

TEOBROMİN MİKTAR TAYİNİ HAKKINDA

A study of the acidimetric method of assay for Theobromine

H. AMÂL ve Ü. URAL

(İstanbul Üniversitesi, Eczacı Okulu, Farmasötik Kimya Enstitüsü)

Ksantin bünyesi ihtiva eden ve tedavide gerek tek başına gerekse türevleri halinde kullanılan Kafein, teobromin ve teofilinin, bulunduğu preparat içerisinde miktar tayinlerini yapmak için Farmakopeler ve analiz kitapları bir kaç metod vermektedir. Saf madde veya sodyum tuzunun, bir organik asid tuzu ile vermiş olduğu molar karışımların toz yahut galenik preparatlarında tatbik edilecek metotlarda ilk önce göz önünde tutulacak nokta ksantinlerin miktar tayini olup ancak ikincinin tayini birinci komponentin miktar tayini neticesine yardımcı olabilir, (tuzu teşkil eden katyonun tayini ayrı bir problem olup preparatın pH-sı bakımından fikir verir).

Ksantinlerin miktar tayini için Farmakopelerin kullandıkları metotlar, gravimetrik ve titrimetrik olmak üzere ikidir:

I — Gravimetrik metotlar:

Münasip bir eritici yardımıyla aktif maddedyi tüketmek ve eritici uçurulduktan sonra artığı tartmaktan ibaret olup,

a) Kafein ve kafeinli preparatların miktar tayininde doğrudan doğruya tatbik edilir; [kafein - sodyum sitrat, kafein - sodyum benzoat, kafein - sodyum salisilat (1, 2, 4) gibi].

b) Teobrominli preparatlarda teobromin dimetil sülfatla kafein haline geçirildikten (metillendikten) sonra aynı şekilde kloroformla tüketilir (6);

c) Teofilinli preparatlar da alkale vasatta kloroform - isopropil alkol karışımı ile tüketilir (7, 8).

I — Titrimetrik metotlar:

1) **Asidimetri.** Daha ziyade teobrominli preparatlarda (teobromin sodyum - sodyum asetat, teobromin sodyum - sodyum salisilat, v. s. gibi) tatbik edilmekte olup gümüş nitrattan açığa çıkan nitrik asidin bir endikatör karşısında ayarlı bir alkali ile titrasyonundan ibarettir (4, 5).

2) **Arjantometri.** Teofilinli preparatlar için elverişli bir tekniktir ve esası fazla gümüş nitrat ilâvesile Ag-teofilini çöktürmek, süzültüde AgNO_3 fazlasını $\text{NH}_4 \text{SCN}$ ile ayarlamaktır (3, 4, 5, 8).

Yukarıda saydığımız bu teknikler üzerinde hassasiyet derecelerini mukayese etmek ve kabil olduğu takdirde hassasiyeti arttırmak maksadile bir seri araştırmalar yaptık. Bunun için eyvelâ doğrudan doğruya kafein, teobromin, teofilin; sonra muhtelif nisbetlerde Na-asetat veya Na - salisilat ile karıştırılmış bileşiklerde çalıştık.

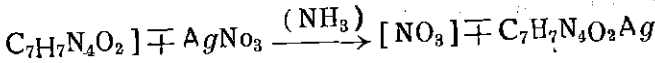
Kafein:

Saf halde veya kafein sitrat, kafein - sodyum benzoat halindeki bileşik veya preparatlarda miktar tayini metodu bütün Farmakopelerin kullandıkları gravimetrik metottur. Yani preparat veya tozdan kloroform vasıtasile kafein baz halinde tüketilir, kloroform uçurulur ve sabit vezne geldikten sonra artık tartılır. Bu teknik iyi olup hata nispeti 0.2 % civarındadır, eczanelerde kolayca tatbik edilebilir.

Teofilin:

Bu maddenin saf haldeki tozu üzerinde arjantometrik metodu değişik şekillerde tatbik ettik ve bu arada teofilinin Ag iyonlarıyla verdiği reaksiyon mahsulü üzerinde durduk.

Teofilin AgNO_3 ile amonyaklı vasatta:



den ibaret bir rusup verir. Bu rusup süzöldükten ve yıkandıktan sonra reaksiyona girmemiş olan 0.1 N AgNO_3 'ün fazlası ferri iyonları karşısında 0,1 N $\text{NH}_4 \text{SCN}$ ile titre edilir. Bu metod tatbik edildiği takdirde neticelerde 5 % kadar bir fazlalık görülmüştür. Bir çok farmakopelerin bu şekilde tatbik ettikleri tekniklerde teofilin, Ag-teofilinat halinde çöktürüldükten sonra su veya nitrik asidli su ile üç defa yıkanıyor ki hatanın sebebi burada bulunmaktadır. Bu yıkama ekseriyetle Ag-teofilinat rusubunun tuttuğu AgNO_3 in hepsini süzültüye almak için kâfi gelmediğinden geri ayarlamada 0.1 N AgNO_3 miktarı az bulunmakta, binaenaleyh teofilin yüzdesi biraz yüksek çıkmaktadır. Çok fazla yıkamanın da mahzurulu olduğunu tesbit etmiş bulunuyoruz. Bu takdirde bir miktar Ag-teofilinat suda eriyerek teofilin yüzdesini düşük göstermektedir.

Nitekim Ag-teofilinat rusubunun çökme şartları üzerinde yaptığımız incelemelerde: Çökmenin başlangıçta kantitatif olduğunu fakat rusubun uzun yıkanma ameliyesi esnasında kaybolarak (suda eriyerek) yüzde

nisbetinin düştüğünü müşahede ettik. Bu düşme Ag-teofilinat rüsübunun tartılması - iyice yıkandıktan ve kurutulduktan sonra; tartılan rüsübun sulu nitrik asidde eritildikten sonra 0,1 N NH_4SCN ile titrasyonu neticesinde 20 %, 20.5 %, 25.8 %, 26.3 % civarında bulunmuş ve Ag-teofilinatın ancak 80 %, 79.5 %, 74.2 % ve 73.7 % si tartılabilmiş ve tayin edilebilmiştir (burada görülen farklar yıkamada kullanılan su miktarından gelmektedir). Buna göre yıkama ameliyesinin her seferinde 10'ar ml su kullanarak en çok dört defa yapılması uygundur ki bu takdirde neticeler doğruya çok yakın olmaktadır.

Teofilin miktar tayininde vasatı bir pH endikatörüne karşı nötr yapıktan sonra AgNO_3 ile muamele ederek serbest hale geçen HNO_3 ün titrasyonu esasına dayanan teknikte fenol kırmızısı, fenolftalein ve turnusol tentürü ile neticeleri mukayese ettiğimizde:

- 1) Renk dönümünün turnusol tentürü ile en iyi seçilebileceğini,
- 2) Neticelerin doğruya en yakın olanının turnusol tentürü ile yapılan tayinlerde olduğunu müşahede ettik.

Kafein ve teofilinde, bu şekilde, ön müşahedeleri tamamladıktan sonra esas problemimiz olan teobrominli, teobromin sodyum - sodyum asetatlı, teobromin sodyum - sodyum salisilatlı preparatlarda:

- I) 0.1 N AgNO_3 ile muameleden sonra,
 - a) Çöken rüsübun tartılması,
 - b) Çöken rüsübun, nitrik asidde eritildikten sonra, 0.1 N NH_4SCN ile ayarlanması,
 - c) Çöken rüsübün süzülüp yıkandıktan sonra solüsyonda kalan AgNO_3 fazlasının 0.1 N NH_4SCN ile titrasyonu.

II) 0.1 N AgNO_3 ile muameleden sonra serbest hale geçen HNO_3 in

a) Fenol kırmızısı,

b) Fenolftalein,

c) Turnusol tentürü karşısında 0.1 N NaOH ile tayini;

III) Dimetil sülfatla teobromini kafein haline geçirdikten sonra kloroformla tüketme ve kloroform uçurulduktan sonra artığın tartılması metodları yardımıyla teobromin tayinini yaptık. (Çalışmalar saf teobromin, 55 % lik teobromin sodyum - sodyum asetat, 49.5 % luk teobromin sodyum - sodyum salisilat ve yarıyarıya sodyum salisilatla düşürülmüş yani 22.97 % lik teobromin sodyum - sodyum salisilat üzerinde yapılmıştır).

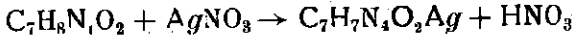
I — a) Teobrominli preparatlarda veya saf teobrominde amonyaklı vasatta AgNO_3 ile Ag-teobrominat rüsübunun çökmesi kantitatif değildir.

Çökme saf teobromin için ortalama 78.19 %, teobromin sodyum - sodyum salisilat için ortalama 31.43 % nisbetindedir (45.95 % teobromin ihtiva eden preparatta).

b) Ag - teobrominat bileşiği halinde çöken rüsubun dilüe nitrik asidde eritildikten sonra 0.1 N NH_4SCN ile tayininde, gerek saf teobrominde gerekse molar karışımlarında netice (a) daki gravimetrik metod neticelerini tutmakta olup saf teobromin için 79.2 %, teobromin sodyum-sodyum salisilat için 31.44 % nisbetindedir.

c) Bir çok farmakopelerde ve klasik kitaplarda teofilinli bileşikler için tatbik edilen 0.1 N AgNO_3 ile nötr vasatta muameleden sonra 0.1 N AgNO_3 ün fazlasını 0.1 N NH_4SCN ile titre etmek esasına dayanan metodu teobromin ve teobromin sodyum - sodyum asetatta tatbik ettik. (Teobromin sodyum - sodyum salisilatta bu metodu tatbik etmek imkânı yoktu, çünkü vasata konan endikatör - demir şapı - ile salisilik asid renk verecektir). Her iki madde için de bu tekniğin elverişli olmadığını gördük. Bu metod tatbik edildiği takdirde mevcut teobrominin ancak 61.3 % kadarı tayin edilebiliyor (neticeler 61.01 %, 61.4 %, 62.5 %, 60.3 % v.s. olduğuna göre).

II) Teobromin ve teobrominli ilaçlarda en çok tatbik edilebilecek teknik, umumiyetle farmakopelerin kullandıkları tekniktir (nötr vasatta AgNO_3 ile muameleden sonra husule gelen nitrik asidin:



ayarlı bir alkali ile tayini). Bu teknikte farmakopeler tarafından tavsiye edilen endikatör fenol kırmızı olup bu endikatörle bilhassa teobrominli preparatların tayininde renk dönümü çok iyi görülmez.

Ayrıca bu endikatör ile yaptığımız denemelerde teobromin yüzdesinin tam doğru olarak tayin edilemediğini, ancak serî tayinlerde mukayese imkânının temin edildiğini gördük. Daha kesin bir tayin yapmak için teobrominli nümunelerde fenol kırmızısı ile elde ettiğimiz neticeleri fenolftalein ve turnusol tentürü ile mukayese ettik.

Saf teobrominde fenol kırmızısı ile yapılan tayinde neticeler 81.8 % civarında bulunmakta ve renk dönümü net olmamaktadır. Fenolftalein karşısında yapılan titrasyonlarda neticeler 99.2 % civarında bulunmakta, nihayet turnusol tentürü muvacehesinde yapılan tayinlerde 100 % netice elde edilmektedir.

Teobromin sodyum - sodyum asetatta vasatta sodyum asetat parçalanmadan kaldığı takdirde fenol kırmızısı ile 53.7 %, fenolftaleinle 54.2 % ve turnusol tentürü ile 52.8 % teobromin bulduk ki netice itibariyle bulunması icap eden rakkamların sıra ile 97.6 %, 98.5 % ve 96 % si bulun-

muştur. Burada sodyum asetatın vasatta bulunması dolayısıyla fenol kırmızısı ve turnusol tentürü gibi renk dönümü pH 6.8 ve 5 civarında olan endikatörlerle neticeler düşük çıkmaktadır; bilakis renk dönümü pH 8.2 civarında olan fenolftalein ile netice en iyidir.

Teobromin sodyum - sodyum salisilatta. - Bu madde ile tayinleri bir defa 45.95 % teobromin ihtiva eden (a) ve bir defa da 22.97 % teobromin ihtiva eden (b) nünunelerle yaptık.

Fenol kırmızısı ile:

a. için 46.7 % b. için 24.05 % teobromin

Fenolftalein ile:

a. için 45.56 % b. için 23.00 % teobromin

Turnusol tentürü ile:

a. için 45.6 % b. için 22.9 % teobromin

bulduk ki bu neticeler bulunması icab eden rakkamlarla mukayese edilince sıra ile 102,1 %, 104.5 %, 99.4 %, 100.1 %, 99.1 % ve 99.5 % olarak bulunmuştur. Bu neticelere göre asidimetrik bir tayin esasına dayanan bu metod için en iyi endikatörün fenolftalein veya turnusol tentürü olduğu neticesine varmak icab eder.

III) Teobrominli preparatlarda teobrominin dimetil sülfatla muamelesi (British Pharmacopoca 1953) iyi netice vermemekte ve metilleme ameliyesi kantitatif yürümektedir. Esasen bu metod artık teobromin için kullanılmamaktadır.

Ö Z E T

Teobromin miktar tayininde en elverişli metodu seçmek için değişik farmakopelerin kullandıkları metodlar arasında mukayeseler, muhtelif nisbetindeki preparatlarla ve ksantin türevi diğer maddelerle yapılmış ve aşağıdaki neticeler elde edilmiştir:

I) Ag-teobrominat çökmesi kantitatif değildir;

II) Arjantometrik metod, (0.1 N AgNO_3 ün fazlasının 0.1 N $\text{NH}_4\text{-SCN}$ ile tayini) teofilin için iyi netice vermekte, teobromin için ise neticeler 61.30 % civarında yani düşük bulunmaktadır;

III) Preparatın AgNO_3 ile muamelesinden sonra serbest hale geçen HNO_3 ün tayininde teofilin için en iyi neticenin turnusol tentürü endikatör olarak kullanıldığı, teobromin için fenolftalein veya turnusol tentürü kullanıldığı hallerde bulunmuştur.

SUMMARY

The comparison of the methods for the determination of theobromine which are used by many pharmacopoeas made with various theobromine preparats and other xanthinê derivatives. The results are as follows:

- 1) The precipitation of Ag-theobrominate is not quantitative;
- 2) Argentometric method (e. g. determination of the excess of the AgNO_3 with 0.1 N NH_4SCN) gives good results with theobromine. The results obtained for theobromine are about 61.3 percent.
- 3) The most convenient method - determination of HNO_3 , which is liberated by adding AgNO_3 to samples - for theophylline is the titration against litmus solution.
- 4) For theobromine the most convenient method is the titration of the nitric acid with 0.1 N sodium hydroxide against litmus solution or phenolphthalein solution where results are:
 - a) For a pure theobromine sample 99.2 % with phenolphthalein and 100.0 % with litmus solution.
 - b) For theobromine sodium - sodium acetate 54.2 % with phenolphthalein and 52.8 % with litmus solution (instead of 55 % of theobromine).
 - c) For theobromine sodium - sodium salicylate:
 - 45.56 % and 23.0 % with phenolphthalein
 - 45.10 % and 22.9 % with litmus solution (instead of 45.95 and 22.95 % respectively).

L I T E R A T U R

- 1) Pharmacopoea Helv. 284, 280, 281, (1949).
- 2) Osol U. S. Dispensatory 25 th Edition 208, 209, 210 (1955)
- 3) U. S. P. XV 41 (1955)
- 4) Pharmacopoea. Internationalis 82, 83, 31 (1951)
- 5) Osol U. S. Dispensatory 25 th Edition 1409, 65 (1955)
- 6) British Pharmacopoea 568 (1953).
- 7) Pharmacopoea Helv. 115 (1949)
- 8) Dorvault 131 (1955)

(7. IV. 1959)