

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KADMIYUM ÜZERİNDEN İNDİREKT ATOMİK
ABSORPSİYON SPEKTROFOTOMETRİK
TAYİNLER

Yüksek Kimyager Mevlüde CANLICA

F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Anorganik Kimya Programında
Hazırlanan

DOKTORA TEZİ

84952
T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tez Savunma Tarihi : 13 Ocak 2000
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ (YTÜ)
Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Ahmet GÜL (İTÜ)
Prof. Dr. Vefa AHSEN (GYTE)

Prof. Vefa Ahşen

İSTANBUL, 1999

Prof. Dr. Vefa Ahşen
Ahmet Gül

Prof. Dr. Sezen İslimyeli

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KISALTMA LİSTESİ	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. GENEL BÖLÜM.....	2
2.1 Nifedipin Hakkında Genel Bilgi	2
2.1.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri	2
2.1.2 Spektral özellikleri	3
2.1.2.1 UV spektrumu	3
2.1.2.2 IR spektrumu	4
2.1.2.3 NMR spektrumu	5
2.1.2.4 Kütle spektrumu	8
2.1.3 Sentezi.....	9
2.1.4 Farmakolojik özellikleri	10
2.1.5 Kararlılığı ve bozunma mekanizması.....	13
2.1.6 Tayin yöntemleri	14
2.1.6.1 Tanınma yöntemleri.....	14
2.1.6.2 Kantitatif yöntemler	15
2.2 Nikardipin Hakkında Genel Bilgi	25
2.2.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	25
2.2.2 Spektral özellikleri	26
2.2.2.1 UV spektrumu	26
2.2.2.2 IR spektrumu	27
2.2.2.3 NMR spektrumu	29
2.2.3 Sentezi.....	30
2.2.4 Farmakolojik özellikleri.....	31
2.2.5 Kararlılığı.....	34
2.2.6 Kantitatif yöntemler	35
2.3 Nimodipin Hakkında Genel Bilgi	38
2.3.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	38
2.3.2 Spektral özellikleri.....	39
2.3.2.1 UV spektrumu.....	39
2.3.2.2 IR spektrumu	40
2.3.2.3 NMR spektrumu	42
2.3.3 Sentezi.....	43
2.3.4 Farmakolojik özellikleri	44
2.3.5 Kararlılığı	46
2.3.6 Tayin yöntemleri	46

	<u>Sayfa</u>
2.3.6.1 Kantitatif Yöntemler	46
2.4 Nitrendipin Hakkında Genel Bilgi	48
2.4.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri	48
2.4.2 Spektral özellikleri	50
2.4.2.1 UV spektrumu	50
2.4.2.2 IR spektrumu	51
2.4.2.3 NMR spektrumu	52
2.4.3 Sentezi	53
2.4.4 Farmakolojik özellikleri	53
2.4.5 Kararlılığı ve bozunma mekanizması	56
2.4.6 Tayin yöntemleri	57
2.4.6.1 Kantitatif yöntemler	57
2.5 Kadmiyum Üzerinden İndirekt Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Tayinler	60
3. DENEYSEL BÖLÜM	62
3.1 Maddeler ve Çözücüler	62
3.2 Çözeltiler	62
3.3 Gereçler	62
3.4 Çalışma Yöntemi	63
3.4.1 Kadmiyum üzerinden indirekt atomik absorpsiyon spektrofotometrik tayinler	63
3.4.1.1 AAS yönteminin koşulları	63
3.4.1.2 Ölçü eğrisinin hazırlanması	64
3.4.1.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması	65
3.4.2 Diazonyum tuzu üzerinden spektrofotometrik tayin yöntemi	66
3.4.2.1 Spektrofotometrik yöntemin koşulları	66
3.4.2.2 Nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin standartları ve ölçü eğrileri	67
3.4.2.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması	67
4. SONUÇLAR	68
4.1 AAS Tayin Yöntemi	68
4.1.1 Yöntemin optimum koşulları	68
4.1.2 Ölçü eğrisi	70
4.1.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması	78
4.2 Diazonyum Tuzu Üzerinden Spektrofotometrik Tayin Yöntemi	79
4.2.1 Yöntemin çalışma koşulları	79
4.2.2 Ölçü eğrisi	79
4.2.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması	82
4.3 Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi	83
5. TARTIŞMA	86
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	102



ANNEME

VE

BABAMA

KISALTMA LİSTESİ

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi
BP	: British Pharmacopoeia
EU	: European Pharmacopoeia
GC	: Gaz Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
im	: Kas içine verme
ip	: Karın zarına
ISE	: İyon Seçisi Elektrod
iv	: Damar içine verme
ir	: infrared
JP	: Japanese Pharmacopoeia
MS	: Kütle Spektrofotometrisi
sc	: Deri altına
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi
USP	: United States Pharmacopoeia
uv	: ultraviyole
vd	: ve diğerleri

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi, fikir ve tecrübeleriyle daima yol gösteren Hocam Sayın Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ'ye, manevi destekleriyle bana güç veren Annem, Babam ve Ağabeylerime teşekkür ederim.

MEVLÜDE CANLICA



ÖZET

Bu tezin ilk bölümünde antihipertansif ilaç etken maddeleri olan nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin'in kimyasal, fiziksel, spektral ve farmakolojik özellikleri ile tayin yöntemlerinin bir dökümü yapıldı.

Tezin ikinci bölümünde bu maddelerin indirekt atomik absorpsiyon spektrofotometrik tayin yönteminin optimum koşulları incelendi. Geliştirilen yöntem aromatik nitro grubu içeren ilaç maddesinin 0.05 N hidroklorik asitli ortamda, CO₂ atmosferinde elementel kadmiyum ile geri soğutucu altında kaynatılarak indirgenmesine ve açığa çıkan kadmiyum(II) iyonunun 228.8 nm'deki atomik absorbanlarının ölçümüne dayanmaktadır.

Ölçülen absorbanlar ile 0.3-1.5 µg/mL nifedipin (0.290-1.460 µg/mL kadmiyum(II) iyonu), nikardipin (0.196-0.980 µg/mL kadmiyum(II) iyonu), nimodipin (0.242-1.209 µg/mL kadmiyum(II) iyonu) ve 0.2-1.4 µg/mL nitrendipin (0.187-1.310 µg/mL kadmiyum(II) iyonu) konsantrasyonları arasında ölçü eğrileri hazırlandı. Ölçü eğrilerinin doğru denklemleri regresyon analizi ile ;

Nifedipin	$A = 0.214 C + 0.012$	$r = 0.9999$
Nikardipin	$A = 0.320 C + 0.013$	$r = 0.9999$
Nimodipin	$A = 0.254 C + 0.001$	$r = 0.9996$
Nitrendipin	$A = 0.254 C + 0.013$	$r = 0.9999$

olarak hesaplandı.

Atomik absorpsiyon spektrofotometrik yöntem, dört maddenin piyasada mevcut ilaç formülasyonlarında miktar tayinine uygulandı. İlaçlar, aromatik nitro grubunun indirgenmesiyle elde edilen amin grubunun diazolama-kenetlenme reaksiyonlarına dayanan görünür bölge spektrofotometrik yöntemle de analiz edildi. İki yöntemden elde edilen sonuçlar birbirleriyle t ve F testleri yönünden istatistik olarak kıyaslandı. İki yöntem arasında ortalamalar ve presizyon yönünden anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

ABSTRACT

In the first part of this thesis; the chemical, physical, spectral and pharmacological properties, and determination methods of four antihypertensive drug substances, nifedipine, nicardipine, nimodipine and nitrendipine, were reviewed.

In the second part of the thesis, optimum conditions of the indirect atomic absorption spectroscopic determination of these substances were investigated. The developed method is based on the reduction of the drug substances carrying an aromatic nitro group, by boiling them under reflux with cadmium metal in 0.05 N hydrochloric acidic medium in a CO₂ atmosphere, for half an hour. The amounts of the drugs were calculated by measuring atomic absorbance of the released cadmium(II) ions, at 228.8 nm.

Calibration graphs were plotted between absorbance and cadmium(II) concentrations in the ranges of 0.2-1.4 µg.mL⁻¹ nitrendipine (0.187-1.310 µg.mL⁻¹ cadmium(II)), 0.3-1.5 µg.mL⁻¹ nifedipine (0.290-1.460 µg.mL⁻¹ cadmium(II)), nicardipine (0.196-0.980 µg.mL⁻¹ cadmium(II)) and nimodipine (0.242-1.209 µg.mL⁻¹ cadmium(II)). The linear equations of the calibration graphs were calculated by regression analyses as $A = 0.214 C + 0.012$ ($r = 0.9999$) for nifedipine, $A = 0.320 C + 0.013$ ($r = 0.9999$) for nicardipine, $A = 0.254 C + 0.001$ ($r = 0.9996$) for nimodipine and $A = 0.254 C + 0.013$ ($r = 0.9999$) for nitrendipine, respectively.

Atomic absorption spectroscopic method was applied to the quantitative determination of four compounds in commercially available drug formulations. The drugs were also analyzed with a visible spectrophotometric method based on diazotization-coupling of the amine group formed during the reduction of aromatic nitro group. The results obtained from the two methods were compared statistically in terms of t and F tests. There were no significant difference between the means and precision of these two methods.

1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

İnsan sağlığında önemli yeri bulunan antihipertansif ilaç etken maddelerinin farmasötik preparatlarda ve vücut sıvılarında tayinleri için duyarlı ve hızlı yöntemlerin geliştirilmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada antihipertansif etkili ve aromatik nitro grubu içeren, kalsiyum antagonisti dört ilaç etken maddesi olan nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin'in kadmiyum(II) iyonu üzerinden indirekt olarak tayini için atomik absorpsiyon spektrofotometrik (AAS) yöntem geliştirilmesi, yöntemin optimum koşullarının saptanması ve farmakolojik preparatlara uygulanması amaçlanmıştır.

Miktar tayini için geliştirilen yöntem, ilaç etken maddelerinin metanoldeki çözeltisinin 0.05 N hidroklorik asitli ortamda metalik kadmiyum ile kırkbeş ile yetmişbeş dakika arasında CO₂ atmosferinde kaynatılması sonucu açığa çıkan kadmiyum(II) iyonunun 228.8 nm'deki atomik absorpsiyonunun ölçülmesine dayanmaktadır.

Yöntemin piyasadan sağlanan ve adı geçen maddelerden içeren toplam sekiz ayrı farmasötik birim preparata uygulanmış ve ilaçlar ayrıca görünür bölge spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. İki yöntemle elde edilen sonuçlar ortalamalar ve standart sapmalar yönünden t ve F testleriyle kıyaslanmıştır.

2. GENEL BÖLÜM

2.1 Nifedipin Hakkında Genel Bilgi (Syed Laik, 1989)

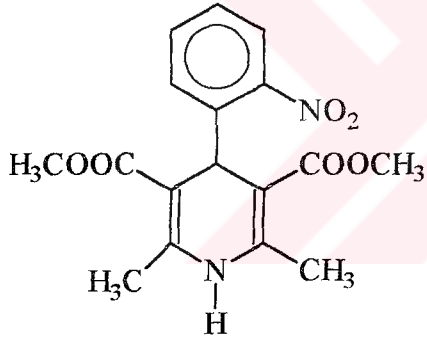
2.1.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri (BP, 1993)

Kimyasal ismi

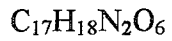
- 1,4-Dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-piridin-3,5-dikarboksilik asit-dimetil ester
- Dimetil 1,4-dihidro-2,3-dimetil-4-(o-nitrofenil)-3,5-piridin-dikarboksilat

Formülü

Açık Formülü



Kapalı Formülü



Molekül Ağırlığı

$$346.30 \text{ g.mol}^{-1}$$

Elementel Bileşimi (The Merck Index, 1989)

Element	C	H	N	O
%	58.95	5.24	8.09	27.72

Görünüş, Renk ve Koku

Isıya dayanıklı, nem çekmeyen, sarı, kokusuz ve tatsız kristal tozudur.

Erime Noktası

171-175°C

Çözünürlüğü

Nifedipin 20°C'da çok kolay çözünmek üzere asetonda (250g/L), metilen klorürde (160g/L), kloroformda (140 g/L), etil asetatta (50 g/L) çözünür. Metanolde (26 g/L), etanolde (17 g/L) az çözünür ve suda pratikçe çözünmez. Bundan başka, farklı pH değerlerindeki tampon çözeltilerde 37°C'daki çözünürlüğü Çizelge 2.1 deki gibidir.

Çizelge 2.1 Nifedipinin çeşitli pH lardaki çözünürlüğü

pH	4	7	9	13
Çözünürlük (g/L)	0.0058	0.0056	0.0078	0.0060

Kurutma Kaybı

105°C'da kurutulduğunda ağırlığının en çok % 0.5'ini kaybederek sabit ağırlığa gelir.

2.1.2 Spektral özellikler

2.1.2.1 UV spektrumu

Nifedipinin farklı çözücülerdeki uv spektrumları Şekil 2.1 de ve ilgili bulguları Çizelge 2.2 de görülmektedir.



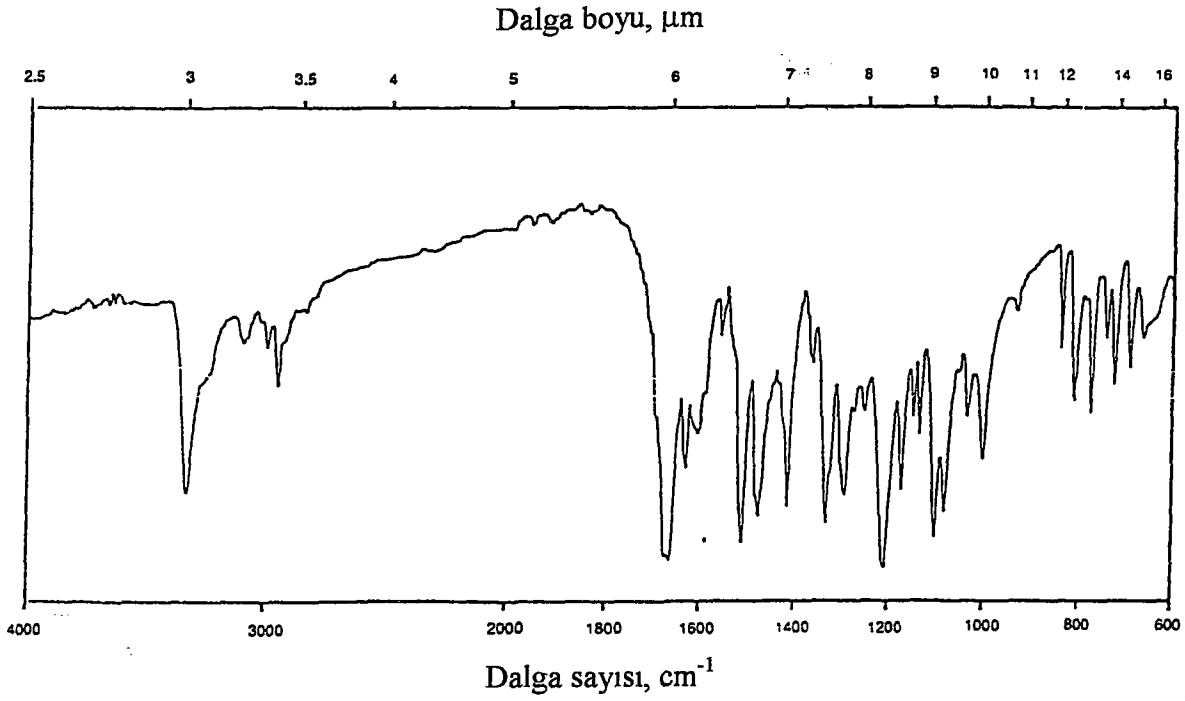
Şekil 2.1 Nifedipinin farklı çözücülerdeki spektrumları

Çizelge 2.2 Nifedipinin uv spektrumlarına ait değerlendirmeler

	Metanol	HCl (0.1 N)	NaOH (0.1 N)
Absorpsiyon	340	338	340
Maksimumu (nm)	235	238	238
A^{%1}	145	165	165
1 cm	624	595	592
ε	5010	5740	5740
	21590	20600	20510

2.1.2.2 IR spektrumu

Nifedipinin KBr disk yöntemiyle alınmış IR spektrumu Şekil 2.2 de, piklerin yorumu ise Çizelge 2.3 de verilmektedir.



Şekil 2.2. Nifedipinin IR spektrumu

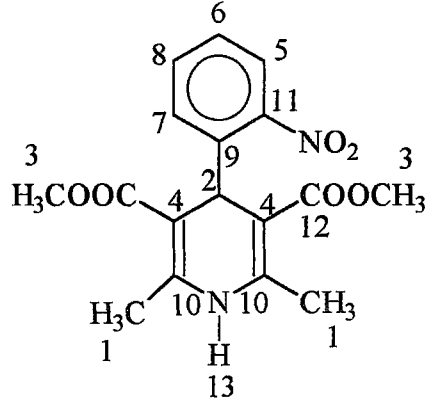
Çizelge 2.3. Nifedipinin IR yapısal tayini

Frekans, cm^{-1}	Tayinler
3331	NH gerilme titreşimi
3102	CH- aromatik
2931-2842	CH- alifatik
1689-1679	C=O ester
1625-1574	-C=C- aromatik
1530-1433	NO ₂
1380-1227	-C-CH ₃
1121	-C-O- ester

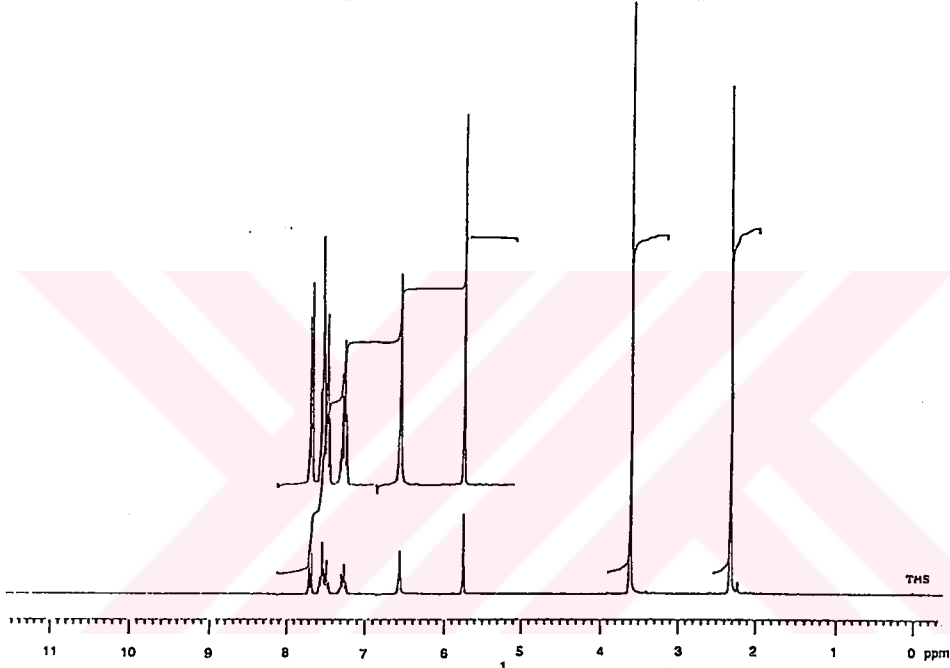
2.1.2.3 NMR spektrumu

¹H-NMR spektrumu

Nifedipinin NMR spektrumu Şekil 2.3 deki yapıya göre Şekil 2.4 de, buna ait yorumlar ise Çizelge 2.4 de görülmektedir.



Şekil 2.3. Nifedipinin NMR sinyallerinin yapısal tayini



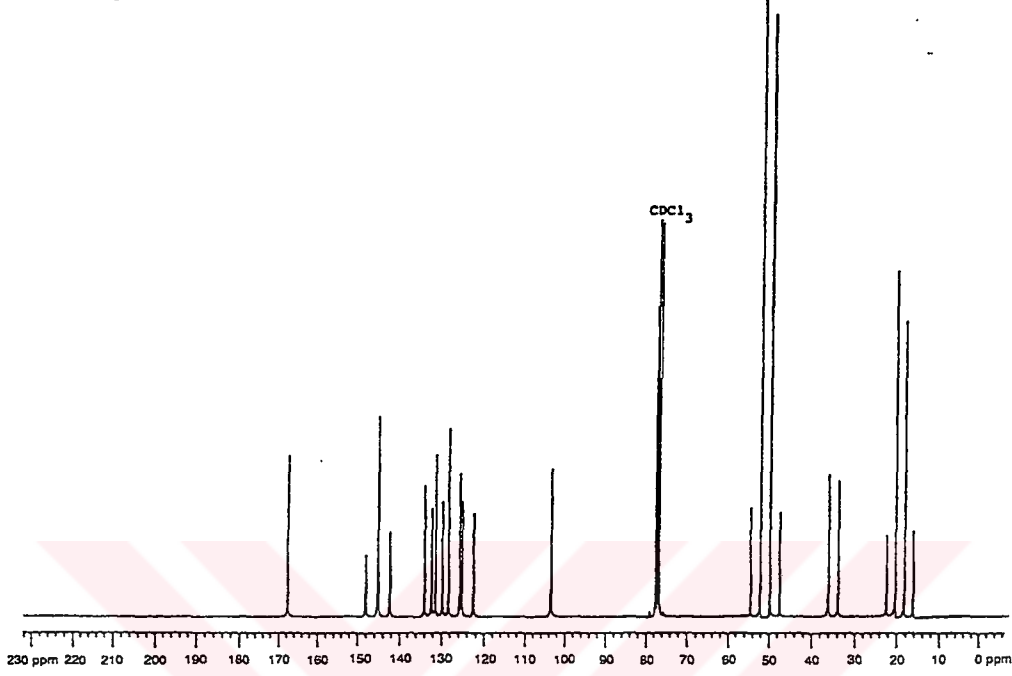
Şekil 2.4 Nifedipinin ¹H-NMR spektrumu

Çizelge 2.4 Nifedipinin ¹H-NMR spektrumunun değerlendirilmesi

Şekil 2.3 deki H atomu	Kimyasal kayma, ppm	Pik sayısı	H Atomlarının sayısı
H-1	2.31	Singlet	6
H-2	5.74	Singlet	1
H-3	3.60	Singlet	6
H-5	7.68	Dublet	1
H-6	7.26	Multiplet	1
H-7	7.50	Dublet	1
H-8	7.51	Multiplet	1
H-13	6.56	geniş singlet	1

¹³C-NMR Spektrumu

Şekil 2.3 deki yapı formülüne göre alınan spektrum Şekil 2.5 de ve buna ait spektral tayinler Çizelge 2.5 de verilmektedir.



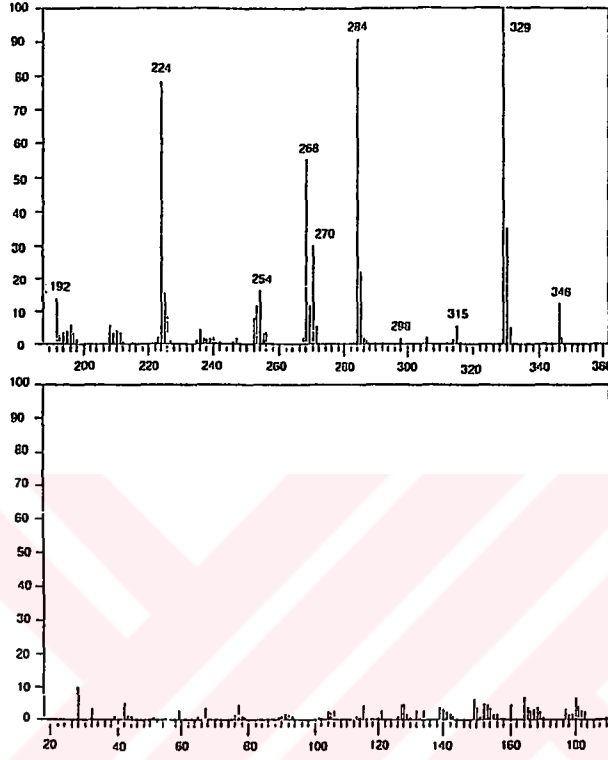
Şekil 2.5 Nifedipinin ¹³C-NMR spektrumu

Çizelge 2.5 Nifedipin ¹³C-NMR spektral tayinleri

C Atomları Şekil 2.3	Kimyasal kayma, ppm	Multiplisiti	C Atomları sayısı
C-1	19.10	Kuadruplet	2
C-2	34.51	Dublet	1
C-3	50.87	Kuadruplet	2
C-4	103.24	Singlet	2
C-5	123.82	Dublet	1
C-6	126.93	Dublet	1
C-7	130.95	Dublet	1
C-8	132.69	Dublet	1
C-9	142.16	Singlet	1
C-10	145.23	Singlet	2
C-11	147.74	Singlet	1
C-12	167.62	Singlet	2

2.1.2.4 Kütle spektrumu

Şekil 2.3 deki yapı formülüne göre alınan spektrum Şekil 2.6 da buna ait değerlendirmeler Çizelge 2.6 da verilmektedir.



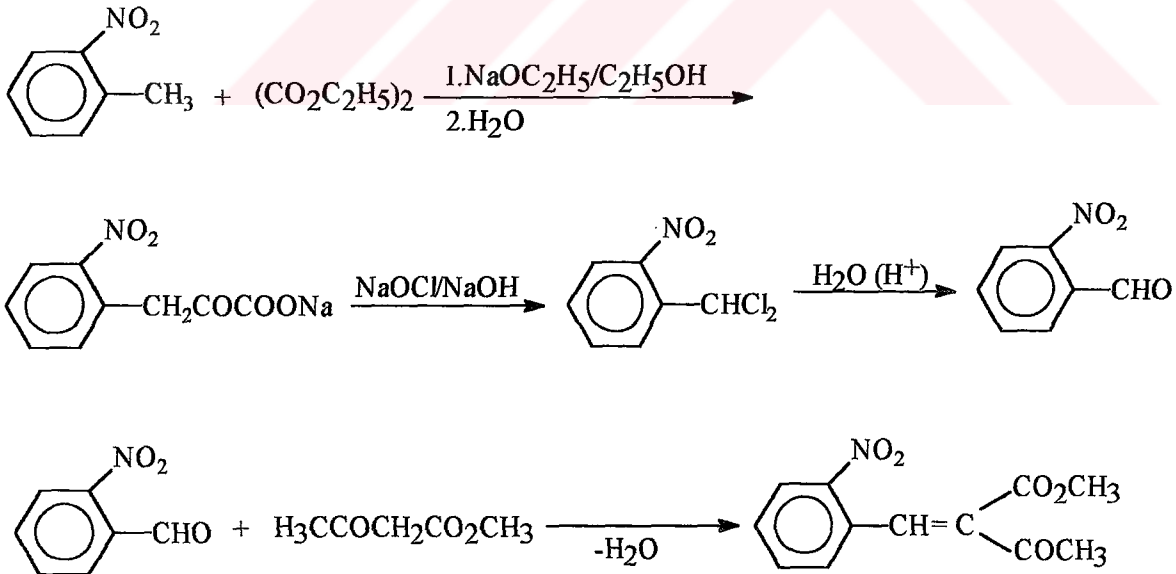
Şekil 2.6 Nifedipinin kütle spektrumu

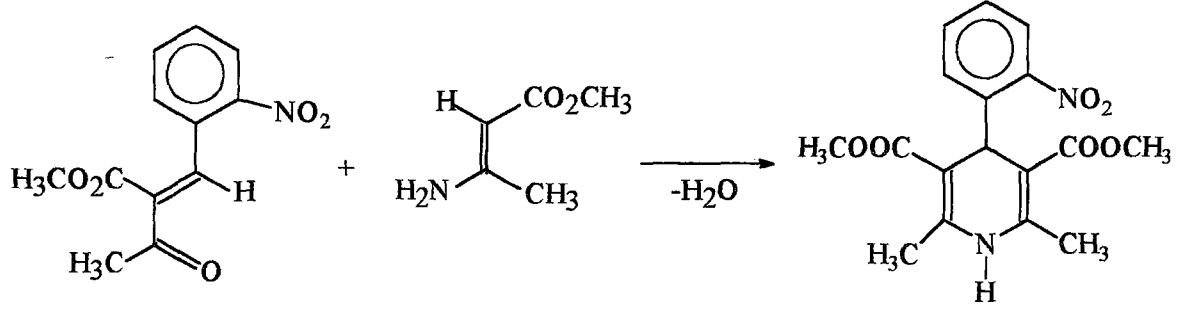
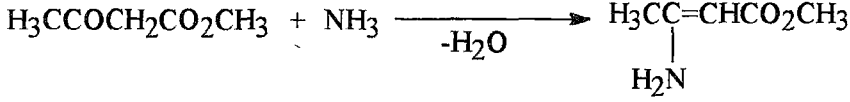
Çizelge 2.6. Nifedipinin kütle spektrumuna ait değerlendirmeler

Kütle sayısı	Yapısal tayini
346	Moleküler pik = $C_{17}H_{18}N_2O_6$
329	M-OH
315	M-OCH ₃
298	M-OCH ₃ .OH
284	M-OCH ₃ .OCH ₃
270	M-CO ₂ CH ₃ .OH
268	M-OCH ₃ .NO ₂ .H
254	M-OCH ₃ .OCH ₃ .NO
224	M-C ₆ H ₄ NO ₂
192	M-C ₆ H ₄ NO ₂ .OHCH ₃

2.1.3 Sentezi

Nifedipinin hazırlanması klasik Hantzsch 1,4-dihidropiridin sentezine dayanmaktadır (Hantzsch, 1982). Yani geri soğutucuda metanol içinde bir mol 2-nitrobenzaldehydi 2 mol metilasetoasetat ve bir mol konsantre amonyum hidroksitin reaksiyonu nifedipini meydana getirir. Bu reaksiyon, birinci aşamada metilasetoasetat ve amonyum hidroksitten enamin oluşumu ve 2-nitrobenzaldehydin Knoevenagel kondenzasyonu gibi düşünülebilir. Bu şekilde oluşan metil 2-(2-nitrobenziliden)-asetoasetat ve metil 3-aminokronat sonradan dinitropiridin ile bir çeşit halka teşkil eden Michael katılmasıyla reaksiyona girerler. Bu şemada nifedipin üretimi teknik boyutlarda gerçekleştirilmiştir. Ticari olarak kabul edilebilir sentez 2-nitrobenzaldehydin hazırlanmasına mahsus yeni bir yöntemin geliştirilmesiyle olmuştur (Meyer vd., 1986). Bu yeni yöntem, teknik sodyum hipoklorürle halojenlendirilen 3-(2-nitrofenil)-piruvat'a dietiloksalatla sodyum etoksit-etanol varlığında kondanse olan 2-nitrotoluen'den başlar ve tek kademede 2-nitrobenziliden klorür vermek üzere bir haloform reaksiyonunda bölünür. Sülfürik asitle devam eden hidroliz 2-nitrobenzaldehydi verir (Bossert vd., 1981). Bu sentez şeması Şekil 2.7 de açıklanmaktadır.



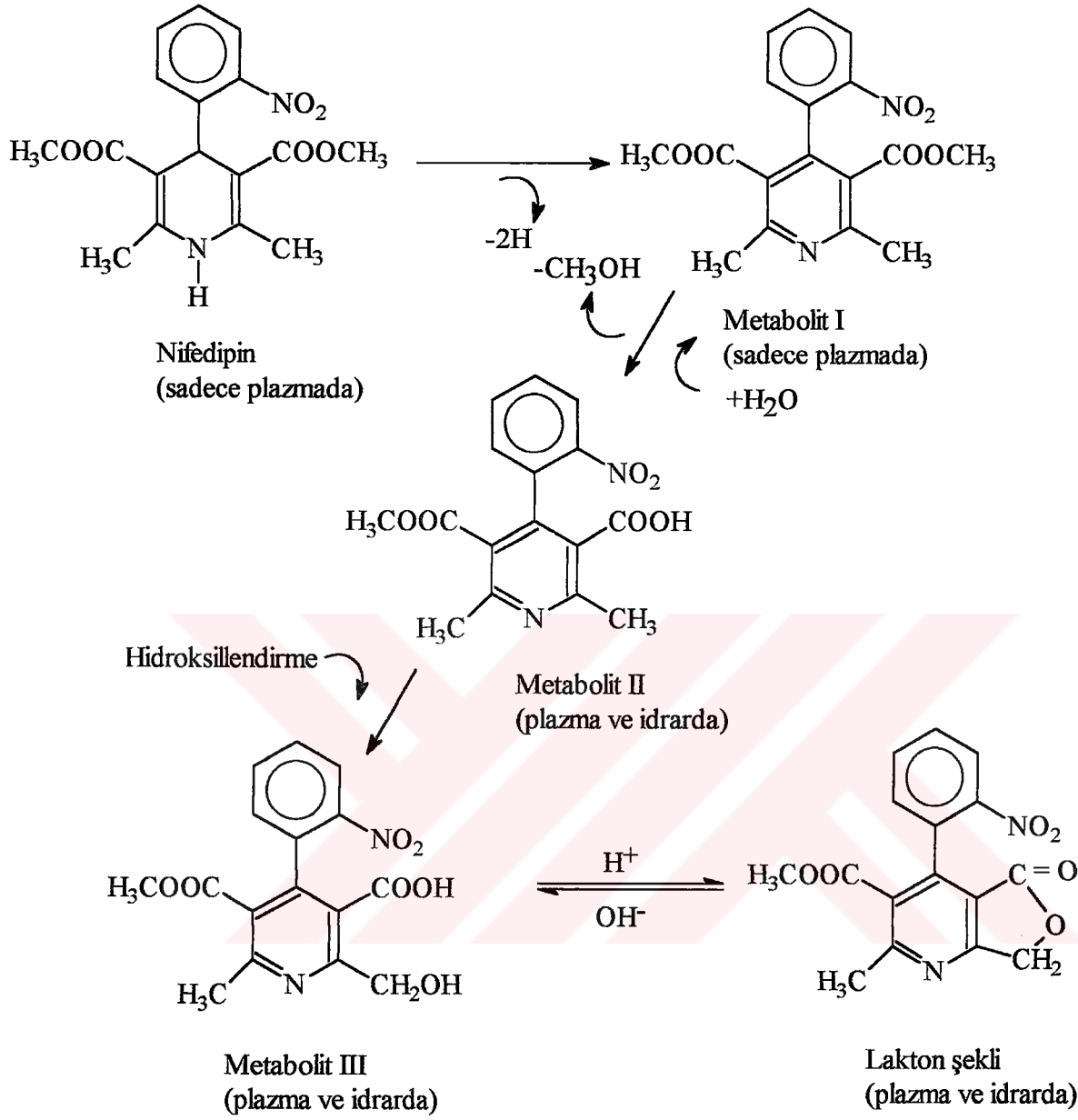


Şekil 2.7 Nifedipinin sentez şeması

2.1.4 Farmakolojik özellikleri (Kayaalp, 1992)

Dihidropiridin türevi bir kalsiyum antagonistidir. Güçlü vazodilatör etkisi nedeniyle antihipertansif ilaç olarak esansiyel hipertansiyonun bütün derecelerinde ve ayrıca dilaltından verilmek suretiyle hipertansif kriz tedavisinde kullanılır. Mide-barsak kanalından çabuk absorbe edilir. Sistemik biyoyararlanımı yaklaşık % 65'tir. Dilaltından uygulandığında da çabuk absorbe edilir. Vazodilatör etkisi, dilaltından verilişte 5 dakikada, ağızdan verilişte ise 20 dakikada başlar. Eliminasyon yarılanma ömrü 5 saat kadardır. Dilaltından uygulandığında tükürük ile yutularak ağız mukozasından çok mideden absorbe edildiğine dair bilgiler de vardır.

Nifedipin insan organizmasında tamamen metabolizmaya uğrar. Aynı metabolik parçalanma sıçan ve köpeklerde de olduğu varsayılmaktadır (Duhm vd., 1972). Değişmemiş nifedipinin sadece eser miktarı böbrek yoluyla elimine edilirler. Şekil 2.8 de, metabolizma şeması görülmektedir. Metabolit II hem idrarda hem de plazmada, metabolit I sadece plazmada, metabolit III ve lakton şekli hem plazmada hem de idrarda bulunmaktadır (Ramsch vd., 1986). Asıl madde nifedipinle kıyaslandıklarında bütün metabolitler farmakolojik olarak inaktif nifedipin türevleridir (Schlosmann vd., 1975).



Şekil 2.8 Nifedipinin metabolizması

Angina tedavisinde başlangıçta günde 3 kez 10 mg dozunda kullanılır ; daha sonra bir kezlik doz 20 mg'a çıkarılabilir. Bazı hastalarda günde 4 kez 20 mg hatta 30 mg verilmesi gerekebilir. Doz ayarlanması, her bir basamakta genellikle 3-7 gün kalınmak suretiyle yapılır. Mikropelletle yapılmış 20 mg lık rötat kapsülleri günde bir veya iki kez verilir. Nifedipin safra yolu spazmları ve renal kolikte antispazmatik olarak denenmektedir.

Nifedipinin farmakinetikleri ağızdan 10 mg tek doz ve 1 mg iv uygulamadan sonra 12 sağlıklı insanda tayin edilmiştir. iv dozundan sonra nifedipin 1.77 ± 0.25 saatlik yarı ömürle elimine edilmiş ve toplam temizlik 0.62 ± 0.09 l/kg/saat olarak hesaplanmıştır. Oral nifedipin dozajı ve eliminasyon yarı ömrü iki kere uzundur (Foster vd., 1983).

Nifedipinin farmakinetiği doğrudan doğruya kan basıncı ve kalp kapasitesi üzerine etkisiyle bağıntı kurduğu anlaşılmıştır. Yüksek bir plazma konsantrasyonundan ileri gelen yan etkenler tablet kullanımıyla bertaraf edilebileceği düşünülmüştür (Kleinbloesem vd., 1984).

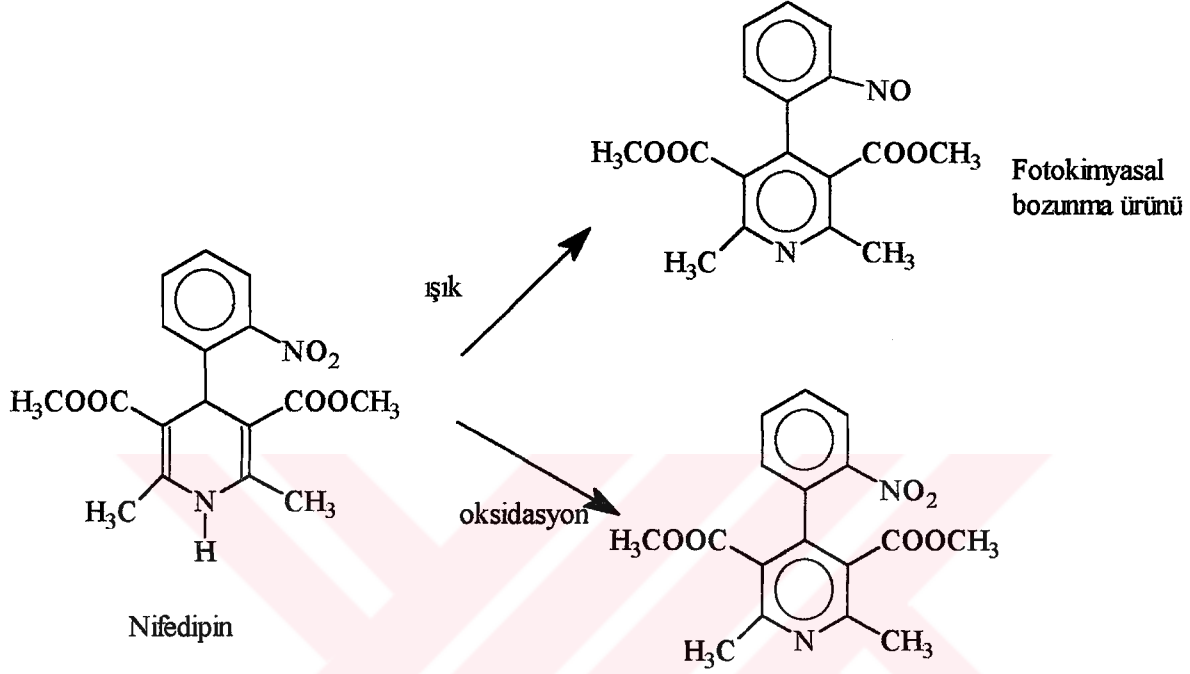
Foster vd. (1983), nifedipin kapsülleri kontrol salımlı tabletler ve iv uygulamadan sonra 25 sağlıklı insan plazmasında değişmeyen nifedipin konsantrasyonlarının sonuçlarını bildirmişlerdir. İnsanlar iv olarak 1 mg veya ağızdan 10 mg almışlardır. Düşük dozlara bağlı olarak değişmemiş maddeyi ve metabolitlerini serumda, idrarda ve feçeste tayin etmek için radyoaktif yöntemler kullanmışlardır. Enteral tedavinin tipine bağlı olmaksızın tedavi aktivitesinin toplam % 90'ı absorplanmaktadır. Klinik olarak kullanılan jelatin kapsüller, tamamen yutulan veya çiğnenebilen tedavi şekillerinin uygulanmasını takiben absorpsiyon hızlarının mukayesesi jelatin kapsüllerin dilaltı uygulamasının belirgin üstünlüğünü göstermiştir. Nifedipinin % 70-80'i uygulama şekline bağlı olmaksızın idrarda elimine edilmiş, birinci gün içinde elimine olan bu miktarın 9/10'u 4-5 saatlik yarı ömür göstermiştir. Oral veya dilaltı tedaviden sonra 4 güne kadar % 15'i feçeste ve hayvanlarda uygulanmasından sonra % 50-70'i idrarda ve % 30-40'ı feçeste elimine edilmiştir. İnsan organizmasında ise tamamen metabolizmaya uğrar.

Kontrol salımlı preparatlarda ilaç hemen hemen 15-30 dakika arasında plazmaya geçer ve maksimum plazma konsantrasyonları 2-4 saat arasında elde edilir. Lückner (1984), yaklaşık 11 ng/mL'nin tedavi aktif seviyeleri 12 saat sonra bile mevcuttur

Nifedipinin serumdaki trigliserid miktarını ve HDL kolesterol oranını oldukça zayıf olarak etkilediği bulunmuştur (Ohnishi vd., 1980).

2.1.5 Kararlılığı ve bozunma mekanizması (Syed Laik, 1989)

Nifedipin oldukça hassas bir bileşiktir. Işığa maruz kalma, yüksek sıcaklık ve oksitleyici maddelerin varlığı büyük miktarlarda iki tane parçalanma ürünlerini oluşturmaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Nifedipinin in vitro bozunması

Çözeltilerde görünür bölge ve uv ışınların etkisi altında nifedipin nitrozo bileşiğine çevrilmektedir. TLC plakalarında nifedipin sırasıyla gün ışığı ve ampül ışığına tutulduğu zaman beş ile otuz dakika arasında kısmen nitrozo bileşiklerine çevrilir. Beş saat sonra değişmemiş nifedipin bulunamaz. TLC plakaları 254 nm ve 366 nm uv ışığına tutulduğu zaman benzer sonuçlar elde edilmiştir. Paralel deneyde saat camı üzerindeki toz halinde bulunan nifedipin 5 ile 720 dakika arsında 1000 W halojen lambayla ışıklandırılır. Nitrozo bileşiğine dönüşüm 6 saat sonra başlar ve aylar sonra tamamlanır. Işıklıandırmadan sonra bile 11 aylık bir zaman zarfında hiç bir nitro bileşiği bulunmamaktadır. Zayıf hidroklorik asitli çözeltisinde 50 cm mesafeden 300 W lamba ışığında kaldığı zaman, bir saat içinde kantitatif olarak nitrozo bileşiğine dönüşür. Normal gün ışığında bu yöntem saatlerce kademeli olarak devam eder. Nifedipin çözeltileri ışığa son derece hassastırlar. Gün ışığında uv-görünür bölge spektrumu hızla değişmektedir.

Nifedipin kristalleri çözeltilerinden daha stabildir. Nifedipin ksenon ve tungsten lambalarının ışığına tutulmasından sonra, nitrozo bileşiği TLC ve IR spektroskopik araştırmalarıyla teyit edilebilen bozunma ürünü olarak oluşmaktadır. Dihydropiridin halkasının N-H valens bağı vibrasyon bantı ışık kaynaklarıyla, nifedipin ışıklandırılmasından sonra kaybolur. Işıktan korunduktan sonra 1:1 oranında etanol-su karışımında dayanıklı kalmaktadır. Polietilenglikoldeki nifedipin çözeltisi 5 ay boyunca sabit kalmaktadır. Sıcaklığın ışıktan korunan nifedipin üzerinde etkisi yoktur. Işıktan tamamen korunması halinde ise nifedipin çözeltileri 50°C de beş ay boyunca sabit kalır.

Laboratuvar ışığı altında nifedipinin parçalanma hızı destile suda koruma etkisi çok belirgin olup bu etki koruma etkisi plazmadaki % 62'lik, sulu çözeltide % 79'luk azalmalarla kıyaslandığında 4 saatten fazla süren ışık bozunmasına bağlı olarak sadece % 11 azalmaya maruz kalmıştır. Bir folyo ile sarılmış tüm kan veya plazmanın kontrolleri 4 saat boyunca nifedipinde hiç bir azalma göstermemiştir. Tüm kanda 25,50 ve 100 ng/mL seviyeleri için üstel ve lineer değildir. Bununla beraber plazma ve destile suda nifedipinin bozunması üsteldir.

2.1.6 Tayin yöntemleri

2.1.6.1 Tanınma yöntemleri

Maddeler (50 mg) eşit hacimlerde alkol ve 3 N hidroklorik asit (10 mL) içeren çözeltilerde çözülürler. Yaklaşık 0.5 g çinko granülleri katılır ve çözelti arada sırada yavaşça çalkalanarak 5 dakika dinlenmeye bırakılır. Çözeltiyi süzdükten sonra 5 mL % 1'lik sodyum nitrit çözeltisi eklenir ve karışım 2 dakika beklemeye bırakılır. Daha sonra 2 mL % 5'lik amonyum sülfamat katılır, kuvvetlice çalkalanır ve 2 mL % 0.5'lik N-(1-naftol)etilendiamin dihidroklorür çözeltisi katılır. 5 dakikadan daha fazla dayanan şiddetli bir kırmızı renk ortaya çıkar.

Nifedipinin nitro gurubu, benzoil klorürle hidroksamik asit türevi oluşturan hidroksil amine indirgenebilir. Türev koyu bir kırmızı renkli çözelti vermek üzere demir(III) klorürle reaksiyona girer. 25 mg kadar madde 1 mL % 90'lık etanol ve 5 mL % 1'lik kalsiyum

klorür çözeltisinde çözülür ve 100 mg çinko tozu katılır, süspansiyon şiddetle karıştırılır ve su banyosunda 80°C'da 10 dakika ısıtılır. Sonra süspansiyon süzülür ve 3 mL süzüntü 5 damla benzoil klorür çözeltisiyle muamele edilir, 1 dakika kadar iyice çalkalanır ve takiben 10 damla % 10.5'lik demir(III) klorür eklenince kırmızı renkli çözelti elde edilir, 2 N hidroklorik asit eklenmesiyle sarıya dönüşür.

Agrawal ve Shah (1989), nifedipini hidroksilamin.HCl ile alkali ortamda reaksiyona sokarak dimetil-1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)piridin-3,5-dihidroksamik asit elde etmişlerdir. Asidik ortamda vanadyum ile oluşan sarı renkli kompleks CHCl_3 ile ekstrakte edilmiş ve 490 nm'de ölçülmüştür.

50 mg nifedipin, 1 mL dimetilsülfoksitte çözülür. 5 damla 2N sodyum hidroksitle alkali yapıldığı zaman sarı renk 451 nm'de maksimum absorpsiyon gösteren domates rengine döner. Nifedipinin asitlendirilmiş dimetilsülfoksit çözeltisi (2 mL buzlu asetik asitte 30 mg nifedipin, 2 mL dimetilsülfoksit ve 5 damla 2 N HCl) 20 damla % 2'lik krom(VI) oksit çözeltisi (10 mL buzlu asetik asit ve 10 damla 2 N HCl karışım çözeltide 200 mg CrO_3) ile muamele edildiği zaman yeşilimsi sarı bir renk elde edilir.

2.1.6.2 Kantitatif yöntemler

a. Titrimetrik yöntemler

100-150 mg nifedipin hassas olarak tartılır ve 20 mL buzlu asetik asitte çözülür, sonra 10 mL seyreltik sülfürik asit katılır ve karışım su banyosunda 70°C'de ısıtılır. Karışım 0.1 mL ferroin indikatörünün ilavesinden sonra kırmızı renkten bitim noktası olan maviye kadar 0.1 N amonyum seryum(IV) sülfat çözeltisine karşı titre edilir. 1 mL 0.1 N amonyum seryum(IV) sülfat çözeltisi 17-31 mg nifedipine karşılık gelir (Eiden vd., 1985).

b. Polarografik yöntemler

Doğru akım veya alternatif akım polarografik yöntemleri ilaç maddelerindeki nifedipinin homojen dağılımını ve ışık dayanıklılığını tayin etmek için geliştirilmiştir. Polarografik

eğrilerin şekil ve durumu pH'a bağlıdır. Ag/AgCl elektroduna karşı pH 1.65 ve -0.75 voltajında uygun bir difüzyon akımı elde edilmektedir. Nifedipin katodik redüksiyon boyunca her molekül için 4 elektron almaktadır. 1:1 oranında 0.1 N HCl + Etanol karışımı destek elektroliti olarak kullanılmıştır. Alternatif akım polarografisinde nifedipin gibi ışık bozunması sırasında kaybolan -0.710 V da görülmektedir. Bozunmadan sonra -1.22 V da yeni bir pik görünmesi nifedipin ve bozunma ürününün spesifik tayinine imkan tanımaktadır. Yöntemin standart sapması 10^{-4} M konsantrasyon mertebesinde % 0.28'dir. Tayin sınırı 5.10^{-7} M olarak verilmiştir (Thoma ve Klimek, 1967).

İlaç maddelerindeki nifedipin -0.75 V potansiyelde pH 1.65'de 0.1 N HCl-EtOH (1:1) oranında polarografiyle tayin edilmiştir. 10^{-4} M'lık çözeltiler için relatif standart sapma % 0.28 ve tayin sınırı 5.10^{-7} M olarak bulunmuştur (Thoma ve Klimek, 1980).

Alkalilendirilmiş plazma örneklerinin toluen ekstraksiyonu + 0.95 V'da elektrokimyasal aramayla ters faz kolonunda kromatografiye tabi tutulmuştur. Plazmadan nifedipinin kazanımı takriben % 100, tayin sınırı 0.5 mL plazmada 2 ng/mL ve 5-400 ng/mL arasında lineer olmaktadır. Analize ışıkla bozunma ürünleri ve metabolitleri karışmamıştır. Yöntem insanlarda nifedipinin farmakinetik çalışmaları için kullanılmıştır (Suzuki vd., 1985).

Richter vd. (1997), tabletteki nifedipin tayininde civa damla elektrodu ile polarografik yöntem kullanmışlardır. Geri kazanım % 99.8'dir.

Kurfuerst vd. (1995), nifedipinin elektrokimyasal davranışını siklik voltametri ile araştırmışlardır. NO_2 'nin reduksiyon kolaylığı araştırılmıştır.

Ellaithy ve Zuman (1992), nifedipinin 6'dan büyük pH'larda nitro grubunun 4 elektronuyla hidroksilamin grubuna indirgenmesini incelemişlerdir. 6'dan küçük pH'larda hidroksilamin türevi asit katalizi dehidrasyona maruz kalmıştır ve bu reaksiyon oranı limit akımı durdurmuştur.

Barrio Diez-Caballero vd. (1989), nifedipin tayininde adsorptif sıyırma voltametrisini kullanmışlardır. Civa damla elektrodu kullanılarak diferansiyel puls voltametrisi

uygulanmıştır. $2 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ M arasında lineer cevap elde edilmiştir. Relatif standart sapma % 0.8 olup tayin limiti 4.1 ng/mL olmuştur.

Tompe ve Nagy (1990), tablet ve kapsüllerdeki nifedipini diferansiyel puls polarografisi ile tayin ederken nitro grubunun indirgenmesinden yararlanmışlardır.

Squella vd. (1989), ilaçlardaki nifedipini aromatik nitro grubunun elektrokimyasal etkinliğine dayanılarak diferansiyel puls polarografisi ile tayin etmişlerdir.

c- Spektrofotometrik yöntemler (USP XXI, 1985)

Nifedipinin metanollü çözeltide 350 nm'deki absorbansını ölçmek suretiyle kantitatif olarak tayin edilmiştir. Nifedipin 350 nm'de spektrofotometre vasıtasıyla metanollü çözeltide doz birimlerinin homojenliğini test etmek amacıyla da tayin edilmiştir. Kapsül halinde nifedipin araştırması, içeriğini metilen klorürde çözdükten sonra TLC ayırımı, adsorpsiyon bölgelerinin kazındıktan, metanollü ilacın elue edilmesi ve ardından 340 nm'de tayininden sonra yapılmıştır.

Nifedipin 235 nm'de keskin maksimum ve 325 ile 370 nm arasında bir geniş bant göstermektedir. Nifedipinin nitrozopiridin bileşiğinin etanolde 280 nm ve 310 nm alkali (0.1 N NaOH) ve asidik (0.1 N HCl) çözeltelerde 279 nm ve 315 nm'de maksimumlara sahip olduğu görülmüştür (Ebel vd., 1978).

Mahadik vd. (1991), ilaçlardaki nifedipinin spektrofotometrik tayininde nitro grubu Zn/HCl ile indirgenmiştir. Ürün 4-dimetilaminobenzaldehit ile reaksiyona sokulmuş ve oluşan schiff's bazı 310 nm'de absorbans göstermiştir. Konsantrasyon aralığı 5-60 µg/mL aralığında olmuştur.

Mahadik vd.(1991), başka bir çalışmada H_3PO_4 'deki 4-dimetilaminobenzaldehit ile metanoldeki ilacın reaksiyonunun sarı renkli ürününün absorbansı 380 nm'de ölçülmüştür. 10-83 µg/mL konsantrasyon aralığında Lambert-Beer yasasına uygunluk göstermiş ve geri kazanım % 97.8-98.5 elde edilmiştir.

Nifedipin tayininde yeni geliştirilen spektrofotometrik yöntemde ilaçlar kuvvetli asidik ortamda Folin-Ciocalteu belirteci ya da H_3PO_4 deki metanollü vanillin ile reaksiyona sokulmuş ve elde edilen ürünün absorbansı 400 nm ve 740 nm'de ölçülmüştür. Beer yasasına uygunluk gösteren konsantrasyon aralığı 10-180 ve 6-100 $\mu g/mL$ olarak bulunmuştur (Bruno vd., 1988).

Vyas vd. (1993), görünür bölge spektrofotometrik yöntemle kapsül ve tabletlerdeki nifedipin tayininde 340 nm'de çalışmış ve % 99.9 geri kazanım elde etmişlerdir.

Shingbal vd.(1987), DMF solüsyonunda spektrofotometrik nifedipin tayininde absorbanslar 425 nm'de ölçmüşler ve % 98.5-100.3 geri kazanım elde etmişlerdir.

Wu vd. (1992), tabletlerdeki nifedipin tayininde türev spektrofotometrik tayin yapmışlardır. Kalibrasyon grafiği 10-60 $\mu g/mL$ arasında, geri kazanım ise % 99.69 olup 350 nm çalışmışlardır.

Tabletlerdeki nifedipinin 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH da ikinci türev spektrofotometrik yöntemle tayini yapılmıştır. Tayin sınırı % 25 olmuştur (Umapathi, 1994).

İlaçlardaki nifedipinin iki dalgaboylu K-ratio spektrofotometrik tayininde 420 nm, 370 nm ve 350 nm'de çalışılmış ve % 89-99 geri kazanım elde edilmiştir (Yu vd., 1989).

Farmasötik kapsüllerdeki atenolol ve nifedipinin aynı anda tayininde birinci türev uv spektroskopisi, kapiler gaz, sıvı ve HPLC yöntemi kullanılmıştır. Nifedipin için 390 nm ve atenolol içinse 282 nm'de pikler elde edilmiştir. Lineer konsantrasyon aralığı nifedipin için 10-30 $\mu g/mL$ ve atenolol için 25-75 $\mu g/mL$ olmuştur. Girişim etkisi görülmemiştir (El-Walily, 1996).

Veronico vd. (1995), atenolol ve nifedipini uv türev spektrofotometri ve gaz kromatografi ile aynı anda tayin etmişlerdir.

Mefrusid ve nifedipin ikili karışımlarda aynı anda türev spektrofotometrik, gaz ve HPLC yöntemleri ile tayin edilmiştir. 390 nm ve 282 nm birinci türev alınmıştır. Kalibrasyon

grafiği 8-40 µg/mL ve 20-60 µg/mL (nifedipin ve mefrusid) aralığında lineer olmuştur ($r=0.9999$). Gaz kromatografi çapraz bağlı Mesilikon kolon kullanılarak alev iyonizasyon dedektörle uygulanmıştır. HPLC yönteminde RP kolon kullanılarak 260 nm de uv saptama ile metanol-su (55:45, pH=4.5), mobil fazı kullanılmıştır (El-Walily, 1997).

Patel vd. (1984) nifedipini $K_4Fe(CN)_6$ ve $FeCl_3$ ile reaksiyona sokarak oluşan renkli kompleksi 625 nm’de kolorimetre ile ölçmüşlerdir. Geri kazanım % 99.86-100.1’dir.

d- Kromatografik yöntemler

Nifedipinin yaklaşık R_f si 0.3 olmak üzere mobil fazı etilasetat ve sikloheksan (1:1) olan 0.5 mm kalınlığındaki silikajel plakalarda ayrılır. Nifedipinin ilgili bileşikleri de solvent olarak diisopropilalkolle silikajel TLC plakaları üstünde ayrılırlar. Ebel vd. (1978), 17 farklı solvent sistemini test etmişler, nifedipin ve türevlerinin ayrılması ve optimum sonuçları için kloroform-sikloheksan (95:5) ve silikajel 60 TLC plakalarını kullanmışlardır. Ayırmadan sonra TLC plakalarına $TiCl_3$ çözeltisi nitro gruplarını indirgemek için püskürtmüşlerdir. Plak soğuk hava ile kurutulduktan sonra $-20^\circ C$ ’a kadar soğutulmuştur. Hemen sonra amino gruplarının diazolandırılması için sodyum nitritle reaksiyona sokulur ve tekrar soğuk hava ile kurutulur. Daha sonra Bratton-Marschall bağ yapıcı reaktifi püskürtülür. Nifedipin R_f 0.12 de bir kızkahve leke göstermektedir. Nitro ve nitrozo türevleri sırasıyla R_f 0.16 ve 0.27 değerlerinde sarı lekeler halinde ortaya çıkarlar.

Ojanpera vd. (1991), nifedipin için TLC ve RP-TLC, RP-18 plakaları ve mobil faz olarak da sulu HCl-MeOH içeren ters faz sistemi bazik ortam polar normal faz sistemleri ile kullanmışlardır.

Musumara vd. (1984), TLC yöntemi bazik ve nötral ilaçlara uygulamışlardır.

Farnia vd. (1987), nifedipin kapsüllerindeki aktif maddenin araştırılmasında fotometri ve TLC’yi birleştirmiş ve kalitatif olarak değerlendirmişlerdir.

Nifedipinin plazma konsantrasyonları biyoyararlılık araştırmaları sırasında gaz kromatografik yöntemlerle tayin edilmiştir (Rämsch, 1981, 1986).

Nifedipinin biyolojik sıvılardaki mikrolitre hacimlerinde kapiler gaz kromatografik tayininde elektron tutucu dedektörü kullanılmıştır. Yöntemde sıvı-sıvı ve katı faz ekstraksiyonu uygulanmıştır (Ellis vd., 1993).

Akira vd. (1988), hamsterdeki nifedipin ve metabolitlerinin radyo-gaz kromatografik kantitatif tayininde radyoizotopik saptama ve % 1.5 OV-1 termal ayrışmayla nanogram seviyesinde çalışmışlardır.

İdrar ve plazmadaki nifedin ve üç metabolitinin elektron tutucu dedektörüyle kapiler gaz kromatografik tayini yapılmıştır (Schmid vd., 1988).

Lutz vd. (1986), elektron tutucu dedektörüyle yaptıkları kapiler gaz kromatografik tayinde tek adımlı solvent ekstraksiyonunu kullanmışlardır.

Tanner vd. (1986), nifedipinin gaz kromatografik tayininde basit bir yöntem kullanmışlardır.

Plazmadan nifedipinin gaz kromatografik-mass spektrometrik tayininde nitrendipin internal standart olarak kullanılmıştır. 8 saatte bir alınan (her 8 saatte alınan 8 doz için) 10 mg'lık kapsül için 2 ng/mL'den daha az tayin sınırı vardır (Patrick vd., 1989).

Nitsche vd. (1987), insan plazmasındaki nifedipini HPLC ile tayin etmişlerdir. LiChroprex RP-2 ön kolonla ekstrakte etmişler, analiz kolonu olarak Hypersil ODS, mobil faz olarak da 0.02 M NH₄ karbaminat-asetonitril-0.02 M asetat tamponu pH 4 (6:1:1) kullanılmış ve uv saptama 355 nm'de gerçekleşmiştir.

Suzuki vd. (1985), 0.95 V'da elektrokimyasal saptama ile ters faz kolon kullanarak nifedipini plazmadan toluenle ektrakte etmişler ve HPLC ile tayin yapmışlardır. Tayin sınırı 0.5 mL plazmada 2 ng/mL, lineer konsantrasyon aralığı 5-400 ng/mL ve geri kazanım % 100 olmuştur.

Telting-Diaz vd., (1991), nifedipin ve nikardipini karbon fiberden geçiş temin eden amperometrik dedektör kullanarak HPLC ile tayin etmişlerdir. Yöntemde lineer aralık 20-500 ng/mL olup tayin limiti 15 ng/mL'dir.

Sabit tansiyonlularda nifedipin ve metabolitlerinin HPLC analizinde, ters faz kolon C₈ kullanılmış ve pH 3.9'da EtOAc ile analit ekstrakte edilerek HPLC ile tayin edilmiştir (Snedden vd., 1986).

Susuz iyonik eluent kullanılarak silika kolon üzerinden bazik ilaçların HPLC analizi uv, floresans ve elektrokimyasal dedektörlerle yapılmıştır (Jane vd., 1985).

265 nm'de uv dedektör ile MeOH-H₂O (55:45) mobil fazı kullanılarak jelatin kapsüllerinden nifedipinin RP-HPLC analizinde % 100 geri kazanım elde edilmiştir (Bammi vd., 1991).

Pietta vd. (1981), ilaç preparatlarındaki nifedipini, metabolitlerini ve ışıkla bozunma ürünlerini aynı anda RP-HPLC ile tayin etmişlerdir. Eluent olarak 0.01 M disodyum hidrojenfosfat (pH=6.1)-MeOH (55:45), internal standart olarak 4-dimetilaminobenzaldehit kullanılmıştır. Akış hızı 2.0 mL/dak, geri kazanım % 97.5 olmuştur.

Bach vd. (1983), plazma ya da serumdaki nifedipinin tayininde 235 nm de uv dedektör ile RP-sıvı kromatografi yöntemini kullanmışlardır. En az 400 µg/mL'de standart eğri lineerlik göstermiştir.

Jankowski ve Lamparczyk (1994), biyolojik sıvılardaki nifedipinin tayininde gaz-sıvı kromatografisi ve HPLC'yi kıyaslamışlardır. Tayin limiti 2 ve 10 ng/mL, saptama limiti 1 ve 5 ng/mL, kalibrasyon grafiğı 2-300 ve 10-500 ng/mL de lineer ve üç farklı konsantrasyon için geri kazanım % 88.7-95.8 ve % 93.7-104.2 olmuştur.

Sheridan vd. (1989), katı faz ekstraksiyonu kullanarak Spherisorb C₈ kolonu ile serumda nifedipin tayininde RP-HPLC yöntemini kullanmışlardır. Internal standart olarak MeOH-H₂O (65:35) kullanılmış ve uv saptama 235 nm de yapılmıştır. Lineer cevap 0-200 ng/mL,

relatif standart sapma 1-150 ng nifedipin/mL için 0.1-5.6, geri kazanım % 96.2-101.5 ve 5 ng/mL'dir.

Arafat vd. (1990), insan serumundaki nifedipinin RP-HPLC tayininde mobil faz olarak fosfat tamponu ve asetonitrili (1:1, v/v, pH=6.8) kullanmışlardır. Akış hızı 1.3 mL/dak ve U Bondpack C₁₈ kolonu ve 338 nm de uv saptama yapılmış olup internal standart olarak etilasetat tercih edilmiştir. Geri kazanım % 95 tayin sınırı 10 ng/mL'dir.

Nifedipin injeksiyonlarda 1.1 mL/dak akış hızında mobil faz olarak MeOH-H₂O (65:35) kullanılarak Zorbax ODS kolonunda stabilite göstererek HPLC ile tayin edilmiştir. Dedektör dalga boyu 235 nm ve timol iç standart olarak kullanılmıştır (Liu vd., 1993).

İnjeskiyonlarda nifedipin ve ışıkla bozunma ürünlerini HPLC tayininde mobil faz olarak da µ-Bondapak kullanılmıştır (Xia vd., 1994).

Barbato vd. (1993), kalsiyum kanal blokeri dihidropiridinleri hem farklı izokratik şartlar hem de lineer gradient yöntemi kullanılarak eş zamanlı analiz etmişlerdir. Bu çalışmada iyonik kuvvet, pH'ın ayrılma mekanizmasına etkisini ve orjinal bileşiklerin gün ışığı bozunma ürünlerinden ayrılma kabiliyetini saptamışlardır.

Soons vd. (1991), kan ve plazmada nifedipin ve primer metabolizi olan dehidronifedipinin aynı anda tayinine olanak veren bir HPLC çalışma yaparak, kandaki nifedipinin pH>10 iken dayanıksız olduğu hemoliz edilmiş kanda ölçülmesi içinse ekstraksiyonun nötral olması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Kleinbloesem vd., (1984), plazmadaki nifedipin ve idrardaki metabolitlerinin HPLC tayini için nifedipinin sıvı-sıvı ekstraksiyonundan sonra 238 nm'de RP kromatografi sistemi kullanmışlardır. Yöntem, ml plazmadaki 2 ng nifedipine duyarlı olup standart eğri 400 ng/mL'dir. Işıkla bozunma ürünleri ya da metabolitlerinin girişim etkisi yoktur.

Katsumi vd., (1984), plazmadaki nifedipinin HPLC tayininde mobil faz olarak 0.01 M disodyum hidrojen fosfat tamponu-metanol (45:55), uv dedektör kullanmışlardır. Standart

eğri metanoldeki nifedipinin 0.05-1.0 µg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanmış olup ölçümler 10 mg nifedipin içeren Adalat'ın oral alımından sonra plazmadaki miktarı için yapılmıştır. Geri kazanım % 99.1 ve tayin limiti 5 ng/mL plazmadır.

Tucker vd., (1985), nifedipinin plazmadaki ışıkla bozunma ürünlerini kapiler gaz-sıvı kromatografik olarak tayin etmişlerdir. Hazırlanan çözeltiler 4 saat süreyle fluoresans ve gün ışığı karışımına maruz bırakılmıştır. Tayin limiti 0.5 ng/mL'dir.

Hamann ve Mc Allister, (1983), plazmadaki nifedipini bazik ortamda tolüenle ekstraksiyonundan sonra OV-101 kolon ve elektron tutucu dedektör ile gaz kromatografik olarak tayin etmişlerdir. Ölçü eğrisi 1-100 µg/L arasındadır.

Jakobsen vd, (1979), nifedipin ve metabolitlerinin elektron tutucu dedektör ile gaz kromatografik tayinini yapmışlardır. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı (25 mL/dak) ve OV-17 kolon kullanmışlardır.

Rosseel vd., (1983), plazmadaki nifedipini tolüenle bazik ortamda ekstrakte ederek gaz kromatografik tayin yapmışlardır. Çapraz bağlı metilsilikon silika kolon, azot-fosfor iyonizasyon dedektörü kullanmışlardır. Minimum tayin konsantrasyonu ≈0.5 ng/mL plazma ve ölçü eğrisi 2-300 ng/mL plazma aralığında olmuştur.

Kondo vd., (1980), köpeğin idrarındaki nifedipin metabolitlerini gaz kromatografik ve spektrometrik teknikle ayırt ederek, izole etmişlerdir. Köpek plazması yada insan idrarındaki nifedipinin tayin limiti 5 ng/mL'dir.

Shuhui vd., (1995), insan plazmasında bulunan nifedipin, nimodipin, nitrendipin ve diğer üç kalsiyum antagonistini aynı anda HPLC ile tayin etmişlerdir. Ayırmayı ODS kolon ile yaparak 1 mL/dak akış hızında asetronitril-su (60:40) mobil fazını kullanmışlardır. Geri kazanım % 97'dir.

Liu ve Lin, (1995), serumdaki nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipini aynı anda RP-HPLC ile tayin etmişlerdir. Analizdeki geri kazanım % 99-109 arasında değişmektedir.

Beaulieu vd. (1991), ham maddelerde nifedipin ve ilgili maddelere özgü olan USP HPLC (USP XXI, 1985) yöntem hassasiyet ve ayırt etme yeteneğini geliştirmek için değiştirmişlerdir. Bu yöntem, büyük miktarlardaki ilaç ve ilgili bileşiklerin tayini için geçerli olup bunları % 0.01-0.1 arasında değişen değerlendirme sınırlarıyla ilaçtan en az bilinen 7 adetini ayırmayı başarmıştır.

Budy Ari-Barany vd. (1990), nifedipini bozunma ürünleri ve sentetik bir yan ürün olan izonifedipinden mobil faz gibi gradient elüsyon sistemi olarak EtOH-H₂O-THF (37:63:3) veya MeCN-MeOH-H₂O ve C₈ ya da C₁₈ gibi ters faz kolonları kullanarak HPLC ile ayırmışlardır.

Ohkubo vd. (1992), hastane reçetelerinin hazırlanmasında kullanılan ezilmiş tabletlerde nifedipin ve eser miktardaki ışıkla bozunma ürününün miktar tayini için bir HPLC metodu geliştirmişlerdir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonundan sonra iki adet iç standart kullanarak 254 nm'de uv saptama yapan RP kullanarak kromatografileri almışlardır. Yöntem, iç standart olarak, p-nitronifedipin kullanıldığında 0.01-0.5 µg'ı tayin edebilmiştir. Tablet ve toz edilmiş tabletlerde tanıma veya ışığa karşı dayanıklılığını araştırma açısından yöntem faydalı olmuştur.

Erram vd. (1992), tek veya bileşik doz şekillerindeki atenolol ve nifedipin tayini için RP-HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. 238 nm'de pH 3'e ayarlanmış sulu metanol 0.1 M disodyumhidrojen fosfat (75:25) olan mobil faz ise Spherisorb ODS yüzey kolonunu kullanarak 10 ng/mL nifedipin, 100 ng/mL atenolol tayin edebilmişlerdir. Yöntemi in vitro analizlerde oda sıcaklığında harici standart kullanarak uygulamışlardır.

Serumdaki nifedipin analizi, dahili standart olarak nifedipinin kullanıldığı pH 9'da serumun eter ekstraktının RP-HPLC yöntemine dayanmaktadır. İki bileşik 350 nm de spektrometriyle aranmış ve kantitatif olarak tayin edilmiştir. Ortalama geri kazanımı serum şahitine (60-250 ng/mL) katıldıktan sonra tayin edilebilen en küçük miktarı 10 ng/mL olmak üzere % 70 bulunmuştur. 30 ile 60 arasında en yüksek seviyeye çıkmıştır. Bu şekilde ilacın absorpsiyonunun şahıstan şahısa, normal ve hipertansiyonlu gruplar arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür (Snedden vd., 1984).

2.2 Nikardipin Hakkında Genel Bilgi

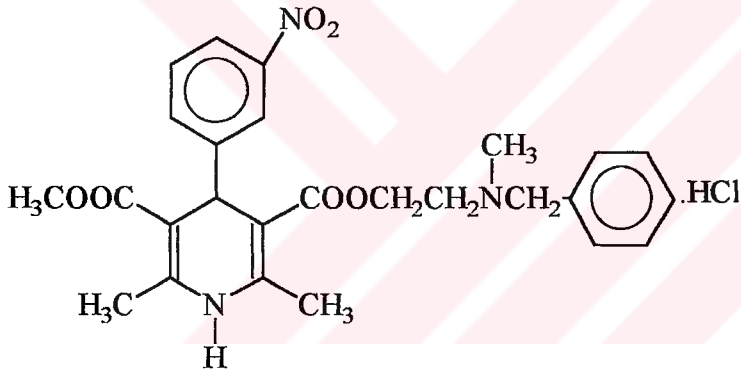
2.2.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri (The Merck Index, 1989; JP XIII, 1996)

Kimyasal ismi

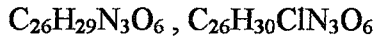
- 1,4-Dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridindikarboksilik asit metil 2-[metil(fenil-metil) amino]etil ester
- 2-(N-Benzil-N-metilamino) etil metil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridin dikarboksilat monohidroklorür

Formülü

Açık Formülü



Kapalı Formülü



Molekül Ağırlığı

479.54 g.mol⁻¹ , 515.99 g.mol⁻¹

Elementel Bileşimi

Element	C	H	N	O
%	65.12	6.10	8.76	20.02

Görünüş, Renk

Soluk yeşilimsi, sarı kristal toz halinde bulunur.

Erime Noktası

167-171°C, α -formunun 179-181°C, β -formunun 168-170°C'dır.

Optikçe Aktifliği

Metanol/aseton karışımında iki kristal şekli izole edilmiştir. Nikardipin hidroklorür çözeltisi % 5'lik metanolde optik çevirme göstermez.

Çözünürlüğü

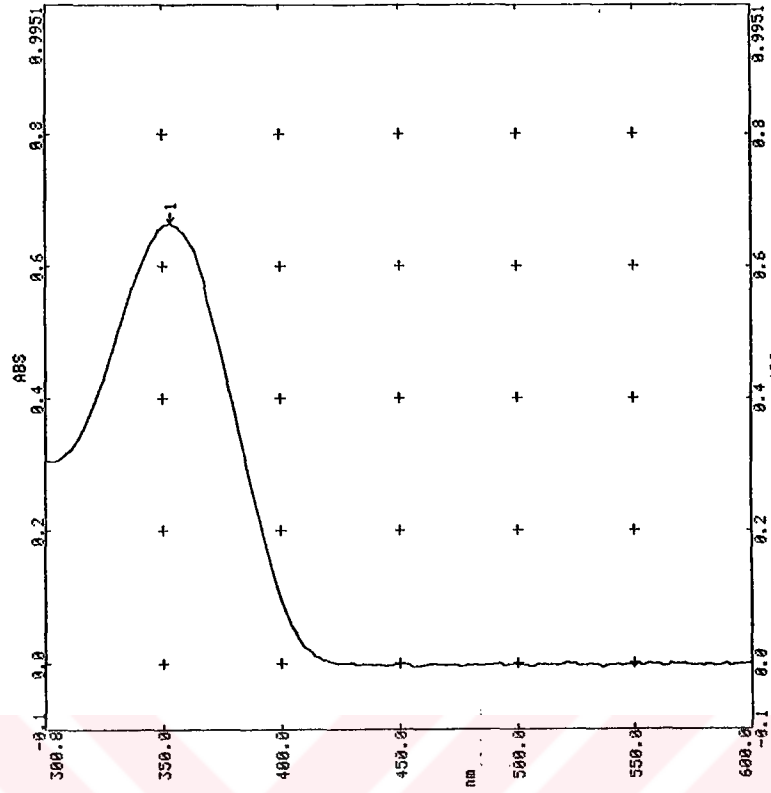
Metanol, glasiyel asetik asitte çok fazla, etanolde çok, sulu etanolde oldukça az çözünür. Suda asetonitril ve asetik anhidritte oldukça az çözünür. Eterde pratikçe hiç çözünmez.

Kurutma Kaybı

Nikardipin.HCl kurutulduğu zaman, % 98.5'den daha az olmamak üzere saf madde bulunur.

2.2.2 Spektral özellikler**2.2.2.1 UV spektrumu (JP XIII)**

1/100000 oranındaki susuz etanoldeki nikardipin çözeltisi absorpsiyon spektrumu 235 nm ve 279 nm arasında 351 nm ve 355 nm arasında maksimumlar göstermektedir. Metanoldeki absorpsiyon spektrumu Şekil 2.10'da, farklı çözücülerdeki absorbans değerleri de Çizelge 2.7 de görülmektedir.



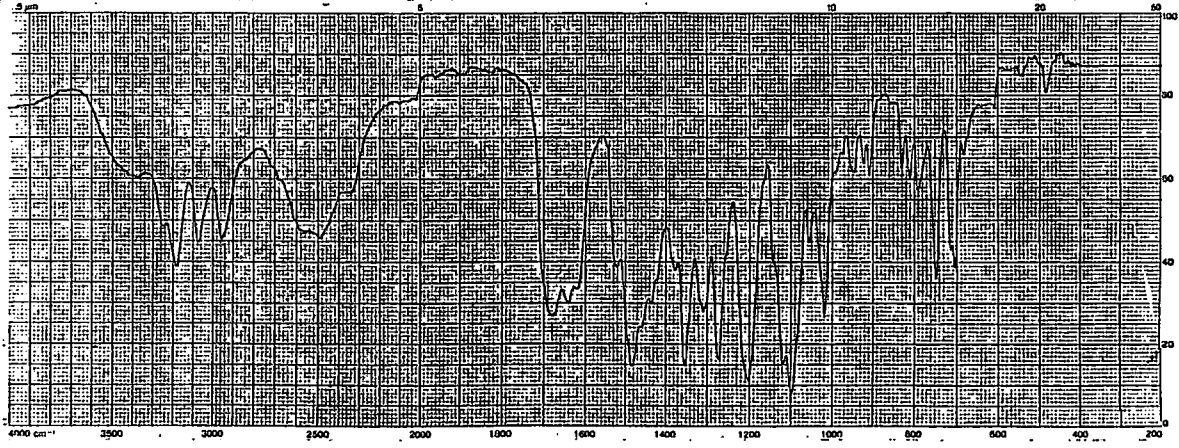
Şekil 2.10 Nikardipin.HCl nin metanoldeki absorpsiyon spektrumu

Çizelge 2.7 Nikardipin.HCl nin farklı çözücülerdeki absorbans değerleri

Çözücü	Aseton	Etanol	Metanol	HCl (0.1 N)	NaOH (0.1 N)
Absorpsiyon Maksimumu (nm)	349	354	353	359	357

2.1.2.2 IR spektrumu

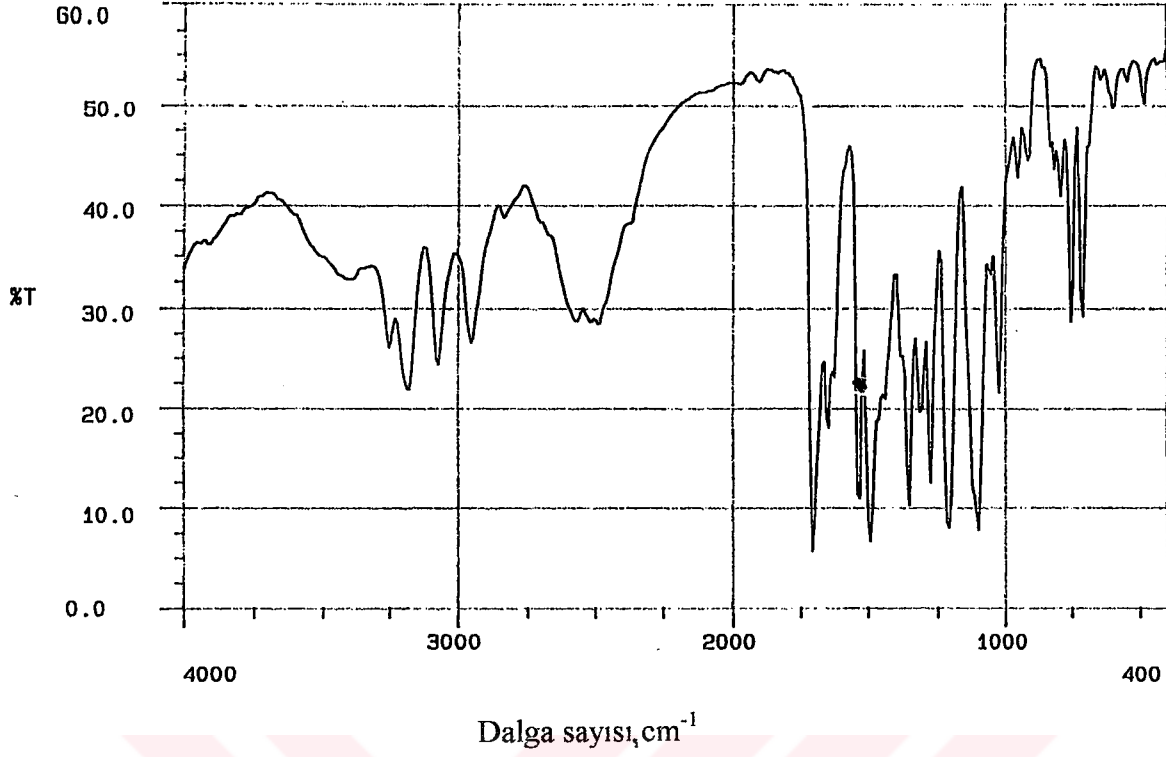
Önceden kurutulmuş nikardipin hidroklorürün tarafımızdan alınan IR spektrumu KBr disk yöntemiyle tayin edildi. İlgili gruplar ve frekansları Çizelge 2.8 de spektrum ise Şekil 2.11 de, FTIR spektrumu ise Şekil 2.12 de görülmektedir.

Dalgaboyu, μm Dalga sayısı, cm^{-1}

Şekil 2.11 Nikardipin.HCl'nin IR spektrumu

Çizelge 2.8 Nikardipinin IR yapısal tayini

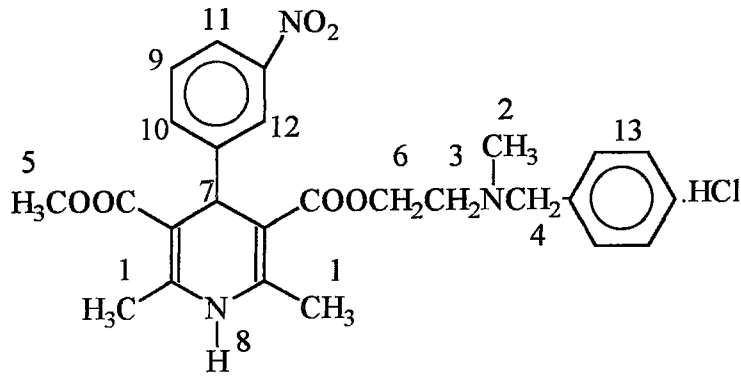
Frekans, cm^{-1}	Tayinler
3270-3200	NH gerilme titreşimi
3075	CH- aromatik gerilme
2930	CH- alifatik
1680	C=O ester
1640-1620	-C=C- aromatik
1520-1485	NO_2
1350	-C- CH_3
1230-1100	-C-O- ester



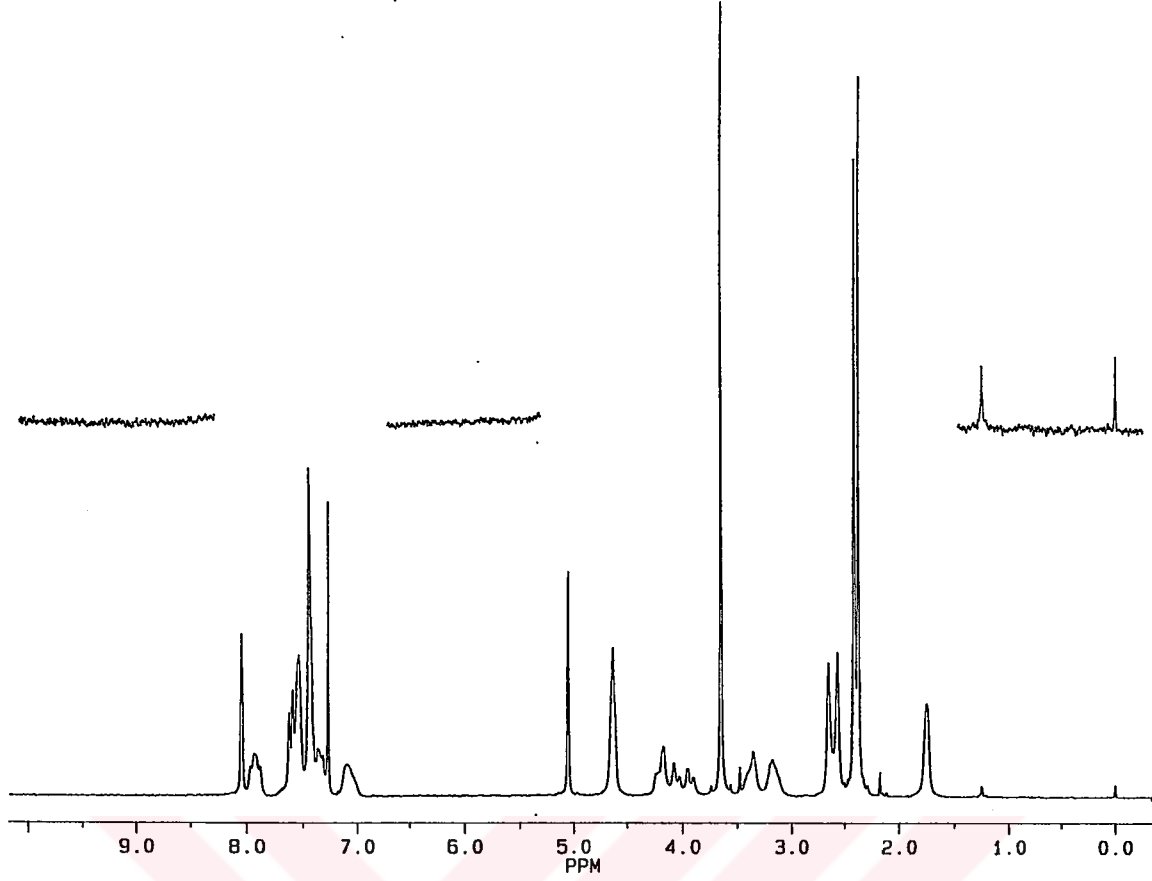
Şekil 2.12 Nikardipin.HCl'nin FTIR spektrumu

2.2.2.3 NMR spektrumu

CDCl_3 çözücüsünde oda sıcaklığında (Şekil 2.13) elde edilen ^1H -NMR spektrumu Şekil 2.14 de, kimyasal kaymaları ise Çizelge 2.9 da görülmektedir.



Şekil 2.13 Nikardipinin NMR sinyallerinin yapısal tayini



Şekil 2.14 Nikardipin.HCl'nin ^1H -NMR spektrumu

Çizelge 2.9 Nikardipin.HCl'nin ^1H -NMR spektrumunun değerlendirilmesi

Şekil 2.13'deki H atomu	Kimyasal kayma, ppm	Pik sayısı	H Atomlarının sayısı
H-1	2.37	Singlet	6
H-2	2.41	Singlet	3
H-3	3.18	Singlet	2
H-4	3.35	Singlet	2
H-5	3.65	Singlet	3
H-6	4.17	Multiplet	2
H-7	4.63	Singlet	1
H-8	5.05	Singlet	1
H-9-H-13	7.09-8.04	Multiplet	9

2.2.3 Sentezi

Yeni bir ilaç etken maddesi olduğu için literatürde ve farmakopelerde böyle bir bilgiye rastlanmamıştır.

2.2.4 Farmakolojik özellikleri (Kayaalp, 1992)

Nifedipin'e yapısı, farmakolojik etki kalıbı ve yan tesirleri bakımından benzeyen bir dihidropiridin türevidir. Antihipertansif olarak kullanılır. Antianginal etkisi de vardır ve bu etkinliği diğer kalsiyum antagonistleri ve beta-blokerlerinkine yaklaşık olarak eşit derecededir. Myokard üzerindeki depresan etkisi nifedipininkinden daha düşüktür. Nifedipine göre daha vazoselektiftir. Nifedipin koroner kalp hastalarında sol ventrikülün kontraktilitesini ve diyastolde gevşemesini azaltabildiği halde nikardipinin böyle bir etki göstermediği bildirilmiştir. Bu özellik nikardipine konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda üstünlük sağlayabilir. Kalbin iletim sistemi ve elektrofizyolojik parametreleri üzerinde belirgin bir depresan etkisi yoktur. Tedavinin başlangıcında kalp hızını arttırabilir, fakat zamanla bu etkisi ortadan kalkar.

Mide-barsak kanalında iyi absorbe edilir ve plazma doruk konsantrasyonuna, yutulmasından sonra 1 saat içinde erişir. Oral alınışından sonra fazla presistemik eliminasyona uğrar. Karaciğerde önemli ölçüde inaktif metabolitlere yıkılır ve bunlar safra içinde elimine edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 1-2 saattir. Böbrek hastalarında eliminasyon hızı pek değişmez. Karaciğer fonksiyon yetmezliği olanlarda eliminasyonun yavaşlaması muhtemeldir.

Hipertansiyon tedavisinde ağızdan günde 3 kez 20-30 mg dozunda verilir. Gerekirse bir kezlik doz 40 mg'a arttırılabilir. Antianginal olarak da benzer dozlarda kullanılır.

Başlıca yan tesirleri esas itibariyle vazodilatasyona bağlı olan yüz kızarması (flushing), palpasyon, baş ağrısı, periferik ödem ve bacaklarda sıcaklıktır; bunlar doza bağımlıdır, genellikle tedavinin başlangıcında belirgindirler ve zamanla kaybolabilirler.

Sağlıklı erkeklere radyoaktif olarak işaretlenmiş nikardipinin ağızdan uygulanmasını takiben ilaç hızla ve büyük çapta metabolize olur ve plazmadan elimine edilmektedir. 3 saat boyunca saatte 5 mg dozda nikardipinin iv enfizyonundan sonra, plazma seviyeleri bioeksponansiyel olarak metabolize azalır ve tasfiye (temizlenme) değerleri karaciğer kan akımı gibi aynı derecede olup 28 gün boyunca günde 3 kez 20 mg dozda tekrarlanan

ağızdan tedavisiyle, plazma seviyeleri tedavinin ilk 3 gününde yükseldiği ve sonra belli bir yere kadar azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalmanın muhtemel sebepleri tartışılmakla beraber kararlı plazma seviyeleri ve biyoyarlık günde 10-40 mg üstündeki dozlarla lineer olmayan ilişki göstermiştir. Nikardipinden önce veya aynı zamanda gıda alındığında gıda tüketimi nikardipinin biyolojik yararlılığını azaltmıştır (Graham vd., 1985).

Dow vd. (1986), insan metabolizma ve farmakinetik özelliklerini incelemişlerdir. Bu amaçla, insanlara oral ve iv uygulanmasını takiben etki tarzını araştırmak için bir dizi çalışmalar yapmışlardır. Nikardipinin hızla absorplandığını, geniş çapta metabolize olduğunu ve plazmadan hızla elimine edildiğini ve geniş çapta presistemik eliminasyona maruz kaldığını görmüşlerdir. Bu durum, doz artırımı veya dozun devamı sırasında kısmen azami safhada olmuştur. Nikardipin azami (doygun) presistemik eliminasyonundan dolayı sürekli plazma seviyeleri ve biyolojik yararlılığı günde üç kez 10-40 mg arasında lineer olmayan bir ilişkiyi göstermiştir. Tekrarlanan oral tedavide sabit seviyelerde değişme olmaksızın 3 gün boyunca açık olarak sürdürülmüş ve son eliminasyonun 11.8 saat yarılanma ömrüne sahip olduğu ve karaciğer mikrosarmal enzim sistemleri üzerinde belirlenen bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. Nikardipin tedavisinden önce yemek yenmesi biyoyararlılığı azalttığı saptanmıştır. Hipotansif etkilerin yaş ilerlemesiyle arttığını gösteren önceki çalışmalar farmakinetik değişmelere atfedilebilir. Böbreklerde bozunmuş maddeler (metabolitler) üzerindeki çalışmalar, tavsiye edilen aralığın alt sınırındaki dozun uygun olduğunu göstermiştir.

Higuchi ve Shiobara (1980), çeşitli numunelerde yeni bir vazodilatör olan nikardipin hidroklorürün mukayeseli olarak farmakinetiklerini incelemişlerdir. Vazodilatörün 0.01-0.02 mg/kg içeren iv dozdan sonra insanda plazma yarı ömür ve hacimsel dağılımı klinik aralıkta dozajla değişmediğini, fare ve köpeklerde (0.1-0.8 mg/kg) muhtemelen nikardipin hidroklorürün güçlü damar genişletme etkisinden dolayı bu parametrelerin dozun yükselmesiyle arttığını göstermiştir. Köpek ve insanlardaki plazma ve emniyet marjı dozuyla etkilendiğini ancak farelerde daha yüksek dozlarla biraz yükselmeye eğilim göstermiştir. Oral tedaviden sonra sistemik yararlılık bariz ilk geçiş etkisini gösterirken, mükemmel absorpsiyona rağmen düşüktür. Dozun artması ile sistemik yararlılığın da artması karaciğer metabolik aktivitesinin ilaç veya onun metabolitleriyle kısmen doymuş

olabildiğini göstermiştir. iv ile tedaviden sonra plazma nikardipin hidroklorürün emniyeti farelerde en büyük, köpeklerde orta ve insanlarda en küçüktür.

İn vitro olarak (Higuchi ve Shiobara, 1980) fare karaciğerinde nikardipin hidroklorürün metabolizma hızını 1.76 $\mu\text{mol/g hücre/20 dakika}$ olarak saptanmış ve barsak, böbrek, akciğer ve kandaki değerlerini de saptamışlardır.

Odani vd. (1979), nikardipin hidroklorürün kullanıldığı farelerde hepatik ve plazma lipiti üzerine etkisi ve zehirli etkisini araştırmışlardır. Bunun için 5 hafta boyunca farelere günlük olarak (100 mg/kg, oral) verilen damar genişletici nikardipin hidroklorür gıda tüketimini, ağırlık artmasını ve içten gelen aktiviteyi azalttığı görülmüştür. 300 mg/kg/gün verildiğinde dispne ve bilefaroptosiste dengesizliğe ve idrar ile serumda fosfataz ve glutamik piruvik travminazda artışa ve toplam protein, albümin ve kolesterolda azalmaya neden olmuştur.

Odani vd. (1979), farelere 26 hafta boyunca 3 mg/kg/gün olarak verilen oral dozun toksisite üzerine etkisinin olmadığını ama 30 mg/kg/gün dozunda karaciğer ağırlığını arttırdığını ve 100 mg/kg/gün dozunda doğal motor aktiviteyi ve gıda alımını azalttığını saptamışlardır. 10-100 mg/kg/gün dozlarında nikardipin hidroklorür glutmat-okzalasetat transaminaz, glutamat-piruvat transaminaz, total proteinleri, alkali fosfataz, glikoz ve kolesterolün serum seviyelerini değiştirdiğini ve bu seviyelerin cinsiyete bağlı olarak oldukça farklı olduğunu bulmuşlardır.

Odani ve Sado (1979), yaptıkları çalışmada fare ve sıçanlarda nikardipin hidroklorürün akut toksisitesini araştırmışlardır. Dişi ve erkek sıçanlar için ağızdan 634 ve 650, 2.7 ve 19.9 (iv), 540 ve 710 (sc) ve 144 ve 161 (ip) mg/kg olduğunu ve bu maddenin barsak hareketini bastırdığını atoksik gayta, spazmlar, kas gevşemesi, dispne ve bilefaroptosise neden olduğunu akciğer konjestsiyonu ve karaciğer loblarında yapışma meydana getirdiğini saptamışlardır.

Miki vd. (1979), av köpeklerinde yaptıkları çalışmada nikardipin hidroklorürün zehirli etkisini araştırmışlardır. Bunun için, köpeklere ağızdan 33, 12 ve 25 mg/kg dozlarında

verilmiş ve taşikardi oluşturarak kalbin atım hızını arttırdığını saptamışlardır. 3 mg/kg dozunda kalbin atım hızını 1 saat için yaklaşık 100 atım/dakika'ya çıkardığını, 3 saat boyunca yaklaşık 50 atım/dakika'ya ve 6 saatte normal seviyeye azaltmıştır. Doz 12 ve 25 mg/kg olduğunda normal seviyeye gelmek 24 saat alarak 6 hafta boyunca 25 mg/kg dozundaki tedavisinin anemiye neden olduğunu görmüşlerdir.

Higuchi ve Shiobara (1980), köpeklerde nikardipin hidroklorürü metabolize eden enzim aktivitesinin doyum olayının değerlendirilmesine yönelik stabil izotop tekniğinin uygulamasını yapmışlardır. Nikardipin hidroklorürün N-[O₇] benzil türevinin biyolojik izotop etkisini, maddenin eliminasyon kademelerinden birinin köpeklerin karaciğerindeki debenzilasyon olduğu ileri sürülerek in vivo yarı ömürleri ve in vitro metabolik oranları sırasıyla 1.37 ve 1.36 olarak hesaplamışlardır. N-[O₃]Me türevi bu etkiyi göstermemiştir. N-[O₃]Me'nin biyolojik yarı ömrü ve sistemik yararlılığı işaretlenmemiş maddenin dozlarının artmasıyla artmıştır. Böylece plazma klirensinin azalmasından nikardipin hidroklorürü metabolize eden hepatik enzim aktivitesinin nikardipin hidroklorür veya metabolitleriyle kısmen durdurulmuş olduğu sonucunu çıkarmışlardır.

Higuchi vd. (1980), 21 gün boyunca ¹⁴C işaretli nikardipin hidroklorürün 3 mg/kg/gün dozu halinde farelerin hücrelerinde 14. gündeki madde dağılımı 1.gündekinden 1.4-2.5 kez daha yüksek olup bu durum 14 gün içinde sürekli duruma varılmış olduğunu göstermektedir. 7 gün boyunca 3 mg nikardipin hidroklorür kg/gün dozunda ilaç alan farelerde hiç bir ilaç birikimi görülmemiştir. 3 saat aralıklarla 3 defa 10 mg/kg doz alındığında plazmada birikme yaptığını saptamışlardır.

2.2.5 Kararlılığı

Işıktan kademeli olarak etkilenir (JP XIII). Bonferoni vd. (1992), HPLC metodunu kullanarak ışığa karşı dayanıklılık testi yaparak, uv ve gün ışığı şartlarındaa bozunma hızını incelemişlerdir.

Fernandez vd. (1990), analitik çözeltilerin ışığa ve ısıya dayanıklılığının ve saflığının tayini için bir HPLC yöntem geliştirmişlerdir. 30-150 µg/mL'nin üzerinde doğrusal olan

RP-HPLC yönteminde 237 nm'de, mobil faz olarak fosfat tamponu-MeCN-MeOH (600:370:65) ve Li-Chrospher 100 RP-8 kolon kullanılmıştır.

2.2.6 Kantitatif yöntemler

a) Polarografik yöntemler

Savella vd. (1991), moleküldeki aromatik nitro grubuna ait elektron aktivitesine dayanan nikardipin tayini için yeni bir diferansiyel puls polarografi yöntemi geliştirmişlerdir. % 94.96-101.66 verimle, yöntem farmasötik preparatlara ve bozunma çalışmalarında ilaç tayinine uygulamışlardır.

Gonzales vd. (1988), cam elektrod üzerinde meydana gelen oksidasyonla sabit potansiyelde amperometrik tayin yaparak akış injeksiyonlu yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada, hassasiyet üstüne injekte edilen hacim, akış hızı, pH ve elektrot kompozisyonunun etkisini araştırmışlar ve elektrot yüzeyinde analiz edilen maddenin adsorpsiyonunu önlemişlerdir. Yöntem 0.2-16 mg/L'nin üzerinde lineer olup arama sınırının 0.05 mg/L olduğunu bulmuşlardır.

Wang vd. (1985), camı C ve asılı civa damla elektrotlarda nikardipinin voltametrik davranışı ve ölçümünde siklik voltametrinin redoks mekanizmasını irdelemesinden yararlanılmıştır. Adsorplayıcı birikme, seçicilik ve hassasiyetle ilgili olarak voltametrik ölçmeyi geliştiren bir ön yoğunlaştırma kademeli olarak iş görmektedir. Bunu bir ortam değişim kademesiyle kenetleme çözelti-faz elektroaktif türlerden ileri gelen girişimleri etkisiz kılar. Civa elektrodlu diferansiyel puls voltametrisinin doğal hassasiyeti 2×10^{-8} M ve tayin sınırıyla submikromolar seviyede uygun ölçümler gerçekleştirmişlerdir.

Dominguez Botran vd. (1991) civa elektrodlarında nikardipinin siklik voltametri çalışmaları nitro grubunun redüksiyonuna adsorpsiyon kontrolü altında yapmışlardır. Optimal potansiyel -0.200 V, pH 5-7 olan bir tampon çözelti kullanarak 1.0×10^{-8} ile 5.0×10^{-11} M arasında bir doğrusallıkla 2×10^{-11} hassasiyetle ilaç maddelerindeki nikardipinin tayinine uygulamışlardır.

b) Kromatografik yöntemler

Vanderbosch vd. (1992) ilaç enantiyomerlere yönelik seçicilik için sıvı kromatografisinde altı adet kiral stasyonier fazların değerlendirilmesini yapmışlardır.

Mikami vd. (1992), sıvı kromatografisiyle hazırlanan ilaçların tayininde uv alanda, stasyonier faz olarak Wakosil 5C₁₈ ve internal standart olarak p-hidroksibenzoat kullanılarak nikardipini tayin etmişlerdir.

Higuchi ve Kawamura (1981), gaz kromatografi-kütle spektrometrisiyle, sıçan, köpek ve insanlarda plazmadaki nikardipin hidroklorürü spesifik bir yöntemle çalışmışlardır. N-d₃-Me türevi bir iç standart gibi katılıp plazma dietil eterle ekstrakte edilmiş ve ilacın metabolitlerinden biri olan piridin analogunu gidermek için TLC'yi uygulamışlardır. Değişmeden kalan ilaç uv alanda N-d₇-benzil türevini tanımlamışlardır. 1,4-dihidropiridin yapısıyla değişmemiş ilaç maddesi gaz kromatografisi için dayanıklı olan ve m/e 134 (nikardipin) ve m/e 137 (N-d₃-Me türevi) de kütle spektrometrisiyle muamele edilen piridin analoguna HNO₃ ile oksitlenmiştir. Değişmemiş ilacın TLC ayırması yapmayan yöntemle elde edilen değere oranı köpek ve insanlar için % 80, sıçanlarda % 100 olarak bulunmuştur. Bu şekilde örneklerde plazmadaki piridin analogunun miktarını ana ilacinkiyile mukayese edildiğinde çok küçük bulmuşlardır.

Leis vd. (1996), ilaç ve metabolitlerini biyolojik örneklerde tanımlamak için esası negatif iyonlar kimyasal iyonizasyonuna dayanan gaz kromatografi-kütle spektroskopisi yöntemini geliştirmişlerdir.

Watari vd. (1990), elektron tutucu (electron capture) dedektörlü kapiler kolon gaz kromatografisiyle vücut sıvılarında nikardipin ve metabolitlerinin tayinini yapmışlardır. Yöntem, sıçanlarda yapılan farmakinetik nikardipin araştırmaları için kullanılmış olup hastalarda terapötik takip için uygun bulunmuştur.

Rosseel ve Lefebure (1994), plazmadaki piridin metaboliti MS ve nikardipinin aynı anda tayini için için azot-fosfor aranmasıyla kapiler gaz kromatografisi yöntemini geliştirmişlerdir. Yöntem organik fazın buharlaştırılmasını takiben hekzan-metilen klorür (1:1) karışımı ile plazmanın ekstraksiyonunu kapsamaktadır. Ekstrakt çapraz bağlı % 5'lik fenil-metilsilikonla kaplanmış ergitilmiş silisyumdioksitten oluşan kapiler kolon içine

injekte edilmiştir. Bir sıcaklık gradienti (85-285°C) uygulanarak iki ürün ve iç standardın 22 dakikada ayrılması 0.5 ng/mL'lik arama sınırıyla sağlanmıştır. Yöntem insanlarda farmakinetik çalışmalar için uygundur.

A. Elghany vd. (1997), ilaç maddelerindeki nikardipin hidroklorürün tayininde dayanıklılık gösteren HPTLC yöntemini geliştirmişlerdir. Çalışmada F254 silikajel plakları ve mobil faz olarak hekzan-EtOAc-EtOH-sulu NH_3 (30:10:5:1) kullanmışlar ve % 99.72 geri kazanım ile % 1.21 standart sapma elde etmişlerdir.

Eastwood vd. (1990), plazma ve serumda HPLC ile tayin yapmışlardır. İç standart olarak butilpiridin kullanarak metil ters-butil eterle ekstrakte ederek tayin etmişlerdir. Mobil faz olarak 20 mL NH_4ClO_4 'lü MeOH'la Spherisorb S5SCX silika üzerinden HPLC ve elektrokimyasal tayin yapılırken alt tayin sınırının 5 µg/L olduğunu bulmuşlardır. Yöntem tek doz farmakinetiği takiben tedaviye rehber olarak kullanılacak kadar seçici ve hassastır.

Wu vd. (1984) plazmadaki nikardipin ve metabolitlerini aynı anda RP-HPLC ile tayin etmişlerdir. 20 mg'lık oral doza karşı uv alanda (254 nm) 5 ng/mL'lik duyarlık elde etmişlerdir.

Kobayashi (1987), oral alımdan sonra insan plazmasındaki nikardipin ve metabolitlerinin tayininde HPLC yöntemini geliştirmiştir.

Wu vd. (1987), nikardipin ve plazmadaki metabolitlerin(II) aynı anda tayininde elektron tutucu dedektör kullanarak kapiler kolon gaz kromatografik yöntem kullanmışlardır. Tayin limiti plazmada 1 ng/mL, duyarlık 5 ng/mL ve konsantrasyon aralığı 1-50 ng/mL'dir.

Watari vd. (1990), vücut sıvılarında nikardipin ve metabolitlerinin aynı anda tayininde elektron tutucu dedektör ile kapiler kolon gaz kromatografisini kullanmışlardır.

Maurin vd. (1992), nikardipindeki Hantzsch senteziyle hazırlanan kirlilik (XE 820) % 0.1 Et_3N içeren MeCN-0.02 M-fosfat tamponu-MeOH (50:40:10) ibaret bir mobil fazla, kation değişim kolonunda tayin yapmışlardır. Kirliliğin ayırımı üzerinde pH değerinin (optimum 4.2) etkisi de bu çalışmada gösterilmiştir.

Ohkubo vd. (1994) ve Chankvetadze vd. (1993), stasyonier fazlı HPLC ile enantiyomer ayırımını yapmışlardır.

2.3 Nimodipin Hakkında Genel Bilgi

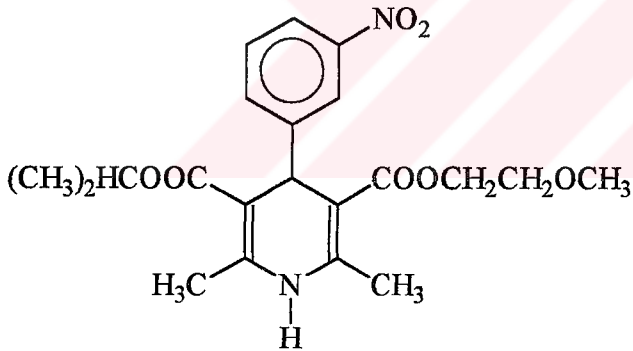
2.3.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri (The Merck Index, 1989; EP, 1998)

Kimyasal İsmi

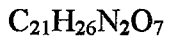
- 1,4-Dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitroenil)-3,5-piridindikarboksilik asit 2-metoksietil 1-metil ester
- 2-Metoksietil 1,4-dihidro-5-(izopropoksikarbonil)-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3-piridin karboksilat
- İzopropil 2-metoksietil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridindikarboksilat
- 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilik asit 3-β-metoksietil ester 5-izopropil ester

Formülü

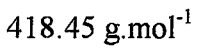
Açık Formülü



Kapalı Formülü



Molekül Ağırlığı



Elementel Bileşimi

Element	C	H	N	O
%	60.28	6.26	6.69	26.76

Görünüş, Renk

Açık sarı ya da sarı renkli kristalize tozdur.

Erime Noktası

125°C

Optikçe Aktifliği

Optik çevirme açısı asetonda sabittir.

Çözünürlüğü

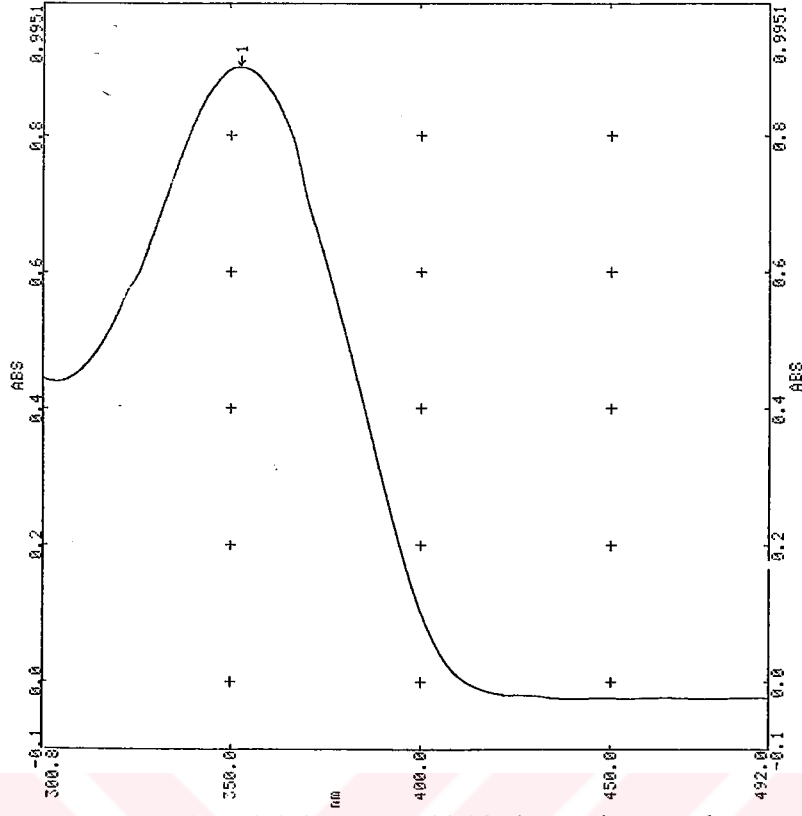
Pratikçe suda çözünmez, etilasetatta iyi çözünür, etanolde az çözünür.

Kurutma Kaybı

100-105°C'da kurutulduğu zaman ağırlığının % 0.5'inden fazlasını kaybetmez.

2.3.2 Spektral özellikler**2.3.2.1 UV spektrumu**

Nifedipinin farklı çözücülerde tarafımızdan alınan uv spektrumları Şekil 2.15 de ve ilgili nimodipin değerleri Çizelge 2.10 da görülmektedir.



Şekil 2.15 Nimodipinin metanoldeki absorpsiyon spektrumu

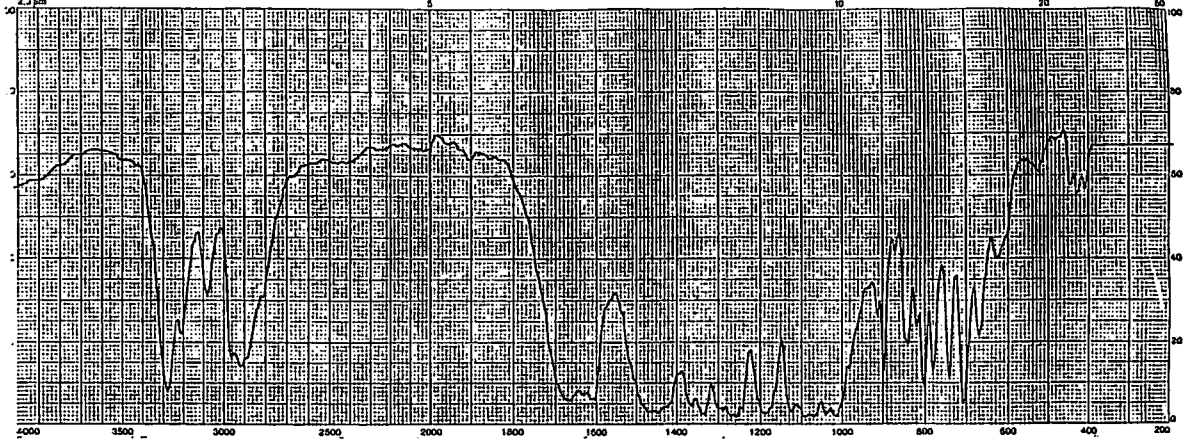
Çizelge 2.10 Nimodipinin uv spektrumlarına ait değerlendirmeler

Çözücü	Aseton	Etanol	Metanol	HCl (0.1 N)	NaOH (0.1 N)
Absorpsiyon Maksimumu (nm)	347.2	355.2	354.1	356.4	358.4

2.3.2.2 IR spektrumu

Nimodipinin KBr disk yöntemiyle alınmış IR spektrumu Şekil 2.16 da, piklerin yorumu ise Çizelge 2.11 de FTIR spektrumu ise Şekil 2.17’de verilmektedir.

Dalgaboyu, μm

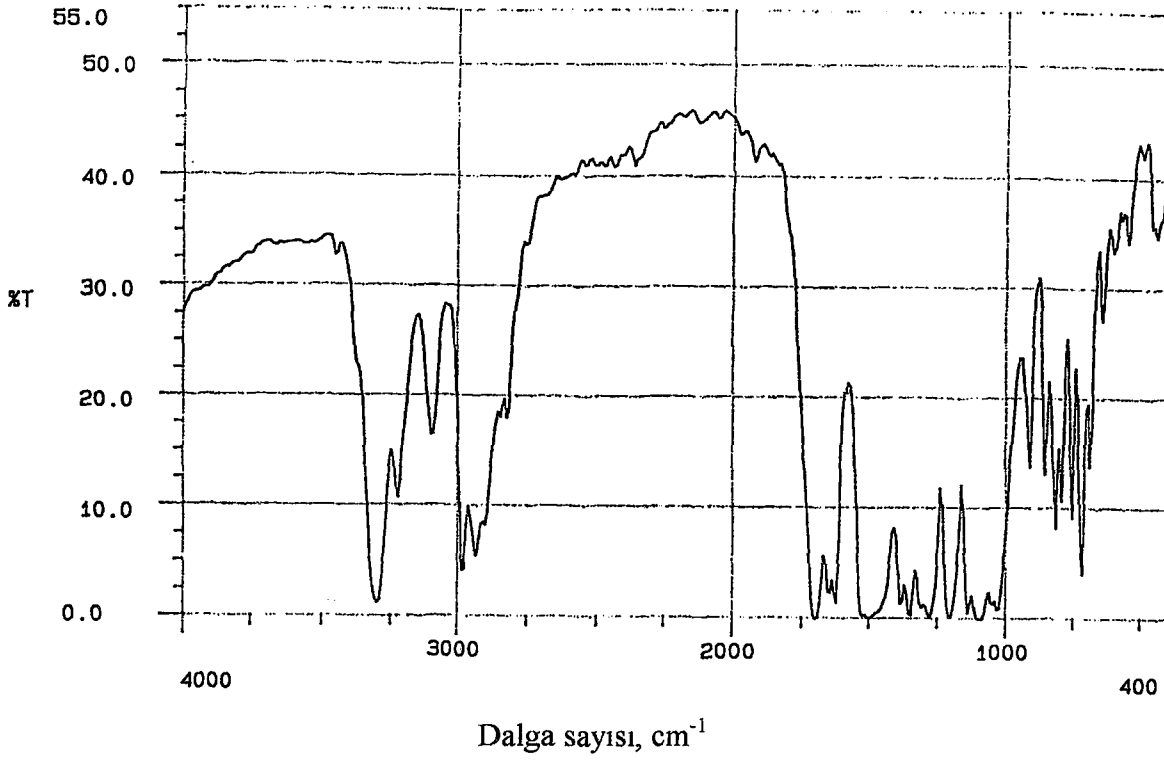


Dalga sayısı, cm^{-1}

Şekil 2.16 Nimodipinin IR spektrumu

Çizelge 2.11 Nimodipinin IR yapısal tayini

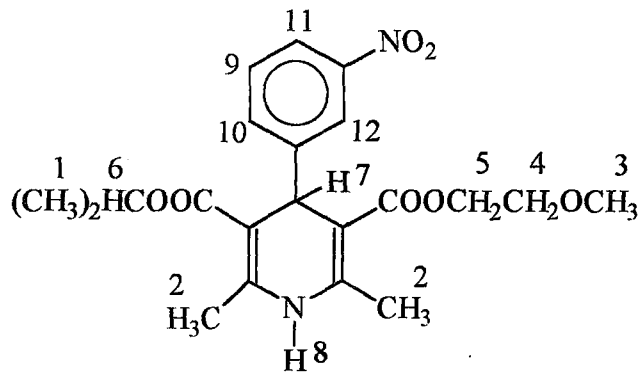
Frekans, cm^{-1}	Tayinler
3280	NH gerilme titreşimi
3080	CH- aromatik
2920-2960	CH- alifatik
1680	C=O ester
1660-1630	-C=C- aromatik
1450	NO_2
1360	-C- CH_3
1180-1130	-C-O- ester



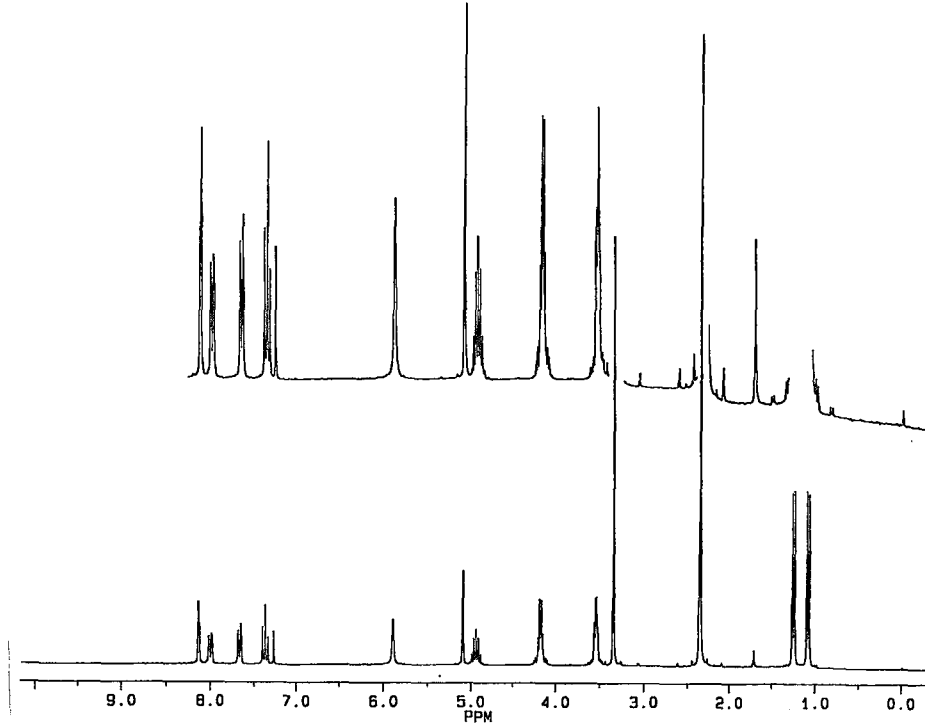
Şekil 2.17 Nimodipinin FTIR spektrumu

2.3.2.3 NMR spektrumu

Nimodipinin tarafımızdan elde edilen ^1H -NMR spektrumu Şekil 2.18 deki yapıya göre Şekil 2.19 da, buna ait yorumlar ise Çizelge 2.12 de görülmektedir.



Şekil 2.18 Nimodipinin NMR sinyallerinin yapısal tayini



Şekil 2.19 Nimodipinin ^1H -NMR spektrumu

Çizelge 2.12 Nimodipinin ^1H -NMR spektrumunun değerlendirilmesi

Şekil 2.18'deki H atomu	Kimyasal kayma, ppm	Pik sayısı	H Atomlarının sayısı
H-1	1.25	dublet	6
H-2	2.35	singlet	6
H-3	3.34	singlet	3
H-4	3.59	triplet	2
H-5	4.14	triplet	2
H-6	4.91	multiplet	1
H-7	5.10	singlet	1
H-8	5.95	singlet	1
H-9-H-12	7.3-8.2	multiplet	4

2.3.3 Sentezi

Yeni bir ilaç etken maddesi olduğu için literatürde ve farmakopelerde böyle bir bilgiye rastlanmamıştır.

2.3.4 Farmakolojik özellikleri (Kayaalp, 1990; Martindale, 1989)

Nimodipin başlıca serebral damar genişletici etkisi için kullanılan bir kalsiyum kanal bloke edici olup serebral işlemini takip eden nörolojik yetmezlikler için ve migrende kullanılmıştır.

Spazma bağlı olarak iskemik, nörolojik yetmezliğin ciddiyetini önleme veya değiştirmede nimodipinin etkinliği araştırılmış ve olumlu bulunmuştur.

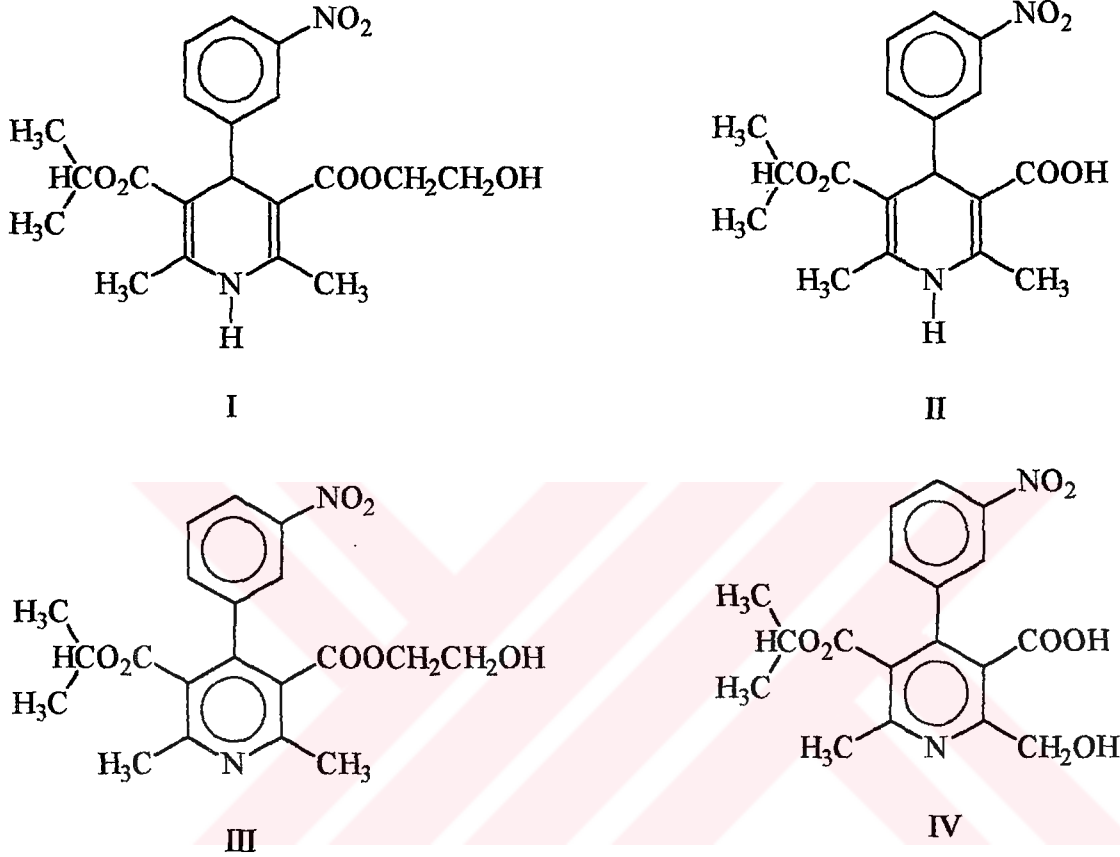
Nimodipinin aslen bir damar genişletici olarak hareket ettiği görüşü iyimser bir görüş olabilmektedir. Etki hücre yetmezliğine yol açan biyokimyasal işlemlerle bağlantılı bir kalsiyum blokajına, hücre enerji üretimini geliştirmede ve kırmızı kan hücresi şekil bozukluğunun kalsiyum azalmasını önlemede bağlı olabilmektedir. Ventriküler fibrilasyona bağlı olarak kardiyak krizden sonra kardiyopulmoner (kalp-akciğer) yeniden canlandırılmasında nimodipinin yeterli olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır.

Yapılan araştırmalar vasküler baş ağrısı çeken hastaların % 80-90'ı nimodipin tedavisinden fayda gördüklerini bildirmektedir. Nimodipin klasik ve karmaşık migren ve toplu baş ağrısında etkin olup, asıl baş ağrısı semptomlarında kısmi veya tamamen iyileşme sağlamaktadır. Kalsiyum kanal blokerleri basit migrende daha az etkin olup hastaların yarısı veya üçte ikisinde gelişme göstermiştir. Tedavinin başlamasından sonra, ilk semptomların başlamasından önce 10-14 günlük gecikme olmakta ve baş ağrısı sıklığı ve ağırlığındaki azalmalar 2-4 hafta kadar gecikmektedir.

Nimodipinin deney hayvanlarındaki bulgulara göre serebral damarlarda, diğer damar yataklarının çoğundakinden daha belirgin vazodilatasyon yaptığı ileri sürülmüşse de maymunlar ve insanlardaki sonuçlar bunu doğrulamamıştır. Çok fazla lipofilik olduğu için beyine kolaylıkla girer. Beyin iskemisine yol açan durumlarda iskeminin, nöronlarda aşırı kalsiyum birikmesine bağlı zedeleyici etkisini azaltabileceği ileri sürülmüştür. Terapötik etkisinin esas olarak nöronlara Ca^{2+} girişinin önlenmesine bağlı olduğu sanılmaktadır. Subaraknoid kanamada mutad dozu ağızdan 4 saatte bir 60 mg'dır; 21 gün süre ile verilmesi tavsiye edilmektedir. En sık görülen yan tesiri hipotansiyondur.

Beyinde asetilkolin salıverilmesini inhibe eder, dopamin salıverilmesini ise artırır, bu nedenle Parkinson hastalığının tedavisinde de yararı olabilir.

Towart vd. (1982), serumdaki nimodipin metabolitlerini saptamışlardır (Şekil 2.20).



I- 2-Hydroxyethyl-isopropyl-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylate.

II- 1,4-Dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylic acid-monoisopropylester.

III- 2-Hydroxyethyl-isopropyl-2,6-dimethyl-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylate.

IV- 2-Hydroxymethyl-6-methyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylic acid-5-isopropylester.

Şekil 2.20 Nimodipinin metabolitleri

2.3.5 Kararlılığı

Jakobsen vd. (1986), nimodipinin insan plazmasındaki gaz kromatografi çalışması sırasında mikroskop ışığına dayanıklı olduğunu, ancak gün ışığı ve uv ışığında biraz bozunmaya uğradığını saptamışlardır.

Wang vd. (1991), HPLC ile nimodipin enjeksiyonun stabilitesi ve tayinini yapmışlardır. Buna göre enjeksiyon gün ışığında dayanıksız olmakta ve aktif madde 100°C da zamanla yavaşça azalmaktadır.

Ragno vd., (1995), ilaç karışımlarında nimodipin ve asıl parçalanma ürününün aynı anda tayini için bir türev spektrofotometrik yöntem tanımlanmaktadır. uv yöntem kompoze formülasyonlarda ilacın ışıkla bozunmasını araştırmak için kullanılmıştır.

Gang vd.(1996), ışık ve ısı altında nimodipin enjeksiyonunun tayini ve dayanıklılığını RP-HPLC ile yapmışlardır.

2.3.6 Tayin yöntemleri

2.3.6.1 Kantitatif yöntemler

a) Polarografik yöntemler

Nimodipin, nitro grubunun dört elektronla hidroksilamin grubuna indirgenmesinden dolayı bir diferansiyel puls polarografi tepe eğrisi meydana getirmektedir. Nitro grubunun elektroaktivitesi yeni bir polarografik yöntem geliştirmek için kullanılmıştır. Yöntem, tabletlere de uygulanmıştır (Squella vd., 1992).

Nunez-Vergara vd. (1991), enzimatik katalizlerin yokluğunda glutatyon ve nimodipin ile propranololün in vitro birleşimiyle yeni ürün oluşumunun uygunluğunu inceleyebilmek için uv spektroskopisi ve voltametrik yöntemleri kullanmışlardır. Çalışmada reaksiyon ortamı, sıcaklık ve pH'ın etkileri incelenmiştir.

b) Kromatografik yöntemler

Krol vd. (1984), nanogram konsantrasyon seviyelerindeki nimodipin analizine özgü gaz kromatografi ve sıvı kromatografisi araştırma yöntemlerini tanımlamışlardır. Gaz kromatografisi sırasında bozunmayı önlemek için OV-17 kolonuna enjeksiyon yapıp bir elektron tutucu dedektör kullanılarak değerlendirmeden önce nimodipin, nimodipin piridin analoguna oksitlenmiştir. Sıvı kromatografisi yöntemi 3 µm Spherisorb ODS kolonu ve uv dedektörü kullanılarak, nimodipin ve endojen piridin analogunun kromatografik ayrılmasını içermektedir. Her iki araştırma için aynı plazma ekstraksiyonu ve üç alternatif iç standart kullanılmıştır. Her iki yöntem doğruluk açısından birbirini doğrulamıştır ve deney sonuçlarından biri hasta plazma bileşenlerinin karışmasına maruz kaldığında alternatif yöntem devreye girmektedir. Sıvı kromatografi deneyi dimetillendirilmiş nimodipin metabolitlerinin analizi için kullanılmıştır.

Shinde vd. (1994), farmasötik preparatlarda nitrendipin ve nimodipini HP-TLC ile selektif tayin için bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemde, etilasetat (1:1) mobil faz ve toluen taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Parasetamol internal standart olup, nimodipin 240 nm, nitrendipin ise 236 nm'de tanımlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin lineer aralığı her iki madde için 25-200 ng ve minimum tayin limiti 25 ng'dır.

Qian vd. (1992), maymun plazmasındaki nimodipinin ters faz HPLC ile ayrımında etilasetat ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yöntem 0.25 mg/kg olarak maymunlara iv olarak uygulanmış ve plazmadan kazanılması % 95 ile 10 ng/mL düzeyindedir.

Leuenberger vd. (1995), fare karaciğeri mikroorganizmalarında in vitro nimodipin metabolizmasını değerlendiren bir çalışma yapmışlardır. Nimodipin ve metabolitleri 0.05 M amonyum asetat (pH = 6.6) : metanol (40:60; v:v) içeren mobil faz kullanarak 40°C da tutulan C₁₈ HPLC kolonunda ayrılmışlardır. Tayin sınırı 30-80 nM dir. İzokratik, hızlı, hassas ve seçimli ters faz HPLC yöntemi geliştirmişlerdir.

Jain ve Jain (1990), nimodipini shimpack FLC-005 kolon MeOH-H₂O (75:25) mobil faz ve 238 nm de uv tayinine dayanan HPLC ile 10 enfüzyonlarda tayin etmişlerdir. Geri kazanım % 98.1-100.6 olup relatif standart sapma % 0.096-0.13 olmuştur.

Jakobsen vd. (1986), insan plazmasında (200 µL) internal standart nitrendipin ve toluenle karıştırılmış ve santrifüjlenmiş, ele geçen organik fazın 1-5 µL'si gaz kromatografi cihazına enjekte edilmiştir. Kromatografi sistemi ⁶³Ni elektron tutucu dedektöre takılı bir Varian 2100 gaz kromatografından ibarettir. Taşıyıcı gaz olarak 25 mL/dak akış hızındaki azot kullanılmış ve 100 ng/mL'ye kadar lineer standart eğriler elde edilmiştir.

Rosseel vd. (1990), insanlarda oral alımdan sonra plazmadaki nimodipin ve lipofilik metabolitlerini azot dedektörü kullanarak kapiler gaz kromatografisi ile tayin etmişlerdir.

Rosseel ve Bogaert (1990), plazmadaki nimodipinin kapiler gaz kromatografi ile tayininde 0.2 µL nin katlarında 5 µL toluene alınmış, kuruluğa kadar buharlaştırılmış iki kez toluene ekstrakte edilmiştir. Analizden önce örnek -20°C ışıktaki tutulmuştur. Kalibrasyon eğrisi 2-50 ng/mL için lineer olup tayin limiti 0.5 ng/mL'dir.

Sane vd. (1993), ilaç preparatlarında nimodipin , flutamiol tiklopidinin gaz kromatografik tayin yöntemi geliştirmişlerdir. Üç madde içinde % 10 luk OV-1 kolon, nimodipin için 220°C lik sıcaklık, dedektör olarak da alev iyonizasyon dedektörü kullanmışlardır.

Lastres vd. (1995), nimodipin ve uv ışıktaki bozunma ürünleri TLC ile araştırılmıştır.

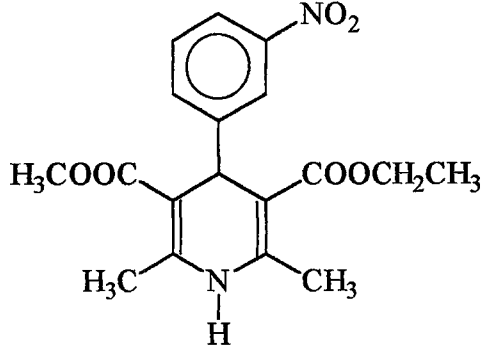
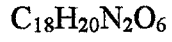
Fan vd. (1992), tabletlerdeki nimodipini uv spektrofotometrik olarak tayin etmiştir. Yöntem, tabletleri 1000 mL EtOH-H₂O (3:7) ortamında 30 dakika bekletmeyi önermektedir.

2.4 Nitrendipin Hakkında Genel Bilgi

2.4.1 Kimyasal ve fiziksel özellikleri (The Merck Index, 1989; EP, 1998)

Kimyasal ismi

- 1,4-Dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridindikarboksilik asit etil metil ester.
- Etil 1,4-dihidro-5-(asetoksikarbonil)-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3-piridinkarboksilat
- 3-Etil-5-metil-1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridinkarboksilat

Formülü*Açık Formülü**Kapalı Formülü***Molekül Ağırlığı**

360.37 g.mol⁻¹

Elementel Bileşimi

Element	C	H	N	O
%	59.99	5.59	7.77	26.64

Görünüş, Renk

Sarı renkli, kristalize toz halinde bulunur.

Erime Noktası

158°C

Optikçe Aktifliği

Asetonda optik çevirme açısı gösterir.

Çözünürlüğü

Pratikçe suda çözünmez, etilasetatta iyi çözünür, etanol ve metanolde az çözünür.

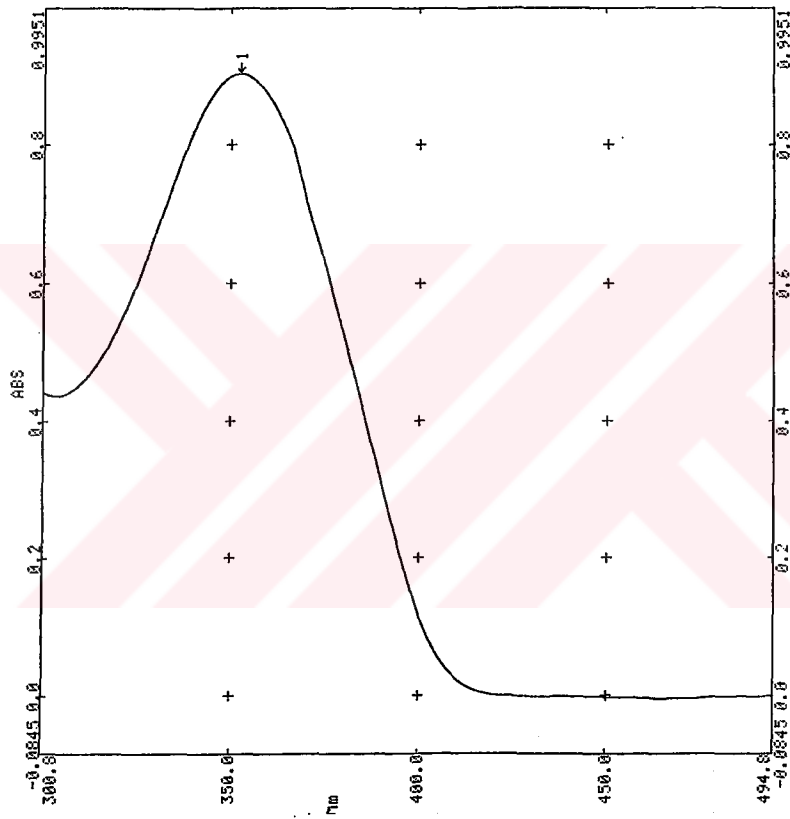
Kurutma Kaybı

100-105⁰C da kurutulduğunda ağırlığının % 0.5'inden fazlasını kaybetmez.

2.4.2 Spektral özellikler

2.4.2.1 UV spektrumu

Nitrendipinin farklı çözücülerde tarafımızdan alınan uv spektrumu Şekil 2.21'de ve ilgili değerleri Çizelge 2.13'de görülmektedir.



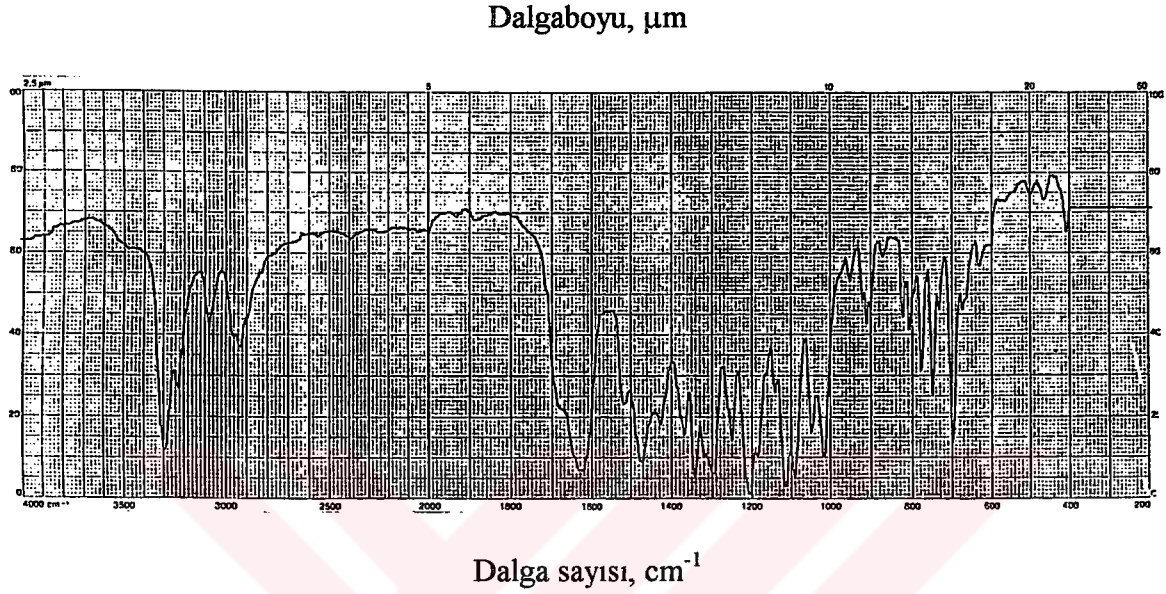
Şekil 2.21 Nitrendipinin metanoldeki absorpsiyon spektrumu

Çizelge 2.13 Nitrendipinin uv spektrumlarına ait değerlerndirmeler

Çözücü	Aseton	Etanol	Metanol	HCl (0.1 N)	NaOH (0.1 N)
Absorpsiyon Maksimumu (nm)	347.2	354.1	352.8	358.5	356.9

2.4.2.2 IR spektrumu

Nitrendipinin KBr disk yöntemiyle tarafımızdan alınan IR spektrumu Şekil 2.22’de, piklerin yorumu Çizelge 2.14’de, FTIR spektrumu ise Şekil 2.23’de verilmektedir.

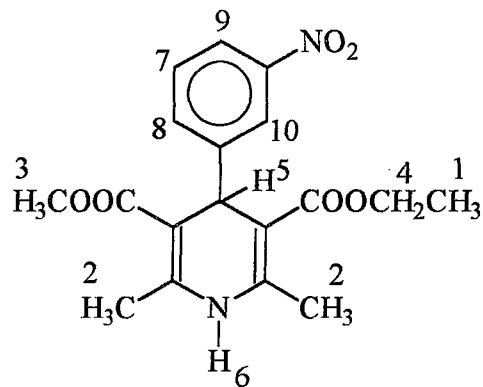


Şekil 2.22 Nitrendipinin IR spektrumu

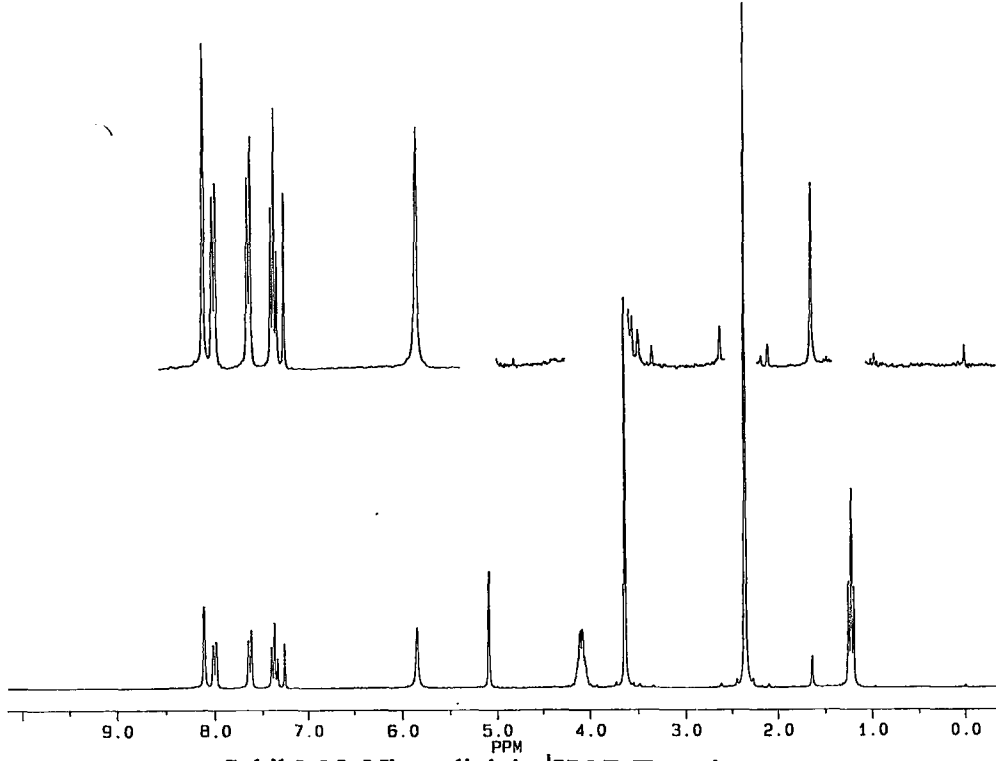
Çizelge 2.14 Nitrendipinin IR yapısal tayini

Frekans, cm^{-1}	Tayinler
3300	NH gerilme titreşimi
3050	CH- aromatik
2920	CH- alifatik
1620	C=O ester
1667-1634	-C=C- aromatik
1531-1539	NO_2
1210-1100	-C-O- ester
1124-1099	-O-CH ₂ -CH ₃

Nitrendipinin tarafımızdan elde edilen ^1H -NMR spektrumu Şekil 2.24 deki yapıya göre Şekil 2.25 de, buna ait yorumlar ise Çizelge 2.15 de görülmektedir.



Şekil 2.24 Nitrendipinin NMR sinyallerinin yapısal tayini



Şekil 2.25 Nitrendipinin ^1H -NMR spektrumu

Çizelge 2.15 Nitrendipinin ^1H -NMR spektrumunun değerlendirilmesi

Şekil 2.24 deki H atomu	Kimyasal kayma, ppm	Pik sayısı	H Atomlarının sayısı
H-1	1.23	triplet	3
H-2	2.36	singlet	6
H-3	3.72	singlet	3
H-4	4.08	multiplet	2
H-5	5.09	singlet	1
H-6	5.85	singlet	1
H-7-H-10	7.26-8.11	multiplet	4

2.4.3 Sentezi

Yeni bir ilaç etken maddesi olduğu için literatürde ve farmakopelerde böyle bir bilgiye rastlanmamıştır.

2.4.4 Farmakolojik özellikleri (Kayaalp, 1990; Martindale, 1989)

Dihidropiridin türevi vazoselektif bir kalsiyum antagonistidir. Farmakolojik etki kalıbı nifedipininkine benzer. Onun gibi kalpte hafif refleks stimülasyona ve hiperdinamik

dolaşıma neden olabilir. Ancak eliminasyon yarılanma ömrü ortalama 15 (10-20) saat kadardır ve nifedipin ve nikardipininkinden daha uzundur. Bu nedenle etkisi onlarınkinden uzun sürer.

Hafif ve orta şiddetli hipertansiyonlu hastaların % 45-86'sının normal limitler içinde sistolik ve diyastolik kan basıncını azalttığı gösterildi. Ancak, normal tansiyonlu insanlarda daha az tansiyon düşürücü etkiye sahip olduğuna dair sonuçlar vardır. Daha ileri klinik çalışmalar gerekliyse de, uzun vadeli tedavi sırasında antihipertansif tedavinin sürekli olacağı görülmektedir. Beta bloker veya bir diüretik ilavesiyle cevap oranları arttırılabilmektedir.

Mide-barsak kanalından hızla absorbe edilir; oral dozundan sonra vazodilatör ve hipertansif etkisi 30 dakika sonra başlar, 1.5-4 saatte maksimuma ulaşır ve 8-24 saate kadar sürer. Nitrendipin büyük çapta karaciğerde metabolize olmaktadır. Oral dozun % 0.1'den daha azı idrarda değişmemiş olarak görülmektedir, dozun yaklaşık % 77'si idrardan geri kazanılmakta ve bir oral dozun 96 saat içinde aktif olmayan metabolitleri şeklinde % 8 oranında feçesten geri kazanılmaktadır. Plazmadan toplam atılımı yaklaşık 81-87 lt/sa'dır. Plazma konsantrasyonları ve eliminasyon yarı ömrü hepatik hastalıklı hastalarda ve yaşlılarda da yükselmektedir. Nitrendipinin farmakinetiği üstüne, böbrek hastalığının etkisi en azdır.

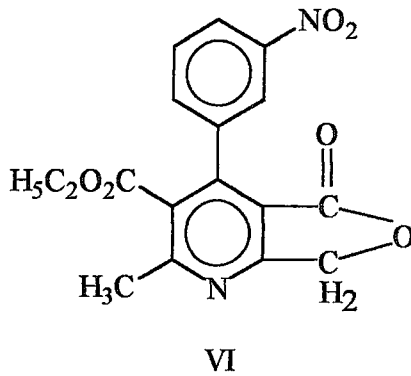
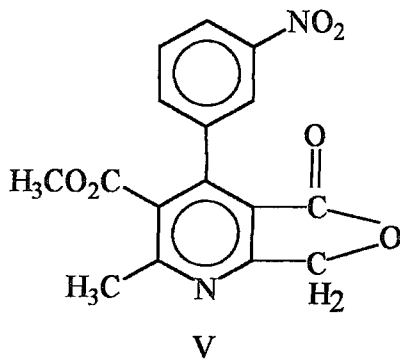
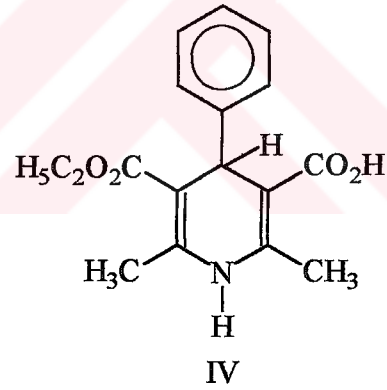
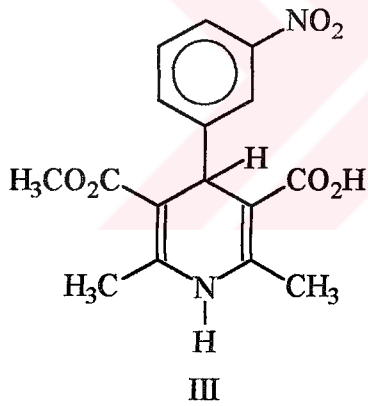
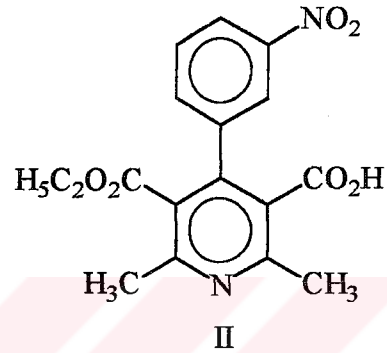
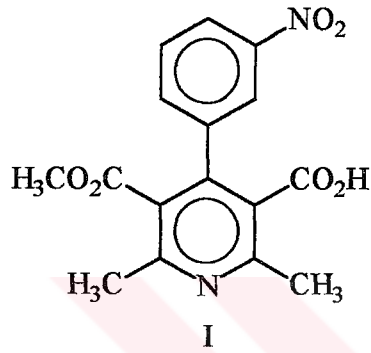
Hafif ve orta hipertansiyonda genel başlangıç dozu sabahları sadece günde bir kez 5-20 mg'dır, tercihen yemekle veya sonra, günde bir veya iki kez arttırılır. Yaşlılar 5-10 mg gibi daha düşük dozlara cevap verebilir.

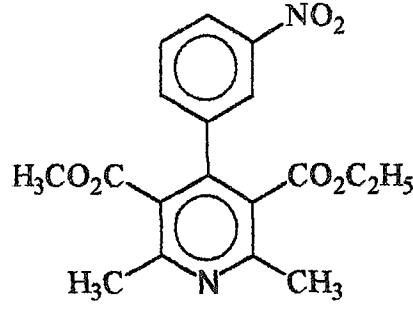
Gebeliğin ilk devrelerinde, nitrendipin kullanımıyla ilgili ön çalışmalar, gebelikte oluşan hipertansiyon tedavisinde faydalı olabildiğini göstermektedir.

Nitrendipinin yaygın olarak bildirilen yan etkileri baş ağrısı, cilt kızarması, eklem ödemleri ve çarpıntıları kapsamaktadır. Zıt reaksiyonların sıklığı yaklaşık % 40 olarak bildirilmesine rağmen genellikle hafifdirler ve tedavinin devamı sırasında kaybolurlar ve hastaların % 5-

10 kadarında nitrendipin çekilmesini gerektirmektedir. Baş dönmesi, alerji ve yorgunluk da bildirilmekte ve serum alkali fosfataz artışı birkaç durumda görülmektedir.

Boecker vd. (1990), nitrendipin ve metabolitlerinin HPLC ile tayinini yapmışlardır. Mobil faz olarak fosforik asitteki asetronitril kullanılmış piridin ve dihidropiridin türevi için 234 nm, dihidropiridin için 345 nm'de tanımlanmışlardır. Tayin sınırı 50 ng/mL olup geri kazanım, piridin monokarboksilik esteri % 60, dihidropiridin monokarboksilik esteri % 75 ve nitrendipin için % 85-90 olmuştur. Nitrendipinin metabolitleri Şekil 2.26'daki gibidir.





VII

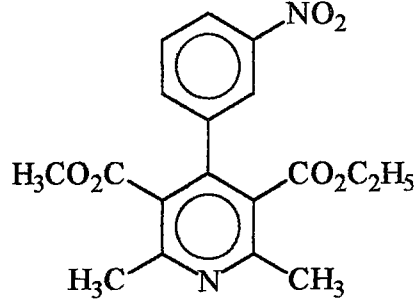
- I- Nitrendipin-piridin monokarboksilik metil ester
- II- Nitrendipin-piridin monokarboksilik etil ester
- III- Nitrendipinpiridin monokarboksilik metil ester
- IV- Nitrendipinpiridin monokarboksilik etil ester
- V- Nitrendipin-piridin metil lakton
- VI- Nitrendipin-piridin etil lakton
- VII- Nitrendipin-piridin

Şekil 2.26 Nitrendipinin metabolitleri

Meyer vd. (1983), farelerdeki nitrendipinin farmakinetiğini altı çeşit metabolitle tanımlamışlardır.

2.4.5 Kararlılığı ve bozunma mekanizması

Squella vd. (1990), nitrendipinin uv ışığı ve gün ışığında bozunmasını incelemişlerdir. Sonuçlar nitrendipinin normal analiz işlemi boyunca bozulmamış olarak kaldığını ve görünür ışığa maruz kalmasıyla ilgili olarak özel bir dikkate gerek olmadığını göstermiştir. Bununla beraber uv ile bozunma ürünü izole edilmiş ve nitrendipinin analogu nitropiridin olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.27).



Şekil 2.27 Nitrendipinin uv türevi

Ragno vd. (1993), nitrendipin ve ışıkla bozunma ürünlerinin tayininde uv türev ve gaz kromatografi yöntemi geliştirmişlerdir. Direkt analizde uv yöntem, üçüncü türevi ve gaz kromatografi yöntemi nitrendipin ve bozunma ürünlerinin aynı anda tayini için kullanılmıştır.

2.4.6. Tayin yöntemleri

2.4.6.1 Kantitatif yöntemler

a) Polarografik yöntemler

Nitrendipin, nitro grubunun redüklenen dört elektronu dolayısıyla çok bariz tanımlanan polarografik tepe eğrisi oluşturmaktadır. Bu eğri hem uv ışığı hem de gün ışığı şartlarında nitrendipinin ışıkla bozunmasını takip etmek için kullanılır (Squella vd., 1990).

Bu redüksiyon, düzgün şekilli polarogram dalgasını oluşturmaktadır. Yöntem, tablet araştırmalarında da hassas olup içerik homojenliğini saptama ve rutin analizlerde dayanıklılık testleri için uygun görülmüştür. Geri kazanım % 99.71 ve standart sapma % 0.87 olmuştur (Squella vd., 1988).

Squella vd. (1991), su/dimetilformamid (DMF) solvent karışımını kullanarak yaptıkları çalışmada, bir elektron redüksiyonu ürünü olan radikal nitro anyonu RNO_2^- oluşmasını elektrokimyasal olarak incelemişlerdir. Voltametrik teknik, RNO_2^- nin başka kimyasal

reaksiyonlara girme eğilimini araştırmak için kullanılmıştır. Yöntem elektrokimya ile başlatılan dimerizasyonu takip eder. Siklik voltammetri tekniği sulu DMF karışmış ortam ve sulu ortamda ekstrapolasyonla RNO_2^- bozunmasını önlemek için yarı ömrü ve hız sabitinin tayin edilmesini mümkün kılmıştır.

b) Spektrofotometrik yöntemler

Zhu vd. (1988), tabletlerdeki nitrendipin tayininde uv spektrofotometrik, siyanür selektif elektrod ve single sweep polarografi yöntemlerini kıyaslamışlardır. Üç metodun kullanıldığı çalışmada lineer aralıklar sırasıyla 1.10^{-4} - 1.10^{-6} , 1.10^{-3} - 5.10^{-6} ve 1.10^{-3} - 1.10^{-6} olarak belirlenmiştir.

c) Kromatografik yöntemler

Zhou vd. (1994), ince tabaka kromatografik densitometrisi ile standart bir çözelti kullanılarak nitrendipin enjeksiyonunun tayinini gerçekleştirmişlerdir. Tayinde ortalama geri kazanım % 100.5 olmuştur.

Tabletdeki nitrendipin, siyanür seçici elektrod kullanılarak tayin edilmeden önce etanolde çözülmüş 0.1 M iyot ile oksitlenmiştir. Reaksiyonda açığa çıkan iyodür için kalibrasyon eğrisi 5.10^{-6} - 1.10^{-3} M aralığında lineer olmuştur. Sonuçlar uv spektrofotometriden elde edilen verilerle kıyaslanmıştır. Yöntem, basit ve hassas olup diğer dihidropiridin türevlerinin tayininde de kullanılabilir (Zhu vd., 1987).

Lambert vd. (1995), kan ve idrar örneklerinde nitrendipin tayininde kromatografik eluent olarak 0.0125 M NaOH içeren MeOH ve H_2O 'dan oluşan bir gradient karışımı kullanmışlardır. Efluent fotodiyot ışın dedektörü ile takip edilmiştir.

Janis vd. (1983), serumdaki nitrendipin için HPLC ve radyoreseptör araştırmaları geliştirmişlerdir. HPLC araştırması serum örneklerinin hem ekstraksiyon hem de konsantrasyonunu gerektirirken radyoreseptör sadece serumun doğrudan seyreltilmesini

içermektedir. Radyoreseptörün aksine HPLC saptaması biyolojik olarak inaktif metabolitlerin aranması ve kantitatif analizi için kullanılmıştır.

Nonzioli vd. (1990), RP-HPLC yöntemi ile nitrendipin tayininde Lichrospher 10 RP-8 kolonu ve MeCN pH 4.8 fosfat tamponu (470:550) kullanarak 237 nm de çalışmışlardır.

Chen vd.(1995), nitrendipin miktarını iç standart olarak 7-hidroflavon kullanarak gaz kromatografi ile tayin etmişlerdir. Lineer aralık $0.5-4.5 \text{ mgmL}^{-1}$ tayin limiti 0.25 mgmL^{-1} , regresyon eşitliği $S_{Ai}/A_s = 0.6565 C - 0.0207$, $r=0.9992$, geri kazanım % 99.40 olmuştur.

Eter/Heksan (3/7) karışımıyla alkali ortamda tavşan kanından ekstrakte edilen nitrendipin çözeltisi elektron tutucu dedektör (ECD) ve OV-17 kolon takılı bir gaz kromatografi sistemine direkt olarak injekte edilmiştir (Wang vd., 1992).

İnsan plazmasında nitrendipin tayini için geliştirilen yöntemde elektron tutucu dedektörle gaz kromatografisi kullanılmıştır. Örnek toluenle (pH=9) 0.2 M Tris tampon çözeltisinden ekstre edilmiş ve doğrudan doğruya % 3 OV-1 Gas Chrom Q doldurulmuş bir kolonda ayrılmıştır. İç standart olarak kullanılan Diazepan'ın lineer aralığı $2.5-200 \text{ ng.mL}^{-1}$ ($r=0.9995$), alıkonma süresi 2.23 ve örnekler için bu süre 4-5 dakika olmuştur (Jiang vd., 1996).

Soons vd. (1988), insan plazmasındaki nitrendipin ve metabolitlerinin gaz kromatografisi ile tayininde geliştirdikleri yöntemde iç standart olarak 3-2-(hidroksi-2-metil)etil-5-metil-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-3,5-piridin dikarboksilat ve elektron tutucu dedektörü kullanmışlardır.

Yang vd. (1992), insan plazmasındaki nitrendipin tayininde kütle seçimli dedektör ile gaz kromatografik tayin yapmışlardır. Yöntem klinik analizlerde kullanılmaya uygun olup plazmadan geri kazanımı % 97.30'dur.

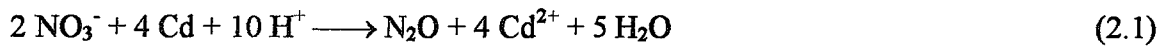
Beck vd. (1985), insan kan plazmasından dietileterle ekstrakte edilen nitrendipin gaz kromatografisi (taşıyıcı gaz helyum, cam kapiler kolon) ile tayin edilip kütle

spektroskopisiyle değerlendirmişlerdir. Yöntemin doğruluğu % 5'den daha iyi olup geri kazanım % 90'dan büyük ve ölçü eğrisi 72.8 ng/mL'ye kadar lineer olmuştur. Yöntem, 20 mg veya 80 mg oral uygulamadan sonra plazmadaki nitrendipinin geçiş zamanını ölçmeye dayanmaktadır.

2.5 Kadmiyum Üzerinden İndirekt Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Tayinler

Kadmiyum üzerinden indirekt AAS tayininde, seyreltik hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyum, kadmiyum(II) iyonuna yükseltgenir ve oluşan iyonun atomik absorpsiyonu 222.8 nm'de ölçülür. Yöntem, nitrit ve nitrat ile aromatik nitro ve nitrozo bileşiklerinin indirekt AAS tayinine uygundur.

Hassan (1981), nitrat iyonu içeren bazik ortamda (pH 8-9) kadmiyum metali ile nitrite indirgeyip oluşan Cd^{2+} iyonu AAS ile ölçtüğünde sonuçların beklenenden düşük olduğunu gözlemlemiş, bunu da metal yüzeyinde kadmiyum hidroksit çökeltisi oluşabileceği sonucuna bağlamıştır. Aynı reaksiyon karışımında oluşan nitrit üzerinden diazolama-kenetleme ile yapılan spektrofotometrik tayinlerin beklenen sonucu vermesi ile bu düşünce kanıtlanmıştır. Bir araştırmacı nitrat iyonunu asitli ortamda kadmiyum metali ile indirgemek için çeşitli denemeler gerçekleştirmiştir. Bu amaçla belli bir zamanda CO_2 atmosferi altında farklı hidroklorik asit konsantrasyonlarında kadmiyum metalinin çözünürlüğü incelenmiştir. 1-10 mg KNO_3 , 0.02-0.2 M HCl ile 20 dakika kaynatılarak 1 mol nitrata karşılık 4 eşdeğer Cd^{2+} 'nın oluştuğu gözlenmiştir. 0.1 M dan büyük HCl konsantrasyonunda ya da ısıtma yapılmadığında sapmalar gözlenmiştir. Bu durumda reaksiyon denklemi,



olarak belirlenmiştir. Nitrat iyonu içermeyen ortamda boş deneme çözeltileri hazırlanmış ve ölçümler bu çözeltilere karşı yapılmıştır.

Önerilen reaksiyon denkleminin doğruluğu, reaksiyon ürününün gaz halde ır spektrumunun alınması ve N_2O oluştuğunun belirlenmesi ile de kanıtlanmıştır. Bu spektrumda 1285 cm^{-1}

de N-O gerilme, 2224 cm⁻¹ de N≡N gerilme ve 3480, 2788 cm⁻¹ deki kombinasyon bantları gözlenmiştir. Gaz ürün, gaz kromatografisi ile de analiz edilerek durum kesinleştirilmiştir. Bu çalışmada açığa çıkan Cd²⁺ iyonu AAS yanında kadmiyum ISE ile potansiyometrik, polarografik ve EDTA ile kompleksometrik olarak da tayin edilmiştir. Yöntem, aynı örnek ile farklı ölçme yöntemlerinin uygulanması, birçok anyon ve katyon ile girişim yapmaması 1 mg NO₃⁻ azotuna karşılık 16 mg Cd²⁺ iyonu oluşması ve kullanılan belirteçlerin stabil olması gibi nedenlerle avantajlı bulunmuştur.

Hassan ve Tadros (1983), sözü geçen yöntemi aromatik nitro ve nitrozo bileşiklerine uygulamışlardır. Yapılan ön çalışmalarda 0.05-0.1 M HCl ile nitro grubu için 6, nitrozo grubu içinse 4 eşdeğer Cd²⁺ olduğu saptanmıştır. 0.05 M dan düşük asit konsantrasyonunda indirgeme kantitatif olmamış 0.1 M dan büyük asit konsantrasyonunda boş deneme değerlerinde artış görülmüştür. Elektron çeken yada iten süstitüentlerin indirgenme zamanı ve derecesi üzerine etkisi gözlenmemiştir. Reaksiyon denklemleri;



olarak öngörülmüştür. Reaksiyonun yapısı p-nitrobenzoik asitin 0.05 M HCl de indirgenmesi, reaktan ve ürünlerin uv absorpsiyon spektrumları alınarak araştırılmıştır. Nitro bileşiğinde 265 nm'de gözlenen maksimum absorpsiyonun reaksiyon sonucunda kaybolduğu ve 230 nm'de maksimum absorpsiyon veren amin türevinin olduğu gözlenmiştir. AAS ile elde edilen sonuçlar, oluşan aminin diazolama-kenetleme reaksiyonuna dayanan spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla kıyaslanmış ve aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Belirtilen koşullarda dinitro ve polinitro bileşikleriyle daha düşük bir geri kazanım elde edilmiştir. Bu yöntemde, nitrat iyonunun dışında girişim yapan organik fonksiyonel grup saptanmamıştır.

Hassan ve Eldesouki (1979), kadmiyum üzerinden indirekt AAS ile tayin yöntemini bir aromatik nitro bileşiği olan kloramfenikole uygulamışlardır. Aynı yöntem, koşulları tekrar gözden geçirilerek ülkemizdeki kloramfenikol içeren ilaç preparatlarına uygulanmıştır (Öztürk, 1998).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Maddeler ve Çözücüler

Nifedipin (Bayer), nikardipin (Sandoz), nimodipin (Bayer), nitrendipin (Bayer). Merck ürünü diğer maddeler : Hidroklorik asit, aseton, etanol, metanol, kadmiyum granül (analiz öncesinde; sırasıyla 6 N hidroklorik asit, distile su ve mutlak etanol ile yıkayıp kurutulmuş), kadmiyum sülfat, α -naftilamin, amonyum sülfamat, glasiyal asetik asit, sodyum nitrit. Bidestile su (ultra pure).

3.2 Çözeltiler

Nifedipin ($C_{17}H_{18}N_2O_6$)	: 2.5 mg.mL ⁻¹
Nikardipin hidroklorür ($C_{26}H_{30}ClN_3O_6$)	: 1.5 mg.mL ⁻¹
Nimodipin ($C_{21}H_{26}N_2O_7$)	: 1.5 mg.mL ⁻¹
Nitrendipin ($C_{18}H_{20}N_2O_6$)	: 1.0 mg.mL ⁻¹
Hidroklorik asit (HCl)	: 0.05 N ve 2.5 N
Kadmiyum sülfat (3 CdSO ₄ .8H ₂ O)	: 100 µg.mL ⁻¹
α -Naftilamin ($C_{10}H_9N$)	: % 0.2
Amonyum sülfamat (NH ₄ SO ₃ NH ₂)	: % 1.0
Sodyum nitrit (NaNO ₂)	: % 1.0

3.3 Gereçler

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Spectra AA-20, Varian), uv-görünür bölge spektrofotometre (Philips PU 8700 uv-visible), 10.10.45 mm kuvars küvetler (Hellma, 100-QS), analitik teazi (Mettler H72, 0.1 mg'a kadar duyarlı), rezervuar (Elga ultra pure su

cihazı), süzgeç kağıdı (siyah, mavi), çift boyunlu balon (Teknik Cam) ve çeşitli cam malzemeler (Teknik Cam).

3.4 Çalışma Yöntemi

3.4.1 Kadmiyum üzerinden indirekt atomik absorpsiyon spektrofotometrik tayinler

3.4.1.1 AAS yönteminin koşulları

Nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin ilaç etken maddelerinde bulunan aromatik nitro grubunun hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyumu yükseltgemesine dayanan yöntemin optimum koşulları AAS ile incelendi. Bu amaçla 2-5 mg madde tartılarak çift boyunlu balona aktarıldı ve 2 mL metanolde çözünmesi sağlandı. Üzerine 10 mL 0.05-0.2 N hidroklorik asit ilavesinden sonra geri soğutucu altında CO₂ atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynatıldı. Bir elementel kadmiyum ilave edilerek kaynatmaya 15-75 dakika devam edildi. Reaksiyon karışımı 50 mL'lik balon jojeye alınarak su ile hacmine tamamlandı. Aynı şekilde etken madde içermeyen boş deneme çözeltisi hazırlandı. Suyula uygun seyreltmeler sonunda çözeltideki kadmiyum(II) iyonunun atomik absorbansı boş deneme çözeltisine ve ayrıca suya karşı 228.8 nm'de ölçüldü. Sonuçlar arasında bir fark gözlenmediğinden ölçmeler suya karşı yapıldı. Atomik absorbansların ölçülmesine ait parametreler şöyledir:

Dalga Boyu	: 228.8 nm
Lamba Akımı	: 4 mA
Bant Genişliği	: 0.5 nm
Yanıcı Gaz	: Asetilen
Yakıcı Gaz	: Hava
Gaz Basınçları	: 1.5/3.5
Işın Kaynağı	: Kadmiyum Oyuk Katot Lamba
Okuma Sayısı	: 3

Yöntemin optimum koşullarını belirlemek amacıyla her madde için yapılan ısıtma süreleri, çözücü cinsi, çözücü miktarı, asit konsantrasyonları, tekrarlanabilirlik ve dayanıklılık incelenmesine ait sonuçlar Bölüm 4.1.1 de verilmiştir.

3.4.1.2 Ölçü eğrisinin hazırlanması

a- Kadmiyum standardı ve ölçü eğrisi

0.2282 g kadmiyum sülfat tartıldı. Çok az miktarda nitrik asit : su (1:1) karışımında çözüldü. Daha sonra 100 mL'lik balon jojeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Hazırlanan 1000 ppm'lik bu ana stok çözeltinin 10 mL'si 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve suyla hacmine tamamlanarak 100 ppm'lik stok çözeltisi elde edildi. Stok çözeltiden alınan nitrendipin için 0.2-0.5-0.8-1.1-1.4 mL ve nifedipin, nikardipin, nimodipin için 0.3-0.6-0.9-1.2-1.5 mL'lik porsiyonlar 100 mL'lik balon jojeye aktarılarak suyla hacimlerine tamamlandı. Böylece sırasıyla, 0.2-0.5-0.8-1.1-1.4 ve 0.3-0.6-0.9-1.2-1.5 ppm kadmiyum (II) iyonu içeren standartlar elde edildi.

Her bir çözeltideki kadmiyumun atomik absorbansı suya karşı üçer kez okundu. Denemeler altı kez tekrarlandı. Absorbans değerlerinin ortalaması ($\bar{A}$) ile kadmiyum konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrisinin regresyon analizi en küçük kareler yöntemiyle yapıldı. Ölçü eğrisine ait sonuçlar Bölüm 4.1.1 de verilmiştir.

b- Nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin standartları ve ölçü eğrileri

Çizelge 3.1 de belirtilen miktarlarda ilaç maddesi tartıldı. Her madde 10 mL'lik balon jojeye alındı ve metanolde çözülerek hacmine tamamlandı. Çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir balona bu çözeltinin 2 mL'si ve 10 mL 0.05 N hidroklorik asit aktarılarak geri soğutucu altında ve CO₂ gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynatıldı. Bir kadmiyum granülü (50-100 mg) ilavesinden sonra kaynatmaya çizelgede belirtilen sürelerde devam edildi. Reaksiyon karışımı 50 mL'lik bir balon jojeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 3.4.1.a da belirtilen hacimler alınarak Çizelge 3.1 deki gibi kadmiyum(II) iyonu içeren standart çözeltiler elde edildi. Bu çözeltilerle 3.4.1.a da olduğu gibi çalışarak ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrilerine ait sonuçlar Bölüm 4.1.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.1 İlaç maddesi ile hazırlanan ölçü eğrilerine ait farklı parametreler

Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Tartılan miktar (mg)	25	15	15	10
Kaynatma süresi (dakika)	60	60	60	45
Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	0.3-1.5	0.3-1.5	0.3-1.5	0.2-1.4
Kadmiyum(II)	0.290	0.196	0.242	0.187
Konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	0.580	0.392	0.484	0.468
	0.870	0.588	0.725	0.749
	1.160	0.784	0.967	1.030
	1.460	0.980	1.209	1.310

3.4.1.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması

a- Nifedipin örnekleri ile çalışma

Nifedipin içeren Adalat tabletlerinden otuz adet, Kardilat tabletlerinden otuz adet, Kardilat Retard Mikropellet kapsüllerden otuz adet, Adalat Crono 30 kontrollü salım tabletlerinden yirmi adet analiz için tek tek tartıldı (sırasıyla 0.1144 g, 0.1138 g, 0.0568 g, 0.0495 g).

Nifedipin örnekleri bir miktar metanolle 10 mL'lik balon jojede çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı. Çözelti siyah bant süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntüden alınan 2 mL'lik kısım çift boyunlu 100 mL'lik armut balona aktarıldı. 0.05 N HCl eklendikten sonra geri soğutucu altında CO_2 atmosferinde Bunsen beki üzerinde kaynatıldı. Bir kadmiyum granülü (50-100 mg) eklenmesinden sonra 60 dakika daha kaynatmaya devam edildi. Reaksiyon karışımı 50 mL'lik bir balon jojeye aktararak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 1 mL'lik kısım 100 mL'lik balon jojeye aktararak suyla hacmine tamamlandı. Atomik absorpsiyon okunarak buna karşılık gelen kadmiyum(II) iyonu miktarından nifedipin miktarına geçildi. Örneklerle ait sonuçlar Bölüm 4.1.3 de verilmektedir.

b- Nikardipin örnekleri ile çalışma

Nikardipin içeren Loxen tabletlerinden otuz adet analiz için tek tek tartıldı. Ortalama tablet ağırlığı saptandı. Karışım, porselen havanda toz haline getirildi. Hazırlanan toz karışımdan 3 mg nikardipine eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartıldı. Bu amaçla 0.1100 g nikardipin ile a şıkında anlatıldığı gibi çalışıldı. Sonuçlar Bölüm 4.1.3 de verilmektedir.

c- Nimodipin örnekleri ile çalışma

Nimodipin içeren Nimotop tabletlerinden otuz adet analiz için tek tek tartıldı. Ortalama tablet ağırlığı saptandı. Karışım, porselen havanda toz haline getirildi. Hazırlanan toz karışımdan 3 mg nimodipine eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartıldı. Bu amaçla 0.41550 g nimodipin ile a şıkında anlatıldığı gibi çalışıldı. Sonuçlar Bölüm 4.1.3 de verilmektedir.

d- Nitrendipin örnekleri ile çalışma

Nitrendipin içeren Baypress tabletlerinden otuz adet analiz için tek tek tartıldı. Ortalama tablet ağırlığı saptandı. Karışım, porselen havanda toz haline getirildi. Hazırlanan toz karışımdan 2 mg nitrendipine eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartıldı. Bu amaçla 0.0818 g nitrendipin ile a şıkında anlatıldığı gibi çalışıldı. Sonuçlar Bölüm 4.1.3 de verilmektedir.

3.4.2 Diazonyum tuzu üzerinden spektrofotometrik tayin yöntemi

3.4.2.1 Spektrofotometrik yöntemin koşulları

Aromatik nitro bileşiklerinin asitli ortamda indirgenmesiyle oluşan amin grubu üzerinden diazolama-kenetleme ile spektrofotometrik tayin yapılmıştır. Bu amaçla, nitro bileşikleri indirgendikten sonra standart çözeltilerinden alınan belirli konsantrasyonlardaki çözeltilere 2.5 N hidroklorik asit ve % 1'lik sodyum nitrit ilave edilerek çalkalandı ve iki dakika bekletildi. % 1'lik amonyum sülfamat ilave edildikten sonra bir dakika daha bekletilerek % 0.2'lik α -naftilamin eklendi. 10 dakika sonra görünür bölgede aynı koşullarda hazırlanan boş denemeye karşı absorbanslar okutuldu. Spektrofotometreye ait parametreler şöyledir:

$\lambda_{\text{başlangıç}}$	: 450 nm
λ_{son}	: 650 nm
λ_{maks}	: 526-546 nm
Absorbans Aralığı	: 0.0-1.0
Bant Genişliği	: 2.0 nm
Işın Kaynağı	: Tungsten lamba

3.4.2.2 Nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipin standartları ve ölçü eğrileri

Çizelge 3.2 deki miktarlarda ilaç etken maddeleri 10 mL'lik balonjojede bir miktar metanolde çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı. Çift boyunlu 100 mL hacmindeki balona bu çözeltinin 2 mL'si ile 10 mL 0.05 N hidroklorik asit aktarılarak geri soğutucu altında, CO₂ gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynatıldı. Bir kadmiyum granülü (50-100 mg) ilavesinden sonra Çizelge 3.2 deki kaynatma sürelerinde kaynatmaya devam edildi. Reaksiyon karışımı 50 mL'lik bir balon jojeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Aynı işlemler altı ayrı tartıma uygulandı. Bu çözeltiden Çizelge 3.2 de verilen farklı parametreler ile Bölüm 3.4.2.1 de anlatıldığı gibi çalışıldı. Tek standartlara ait sonuçlar Bölüm 4.1.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.2 İlaç maddesi ile hazırlanan ölçü eğrilerine ait farklı parametreler

Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Tartılan miktar (mg)	25	15	15	10
Kaynatma süresi (dakika)	60	60	60	45
Alınan Hacim (mL)	1.0	4.0	2.0	4.0
Sodyum nitrit hacmi (mL)	0.5	0.5	0.5	1.0
Amonyum sülfamat hacmi (mL)	0.5	1.0	1.0	1.0
α -Naftilamin hacmi (mL)	2.0	2.0	1.0	1.0

3.4.2.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması

Bölüm 3.4.1.3 de anlatıldığı gibi hazırlanan preparatlar Bölüm 3.4.2.2 de verildiği gibi çalışıldı. Örneklerle ait sonuçlar Bölüm 4.2.3 de verilmiştir.

4. SONUÇLAR

4.1 AAS Tayin Yöntemi

4.1.1 Yöntemin optimum koşulları

Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi çalışarak optimum deney koşulları aşağıdaki gibi belirlendi. Bu koşullar belirlenmeden önce metalik kadmiyumun seyreltik hidroklorik asitli ortamda yükseltgen grup olmaksızın çözünürlüğü olup olmadığını anlamak amacıyla reaksiyon karışımının AAS ölçümleri boş deneme çözeltisine ve suya karşı ayrı ayrı 10 kez tekrarlanarak ölçümler arasında bir fark olmadığı gözlemlendi. Bu durumda tek başına kadmiyumun çözünürlüğü bulunmadığı sonucuna varılarak ölçümler suya karşı yapıldı.

Kaynatma süresi

İlaç etken maddelerinin 2 mL metanoldeki çözeltileri ve 0.05 N hidroklorik asitli ortamda değişik ısıtma sürelerinde Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi çalışıldı. Her bir ısıtma süresinde işlemlerin altı kez tekrarlanmasıyla elde edilen absorbens değerleri Çizelge 4.1 de ve uygun görülen optimum kaynatma süreleri de Çizelge 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.1 İlaç etken maddelerinin değişik kaynatma sürelerindeki absorbens değerleri

Kaynatma süresi (dak)	Absorbans	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
15		0.069	0.086	0.068	0.080
30		0.106	0.108	0.088	0.110
45		0.130	0.125	0.107	0.117
60		0.152	0.138	0.134	0.116
75		0.143	0.132	0.126	0.108

Çizelge 4.2 İlaç etken maddelerinin optimum kaynatma süreleri

Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Kaynatma süresi (dakika)	60	60	60	45

Çözücü cinsi

Aseton, etanol ve metanolün 2'şer mL'si ile Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi çalışıldı. Her bir çözücünde altı kez tekrarlanan işlemlerin sonucunda ilaç etken maddeleri için en uygun çözücünün metanol olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. İlaç etken maddelerinin değişik kaynatma sürelerindeki absorbands değerleri

Absorbans	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Çözücü				
Aseton	0.148	0.112	0.117	0.078
Etanol	0.154	0.110	0.112	0.112
Metanol	0.157	0.124	0.132	0.122

Çözücü miktarı

Metanolün değişik miktarlarında Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi çalışıldı. Her miktar için altı kez tekrarlanan işlemlerin sonucunda maddelerin hepsinde en uygun metanol hacminin 2 mL olduğu saptandı (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Değişik metanol miktarlarında absorbands değerleri

Absorbans	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Çözücü miktarı (mL)				
1.0	0.100	0.122	0.121	0.110
2.0	0.129	0.136	0.127	0.128
3.0	0.122	0.131	0.105	0.113

Asit konsantrasyonu

Hidroklorik asitin değişik konsantrasyonlarında Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi çalışıldı. Her konsantrasyon için altı kez tekrarlanan işlemlerin sonucunda 0.05 N asit konsantrasyonunun yeterli olduğu ve seyreltmelerin suyla yapılmasının absorbandsları etkilemediği belirlendi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Değişik asit konsantrasyonlarında absorbens değerleri

HCl Konsantrasyonu (N)	Absorbans	Nifedipin		Nikardipin		Nimodipin		Nitrendipin	
		Su	Asit	Su	Asit	Su	Asit	Su	Asit
0.05		0.134	0.133	0.137	0.137	0.131	0.131	0.130	0.130
0.10		0.130	0.131	0.115	0.118	0.123	0.124	0.118	0.118
0.15		0.131	0.130	0.116	0.125	0.128	0.127	0.124	0.126
0.20		0.132	0.135	0.117	0.118	0.128	0.126	0.124	0.120

Tekrarlanabilirlik

İlaç etken maddelerinin metanoldeki çözeltisinin 1'er mL'si ile belirlenen optimum koşullarına uygun olarak Bölüm 3.4.1.1 de anlatıldığı gibi altı ayrı tartım için çalışıldı. Bu işlemlerin sonunda tekrarlanabilir absorbens değerleri bulundu (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Tekrarlanabilir absorbens değerleri için standart sapmalar (n = 6)

Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
% RSD	2.80	2.66	1.98	0.47

Dayanıklılık

İlaç etken maddelerinin metanoldeki çözeltisinin 1'er mL'si ile belirlenen optimum koşullarına uygun olarak Bölüm 3.4.1.1 e göre çalışıldı. Her çözeltinin absorbensı değişik süreler sonunda okunarak oda sıcaklığında üç ay süreyle dayanıklı oldukları belirlenmiştir.

4.1.2 Ölçü eğrisi

Bölüm 3.4.1.2 b'de anlatıldığı gibi çalışılarak her madde için atomik absorbens değerleri okundu. Ortalama absorbens değerleriyle konsantrasyonlar arasında ölçü eğrileri hazırlandı (Çizelge 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

Çizelge 4.9 Nimodipinin ölçü eğrisine ait değerleri ve regresyon analizi

Konsantrasyon (µg/mL)		Atomik Absorbans								
Nimodipin	Cd ²⁺	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A	Sx10 ⁻³	% S
0.3	0.242	0.065	0.060	0.062	0.058	0.061	0.063	0.062	2.43	3.92
0.6	0.484	0.125	0.124	0.127	0.122	0.124	0.129	0.125	2.48	1.99
0.9	0.725	0.186	0.186	0.186	0.188	0.188	0.186	0.187	1.03	0.55
1.2	0.967	0.242	0.239	0.239	0.246	0.245	0.240	0.242	3.06	1.26
1.5	1.209	0.308	0.312	0.309	0.309	0.310	0.314	0.310	2.25	0.73
$A = 0.001$ $B = 0.254$ $r = 0.9996$										
$A = 0.254 C + 0.001$ $r = 0.9996$										

Çizelge 4.10 Nitrendipinin ölçü eğrisine ait değerleri ve regresyon analizi

Konsantrasyon (µg/mL)		Atomik Absorbans								
Nitrendipin	Cd ²⁺	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A	Sx10 ⁻³	% S
0.2	0.187	0.063	0.065	0.056	0.057	0.059	0.056	0.059	3.83	6.49
0.5	0.468	0.139	0.135	0.129	0.132	0.137	0.132	0.134	3.69	2.74
0.8	0.749	0.209	0.200	0.196	0.203	0.211	0.202	0.203	5.80	2.68
1.1	1.030	0.279	0.268	0.265	0.275	0.286	0.272	0.274	7.63	2.78
1.4	1.310	0.355	0.339	0.339	0.345	0.355	0.346	0.346	7.20	2.08
$A = 0.013$ $B = 0.254$ $r = 0.9999$										
$A = 0.254 C + 0.013$ $r = 0.9999$										

Aromatik nitro grubu içeren organik bileşiğin 0.05 N hidroklorik asitli ortamda CO₂ atmosferinde elementel kadmiyumun kadmiyum(II) iyonuna yükseltgenmesinde tüm işlemlere ait geri kazanım oranını belirlemek için kadmiyum sülfatla Bölüm 3.4.1.2 a'da anlatıldığı gibi çalışıldı. Böylece her madde için başka bir ölçü eğrisi hazırlandı. Her madde için hazırlanan kadmiyum(II) ölçü eğrileri hazırlandı (Çizelge 4.11, 4.12, 4.13, 4.14).

Çizelge 4.13. Nimodipin için hazırlanan kadmiyum sülfat ölçü eğrisi

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Atomik Absorbans								
Cd^{2+}	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A	$S \times 10^{-3}$	% S
0.3	0.089	0.083	0.083	0.085	0.084	0.086	0.085	2.14	2.51
0.6	0.166	0.163	0.163	0.161	0.163	0.163	0.163	1.60	0.98
0.9	0.243	0.238	0.240	0.238	0.238	0.238	0.239	2.04	0.85
1.2	0.315	0.310	0.314	0.310	0.311	0.311	0.312	2.14	0.68
1.5	0.394	0.390	0.393	0.393	0.398	0.392	0.393	2.26	0.68
$A = 0.009$ $B = 0.255$ $r = 0.9999$									
$A = 0.255 C + 0.009$ $r = 0.9999$									

Çizelge 4.14 Nitrendipin için hazırlanan kadmiyum sülfat ölçü eğrisi

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Atomik Absorbans								
Cd^{2+}	A_1	A_2	A_3	A_4	A_5	A_6	A	$S \times 10^{-3}$	% S
0.2	0.065	0.072	0.068	0.060	0.070	0.070	0.068	4.37	6.43
0.5	0.143	0.148	0.138	0.138	0.153	0.153	0.146	6.89	4.72
0.8	0.215	0.223	0.213	0.213	0.229	0.231	0.221	8.14	3.68
1.1	0.295	0.296	0.286	0.290	0.308	0.312	0.298	0.01	0.01
1.4	0.377	0.376	0.375	0.371	0.385	0.388	0.379	9.45	2.55
$A = 0.016$ $B = 0.258$ $r = 0.9999$									
$A = 0.258 C + 0.016$ $r = 0.9999$									

Her iki ölçü eğrisinin regresyon analiziyle hesaplanan doğru denklemlerinin eğimleri oranından indirekt analizdeki kadmiyumun geri kazanım oranı hesaplandı (Çizelge 4.15, 4.16, 4.17, 4.18).

Çizelge 4.15. Nifedipin için kadmiyumun geri kazanım oranının hesaplanmasına ait değerler

Cd²⁺ konsantrasyonu (µg/mL)	Nifedipin konsantrasyonu (µg/mL)	Nifedipinin Cd²⁺ içeren konsantrasyonu (µg/mL)	Cd²⁺ Absorbansı	Nifedipin Absorbansı
0.3	0.3	0.292	0.096	0.075
0.6	0.6	0.584	0.178	0.138
0.9	0.9	0.876	0.259	0.204
1.2	1.2	1.168	0.334	0.270
1.5	1.5	1.460	0.406	0.332

Çizelge 4.16. Nikardipin için kadmiyumun geri kazanım oranının hesaplanmasına ait değerler

Cd²⁺ konsantrasyonu (µg/mL)	Nikardipin konsantrasyonu (µg/mL)	Nikardipinin Cd²⁺ içeren konsantrasyonu (µg/mL)	Cd²⁺ Absorbansı	Nikardipin Absorbansı
0.3	0.3	0.196	0.084	0.077
0.6	0.6	0.392	0.158	0.137
0.9	0.9	0.588	0.229	0.202
1.2	1.2	0.784	0.299	0.263
1.5	1.5	0.980	0.370	0.328

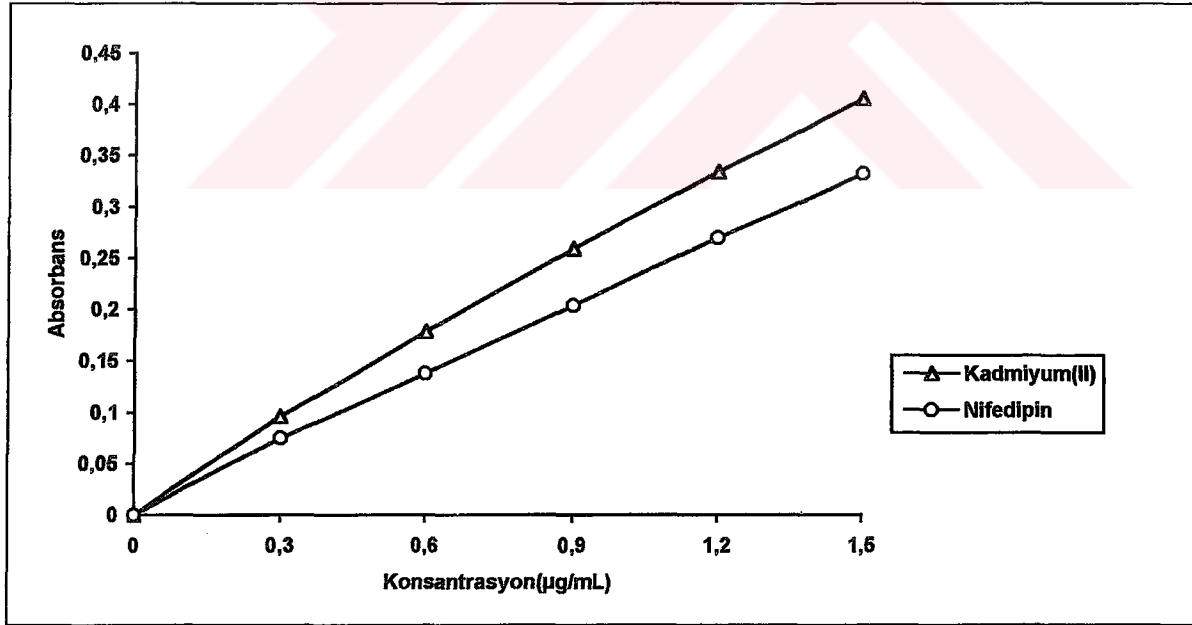
Çizelge 4.17. Nimodipin için kadmiyumun geri kazanım oranının hesaplanmasına ait değerler

Cd²⁺ konsantrasyonu (µg/mL)	Nimodipin konsantrasyonu (µg/mL)	Nimodipinin Cd²⁺ içeren konsantrasyonu (µg/mL)	Cd²⁺ Absorbansı	Nimodipin Absorbansı
0.3	0.3	0.242	0.085	0.062
0.6	0.6	0.484	0.163	0.125
0.9	0.9	0.725	0.239	0.187
1.2	1.2	0.116	0.312	0.242
1.5	1.5	1.209	0.393	0.310

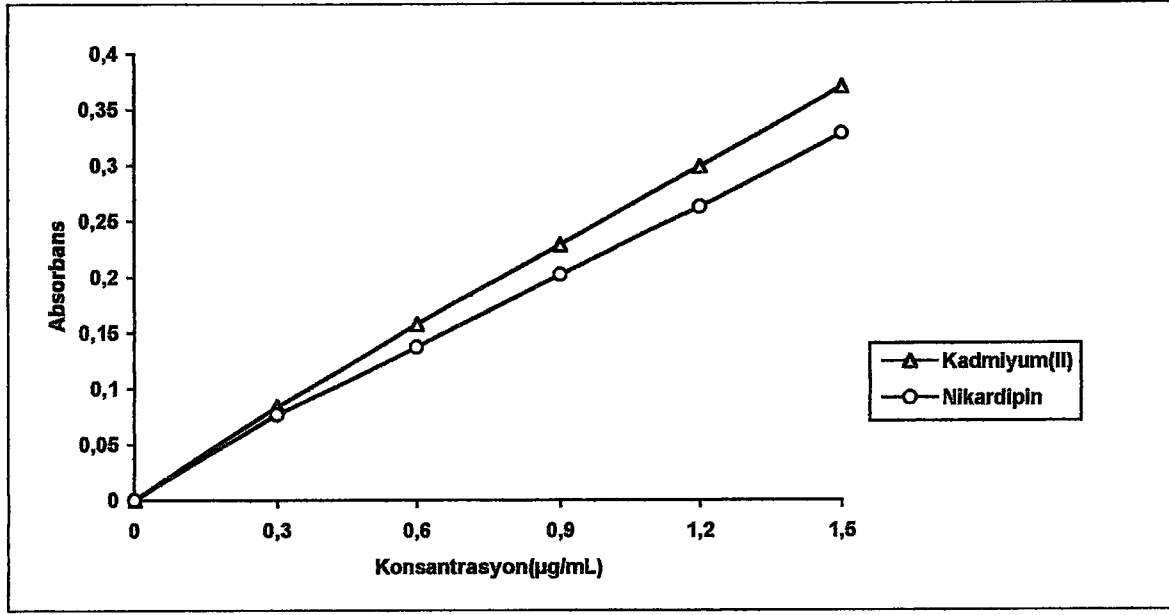
Çizelge 4.18 Nitrendipin için kadmiyumun geri kazanım oranının hesaplanmasına ait değerler

Cd^{2+} konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Nitrendipin konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Nitrendipinin Cd^{2+} içeren konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Cd^{2+} Absorbansı	Nitrendipin Absorbansı
0.2	0.2	0.187	0.068	0.059
0.5	0.5	0.468	0.146	0.134
0.8	0.8	0.749	0.221	0.203
1.1	1.1	1.030	0.298	0.274
1.4	1.4	1.310	0.379	0.346

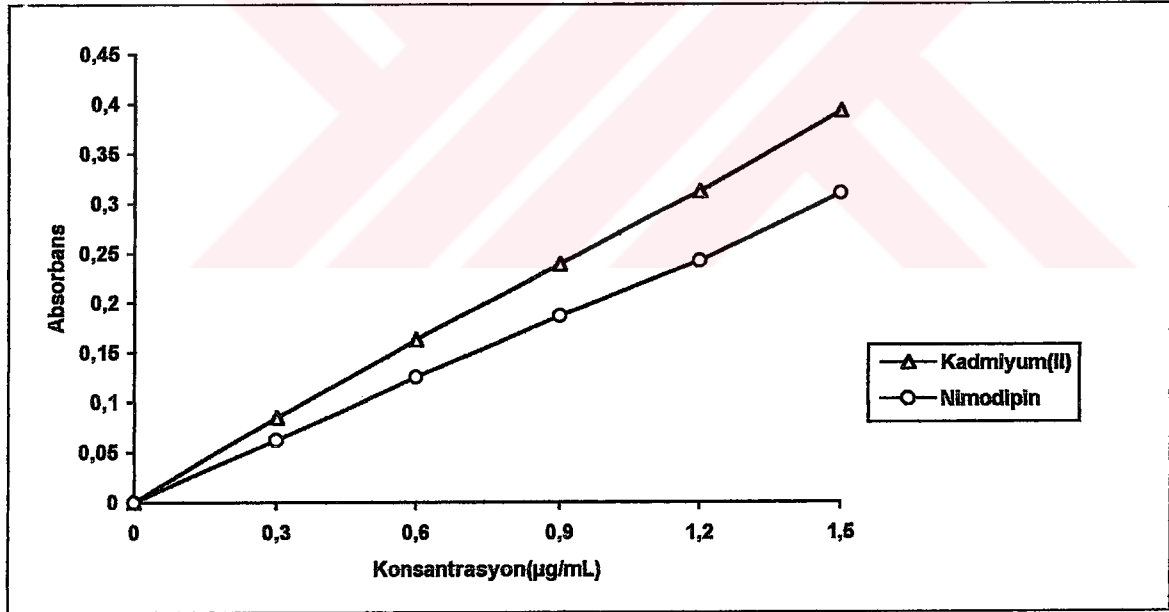
Geri kazanım oranı hesaplanmasına ait absorbans değerleri, ilaç etken maddelerinin (kadmiyum(II) iyonu) konsantrasyonlarına karşı aynı koordinatlarda çizilmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4) Her iki ölçü eğrisinin regresyon analiziyle hesaplanan doğru denklemlerinin eğimleri oranından indirekt analizdeki kadmiyumun geri kazanım oranının nifedipin için % 83, nikardipin için % 87.8, nimodipin için % 99.6 ve nitrendipin için % 98.1 olduğu belirlendi.



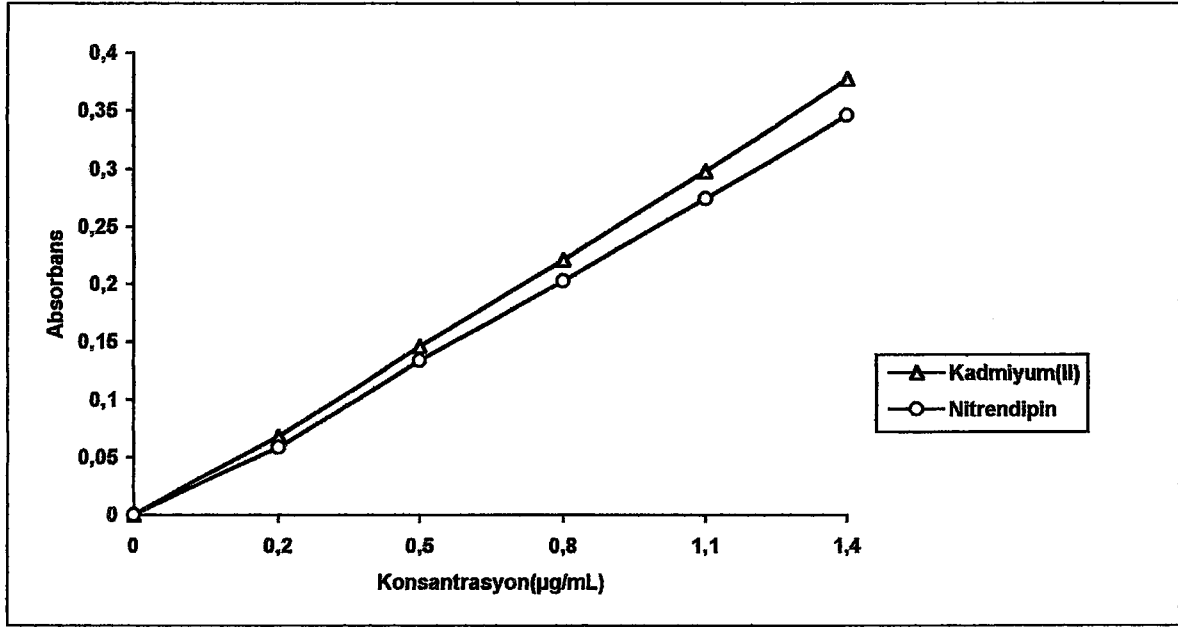
Şekil 4.1 AAS ile indirekt analizdeki nifedipin ve kadmiyum(II) iyonu ölçü eğrileri



Şekil 4.2 AAS ile indirekt analizdeki nikardipin ve kadmiyum(II) iyonu ölçü eğrileri



Şekil 4.3 AAS ile indirekt analizdeki nimodipin ve kadmiyum(II) iyonu ölçü eğrileri



Şekil 4.4 AAS ile indirekt analizdeki nitrendipin ve kadmiyum(II) iyonu ölçü eğrileri

4.1.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması

İndirekt analiz yöntemi Bölüm 3.4.1.3 de anlatıldığı gibi altı ayrı tartımla (n) denendi. Preparatlardaki madde miktarı ilgili etken maddenin ölçü eğrisinden mg cinsinden hesaplandı (Çizelge 4.19, 4.20, 4.21, 4.22).

Çizelge 4.19 Farmasötik preparatlardaki nifedipin miktarları (mg/doz)

n	1	2	3	4	5	6
A	10.0	10.1	10.0	9.9	10.3	10.6
B	10.1	9.4	9.8	10.8	9.9	11.0
C	21.4	20.0	20.7	20.2	19.2	19.8
D	30.2	31.2	30.0	29.9	29.9	30.0

Çizelge 4.20 Farmasötik preparatlardaki nikardipin miktarları (mg/doz)

n	1	2	3	4	5	6
E	19.9	19.7	19.7	20.8	19.7	21.5

Çizelge 4.21 Farmasötik preparatlardaki nimodipin miktarları (mg/doz)

n	1	2	3	4	5	6
F	29.9	30.1	31.3	29.1	29.9	30.3

Çizelge 4.22 Farmasötik preparatlardaki nitrendipin miktarları (mg/doz)

n	1	2	3	4	5	6
G	9.4	10.1	10.4	9.9	10.2	10.9

4.2 Diazonyum Tuzu Üzerinden Spektrofotometrik Tayin Yöntemi

4.2.1 Yöntemin çalışma koşulları

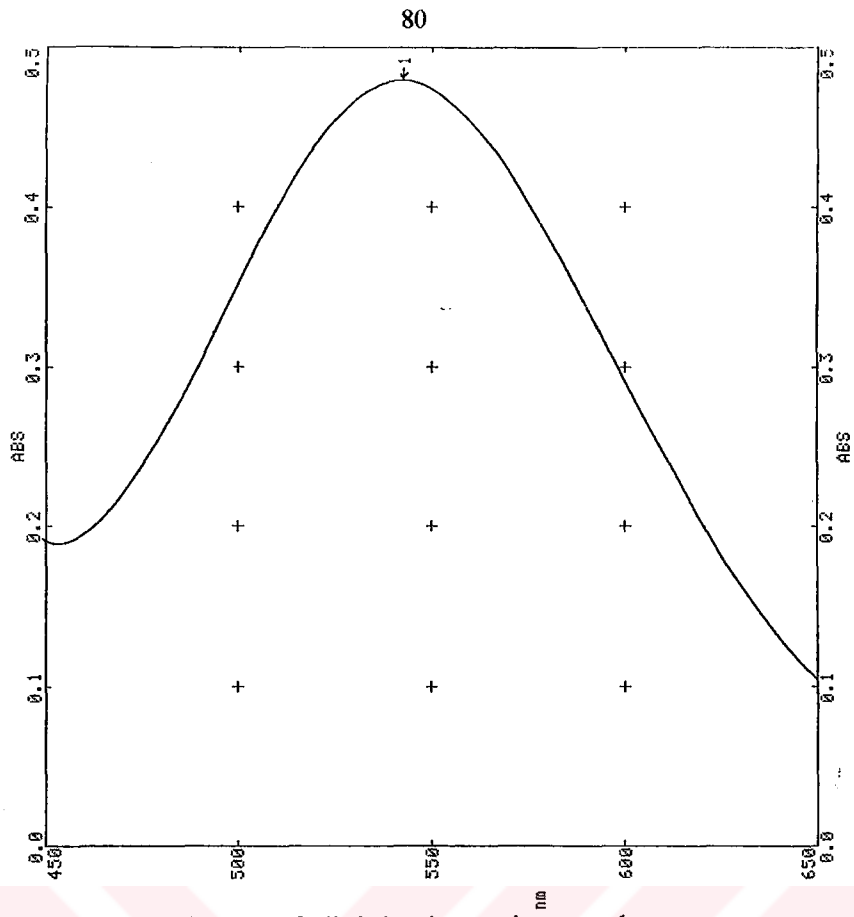
Bölüm 3.4.2.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak yöntemin optimum koşulları belirlendi (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23 Görünür bölge spektrofotometrik yöntemine ait optimum koşullar

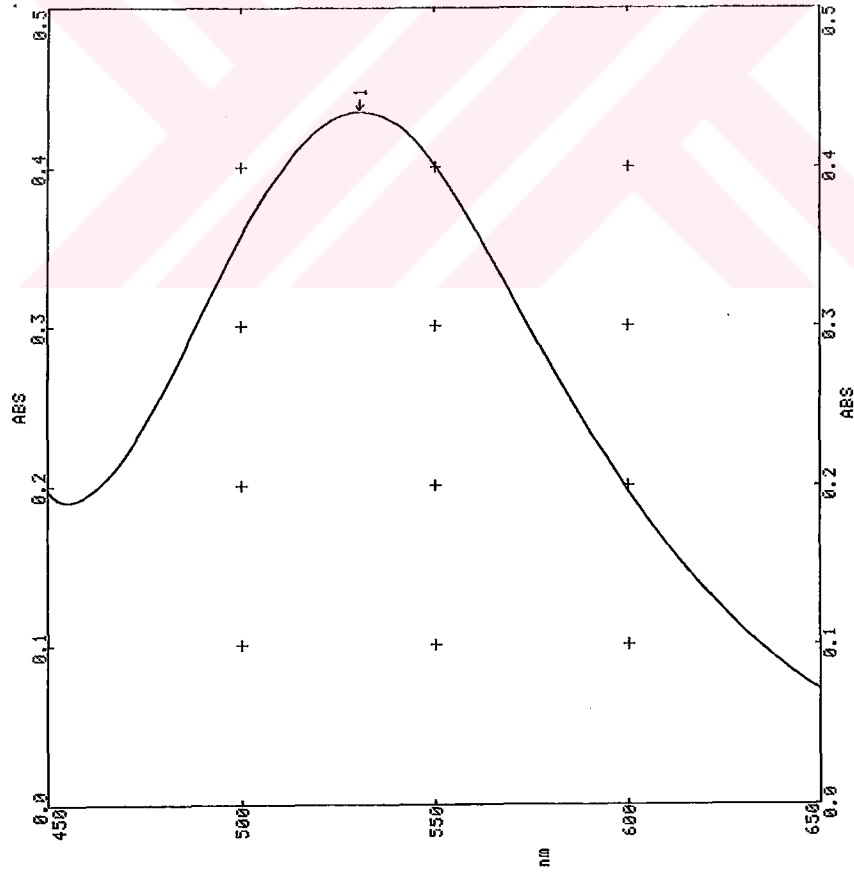
Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Alınan Hacim (mL)	1.0	4.0	2.0	4.0
Hidroklorik asit hacmi (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0
Sodyum nitrit hacmi (mL)	1.5	0.5	0.5	1.0
Amonyum sülfamat hacmi (mL)	0.5	1.0	1.0	1.0
α -Naftilamin hacmi (mL)	2.0	2.0	1.0	1.0
Maksimum dalga boyu (nm)	546	530	526	529

4.2.2 Ölçü eğrisi

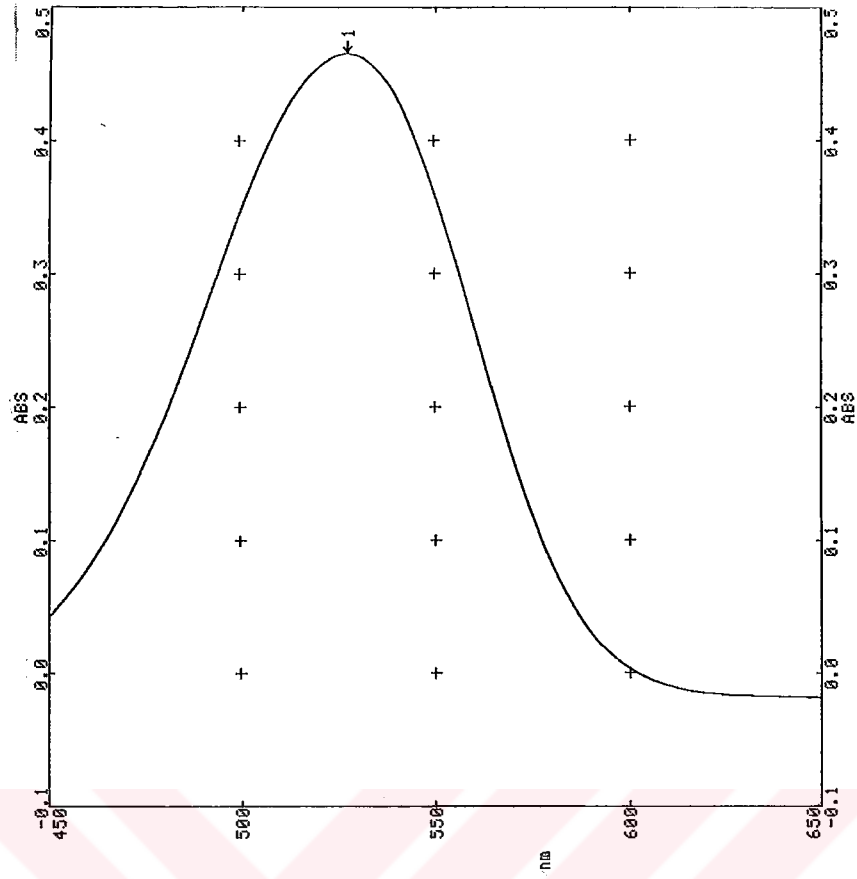
Bölüm 3.4.2.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak Çizelge 4.23 de verilen son çözelti konsantrasyonlarına göre elde edilen absorpsiyon spektrumları Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8 de görülmektedir. Altı kez tekrarlanan işlemlere göre elde edilen tek standartlara ait sonuçlar ise Çizelge 4.24 de görülmektedir.



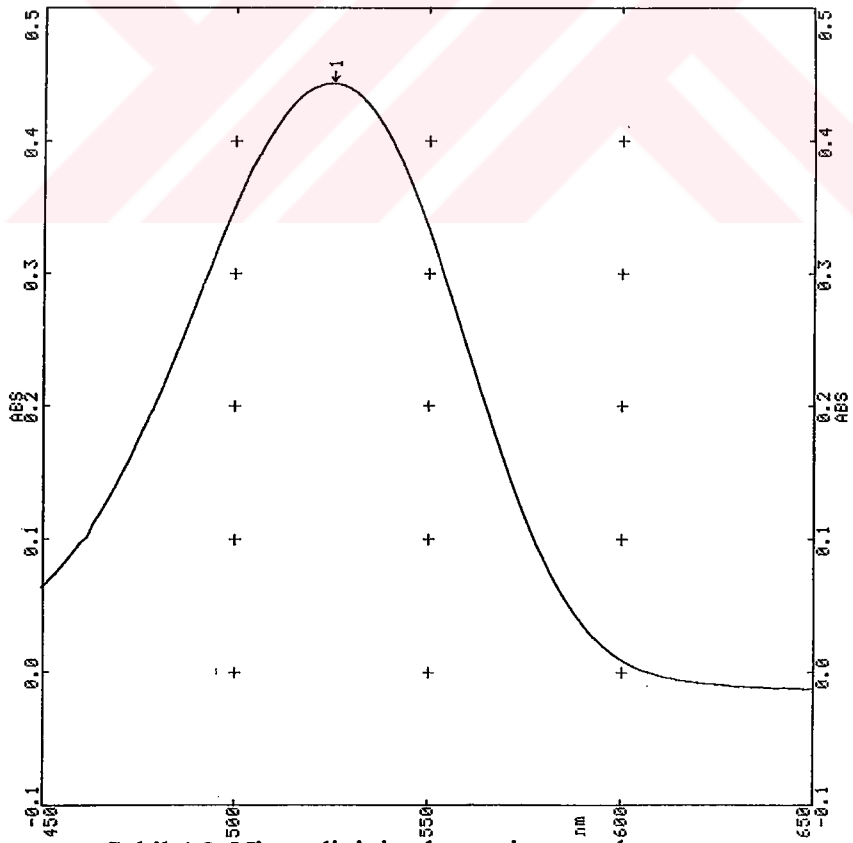
Şekil 4.5 Nifedipinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 4.6 Nikardipinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 4.7. Nimodipinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 4.8 Nitrendipinin absorpsiyon spektrumu

Çizelge 4.24 Tek standartlara ait parametreler

Madde	Nifedipin	Nikardipin	Nimodipin	Nitrendipin
Son çözeltideki konsantrasyonlar $\mu\text{g/mL}$	10	24	12	16
Absorbans	0.478	0.434	0.465	0.444

4.2.3 Yöntemin farmasötik preparatlara uygulanması

Yöntem Bölüm 3.4.2.3 de anlatıldığı gibi altı ayrı tartımla (n) denendi. Preparatlardaki madde miktarı Bölüm 4.2.2 ye göre tek standartlardan mg/doz olarak hesaplandı (Çizelge 4.25, 4.26, 4.27, 4.28).

Çizelge 4.25 Farmasötik preparatlardaki nifedipin miktarları (mg/doz)

N	1	2	3	4	5	6
A	10.1	9.9	10.0	10.5	10.3	9.0
B	10.1	9.9	9.7	9.5	9.4	10.7
C	21.2	20.2	20.2	20.5	19.8	20.1
D	29.8	30.8	30.4	30.1	29.7	30.0

Çizelge 4.26 Farmasötik preparatlardaki nikardipin miktarları (mg/doz)

N	1	2	3	4	5	6
E	20.3	21.3	19.7	20.8	19.5	20.5

Çizelge 4.27 Farmasötik preparatlardaki nimodipin miktarları (mg/doz)

N	1	2	3	4	5	6
F	30.2	29.8	30.5	30.1	29.7	30.9

Çizelge 4.28 Farmasötik preparatlardaki nitrendipin miktarları (mg/doz)

N	1	2	3	4	5	6
G	9.5	10.0	10.5	9.8	10.3	10.2

4.3 Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Adalat (A), Kardilat (B), Kardilat Retard Mikropellet kapsül (C), Adalat Crono 30 (D) adı ile pazarlanan preparatlar (sırasıyla 10 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg nifedipin/doz), Loxen tablet (E) adı ile pazarlanan preparat (20 mg nikardipin/doz), Nimotop tablet (F) adı ile pazarlanan preparat (30 mg nimotop/doz) ve Baypress (G) adı ile pazarlanan preparat (10 mg nitrendipin/doz) AAS ile analizi için Bölüm 4.4.1.3 de belirtildiği şekilde ve karşılaştırma yöntemi olarak kullanılan görünür bölge spektrofotometrik yöntemle analizleri sonunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.29, 4.30, 4.31 ve 4.32 de verilmiştir. Çizelgelerde her biri için altı tayin üzerinden hesaplanan ortalama ($\bar{X}$), standart sapma (S), bağıl standart sapma ($S/\bar{X} \cdot 100$) ve % 95 güvenirlilik düzeyinde güven aralığı değerleri ($\bar{X} \pm t \cdot S/\sqrt{n}$) de görülmektedir.

Çizelge 4.29 Nifedipin preparatlarının (A, B, C, D) analizi (n=6, p=0.05)

n	AAS Yöntem (I)				Görünür Bölge Spektrofotometrik Yöntem (II)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
1	10.0	10.1	21.4	30.2	10.1	10.1	21.2	29.8
2	10.1	9.4	20.0	31.2	9.9	9.9	20.0	30.8
3	10.0	9.8	20.7	30.0	10.0	9.7	20.2	30.4
4	9.9	10.0	20.2	29.9	10.5	9.5	20.5	30.1
5	10.3	9.9	19.2	29.9	10.3	9.4	19.8	29.7
6	10.6	11.0	19.8	30.0	9.0	10.7	20.1	30.0
$\bar{X}$	10.2	10.0	20.2	30.2	10.0	9.9	20.3	30.1
S	0.32	0.53	0.76	0.50	0.52	0.48	0.50	0.41
$S/\bar{X} \cdot 100$	3.10	5.31	3.76	1.66	5.20	4.80	2.45	1.36
$\bar{X} \pm (t.S)$	10.3	10.5	20.3	30.3	10.2	10.3	20.4	30.2
$\sqrt{n}$	-10.1	-9.5	-20.1	-30.1	-9.8	-9.5	-20.2	-30.0
t testi	$t_A=1.0$		$t_B=2.13$	$t_C=0.33$	$t_D=0.49$	$t_{Tablo}=2.23$		
F testi	$F_A=2.7$		$F_B=1.25$	$F_C=2.30$	$F_D=1.52$	$F_{Tablo}=5.05$		

Çizelge 4.30 Nikardipin preparatlarının (E) analizi (n=6, p=0.05)

n	AAS Yöntem (I)	Görünür Bölge Spektrofotometrik Yöntem (II)
1	19.9	20.3
2	19.7	21.3
3	19.7	19.7
4	20.8	20.8
5	19.7	19.5
6	21.5	20.5
$\bar{X}$	20.2	20.4
S	0.76	0.67
$S/\bar{X}.100$	3.76	3.28
$\bar{X} \pm (t.S)$	-20.0	-20.2
$\sqrt{n}$	20.4	20.6
t testi	t=1.31	t _{Tablo} =5.05
F testi	F=1.66	F _{Tablo} =2.23

Çizelge 4.31 Nimodipin preparatlarının (F) analizi (n=6, p=0.05)

n	AAS Yöntem (I)	Görünür Bölge Spektrofotometrik Yöntem (II)
1	29.9	30.2
2	30.1	29.8
3	31.3	30.5
4	29.1	30.1
5	29.9	29.7
6	30.3	30.9
$\bar{X}$	30.1	30.2
S	0.72	0.45
$S/\bar{X}.100$	2.39	1.49
$\bar{X} \pm (t.S)$	-30.1	-30.0
$\sqrt{n}$	30.3	30.2
t testi	t=0.35	t _{Tablo} =2.23
F testi	F=2.56	F _{Tablo} =5.05

Çizelge 4.32 Nitrendipin preparatlarının (G) analizi (n=6, p=0.05)

n	AAS Yöntem (I)	Görünür Bölge Spektrofotometrik Yöntem (II)
1	9.4	9.5
2	10.1	10.0
3	10.4	10.5
4	9.9	9.8
5	10.2	10.3
6	10.9	10.4
$\bar{X}$	10.2	10.1
S	0.50	0.39
$S/\bar{X}.100$	0.49	3.28
$\bar{X} \pm (t.S)$	-10.1	-10.0
$\sqrt{n}$	10.3	10.2
t testi	t=0.476	$t_{Tablo}=2.23$
F testi	F=1.64	$F_{Tablo}=5.05$

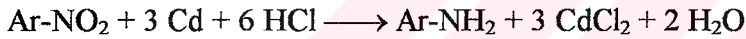
Elde edilen sonuçlar student (t) testi ile ortalamaları, Fisher (F) testi ile presizyon yönünden % 95 güven düzeyinde karşılaştırıldı. Çizelgelerden de görüldüğü gibi hesaplanan t ve F değerleri % 95 ilgili güven düzeyi ve altı deneme için tablolarda verilen değerlerden küçüktür. Bu da farmasötik preparatların analizinde her iki yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, aromatik nitro grubu içeren antihipertansif ilaç etken maddeleri nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipinin Cd^{2+} iyonu üzerinden AAS yöntemi ile indirekt tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiş ve bu yöntem etken maddelerin piyasada mevcut preparatlarına uygulanmıştır.

AAS yöntemi nifedipin, nimodipin, nikardipin ve nitrendipinin seyreltik hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyum ile 45-60 dakika CO_2 atmosferinde kaynatılmasına ve nitro grubunun indirgenmesiyle açığa çıkan kadmiyum (II) iyonunun 228.8 nm'deki atomik absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır (Hassan vd., 1979; Hassan, 1981).

Reaksiyon denklemine göre;



1 mol nitro bileşiğine karşılık 3 mol kadmiyum (II) iyonu oluşmaktadır. İndirgenme ürünü olan amin bileşiği ise diazolama-kenetleme ile yapılan görünür bölge spektrofotometrik tayine olanak sağlayarak kıyas yöntemi olarak kullanılmıştır (USP XXI, 1985). Çalışmada 0.05 N hidroklorik asitli ortam ve nitrendipin için 45 diğer maddeler içinse 60 dakikalık kaynatma süresi uygun bulundu. Her bir maddenin tayininde ölçü eğrileri; kadmiyum(II) iyonu cinsinden konsantrasyon,

Nifedipin için 0.290-1.460 $\mu\text{g/mL}$

Nimodipin için 0.196-0.983 $\mu\text{g/mL}$

Nikardipin için 0.242-1.209 $\mu\text{g/mL}$

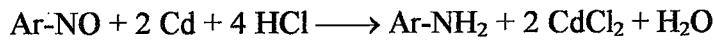
Nitrendipin için 0.187-1.310 $\mu\text{g/mL}$

olacak şekilde hazırlandı. Standart kadmiyum (II) çözeltileriyle ve ilaç etken maddelerinden hazırlanan standart çözeltilerle aynı koşullarda ölçüm alınarak regresyon denklemlerinde yer alan eğimlerin oranından indirekt analizdeki tüm işlemlere ait toplam geri kazanım oranı

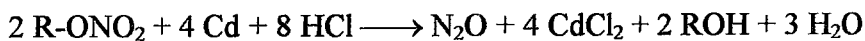
hesaplandı. Geri kazanım oranının nifedipin için % 83, nikardipin için % 87.8, nimodipin için % 99.6 ve nitrendipin için % 98.1 olduğu saptandı. Bu sonuçlara göre, farmasötik preparatlarda miktar tayini yapılırken etken maddelerin kendi standartlarının kullanılmasının daha sağlıklı olacağı sonucuna varıldı ve uygulama bu şekilde gerçekleştirildi. Farmasötik preparatlar ayrıca görünür bölge spektrofotometrik yöntemle de analiz edildi. Bu yöntem, ilaç etken maddelerinin yapısında bulunan nitro grubunun kadmiyum metali ile indirgenmesiyle oluşan amin grubunun diazolama-kenetleme reaksiyonuyla meydana gelen diazo bileşiğinin 526-540 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Bu amaçla, indirgeme sonucu oluşan çözeltiye AAS yöntemiyle birlikte spektrofotometrik yöntem aynı anda uygulandı. Tek standart kullanılarak ilgili maddelere ait farmasötik preparatlarda miktar tayini yapıldı ve işlemler altı kez tekrarlanarak sonuçlar mg olarak hesaplandı.

İndirekt AAS ve görünür bölge spektrofotometrik yöntem ile elde edilen sonuçlar student (t) testi ile ortalamaları, Fisher (F) testi ile presizyon yönünden % 95 güven düzeyinde karşılaştırıldı. Hesaplanan t ve F değerleri % 95 güven düzeyi ve 6 deneme sayısı için tablolarda verilen değerlerden küçüktür. Bu da ilaç maddelerinin analizinde her iki yöntem arasında presizyon ve doğruluk yönünden anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir.

Reaksiyonun seçiciliği araştırıldığında belirtilen koşullarda nitrozo grubunun



eşitliğine göre indirgenerek girişim yapabileceği, dinitro ve polinitro bileşiklerinin ise 0.15 M'a varan asit konsantrasyonu ve 60 dakikadan fazla kaynatma zamanında düşük bir geri kazanımla reaksiyon verdiği saptanmıştır (Hassan ve Tadros, 1983). Ayrıca nitrat grubunun (üre nitrati)



eşitliğine göre girişim yaptığı bilinmektedir (Hassan, 1981). Bunun dışında çalışılan birçok fonksiyonel grubun girişim yapmadığı belirlenmiştir.

eşitliğine göre girişim yaptığı bilinmektedir (Hassan, 1981). Bunun dışında çalışılan birçok fonksiyonel grubun girişim yapmadığı belirlenmiştir.

Yöntemin önemli bir avantajı aynı örnek üzerinde en az dört yöntemle ölçüm yapılabilmesidir. Bunlar, AAS, polarografi, EDTA ile kompleksometrik ve iyon seçici potansiyometrik titrasyon yöntemleri ile oluşan aminin diazolama-kenetleme reaksiyonuna dayanan spektrofotometrik yöntemlerdir. Birçok anyon ve katyonla girişimin olmaması, kullanılan belirteçlerin ucuz ve dayanıklı olması ve özel bir depolama gerektirmemesi diğer önemli avantajlardır. Ayrıca 1 mol nitro grubuna karşı 3 mol kadmiyum iyonu olduğundan sonuçların hassasiyeti ve kesinliği artmaktadır.

Daha önce çeşitli aromatik nitro bileşiklerine ve kloramfenikol ilaç etken maddelerine uygulanmış olan AAS yöntemi, nifedipin, nikardipin, nimodipin ve nitrendipinin miktar tayini için ilk kez tarafımızdan uygulanmıştır.

KAYNAKLAR

- A. Elghany, M.F., (1997), "Determination of Nicardipine Hydrochloride in Drug Substance and in a Capsule Dosage Form", J. Planar Chrom., 10(1): 6163. Ref. Chem. Abst. 1997, Vol. 125, 308885p.
- Agawal, Y.K. ve Shah, K., (1989), "Colorimetric Determination of Nifedipine", Indian J.Pharm. Sci., 51(2) : 77-78. Ref. Chem. Abst. 1989, Vol.111, 201759p.
- Akira, K., Baba, S. ve Aoki, S., (1988), "Quantitative Determination of Nifedipine and its Metabolite in Hamster Plasma by Radio-Gas Chromatography", Chem. Pharm. Bull., 36(8): 3000-3007.
- Arafat, T., Zmieli, S., Al-Qussuis, Y., Mouiti, H., Judeh, S. ve Shaheen, O., (1990), "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine in Human Serum", Dirasat-Univ. Jordan, Ser.B. 17B(3) : 111-121. Ref. Chem. Abst. 1992, Vol.116, 75569q.
- Bach, P.R. et al., (1983), "Determination of Nifedipine in Serum or Plasma by Reversed-Phasa Liquid Chromatography", Clin. Chem. 29(7): 1344-1348. Ref.Chem.Abst., 1983, Vol. 99, 81953g.
- Bammi, R.K., Nayak, V.G., Bhate, V.R., Dhumal, S.N., Purandare, S.M., Dikshit, P.M. ve Gaitonde, C.D., (1991), "Analysis of Nifedipine and Related Compounds in Soft Geletin Capsules by Liquid Chromatography", Drug Dev. Ind. Pharm., 17(16) : 2239-2294. Ref. Chem. Abst. 1992, Vol. 116, 28280d.
- Barbela, F., Cappella, B., Grumetto, L. ve Morrica, P., (1993), "Analysis of Calcium Channel Blocking Dihydropyridines by High Performance Liquid Chromatography", Farmaco, 48(3) : 417-426. Ref. Chem. Abst. 1993, Vol. 119, 85261j.
- Barrio Diez-Caballero, R.J., Lopez de la Torre, L. ve Arranz Garcia, A., (1989), "Adsorptive Stripping Voltammetry for the Determination of Nifedipine in Human Serum", Talanta, 36(4) : 501-504.
- Beaulieu, N., Curran, N.M., Graham, S.J., Sears, R.W. ve Lovering, E.G., (1991), "Validation of an HPLC method for Nifedipine and Its Related Substances in Raw Materials", J. Liq. Chrom., 14(6) : 1173-1183. Ref. Chem. Abst. 1991, Vol. 115, 99438b.
- Beck, O. ve Ryman, T., (1985), "Quantification of Nitrendipine in Plasma by a Capillary Column Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Method", J. Chromatogr., 337(2) : 402-407.

Boecker, R.H., Preuss, E. ve Peter, R., (1990), "High-Performance Liquid Chromatography of the Metabolites of Nitrendipine and Investigation into the Metabolite Pathways of This Dihydropyridine", *J. Chromatogr.*, 530(1) : 206-211.

Bogusz, M. ve Wu, M., (1991), "Standardized HPLC/DAD System, Based on Retention Indexes and Spectral Library, Applicable for Systematic Toxicological Screening", *J. Anal. Toxicol.*, 15(4) : 188-197. Ref. Chem. Abst. 1991, Vol. 115, 107963m.

Bonferoni, M.C., Mellerio G., Giunchedi, P., Caramella, C ve Conte, U., (1992), "Photostability Evaluation of Nicardipine Hydrochloride Solutions", *Int. J. Pharm.*, 80 (2-3) : 109-117.

Bossert, F., Meyer, H. ve Wehinger, E., (1981), *Angew. Chem.*, 93 : 755. Ref. Anal. Analytical Profiles of Drug Substances, 1989, Vol. 18, 221-288.

British Pharmacopeia, (1993), 1 : 449-450.

Bruno, L. ve John, S.K., (1988), "New Spectrophotometric Methods for Estimation of Nifedipine", *Indian J.Pharm.Sci.*, 50(2) : 109-112. Ref.Chem.Abst., 1988, Vol.109, 197294x.

Budy Ari-Barany, Z., Szasz, G., Radeczky, G., Simonyi, I. ve Shalaby, A., (1990), "Some New Data Concerning the Chromatographic Purity Test for Nifedipine", *J.Liq.Chromatogr.*, 13(17) : 3541-3551. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 114, 109052s.

Chankvetadze, B., Yashima, E. ve Okamoto, Y., (1993), "Tris(Chloro and Methyl-Disubstituted Phenylcarbamate)s of Cellulose as Chiral Stationary Phases for Chromatographic Enantioseparation", *Chem. Lett.*, 4 : 617-620. Ref. Chem. Abst. 1993, Vol. 119, 19558k.

Chen, Z. ve Zhang, H., (1995), "Determination of Nitrendipine by Gas Chromatograph", *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, 15(11) : 512-513. Ref. Chem. Abst., 1996, Vol.124, 156186e.

Dokladalova, J; Tykal, J. A., Coco, S.J., Durke, P.E., Quercia, G.T. ve Korst, J.J., (1982), "Occurrence and Measurement of Nifedipine and Its Nitropyridine Derivative in Human Blood Plasma", *J. Chromatogr.*, 231(2) : 451-458.

Dominguez Botran, A., Costa Garcia, A., Garcia Gutierrez, M. J. ve Tunon Blanco, P., (1991), "Adsorption-Stripping Voltammetry of Nicardipine at Mercury Electrodes", *An-Quim.*, 87(5) : 559-563. Ref. Chem. Abst., 1992, Vol. 116, 210260x.

Dow, R. S. ve Graham, D. J. M., (1986), "A Review of the Human Metabolism and Pharmacokinetics of Nicardipin Hydrochloride", 23(3) : 195-202. Ref. Chem. Abst. (1987), Vol. 106, 113089m.

Duhm, B., Maul, W., Medenwald, K., Patzschke, K. ve Wegner, L.A., (1972), "Bioavailability and Bioequivalence of a New Nifedipine Preparation", *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, 22 : 42.

Eastwood, R.J., Galustian, C., Bhamra, R.K. ve Holt, D.W., (1990), "High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Measurement of Nicardipine in Plasma or Serum", 530 (2), 463-468.

Ebel, S., Schtz, H ve Hornitschek, A., (1978), "Analysis of Nifedipine Light Degradation Products", *Arzneim.,Forsch.*, 28(12) : 2188-2193.

Eiden, F. ve Braatz-Greeske, K., (1983), *DAZ*, 123 : 2003. Ref. Anal. Analytical Profiles of Drug Substances, 1989, Vol. 18, 221-288.

Ellaithy, M.M. ve Zuman, P., (1992), "Electroreduction of Nifedipine", *J. Pharm. Sci.*, 81(2) : 191-196.

Ellis, J.S., Monkman, S.C., Seymour, R.A. ve Idle, J.R., (1993), "Determination of Nifedipine in Gingival Crevicular Fluid: A Capillary Gas Chromatographic Method for Nifedipine in Microliter Volumes of Biological Fluid", *J. Chromatogr., Biomed. Appl.*, 621(1) : 95-101. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 120, 68739z.

El-Walily, A-F.M.K., (1996), "First-Derivative uv Spectroscopy Capillary Gas Liquid and High Performance Liquid Chromatographic Methods for the Simultaneous Assay of Nifedipine and Atenolol in Pharmaceutical Capsules", *Bull. Fac. Pharm.*, 34(2) : 65-70. Ref. Chem. Abst., 1997, Vol.120, 135735j.

El-Walily, A-F.M.K., (1997), "Simultaneous Determination of the Binary Mixture of Nifedipine and Mefruside Using Derivative Spectroscopy, Capillary Gas-Liquid Chromatography and High Performance Liquid Chromatography", *Acta Pharm-Hung.*, 67(2-3) : 89-97. Ref. Chem. Abst., 1997, Vol.127, 181241p.

Erram, S.V. ve Tipnis, H.P., (1992), "Simultaneous Determination of Atenolol and Nifedipine in Solid Dosage Forms by RP-HPLC", *Indian Drugs*, 29(10) : 436-438. Ref. Chem. Abst., 1992, Vol. 117, 137772g.

European Pharmacopoeia, (1998), 3: 394-397.

Fan, D., Zhao, H., Cui, X. ve Han, L., (1992), "Dissolution of Nimodipine Tablets", *Zhonggua Yiyuan Yaoxue Zazhi*, 12(1) : 3-5. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 118, 131869t.

Farnia, F., Tehrani, M.H.H. ve Molavi, A., (1987), "Application of Photodensitometry in Assay of Pharmaceuticals", 8 : 15-23. Ref. Chem. Abst., 1987, Vol. 107, 13029u.

Fernandez, C. U., Mira, D. F. Ve Luque, G. I., (1990), "Chromatographic Purity and Assay of Nicardipine by HPLC", *J.High Resolt. Chrom.*, 13(12) : 846-849. Ref. Chem. Abs., 1991, Vol.114, 88811w.

Foster, T.S., Hamann, S.K., Richards, V.R., Bryant, P.J., Graves, A. ve McAllister, R.G., (1983), *J. Clin. Pharmacol.*, 23: 161.

Gang, Y., San, P., He, G., Yang, Y. ve Zhu, J., (1996), "Studies on the Determination and Stability of Nimodipine Injection by RP-HPLC", *Zhongguo Yaake Daxue Xuebao*, 27(5) : 285-288. Ref. Chem. Abst., 1996, Vol. 125, 309208m.

Gonzales, F., Tarin, P., Maspoeh, S ve Blanco, M., (1988), "Flow-injection Amperometric Determination of Pharmaceuticals", 321(10): 725-728. Ref. Chem. Abst., 1988, Vol. 109, 237142e.

Graham, D.J., Dow, R.J., Hall, D.J., Aexander, O.F., Mroszczak, E.J. ve Freedman, D. (1985), "The Metabolism and Pharmacokinetics of Nicardipine Hydrochloride in Man", 20 : 23-28. Ref. Chem. Abst., 1985, Vol. 103, 134420r.

Hamann, S.R. ve Mc Allister, R.G., (1983), "Measurement of Nifedipine in Plasma by Gas-Liquid Chromatography and Electron-Capture Detection", *Clinical Chemistry*, 29(1), 158-160.

Hantzsch, A., (1982), *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 215 : 1., Ref. Analytical Profiles of Drug Substances, 1989, Vol. 18, 221-288.

Hassan, S.S.M., (1981), "New Atomic-Absorption Spectrometric, Potentiometric and Polarographic Methods for the Determination of Nitrates", *Talanta*, 28 : 89-93.

Hassan, S.S.M. ve Tadros, F., (1983), "Atomic Absorption Spectrometric and Potentiometric Microdetermination of the Nitro and Nitroso Groups in Organic Compounds", *Talanta*, 28 : 20-25.

Hassan, S.S.M. ve Eldesouki, M.H., (1979), "Determination of Chloroamphenicol in Pharmaceutical Preparations by The Cadmium Ion-Selective Electrode, Spectrophotometry and Atomic-Absorption Spectrometry", *Talanta*, 26 : 531-536.

Higuchi, S. ve Kawamura, S., (1981), "Specific Determination of Plazma Nicardipine Hydrochloride Levels by Gas Chromatography-Mass Spectrometry", 223 (2) : 341-349.

Higuchi, S., Sasaki, H. ve Seki, T., (1980), Pharmacokinetic Studies on Nicardipine Hydrochloride, a New Vasodilatör, After Repeated Adminstration to Rats, Dogs and Humans", *Xenobiotica*, 10(12) : 897-903. Ref. Chem. Abst., 1981, Vol. 94, 185326t.

Higuchi, S. ve Shiobara, Y., (1980), "Comparative Pharmacokinetics of Nicardipine Hydrochloride, a New Vasodilator, in Various Species", *Xenobiotica*, 10(6) : 447-454. Ref. Chem. Abst., 1981, Vol. 94, 10842f.

Higuchi, S. ve Shiobara, Y., (1980), "Application of the Stable Isotope Technique to the Elucidation of the Saturation Phenomenon of Nicardipine Hydrochloride Metabolizing Enzyme Activity in Dogs", 7(8) : 330-334., Ref. Chem. Abst., 1981, Vol. 94, 149939m.

Higuchi, S. ve Shiobara, Y., (1980), "Metabolic Fate of Nicardipine Hydrochloride, a New Vasodilator, by Various Species in Vitro", *Xenobiotica*, 10(12), 889-896. Ref. Chem. Abst., 1981, Vol. 95, 162r.

Horster, F.A., Duhm, B., Maul, W., Medenwald, H., Patzschke, K. ve Wegner, L.A., (1972), *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 22 : 330., Ref. Analytical Profiles of Drug Substances, 1980, Vol. 18, 221-288.

Jain, R. ve Jain, C.L., (1990), "Micro Quantification of Nimodipine in Intravenous Infusions Using High Speed Liquid Chromatography", *Indian Drugs*, 28(3) : 154-155. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol.114, 150292u.

Jakobsen, P., Lederballe, P. ve Mikkelsen, E., (1979), "Gas Chromatographic Determination of Nifedipine and One of its Metabo. Using Electron Capture Detection", *Journal of Chromatography Biomedical Applications*, 162 : 81-87.

Jakobsen, P., Mikkelsen, E.O., Laursen, J. ve Jensen, F., (1986), "Determination of Nimodipine by Gas Chromatography Using Electron-Capture Detection; External Factors Influencing Nimodipine Concentrations During Intravenous Administration", *J. Chromatogr.*, 374(2) : 383-387.

Jane, I., McKinnon, A. ve Flanagan, R.J., (1985), "High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Basic Drugs on Silica Columns Using Non-aqueous Ionic Eluents. II. Application of uv, Fluorescence and Electrochemical Oxidation Detection", *J.Chromatogr.*, 323(2) : 191-225. Ref. Chem. Abst., 1985, Vol. 103, 42702f.

Janis, R., Krol, G.J., Anson, J. ve Pan, M., (1983), "Radioreceptor and High-Performance Liquid Chromatographic Assays for the Calcium Channel Antagonist Nitrendipine in Serum", *J. Clin. Pharmacol.*, 23(7) : 266-273.

Jankowski, A. ve Lamparczyk, H., (1994), "Evaluation of Chromatographic Methods for the Determination of Nifedipine in Human Serum", *J. Chromatography, A*, 668(2) : 469-473. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 121, 49550k.

Jiang, G. ve Chen, T., (1996), "Determination of Nitrendipine in Human Plasma by Gas Chromatography", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 16(5) : 309-311. Ref. Chem Abst., 1997, Vol. 126, 271727k.

Katsumi, M., Naonori, K., Takaichi, A., Hisashi, S., Kunihiro, K., Akikazu, N. ve Hisakazu, Y., (1984), "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine in Plasma", *Journal of Chromatography Biomedical Applications*, 310 : 219-222.

Kayaalp, O.S., (1990), *Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe, Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 1113, 1114, 1194.

Kayaalp, O.S., (1992), *Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe, Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 1122-1125, 1170-1171, 1212-1214.

Kleinbloesem, C.H., Van Harten, J. ve Van Brummelen, P., (1984), "Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine in Plasma and of its Main Metabolite in Urine", *Journal of Chromatography Biomedical Applications*, 308 : 209-216.

Kleinbloesem, C.H., Van Brummelen, P., Van de Linde, J.A., Voogd, P.Y. ve Breimer D.D., (1984), *Clin. Pharmacol. Ther.*, 35 : 742., Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1989, Vol. 18, 221-288.

Kobayashi, S.I., (1987), "Simple Method for the Determination of Nikardipine in Plasma Using High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, 420 : 439-444.

Kondo, S., Kuchiki, A., Yamamoto, K., Akimoto, K., Takahishi, K., Awata, N. ve Sugimoto, I., (1980), "Identification of Nifedipine Metabolite and Their Determination by Gas Chromatography", *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 28(1) : 1-7.

Krol, G.J., Noe, A.J., Yeh, S.C. ve Kaemsch, K.D., (1984), "Gas and Liquid Chromatographic Analysis of Nimodipine Calcium Antagonist in Blood Plasma and Cerebrospinal Fluid", *J. Chromatogr.*, 305(1) : 105-118.

Kurfuerst, A., Ludvik, J., Rauch, P. ve Marek, M., (1981), "Electrochemical and Biological Oxidation of 1,4-Dihydropyridine Derivative", *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 46(5) : 1141-1147. Ref. *Chem. Abst.*, 1990, Vol. 95, 69872q.

Lambert, W.E., Meyer, E. ve De Leenheer, A.P., (1995), "Systematic Toxicological Analysis of Basic Drugs by Gradient Elution of an Alumina-Based HPLC Packing Material Under Alkaline Conditions", *J. Anal. Toxicol.*, 19(2) : 73-78, Ref. *Chem. Abst.*, 1995, Vol. 122, 232781w.

Lastres, J.L., Garcia, E.M. ve Ballesteros, M.P., Frutos, P., (1995), "TLC Study of Nimodipine and Degradation Products", *World Meet. Pharm., Biopharm. Pharm. Technol.*, 1st : 115-116. Ref. *Chem. Abst.*, 1996, Vol. 124, 270123g.

Leis, H.J., Raspotrig, G., Windischhofer, W. ve Gleispach, H. (1996), "Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry in Life Sciences", *J. Anal. Chem.*, 51(11) : 1116-1122. Ref. *Chem. Abst.*, 1997, Vol. 126, 86601b.

Leuenberger, P.M., Ha, H.R., Pletscher, W., Meier, P.J. ve Sticher, O., (1995), "Measurement of Nimodipine Metabolism in Rat Liver Microsomes by High-Performance Liquid Chromatography", *J. Liq. Chromatogr.*, 18(1) : 2243-2255. Ref. *Chem. Abst.*, 1995, Vol. 123, 74073f.

Liu, C., ve Chen, G., (1993), "Determination and Stability of Nifedipine Injection by HPLC", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 13(5) : 314-317. Ref. *Chem. Abst.*, 1994, Vol. 120, 15021c.

Liu, Q. ve Lin, Q., (1995), "Determination of Four Calcium Antagonists in Serum by HPLC", *Zhonghua Yix ve Jianyan*, 18(1) : 22-25. Ref. Chem. Abst., 1995, Vol. 123, 78760a.

Lutz, D., Illias, E. ve Jaeger, H., (1986), "Automated Determination of Nifedipine in Human Plasma by Capillary Gas Chromatography with Electron Capture Detection", *J.High Resolut. Chromatogr. Commun.*, 9(7) : 397-399. Ref. Chem. Abst., 1986, Vol. 105, 164342a.

Mahadik, K.R., Byale, G.B., More, H.N.ve Kadam, S.S., (1991), "Spectrophotometric Estimation of Nifedipine in Formulation", *East. Pharm.*, 34(402) : 121-122. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 115, 215014m.

Mahadik, K.R., Byale, G.B., More, H.N. ve Kadam, S.S., (1991), "A Spectrophotometric Method for Estimation of Nifedipine and its Formulation", *J. Inst. Chem.*, 63(6) : 218. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 118, 132296r.

Martindale, *The Extra Pharmacopoeia*, (1989), 29 : 1507-1514.

Maurin, M.B., Vickery, R.D., Ma, P., Manalo, J. ve Hussan, M.A., (1992), "Employing Ionization Behaviors to Resolve a Trace-Level Impurity : Determination of 1,4-Dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylic Acid di-2-[Methyl(phenylmethyl) amino]ethyl Ester in Nicardipine Drug Substance", 9(11) : 1518-20. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 118, 87735v.

Meyer, H., Bossert, F. ve Wehinger, E., (1986), "Chemistry of Nifedipine in Treatment of Cardiovascular Diseases by Adalat", Edited by Krebs, R., Schattauer Verlag, Stuttgart-Newyork. Ref. Anal. Profiles of Drug Substances, 1989, Vol. 221-288.

Meyer, H., Scherling, D. ve Karl, W., (1983), "Nitrendipine : Identification and Synthesis of Main Metabolites", *Arzneim.-Forsch.*, 33(11) : 1528-1534.

Mikami, E., Yamada, S., Fujii, Y., Kawamura, N. ve Hayakawa, J., (1992), "Rapid Determination of Drug in Pharm. Preparations by LC", *Iyakuhi Kenkyu*, 23(6) : 896-901. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 118, 154714c.

Miki, H., Kanai, K., Yoshida, T. ve Sado T., (1979), "Subacute Toxicity Study of Nicardipine Hydrochloride Administered Orally in the Beagle Dog", *Oyo Yakuri*, 18(3) : 409-416. Ref. Chem. Abst., 1980, Vol. 92, 157694b.

Murn, M., Zalar, S., Salom, L., Pavkovic, P., Turk, J., Zupancic, P., Uhan, D., Vodopivec, P. ve Palka, G., (1987), "Preclinical Studies of Nifedipine Toxicity and Side-Effects", *Farm. Vestn.*, 38(1) : 25-35. Ref. Chem. Abst., 1987, Vol. 107, 168518b.

Musumarra, G., Scarlata, G., Romano, G., Clementi, S. ve Wold, S., (1984), "Application of Principal Component Analysis to TKC Data for 596 Basic and Neutral Drug in Four Element Systems", 22(12) : 538-547. Ref. Chem. Abst., 1985, Vol. 102, 154850p.

Nitsche, V., Schuetz, H. ve Eichinger, A., (1987), "Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine in Plasma with On-Line Precolumn Solid-Phase Extraction", *J.Chromatogr.*, 420(1) : 207-211.

Nonzioli, A., Lague, G. ve Fernandez, C., (1990), "High-Performance Liquid Chromatographic Assay of Nitrendipine", *J. High Resolt. Chromatogr.*, 13(8) : 589-591. Ref. Chem. Abst., 1990, Vol. 113, 237940w.

Nunez-Vergara, L.J., Alvrez, A.F., Ramos, M., Jimeno, F. ve Squella, J.A., (1991), "GSH : Electrochemical Assessment of Adduct Formation with Nimodipine and Propranolol", *J.Chim.Phys.-Chim.Biol.*, 88(1) : 71-89. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 114, 207815n.

Odani, Y. ve Sado, T., (1979), "Acute Toxicity Study of Nicardipine Hydrochloride in Rats and Mice", *Oyo Yakuri*, 18(2) : 301-307. Ref. Chem. Abst., 1983, Vol. 92, 104384u.

Odani, Y., Yoshida, T., Miki, H. ve Sado, T., (1979), "Sabacute Toxicity Study and Effect on Hepatic and Plasma Lipid of Nicardipine Hydrochloride", *Oyo Yakuri*, 18(2) : 309-323. Ref. Chem. Abst., 1980, Vol. 92, 104384v.

Odani, Y., Yoshida, T., Miki, H. ve Sado, T., (1979), "Chronic Toxicity and Recovery Test of Nicardipine Hydrochloride Administered Orally in Rats", *Oyo Yakuri*, 18(3) : 391-407. Ref. Chem. Abst., 1980, Vol. 174366p.

Ohkubo, T., Noro, H. ve Sugawara, K., (1992), "HPLC Determination of Nifedipine and a Trace Photodegradation Product in Hospital Prescriptions", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 10(1) : 67-70. Ref. Chem. Abst., 1992, Vol. 117, 118581c.

Ohkubo, T., Uno, T. ve Sugawara, K., (1994), "Enantiomer Separation of Dihydropyridine Derivative Calcium Antagonists by HPLC with Chiral Stationary Phases", *J. Chromatogr.*, 659(2) : 467-471.

Ohnishi, H., Kosuzume, H., Yamaguchi, K., Sato, M., Umehera, S., Funato, H., Itoh, C., Suzuki, K., Kitamura, Y. vd., (1980), "Pharmacological Properties of Tapidil : Comparison with Other Coronary Vasodialtors", *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 76(6) : 495-503. Ref. Chem. Abst., 1981, Vol. 94, 203j.

Ojanpera, I., Vartiovaara, J., Ruohonen, A. ve Vvori, E., (1991), "Combined Use of Normal and Rp-TLC in the Screening for Basic and Quaternary Drugs", *J. Liq. Chromatogr.*, 14(8) : 1435-46. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 115, 78797t.

Öztürk, Ö., (1998), Kloramfenikolün Kadmiyum Üzerinden İndirekt Tayini, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü (yayımlanmamış).

Patel, R.B., Gandhi, T.P., Patel, A.A., Patel, V.C., Patel, S.K. ve Gilbert, R.N., (1984), "A Rapid Colorimetric Method for the Estimation of Nifedipine", *Indian J. Pharm. Sci.*, 46(3) : 126-128. Ref. Chem. Abst., 1986, Vol. 105, 102701h.

Patrick, K.S., Jarvi, E.J., Straughn, A.B. ve Meyer, M.C., (1989), "Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Plasma Nifedipine", *J.Chromatogr.*, 495 : 123-130.

Pietta, P., Rava, A. ve Biondi, P., (1981), "High-Performance Liquid Chromatography of Nifedipine, Its Metabolites and Photochemicals Degradation Products", 210(3) : 516-521. *Ref. Chem. Abst.*, 1981, Vol. 95, 72996p.

Qian, M. ve Gallao, J.M., (1992), "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of the Calcium Channel Blocker Nimodipine in Monkey Plasma", *J. Chromatogr.*, 578(2) : 316-320.

Ragno, G., Veronico, M. ve Vetuschi, C., (1993), "Gas Chromatographic and uv Derivative Determination of Nitrendipine and Its Photodegradation Product", *Int. J. Pharm.*, 99(2-3) : 351-355. *Ref. Chem. Abst.*, 1994, Vol. 120, 15017f.

Ragno, G., Veronico, M. ve Vetuschi, C., (1995), "Analysis of Nimodipine and Its Photodegradation Product by Derivative Spectrophotometry and Gas Chromatography", *Int. J. Pharm.*, 119(1) : 115-119. *Ref. Chem. Abst.*, 1995, Vol. 122, 274215v.

Rämsch, K.D., (1981), *Schwerpunkt Medizin*, 4 : 55. *Ref. Analytical Profiles of Drug Substances*, 1989, Vol. 18, 221-288.

Rämsch, K.D. ve Ziegler, K., (1986), 6th International Adalat Symposium, Geneva 18-20 April 1985, Amsterdam 23. *Ref. Analytical Profiles of Drug Substances*, 1989, Vol. 18, 221-288.

Remington's, *Pharmaceutical Sciences*, (1990), 18 : 855.

Richter, P., Toral, M.I., Qurioz, G. ve Jaque, P., (1997), "Flow-Through Polarographic Cell for Flow-Injection Analysis. Determination of Nifedipine in Pharmaceutical Formulations", *Lab.Rob.Autom.*, 9(5) : 255-262. *Ref. Chem. Abst.*, 1997, Vol. 127, 351323m.

Rosseel, M.T. ve Bogaert, M.G., (1983), "Determination of Nifedipine in Human Plasma by Capillary Gas Chromatography with Nitrogen Detection", *Journal of Chromatography*, 279 : 675-680.

Rosseel, M.T. ve Bogaert, M.G., (1990), "Determination of the Calcium Antagonist Nimodipine in Plasma by Capillary Gas Chromatography with Nitrogen Detection", *Journal of Chromatography*, 533 : 224-228.

Rosseel, M.T. ve Lefebure, K.A., (1994), "Capillary GC Determination with Nitrogen-Phosphours Detection of the Calcium Antagonist Nicardipine and Its Pyridine Metabolite M-5 in Plasma", 668(2) : 475-488.

Sane, R.T., Gangrade, M.G., Bapat, V.V., Surve, S.R. ve Chonkar, N.L., (1993), "Gas Chromatographic Determination of Flutamide, Nimodipine and Ticlopidine Hydrochloride From Their Pharmaceutical Preparations", *Indian Drugs*, 30(4) : 147-151. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 119, 34455t.

Savella, J.A., Borpes, V., Celedon, C., Peredo, P. ve Nunez-Vergara, L.J., (1991), "Nicardipine Differential Pulse Polarography and Phododecomposition", *Electroanalysis*, 3(3) : 221-225. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 115, 15720b.

Schlossman, K., Medenwald, H. ve Rosenbranz, H., (1975), 2nd Int. Adalat-Symposium October 1974 in Amsterdam, 33-39 (1975).

Schmid, B.J., Perry, H.E. ve Idle, J.R., (1988), "Determination of Nifedipine and Its Three Principal Metabolites in Plasma and Urine by Automated Electron-Capture Capillary Gas Chromatography", *J. Chromatogr.*, 425(1) : 107-119. Ref. Chem. Abst., 1988, Vol. 108, 179461z.

Sheridan, M.E., Clarke, G.S. ve Robinson, M.L., (1989), "Analysis of Nifedipine in Serum Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 7(4) : 519-522. Ref. Chem. Abst., 1989, Vol. 111, 70223j.

Shinde, V.M., Desai, B.S. ve Tendolkar, N.M., (1994), "Selective Determination of Nitrendipine and Nimodipine in Pharmaceutical Dosage by High Performance Thin Layer Chromatography", *Indian Drugs*, 31(3) : 117-121. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 121, 18179s.

Shingbal, D.M. ve Bhangle, S.R., (1987), "Simple Spectrophotometric Analysis of Nifedipine", *Indian Drugs*, 24(10) : 490-491. Ref. Chem. Abst., 1987, Vol. 107, 183671q.

Shuhui, Z., Yaoru, Z., Lichang, Z. Ve Shaobing, L., (1995), "Simultaneous Determination of 6 Different Dihydropyridine Calcium Antagonists in Human Plasma by High Performance Liquid Chromatography", *Sepu*, 13(2) : 132-133, 135. Ref. Chem. Abst., 1995, Vol. 122, 255372c.

Snedden, W., Fernandez, P.G., Galway, B.A. ve Kim, B.K., (1984), "Specific HPLC Assay for Serum Nifedipine", *Clin. Invest. Med.*, 7(3) : 173-178. Ref. Chem. Abst., 1985, Vol. 102, 89599x.

Snedden, W., Fernandez, P.G. ve Nath, C., (1986), "High Performance Liquid Chromatography Analysis of Nifedipine and Some of Its Metabolites in Hypertensive Patients", *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 64(3) : 290-296. Ref. Chem. Abst., 1986, Vol. 105, 75q.

Soons, P.A. ve Bremier, D.D., (1988), "Gas Chromatographic Analysis of Nitrendipine and Its Pyridine Metabolite in Human Plasma", *J. Chromatogr.*, 428(2) : 362-368.

Soons, P.A., Schellens, J.H.M., Roosemalen, M.C.M. ve Breimer, D.D., (1991), "Analysis of Nifedipine and Its Pyridine Metabolite Dehydronifedipine in Blood and Plasma :

Review and Improved HPLC Methodology", J. Pharm. Biomed. Anal., 9(6) : 475-484. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 115, 269848e.

Squella, J.A., Barnafi, E., Perna, S. ve Nunez-Vergara, L.J., (1989), "Nifedipine : Differential Pulse Polarography and Photodecomposition", Talanta, 36(3) : 363-366.

Squella, J.A., Lemus, I., Perna, S. ve Nunez-Vergara, L.J., (1988), "Polarographic Behavior of Nitrendipine", Anal. Lett., 21(12) : 2293-2305.

Squella, J.A., More, J., Blazquez, M. ve Nunez-Vergara, Luis, J., (1991), "Cyclic Voltammetric Study of the Nitro Radical Anion From Nitrendipine Generated Electrochemically", J. Electroanal. Chem Interfacial Electrochem., 319(1-2) : 177-184. Ref. Chem. Abst. , 1992, Vol. 116, 203140g.

Squella, J.A., Sturm, J.C., Lenac, R. ve Nunez-Vergara, L.J., (1992), "Polarographic and Spectrophotometric Determination of Nimodipine in Tablets", Anal. Lett., 25(2) : 281-292.

Squella, J.A., Zanocco, A., Perna, S. ve Nunez-Vergara, L.J., (1990), "A Polarographic Study of the Photodegradation of Nitrendipine", J. Pharm. Biomed. Anal., 8(1): 43-47.

Suzuki, H., Fujiwara, S., Kondo, S. ve Sugimoto, I., (1985), "Determination of Nifedipine in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection", J. Chromatogr., 341(2) : 341-347.

Syed Laik, A., (1989), "Nifedipine", Analytical Profiles of Drug Substances, 18 : 221-288.

Tanner, R., Romagnoli, A. ve Kramer, W.G., (1986), "Simplified Method for Determination of Plasma Nifedipine by Gas Chromatography", J. Anal. Toxicol., 10(6) : 250-251. Ref. Chem. Abst. 1987, Vol. 106, 113016k.

Telting-Diaz, M., Kelly, M.T., Hua, C. ve Smyth, M.R., (1991), "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nifedipine, Nicardipine and Pindolol Using a Carbon Fiber Flow-Through Amperometric Detector", J.Pharm. Biomed. Anal., 9(10-12) : 889-893. Ref. Chem. Abst. 1992, Vol. 117, 167u.

The Merck Index, (1989), Merck & Co. Inc., USA : 1026, 1030, 1036, 1040.

The United States Pharmacopeia XXI and The National Formulary XVII, (1985), The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockwill : 733-734.

The Japanese Pharmacopoeia XIII, (1996), 1 : 532, 526-527.

Thoma, K. ve Klimek, K., (1980), Deutsche Apotheker Zertung, DAZ, 120(42) : 1967-1972.

Tompe, P. ve Nagy, H.A., (1990), "Electroanalysis of Nifedipine", Acta Pharm. Hung., 60(4) : 130-142. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 114, 88796v.

Towart, R., Wehinger, E., Meyer, H. ve Kazda, S., (1982), "The Effects of Nimodipine, Its Optical Isomers, and Metabolites on Isolated Vascular Smooth Muscle", *Arzneim.-Forsch.*, 32(4) : 338-346.

Tucker, F.C., Minty, P.S.B. ve Mac Gregor, G.A., (1985), "Study of Nifedipine Photodecomposition in Plasma and Whole Blood Using Capillary Gas-Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography Biomedical Application*, 342 : 193-198.

Umapathi, P., (1994), "Determination of Atenolol, Nifedipine, Aspirin and Dipyridamole in Tablet Preparations by Second-Order Derivative Spectrophotometry", *Int. J. Pharm.*, 108(1) : 11-19. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 121, 65708y.

Vanderbosch, C., Massart, D.L. ve Lindner, W., (1992), "Evaluation of Six Chiral Stationary Phases in LC for Their Selectivity Towards Drug Enantiomers", *J. Pharm. Biomed.*, 10(10-12) : 895-908.

Veronico, M., Ragno, G. ve Vetuschi, C., (1995), "Simultaneous Assay of Atenolol and Nifedipine by uv Derivative Spectrophotometry and Gas Chromatography", *Spectrosc. Lett.*, 28(3) : 407-415. Ref. Chem. Abst., 1995, Vol. 122, 274235b.

Vyas, S.P., Suresh, P. ve Goswami, S.K., (1993), "A Sensitive Visible-Spectrophotometric Method for Determination of Nifedipine", *Indian Drugs*, 30(7) : 342-344., Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 119, 167882b.

Wang, S., Ma, W. ve Wang, X., (1991), "Determination and Stability of Nimodipine Injection by HPLC", 11(2) : 81-84. Ref. Chem. Abst., 1991, Vol. 115, 35836x.

Wang, Y., Zha, J., Liu, Weina, Liu, H., Gao, X. ve Du, L., (1992), "Determination of Nitrendipine in Rabbit Plasma by Gas Chromatography", *Hebei Yixueyuan Xuebao*, 13(4) : 193-195. Ref. Chem. Abst., 1993, Vol. 118, 182663d.

Wang, J., Deshmukh, B. ve Bonakdary, M., (1985), "Electrochemical Behavior and Determination of Nicardipine", *Anal. Lett.*, 18(139) : 1087-1102. Ref. Chem. Abst., 1986, Vol. 104, 14394j.

Watari, N., Mizumura, J. ve Higuchi, S., (1990), "Simultaneous Microdetermination of Nicardipine and Its Pyridine Metabolite in Body Fluids by Capillary Column GC with Electron Capture Detection", 530(2) : 436-438.

Wu, A.T., Massey, I.J. ve Kushinsky, S., (1984), "A High Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Nicardipine and Its Pyridine Metabolite II in Plasma", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(10) : 1444-1447.

Wu, A.T., Massey, I.J. ve Kushinsky, S., (1987), "Capillary Column Gas Chromatographic Method Using Electron-Capture Detection for the Simultaneous Determination of Nicardipine and Its Pyridine Metabolite II in Plasma", *Journal of Chromatography*, 415 : 65-73.

Wu, G.J., Liang, Y.B. ve Wang, L.F., (1992), "Determination of Nifedipine by Differential Spectrophotometry", *Yaoxue Xuebao*, 27(5) : 365-368. Ref. Chem. Abst., 1992, Vol.117, 76601b.

Xia, D., Liu, B., Yan, M., Sui, E. ve Chen, L., (1994), "Determination of Nifedipine and Its Photodegradation Product in Injections by HPLC", *Shenyang Yaoxueyan Xuebao*, 11(2) : 130-132. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 121, 213123w.

Yang, X., Yang, L. Zhu, Z. ve Mao, F., (1992), "Determination of Nitrendipine in Human Plasma by Gas Chromatography with a Mass Selection Detector (GC-MSD)", *Sepu*, 10(1) : 35-37. Ref. Chem. Abst., 1992, Vol. 116, 207265z.

Yu, S. ve Zhag Y., (1989), "Dual Wavelength K-Ratio Spectrophotometric Determination of Nifedipine in Preparations", *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, 20(6) : 264-266. Ref. Chem. Abst., 1990, Vol. 112, 42710t.

Zhou, B., Zhov, Y. ve Cai, H., (1994), "Determination of Nitrendipine Injection by Thin-Layer Chromatographic Densitometry", *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, 25(1) : 33-34. Ref. Chem. Abst., 1994, Vol. 121, 42878q.

Zhu, S., Chang, Q. ve Lu, W., (1987), "Determination of Nitrendipine Using a Cyanide Ion Selective Electrode", *Yaowu Fenxi Zazhi*, 7(6) : 340-343. Ref. Chem. Abst., 1988, Vol. 108, 82228r.

Zhu, S.M., Chang, Q., Hu, X. Z. ve Deng, C.Z., (1988), "Comparison of Several Methods for Determination of Nitrendipine", *Yaoxue Xuebao*, 23(7) : 527-531. Ref. Chem. Abst., 1988, Vol. 109, 156355z.

Zylber-Katz, E., Korn, G., Granit, L. ve Levy, M., (1984), *Bixpharm. Drug Dispos.*, 5 : 109, Ref. Analytical Profiles of Drug Substances, 1989, Vol. 18, 221-288.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	28.11.1966				
Doğum yeri	İstanbul				
Lise	1978-1984	Silivri Lisesi			
Lisans	1984-1988	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi			
Yüksek Lisans	1991-1994	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Anorganik Kimya programı			
Doktora	1994-1999	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Anorganik Kimya programı			
Çalıştığı kurumlar	1989 (3 ay)	Sarten Ambalaj A.Ş.			
	1994-1997	Odak Dersaneleri			
	1997-	Y. T. Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi			
		Araştırma Görevlisi			