A., Olah, T. V. ve Gilbert, J. D. (1997). A direct technique for the simultaneous determination of 10 drug candidates in plasma by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry interfaced to a prospect solid-phase extraction system. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15, 1893-1901.
111. Tajerzadeh, H. ve Dadashzadeh, S. (1995). An isocratic high-performance liquid chromatographic system for simultaneous determination of theophylline and its major metabolites in human urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 13, 1507-1512.
112. Sitar, D. S., Piafsky, K. M., Rangon, R. E. ve Ogilvie, R. I. (1975). Plasma theophylline concentrations measured by high-pressure liquid chromatography. *Clinical Chemistry*, 21(12), 1774-1776.
113. Zydron, M., Baranowski, J. ve Baranowska, I. (2004). Separation pre-concentration and HPLC analysis of methylxanthines in urine samples. *Journal of Separation Science*, 27, 1166-1172.
114. Marika, K., Nakashima, H., Perparimt, K., Naoto, U., Koichi, N. ve Shigeyuki, N. (1999). Simultaneous determination of grepafloxacin,

ciprofloxacin and theophylline in human plasma and urine by HPLC, *Therapeutic Drug Monitoring*, 21(3), 335-340.

115. Thompson, R. D., Nagasawa, H. T., ve Jenne, J. W. (1974). Determination of theophylline and its metabolites in human urine and serum by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 84(4), 584-593.
116. Devarajan, P. V., Sule, P. N. ve Parmar, D.V. (1999). High-performance thin-layer chromatographic determination of theophylline in plasma. *Journal of Chromatography B*, 736, 289-293.
117. Hinds, J. A., Pincombe, C. F., Kanowski, R. K., Day, S. A., Sanderson, J. C. ve Duffy, P. (1984). Ligand displacement immunoassay: a novel enzyme immunoassay demonstrated for measuring theophylline in serum. *Clinical Chemistry*, 30(7), 1174-1178.
118. Goldsworthy, S. J., Kemp, M. ve Warner, J. O. (1981). Salivary and urine theophylline levels in management of childhood asthma. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 74, 415-418.
119. Lena, S. M., Wood, C. B. S., Hutchins, P. ve Turner, P. (1980). Salivary theophylline estimation in the management of asthma in children. *Postgraduate Medical Journal*, 56, 85-87.
120. Plavsic, F., Culiq, J., Barkan, I. Jr. ve Vrhovac, B. (1981). Theophylline concentration in saliva as a guide for individualization of its therapeutic use. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 11(5), 533-534.

121. Kester, M. B., Consuelo, L. S., Rocci, M. L. ve Mansmann, H. C. (1987). A new simplified assay for the quantitation of theophylline and its major metabolites in urine by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(3), 238-241.
122. Masaharu, N., Sato, S., Yamato, S., Shimada, K., Kitagawa, S., Honda, A. ve diğ erleri. (2003). Assessment of tear concentrations on therapeutic drug monitoring. III. Determination of theophylline in tears by gas chromatography/mass spectrometry with electron ionization mode. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 18(2), 139-145.
123. Yuan, H., Mullett, W. M. ve Pawliszyn, J. (2001). Biological sample analysis with immunoaffinity solid-phase microextraction. *Analyst*, 126, 1456-1461.
124. Deckendroff, B., Holman, D. A., Christian, G. D. ve Ruzicka, J. (1998). Automated solid phase extraction of theophylline by sequential injection on renewable column. *Analytical Communications*, 35, 357-359.
125. Van Gennip, A. H., Grift, J. ve Van Bree-Blom, E. J. (1979). Urinary excretion of methylated purines in man and in the rat after the administration of theophylline. *Journal of Chromatography*, 163, 351-362.
126. Emara, S. (2004). Simultaneous determination of caffeine, theophylline and theobromine in human plasma by on-line solid-phase extraction coupled to reversed-phase chromatography. *Biomedical Chromatography*, 18, 479-485.

127. Muir, K. T., Jonkman, J. H. G., Tang, D. S., Kunitani, M. ve Riegelman, S. (1980). Simultaneous determinations by theophylline and its major metabolites in urine by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography*, 221(1), 85-95.
128. Bispo, M. S., Veloso, M. C., Pinheiro, H. L. C., De Oliveria, R. F. S., Reis, J. O. N. ve De Andrade, J. B. (2002). Simultaneous determination of caffeine, theobromine and theophylline by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatographic Science*, 40, 45-48.