

79100

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİSİNOPRİL'İN SULU ÇÖZELTİDEKİ KARARLILIĞINA
pH ETKİSİNİN SIVI KROMATOĞRAFİK İNCELENMESİ

Kimyager Fatma AYTAN

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

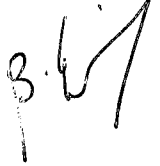
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sıdıka SUNGUR

Prof. Dr. Gönyük KUNT

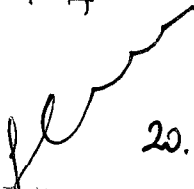


Doc. Dr. Bediye ERİM



İSTANBUL, 1998

Prof. Dr. Sıdıka SUNGUR



20.0498

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ŞEKİL LİSTESİ.....	ii
CETVEL LİSTESİ.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI.....	1
2. GENEL BÖLÜM.....	2
2.1 Lisinopril Hakkında Genel Bilgi	2
2.1.1 Fiziksel Özellikleri	3
2.1.2 Spektral Özellikleri	4
2.1.3 Farmakolojik Özellikleri.....	7
2.1.4 Sentezi	11
2.1.5 Tanıma ve Ayırma Yöntemleri	11
2.1.6 Miktar Tayini Yöntemleri.....	15
2.1.6.1 Titrimetrik Yöntemler	15
2.1.6.2 Spektrofotometrik Yöntemler	15
2.1.6.3 Sıvı Kromatografik Yöntemler	15
2.1.6.4 Gaz Kromatografik Yöntemler.....	17
2.1.6.5 Diğer Yöntemler.....	17
3. DENEYSEL BÖLÜM	19
3.1 Çalışmada Kullanılan Maddeler ve Çözeltiler.....	19
3.1.1 İlaç Maddesi.....	19
3.1.2 Kimyasal Maddeler	19
3.1.3 Çözeltiler.....	19
3.1.4 Kullanılan Aletler ve Diğer Gereçler.....	20
3.2 Yöntemler	20
3.2.1 Kromatografik Analiz	20
3.2.2 Stabilite Çalışması.....	21
3.2.3 Standart Eğrinin Hazırlanması.....	21
4. SONUÇLAR	22
4.1 Kromatografik Analiz	22
4.1.1 Ayırma	22
4.1.2 Standart Eğri	23
4.2 Stabilite Çalışması.....	24

4.2.1	Kromatogramlar	24
4.2.2	Reaksiyon Hızları.....	29
KAYNAKLAR.....		36
ÖZGEÇMİŞ.....		38



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Lisinopril'in diferansiyel termal analiz eğrisi (DTA)	4
Şekil 2.2 Lisinopril'in 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl 'deki absorpsiyon spektrumları ...	5
Şekil 2.3 Lisinopril'in IR absorpsiyon spektrumu	5
Şekil 2. 4 Lisinopril'in proton NMR spektrumu	6
Şekil 2.5 Lisinopril'in ¹³ C NMR spektrumu.....	6
Şekil 2.6 Lisinopril' in elektron çarptırma kaynağı kullanılarak alınmış kütle spektrumu.....	7
Şekil 2.7 Lisinopril' in sentezi.....	11
Şekil 2.8 Lisinopril'in diketopiperazin'in izomer yapılarına termal olarak bozunması	13
Şekil 2.9 Lisinopril'in alıkonması üzerine fosfat konsantrasyonunun etkisi	17
Şekil 4.1 Lisinopril'in UV spektrumu.....	22
Şekil 4.2 Standart eğri.....	24
Şekil 4.3 pH = 2'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	25
Şekil 4.4 pH = 2,5'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	25
Şekil 4.5 pH = 3'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	26
Şekil 4.6 pH = 4'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	26
Şekil 4.7 pH = 5'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram	27
Şekil 4.8 pH = 6'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	27
Şekil 4.9 pH = 7'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram	28
Şekil 4.10 pH = 8'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram.....	28
Şekil 4.11 Hiç bozunmaya uğramamış lisinopril çözeltisine ait kromatogram	29
Şekil 4.12 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 2,0).....	31
Şekil 4.13 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 2,5).....	31
Şekil 4.14 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 3,0).....	32
Şekil 4.15 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 4,0).....	32
Şekil 4.16 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 5,0).....	33
Şekil 4.17 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 6,0)	33
Şekil 4.18 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 7,0).....	34
Şekil 4.19 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 8,0).....	34
Şekil 4.20 pH ile reaksiyon hız sabitleri arasındaki ilişki	35

CETVEL LİSTESİ

	Sayfa
Cetvel 2.1 Lisinopril' in çözünürlüğü	3
Cetvel 2.2 Ülkemizdeki ACE İnhibitörleri.....	9
Cetvel 2.3 Lisinopril'in çeşitli İTK sistemlerindeki Rf değerleri	12
Cetvel 4.1 Standart eğrinin pik alanı değerleri ve regresyon analizlerine ait parametreler	23
Cetvel 4.2 Çeşitli pH ve sürelerde elde edilen pik alanlarının (Ortalama \pm % S) ve reaksiyon hız sabitleri	30



Çalışmalarımı, bilgi ve fikirleriyle destekleyen, tecrübeleriyle yol gösteren değerli hocam sayın Prof. Dr. Sıdika SUNGUR'a, laboratuvar çalışmalarında bilgi ve emeğini esirgemeyen sayın Arş. Gör. Dr. Güzin ALPDOĞAN'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olarak yüksek tansiyon tedavisinde kullanılan lisinopril yeni bir ilaç maddesidir. Bu çalışmada, lisinopril'in sulu çözeltideki stabilitesine pH etkisinin HPLC yöntemi ile incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla pH = 2 - 8 aralığındaki tampon çözeltilerde 100 µg / ml konsantrasyonunda hazırlanmış olan lisinopril çözeltileri 72, 96, ve 120 saat olmak üzere 80°C de bekletildikten sonra C₁₈ ters faz kolona enjekte edilmiştir. 1 ml / dak akış hızında , pH 5 fosfat tamponu - asetonitril - trietilamin (85 : 15 : 0,1) içeren isokratik mobil faz kullanılmıştır. 209 nm de absorban detektörü kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramların ve lisinopril'e ait pik alanlarının incelenmesi sonucunda pH'nın lisinopril'in sulu çözeltideki stabilitesi üzerine etkisi olduğu ve pH düştükçe bozunmanın hızlandığı görülmüştür. Pik alanlarının logaritması ile zaman arasında oluşturulan grafiklerden psödo birinci dereceden bozunma hız sabitleri hesaplanmıştır.

ABSTRACT

Lisinopril, a new drug substances is, an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor and used for the treatment of hypertension. The aim of this study is, the high pressure liquid chromatographic investigation of the pH effect on the solution stability of lisinopril. Lisinopril solution of 100 μg / ml were prepared in various buffer solutions in the range of pH = 2 - 8. 10 ml portions of these solutions were heated in an oven at 80°C for 72, 96, 120 hours. After these periods the solutions were removed and cooled immediately. Then, 10 μl of the solution was injected into a high pressure liquid chromatographic system containing a μ Bondapak C₁₈ reversed phase column and a variable wavelength UV - visible absorbance detector. The separation was performed with pH = 5 phosphate buffer - acetonitril - triethylamine (85 : 15 : 0,1) mixture as isocratic mobile phase. The detector was operated at 209 nm. The investigation of the chromatograms and lisinopril peak areas was indicate that, pH have significant effect on the stability of lisinopril in aqueous solution and decomposition rate of lisinopril is increased by the decreasing pH. Pseudo first order rate constants were calculated using the time - log (peak area) plots.

1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

Yeni bir ilaç maddesi olan lisinopril, anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü olarak yüksek tansiyon tedavisinde kullanılmaktadır.

Günümüzde ilaç maddelerinin kantitatif analizleri ve kalite kontrollerinde olduğu gibi, stabilitelelerinin incelenmesinde de yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi yaygın olarak diğer analitik yöntemlerin yerini almaktadır.

Bu çalışmada, lisinopril'in sulu çözeltideki stabilitesinin pH ile olan ilişkisinin HPLC yöntemi ile incelenmesi amaçlanmıştır. Ayırma C₁₈ kolon kullanılarak ters faz HPLC sistemi ile yapılmıştır.

2. GENEL BÖLÜM

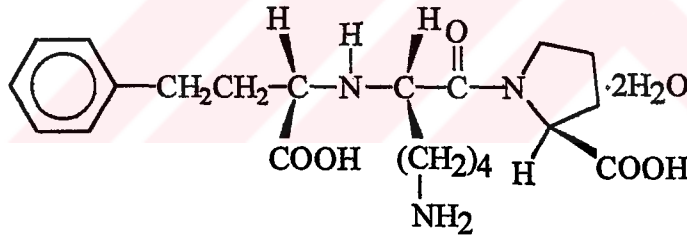
2.1 Lisinopril Hakkında Genel Bilgiler

Tarihi ve tedavi edici özellikleri : Enalaprilat'ın lisin analogu olan lisinopril uzun etkili anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörüdür. Merck Sharp & Dohme Research Lab.'da bulunmuş ve geliştirilmiş olan lisinopril'in hipertansiyonu tedavi edici etkisi olduğu ve kalp sıkışmasına karşı yararlı olduğu bildirilmiştir. Lisinopril'in sentezi, fiziksel ve kimyasal özellikleri ve analiz yöntemleri ayrıntılı olarak incelenmiştir (Ip vd., 1992).

Kimyasal Adı :

- (a) L - Prolin, 1 - [N² - (1 - karboksi - 3 - fenil propil) - L - lisil] - dihidrat, (S) -
 (b) 1 - [N² - [(S) - 1 - karboksil - 3 - fenil propil] - L - lisil] - L - prolin dihidrat

Formül :



Kapalı formül : C₂₁H₃₁N₃O₅ · 2H₂O

Mol ağırlığı : 441,52

Elementel analizi : % 57,13 C; % 7,99 H; % 9,52 N; % 25,36 O

Ticari isimleri : Privinil, Zestril, Carace, Novatec, Acerilin.

2.1.1 Fiziksel özellikleri

Görünüş : Beyaz, kristalize, kokusuz toz.

Nem çekme özelliği : Lisinopril' in nem çekme özelliği son derece azdır.

Çözünürlük : Lisinopril'in oda sıcaklığında çeşitli çözücülerde çözünürlüğü Cetvel 2.1'de verilmiştir.

Cetvel 2.1 Lisinopril' in çözünürlüğü (Ip vd., 1992)

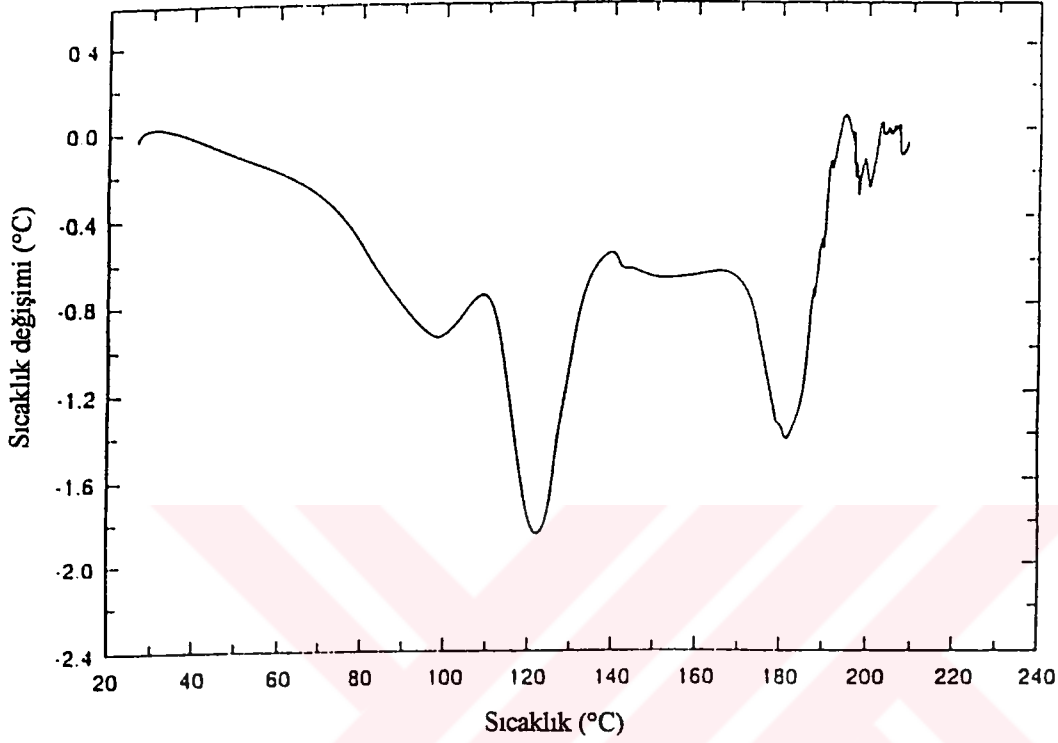
ÇÖZÜCÜ	ÇÖZÜNÜRLÜK (mg/ml)
Su	97
Metanol	14
Etanol	< 0,1
Aseton	< 0,1
Asetonitril	< 0,1
Kloroform	< 0,1
N, N - Dimetilformamid	< 0,1

E.N. : 182 °C

Dağılma katsayısı : Lisinopril'in 0,1 M pH = 7 fosfat tamponu / n - oktanol sistemindeki dağılma katsayısı, oda sıcaklığında $10,2 \pm 5$ olarak saptanmıştır (Ip vd., 1992).

Özgül çevrilmesi : Optikçe aktif bir madde olan lisinopril üç adet kiral merkezi içermektedir. İlaç olarak SSS izomeri kullanılmaktadır. 0,25 M pH = 6,4 çinko asetat'daki %1' lik çözeltisinin $[\alpha]^{25}_{405\text{nm}}$ ve $[\alpha]^{25}_{436\text{nm}}$ özgül çevirme açıları sırasıyla 120° ve 96° dir. (Ip vd., 1992)

Termal özellikleri : Şekil 2.1’de lisinopril’in vakumdaki diferansiyel termal analiz eğrisi görülmektedir. Bu eğride 98° ve 122° lerdeki minimumlar birer molekül su kaybına, 182° deki minimum ise erimesine ait endotermelerdir.



Şekil 2.1 Lisinopril’in diferansiyel termal analiz eğrisi (DTA) (Ip vd., 1992)

Ayrışma sabitleri : Lisinopril’in 25 °C de sulu çözeltide potansiyometrik asit - baz titrasyonları ile saptanmış olan ayrışma sabitleri;

$$pK_{a1} = 2,5$$

$$pK_{a2} = 4,6$$

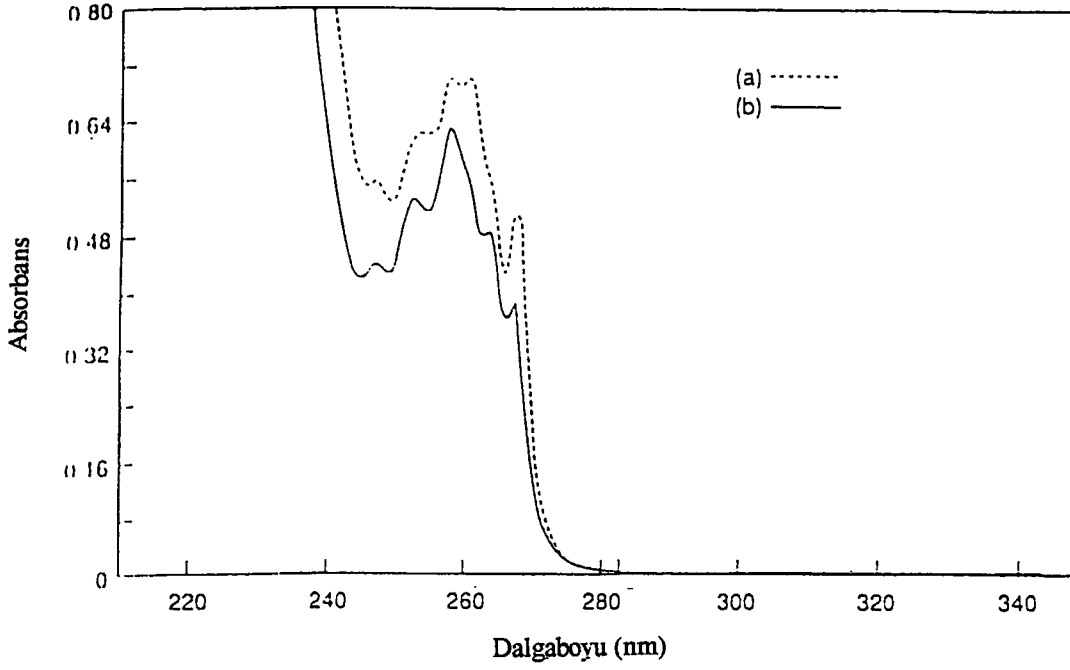
$$pK_{a3} = 7,0$$

$$pK_{a4} = 10,1$$

dir (Ip vd., 1992).

2.1.2 Spektral özellikleri

Uv spektrumu : Lisinopril’ in 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl çözeltilerindeki UV spektrumları Şekil 2.2 ’de verilmiştir (Ip vd., 1992).



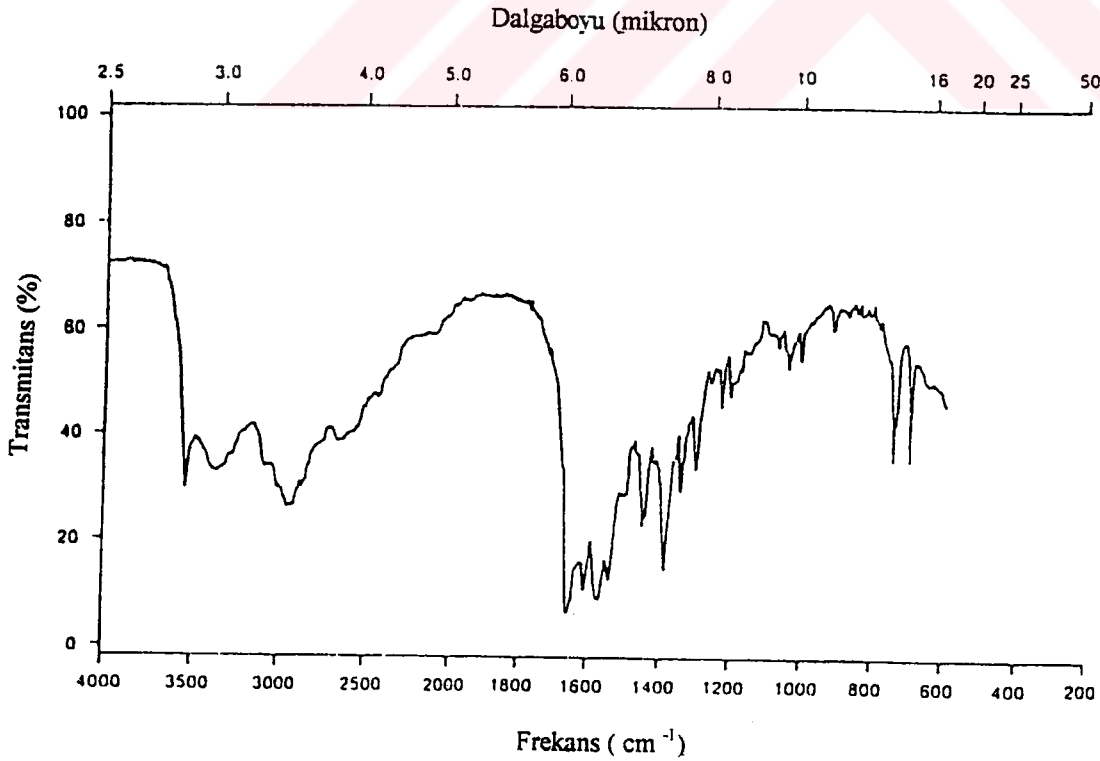
Şekil 2.2 Lisinopril'in 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl 'deki absorpsiyon spektrumları

(a) 0,1 N Sodyum Hidroksit

(b) 0,1 N Hidroklorik Asit

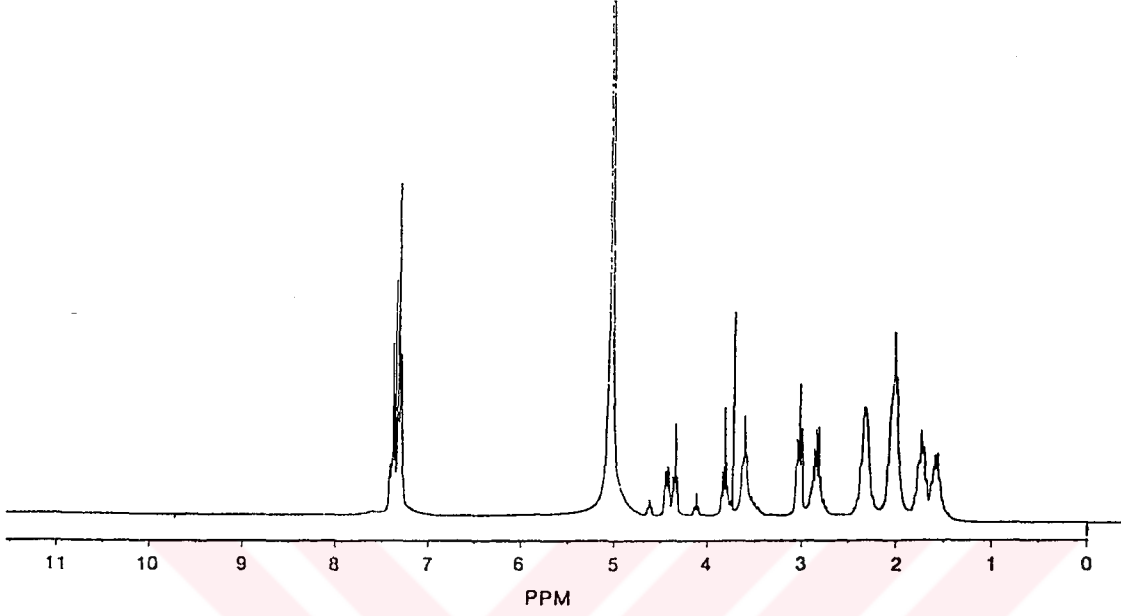
(Ip vd., 1992)

IR spektrumu : Lisinopril'in KBr tableti ile çekilmiş olan IR spektrumu Şekil 2.3'de görülmektedir.

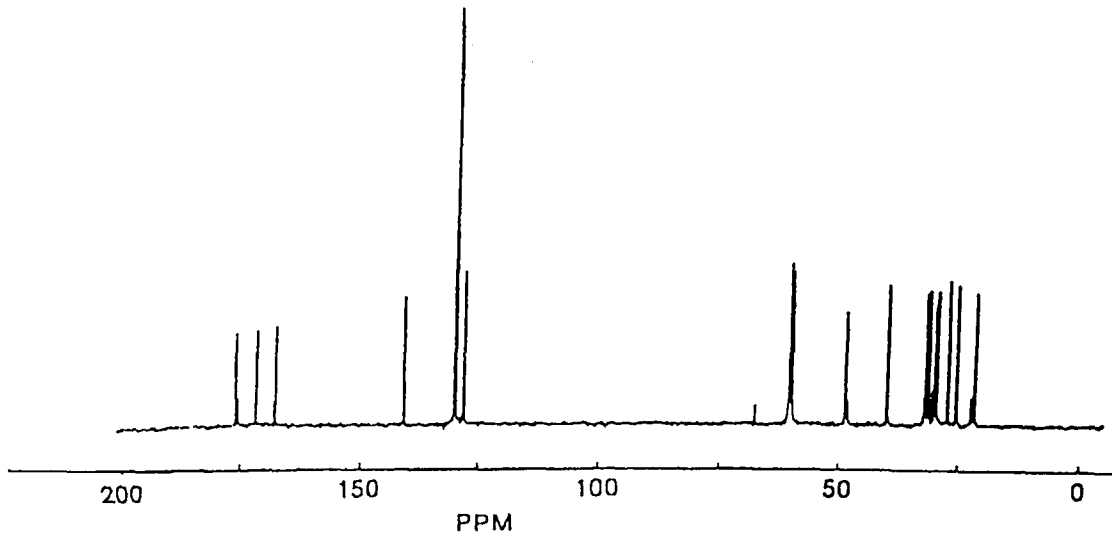


Şekil 2.3 Lisinopril'in IR absorpsiyon spektrumu (Ip vd., 1992)

NMR spektrumu : Döteryum klorürün, döteryum oksitteki 1 N çözeltisinde hazırlanmış % 10 'luk lisinopril çözeltisinin proton NMR spektrumu ve ^{13}C NMR spektrumu sırasıyla Şekil 2.4 ve Şekil 2.5' de gösterilmektedir (Ip vd., 1992).

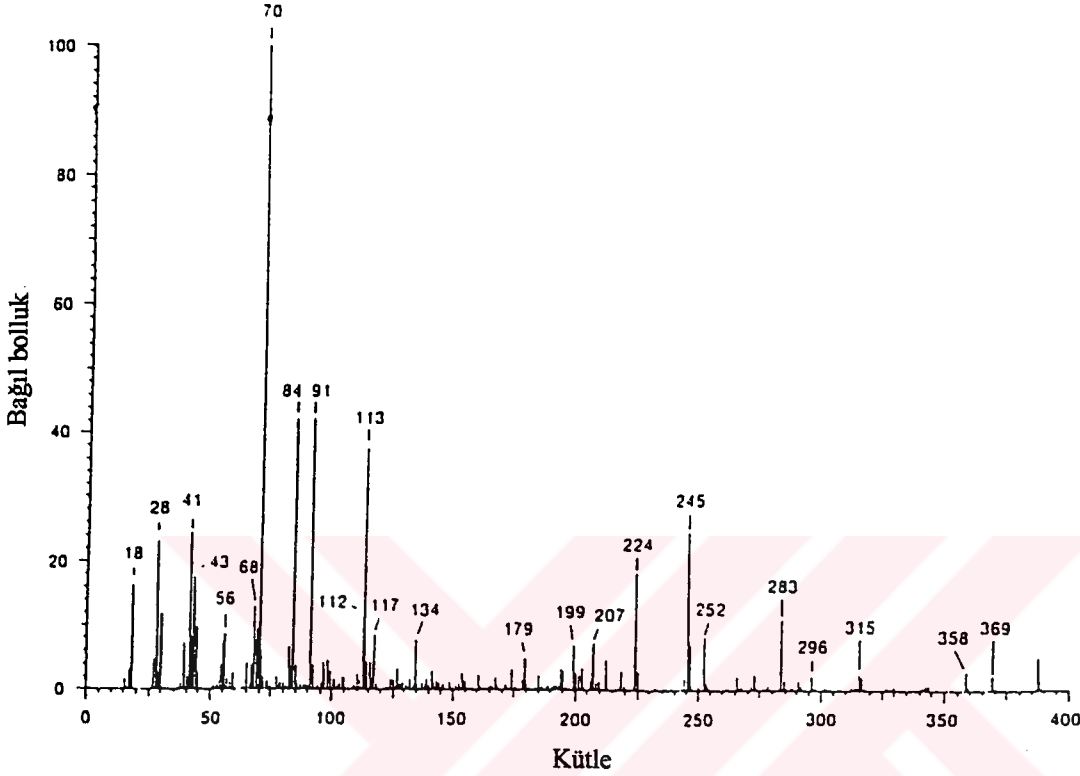


Şekil 2. 4 Lisinopril'in proton NMR spektrumu (Ip vd., 1992)



Şekil 2.5 Lisinopril'in ^{13}C NMR spektrumu (Ip vd., 1992)

Kütle spektrumu : Lisinopril'in elektron çarpıtırma kaynağı kullanılarak alınmış kütle spektrumu Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6 Lisinopril' in elektron çarpıtırma kaynağı kullanılarak alınmış kütle spektrumu
(Ip vd., 1992)

2.1.3 Farmakolojik özellikleri

Lisinopril yüksek tansiyona (hipertansiyon) karşı kullanılan bir ilaç maddesidir. Hipertansiyon, sistemik arteriyal kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp damar hastalığıdır. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlara antihipertansif ilaçlar denir. Bu ilaçlar kalp yetmezliği, beyin kanaması, böbrek bozukluğu v.b. durumlarda ya enjeksiyon yoluyla yada oral yolla hastaya verilir.

Antihipertansif ilaçlar, etki mekanizmaları ve primer etki yerleri dikkate alınarak çeşitli gruplarda toplanabilirler;

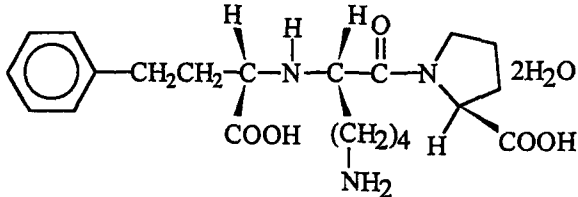
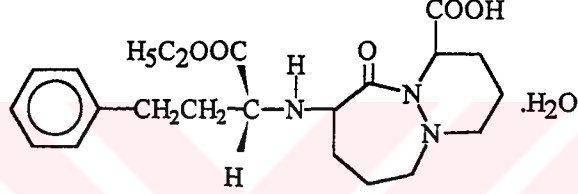
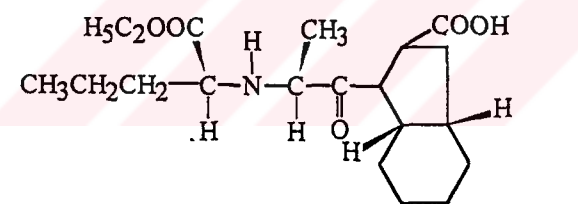
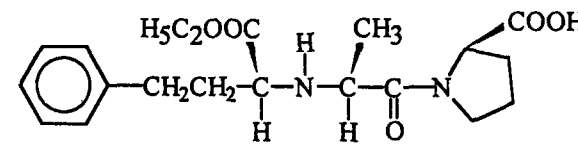
- 1- Adrenerjik nöron blokerleri
- 2- Adrenerjik reseptör blokerleri
- 3- Santral etkili sempatotolitik ilaçlar
- 4- Diğer sempatotolitik ilaçlar
- 5- Doğrudan etkili vazodilatörler
- 6- Kalsiyum kanal blokerleri
- 7- Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
- 8- Hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar
- 9- Diüretik ilaçlar (Dökmeci, 1979)

Lisinopril bu grup içerisinde Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (Angiotensin converting enzim) (ACE) İnhibitörleri grubundan bir ilaç maddesidir. Bu ilaç maddelerinin sentezleri ve kullanımı oldukça yenidir. Bunlardan ülkemizde preparatı üretilen ve pazarlanan ilaç maddeleri ve ticari isimleri Cetvel 2.2' de gösterilmiştir.

Böbreklerde salgılanan Angiotensin I enzimi ACE (Angiotensin converting enzim) vasıtasıyla Angiotensin II'ye dönüşür. Bu enzim Angiotensin I'e göre daha kuvvetli damar büzücü etkiye sahiptir. Bunun sonucunda damarların büzülmesi ile tansiyon yükselmesi meydana gelir. ACE inhibitörleri Angiotensin I 'in Angiotensin II' ye dönüşmesini inhibe ederek plazma ve dokularda Angiotensin II düzeyini azaltır. Dolayısıyla atar ve toplar damarlardaki genişlemeye bağlı kan basıncının (tansiyon) düşmesine neden olur (Conoy, 1992).

Lisinopril'in vücuttaki absorpsiyon ve eliminasyon profilini incelemek amacıyla sağlıklı erkek gönüllülere ağızdan 10 mg lisinopril verilmiş ve serum konsantrasyonları tayin edilmiştir. Serum konsantrasyonunun zamana göre değişimini gösteren eğri 7 saatte bir maksimum göstermiştir (Ip vd., 1992).

Cetvel 2.2 Ülkemizdeki ACE İnhibitörleri (Merck Index, 1990)

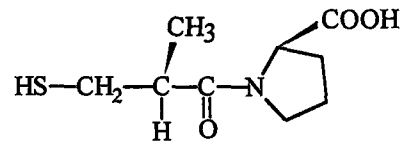
Adı	Formülü	Ticari Adı
Lisinopril		<p>Acerilin Carace Privilin Zestil</p>
Cilazapril		Inhibace
Perindopril		<p>Coversil Electan Procaptan</p>
Enalapril		<p>Erapril Koveril Vazolapril Renitec</p>

Adı

Formülü

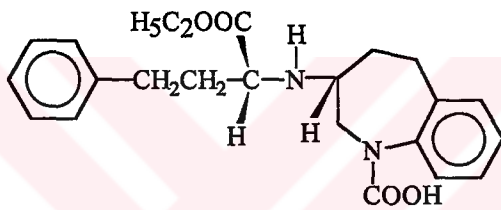
Ticari Adı

Captopril



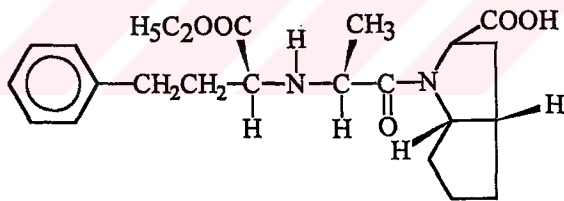
Acediu
Acepri
Capoten
Dilaber

Benazepril



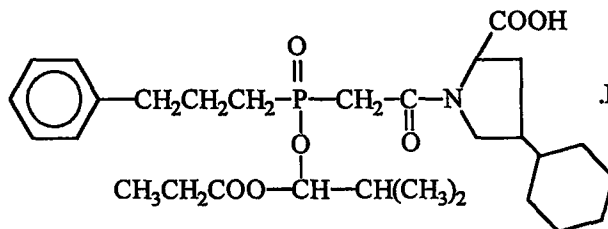
Cibacen

Ramipril



Delix

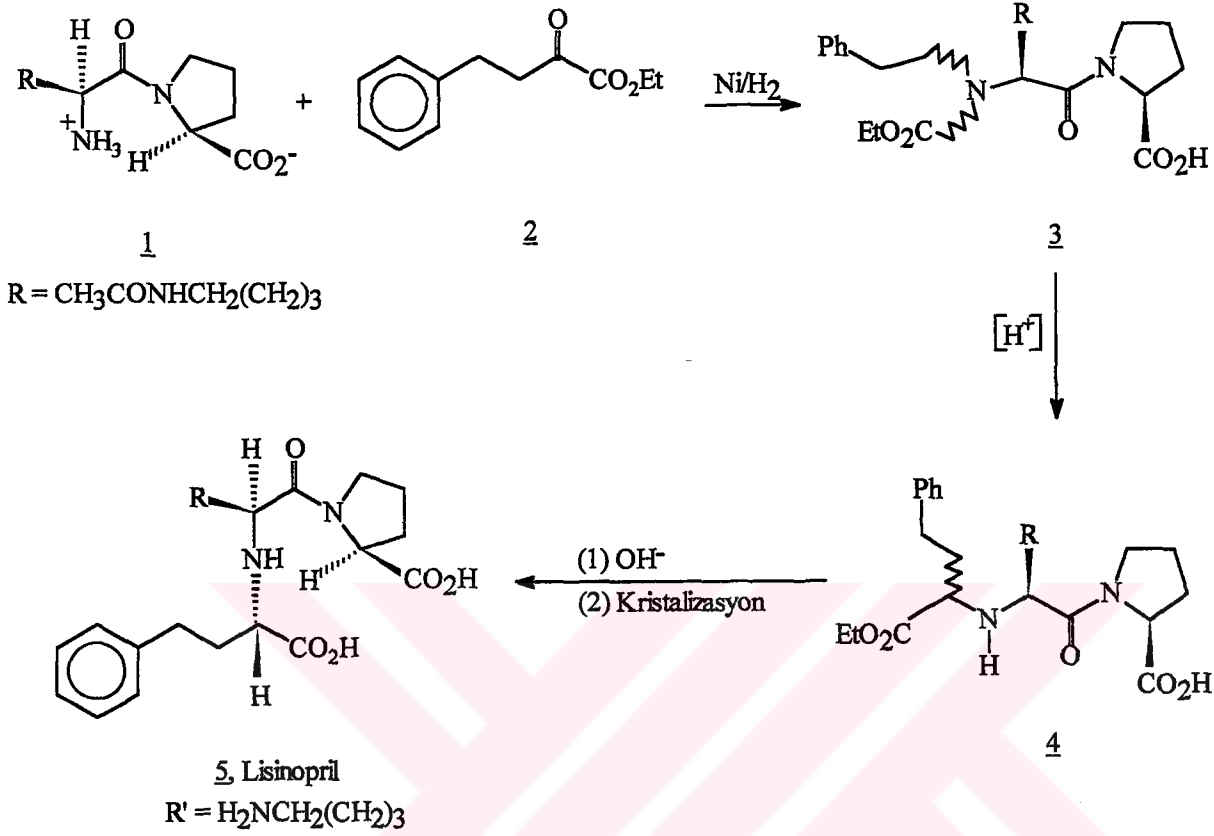
Fosinopril



.Na

Monopril

2.1.4 Sentezi



Şekil 2.7 Lisinopril' in sentezi (Ip vd., 1992)

Bir dipeptid olan Nε - trifloroasetil - L - Lisil - L - prolin' in etil 2 - okso - 4 - fenil butanoat ile Raney Ni üzerinde indirgen alkillenmesi ile Schiff bazı üzerinden meydana gelen diastereoizomer karışımının hidrolizi ve sudan yeniden kristallendirilmesi sonunda lisinopril (SSS) elde edilir (Ip vd., 1992).

2.1.5 Tanınma ve Ayırma Yöntemleri

Lisinopril'in tanınmasında IR spektrumu, ince tabaka kromatografisi (ITK) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisinden (HPLC) yararlanılmıştır.

USP XXIII 'de Lisinopril'in tanınması için IR spektrumu, spesifik çevrilmesi ve 50°C de C_s

kolon ve pH = 5 fosfat tamponu - asetonitril (96 : 4) mobil faz sisteminde 1 ml / dak akış hızındaki alıkonma zamanı verilmiştir.

ITK ile tanınması ve safsızlıklardan ayrılması için silikajel G-60 tabaka ve çeşitli çözücü sistemleri kullanılmıştır. Bu sistemler ve Rf değerleri Cetvel 2.3' de görülmektedir. Püskürtme belirteci olarak Ninhidrin kullanılmıştır.

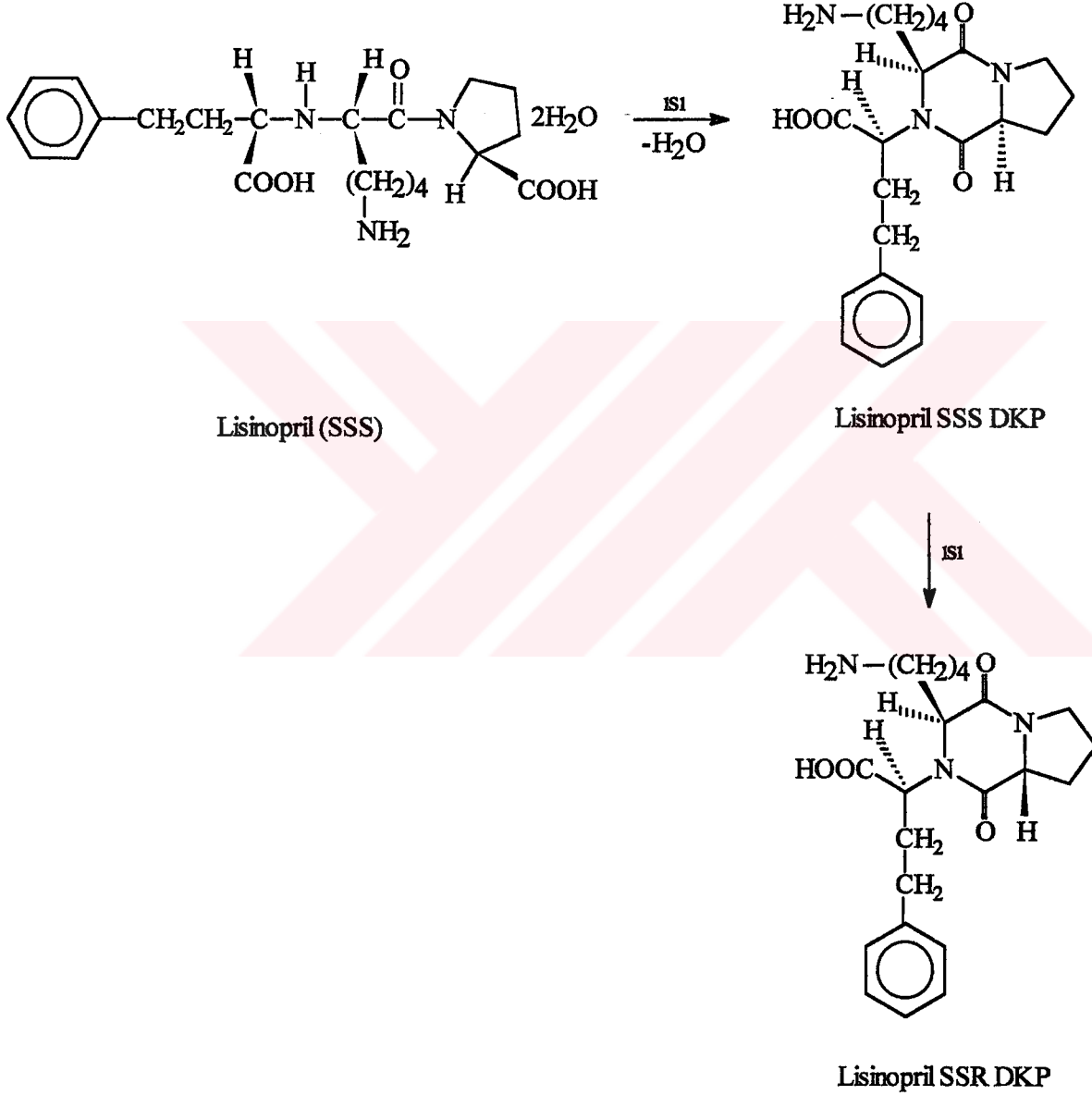
Bu sistemlerden sadece I ve II numaralı olanlar lisinopril'in RSS izomerinden ve üretimi ile ilgili olarak safsızlık olarak içerebildiği 4 - fenil - 2 - amino butirik asid (APBA) den ayrılmasına yarar. III ve IV numaralı sistemler lisinopril'in RSS izomerinden ayrılmasında etkili değildir (Ip vd., 1992).

Cetvel 2.3 Lisinopril'in Çeşitli ITK Sistemlerindeki Rf Değerleri (Ip vd., 1992)

Çözücü Sistemleri	Yaklaşık Rf Değerleri
(I) n - Butanol / toluen / glasiyal asetikasit / su / aseton (1 : 1 : 1 : 1 : 1)	0,34
(II) n - Butanol / su / glasiyal asetikasit (3 : 1 : 1)	0,22
(III) n - Butanol / su / glasiyal asetikasit / etil asetat (1 : 1 : 1 : 1)	0,43
(IV) Kloroform / metanol / derişik amonyum hidroksit (4 : 4 : 1)	0,14 - 0,39

Lisinopril safsızlık olarak üretiminden ileri gelen APBA veya bozunması ile oluşan diketopiperazin izomerlerini içerebilir.

Lisinopril ısı etkisi ile molekül içi dehidratasyona uğrayarak başlıca bozunma ürünü olan diketopiperazin (DKP) 'e dönüşür. Şekil 2.8' de bu reaksiyon görülmektedir.



Şekil 2.8 Lisinopril'in diketopiperazin'in izomer yapılarına termal olarak bozunması
(Ip vd., 1992)

Lisinopril'in gerek bu safsızlıklardan gerekse RSS izomerinden ayrılmasında izokratik ve gradient koşullarda ters faz HPLC sistemleri kullanılmıştır (Ip vd., 1992).

Hammadde halindeki lisinopril'i safsızlıklardan ve bozunma ürünlerinden ayırabilmek için iki yöntem geliştirilmiştir.

Birinci yöntemde; Zorbax (DuPont) RP - 8 (250 x 4,6 mm, 5 µm) kolonda, asetonitril - 0,02 M NaH₂PO₄ (pH = 5) 'dan oluşan mobil fazda ve 50° C kolon sıcaklığında çalışılmıştır. Kolonun 50° C 'ye ısıtılmasının sebebi, oda sıcaklığında görülen pik genişlemesinin bu sıcaklıkta minimum olmasıdır. 35 dakikada % 0 asetonitrilden % 30 asetonitrile doğrusallığın sağlandığı bu gradient çalışmada lisinopril'de safsızlık olarak bulunabilecek RSS izomeri ve APBA veya lisinopril'in bozunma ürünleri olan diketopiperazin'in (DKP) SSS ve SSR izomerlerini ayırmada kullanılabilir. Aynı yöntemdeki % 96 0,02 M NaH₂PO₄ (pH = 5) ile % 4 asetonitrilin kullanıldığı izokratik çalışmada ise ancak lisinopril RSS izomeri ve APBA' den ayrılabilir. Bu izokratik ayırma Amerikan Farmakopesinde lisinopril' in tanınmasında ve hammaddesinin saflık tayininde kullanılmıştır (USP XXIII, 1995)

İkinci yöntemde; RP - 1 (Hamilton) (250 x 4,6 mm, 10 µm) kolonda, 0,02 M NaH₂PO₄ (pH = 6,8) - 0,01 M NaH₂PO₄ (pH = 3,0) - asetonitrilden oluşan mobil fazda ve 50 °C kolon sıcaklığında çalışılmıştır. % 96 0,02 M NaH₂PO₄ (pH = 6,8) ile % 4 asetonitrilin kullanıldığı izokratik çalışmada lisinopril 'in RSS izomeri ve APBA 'den ayrılması sağlanır. (A) 0,02 M NaH₂PO₄ (pH = 6,8) ve (B) asetonitrilin (97,5 : 2,5) kullanıldığı gradient çalışmada 10 dakika süreyle A - B (97,5 : 2,5) mobil faz geçirilmiş, 30 dakika da A - B (70 : 30) oranında doğrusal gradient uygulanmıştır. Bu sistemde lisinopril RSS izomeri ve diketopiperazinin SSS ve SSR izomerinden ayrılabilir. Yapılan ikinci gradient çalışmada, (A) 0,015 M NaH₂PO₄ (pH = 3,0) ve (B) asetonitril (95 : 5) kullanılmıştır. 10 dakika süreyle A - B (95 : 5) oranında mobil faz geçirildiği, A - B (70 : 30) oranında mobil faz geçirildiği 30 dakika süresince doğrusal gradient gözlenmiştir. Bu sistemde ise lisinopril 'in APBA 'den ve tek pik olarak diketopiperazinin SSS ve SSR izomerinden ayrılması sağlanabilir.

Bu çalışmaların tümünde 210 - 215 nm UV detektör kullanılmıştır.

2.1.6 Miktar tayini yöntemleri

2.1.6.1 Titrimetrik yöntemler

Lisinopril gerek sulu ortamda NaOH ile gerekse susuz ortamda perklorik asitle potansiyometrik yöntemle titre edilmiştir. Her iki yöntemde titrasyon bir eşdeğer noktaya kadar yapılmıştır (Ip vd., 1992).

2.1.6.2 Spektrofotometrik yöntemler

Lisinoprilin yapısında bulunan primer amin grubunun NQS (1,2 Naftakinon 4 - sülfonik asit Na tuzu) ile meydana getirdiği sarı renkli türevden yararlanarak spektrofotometrik yöntemle miktar tayini yapılmıştır (İskender ve Yarenci, 1993).

Bu araştırmacılar diğer bir çalışmalarında tabletlerdeki lisinopril'in spektrofluorometrik tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu amaçla lisinopril tabletler su ile ekstre edildikten sonra pH 9,5 da fluoreskamin ile reaksiyona sokularak fluoresans türev oluşturulmuştur. Bu yöntemde tayin sınırı 50 ng.ml^{-1} dir (İskender ve Yarenci, 1996).

2.1.6.3 Sıvı kromatografik yöntemler

Katı dozaj formundaki lisinopril'in analizi için 6 HPLC sistemi geliştirilmiştir (Ip vd., 1992).

Tekli preparatlarda stabilite için geliştirilen ilk üç yöntemde Lichrosorb RP - 8 (HewlettPachard) (200 x 4,6 mm, $10\mu\text{m}$) kolonu kullanılmış ve kolon sıcaklıkları 50°C 'ye ayarlanmıştır. Birinci yöntemde asetonitril - 0,004 M fosfat tamponu (45 : 55) (pH = 2) mobil fazı , ikinci yöntemde metanol - 0,04 M fosfat tamponu (45 : 55) (pH = 2) mobil fazı, üçüncü yöntemde ise asetonitril - 0,03 M fosfat tamponu (35 : 65) (pH = 2) mobil fazı kullanılmıştır ve her üç yöntemde de lisinopril'in esas bozunma ürünü olan SSS diketopiperazin (DKP) ve proses safsızlığı olan APBA 'dan ayrılması geliştirilmiştir.

Dördüncü yöntemde HCTZ ile kombine preparatla stabilite için Lichrosorb RP - 8 (E. S Industries) (200 x 4,6 mm, $10\mu\text{m}$) kolonu kullanılmış ve kolon sıcaklıkları 50°C 'ye ayarlanmıştır. Mobil faz olarak asetonitril - 0,005 M fosfat tamponu (35 : 65) (pH = 2) kullanılarak hidroklorotiazidin daha iyi ayrılması sağlanmıştır. Dördüncü yöntemde biraz daha

uzun kolon (300 x 4,6 mm) kullanılarak ve uzunluğun arttırılması sonucunda pik etkinliğine bağlı olarak kolon sıcaklığının 40°C 'ye indirileceği bulunmuştur. Bu yöntem ayrıca lisinopril'in esas bozumna ürünü olan diketopiperazin (DKP) izomerlerinden SSS'in SSR' den çok iyi bir şekilde ayrılmasına olanak sağlar. Lisinopril ve SSS diketopiperazin (DKP)' in alıkonma zamanlarının , metanoldeki fosfat konsantrasyonunun bir fonksiyonu olabileceği bulunmuştur (Şekil 2.9). Benzer veri asetonitrilde de gözlenmiştir.

Uniformluk testi, çözünme testi ve tekli preparat için geliştirilen beşinci yöntemde Hypersil ODS (Shandon) (50 x 4,6 mm, 10µm) kolon kullanılmış ve kolon sıcaklığı 60°C' ye ayarlanmıştır. Mobil faz olarak metanol - 0,02 M fosfat tamponu (12 : 88) (pH = 2) kullanılarak lisinopril'in ayrılması sağlanmıştır.

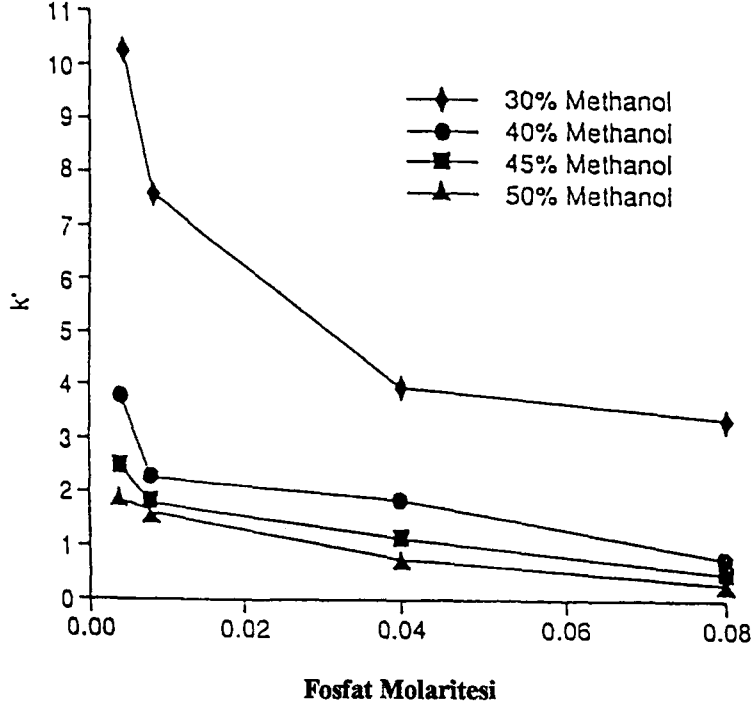
Altıncı yöntemde ise Lichrosorb RP - 8 (HewlettPachard) (200 x 4,6 mm, 10µm) kolonu kullanılmış ve kolon sıcaklıkları 50°C 'ye ayarlanmıştır. Mobil faz olarak asetonitril - 0,04 M fosfat tamponu (15 : 85) (pH = 2) kullanılarak lisinopril'in ayrılması sağlanmıştır.

Bu yöntemlerin tümünde 210 - 215 nm UV detektör kullanılmıştır. (Ip vd., 1992)

USP XXIII'de lisinopril tabletlere ait monografide gerek miktar tayini gerekse üniformluk testi için III nolu yöntemdeki koşullar önerilmiş ancak hareketli faza iyon çifti belirteci olarak Na hekzan sülfonat ilave edilmiştir. Ayrıca sıcaklık 50°C yerine 40°C ' dir.

Sane vd. (1992) farmasotik preparatlardaki lisinopril ve hidroklorotiazid'in eş zamanlı tayinini HPLC yöntemi ile yapmışlardır. Bu çalışmada, iç standart olarak isoniazid kullanılmıştır. Su - asetonitril - trietilamin (85 : 15 : 0,1) içeren mobil fazı kullanarak ters-faz ODS kolonunda kromatografi etmişlerdir. Sulu fazın pH'ı fosforik asit kullanılarak 5,0'e ayarlanmıştır.

Wong ve Charles (1995), idrarda lisinopril'in tayinini önce katı faz ekstraksiyonu ile ön zenginleştirme yaparak ve ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. İdrarı HNO₃ ile asitlendirmişler ve iç standart olarak analaprilat kullanmışlardır. 15 mM KH₂PO₄ - asetonitril - metanol - THF (92 : 6 : 1 : 1) ile hazırlanan mobil faz, pH 2,9 da Bondapak C₁₈ kolonda, 45°C de ve 206 nm de analizleri gerçekleştirmişlerdir.



Şekil 2.9 Lisinopril'in alkonması üzerine fosfat konsantrasyonunun etkisi

2.1.6.4 Gaz kromatografik yöntem

Avadhanulu ve Pantulu (1993) farmasotik preparatlardaki lisinopril 'in gaz-sıvı kromatografik tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada % 5 ov-1 kolonu ve alev iyonlaştırma detektörü kullanılmıştır. İç standart olarak diazepam veya parasetamol kullanmışlardır.

2.1.6.5 Diğer yöntemler

Lisinopril'in organizmada absorpsiyon, dağılıma ve eliminasyon kinetiklerinin incelenmesi için yapılan çalışmalarda bu maddenin plazma ve idrar gibi biyolojik sıvılardaki analizlerinde radyo immüno assay (RIA) (Worland ve Jarrott, 1986; Jackson vd., 1987; Johnston vd., 1989; Komatsu vd, 1989, 1990; Tike vd., 1992) ve Fluoro enzimatik (Shepley vd., 1988; Ip vd., 1992) yöntemler de kullanılmıştır. Fluro enzimatik analizde o - ftaldialdehit ile türevlendirme yapılmıştır. Uyarma ve fluoresans dalga boyları 365 / 490 nm dir

Tike vd., (1992) anjiotensin dönüştürme enzim inhibitörlerinin bio-yararlılığını incelemek için lisinopril'i (10 mg) 8 sağlıklı erkek denek üzerinde tek doz verilerek incelenmişler ve plazma örneklerini radyo immüno assay (RIA) yöntemini kullanarak analiz etmişlerdir.

Qin vd. (1993), kapiler elektroforezin bir türü olan misel elektrokinetik kromatografi ile lisinopril ve stereo izomerlerinin ayrılmasını incelemişlerdir.

Aycan vd., (1994) lisinopril'in polarografik özellikleri çeşitli pH 'larda incelenerek reversibilitesi, reaksiyonda kullanılan elektron sayısı, yarı - dalga potansiyelini belirlenmişlerdir. Bu çalışmalara göre saptanan optimum koşullarda, lisinopril içeren tabletlerin analizlerini yapmışlar ve sonuçları spektrofotometrik yöntem ile bulunanlarla istatistik olarak karşılaştırmışlardır.



3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Çalışmada Kullanılan Maddeler ve Çözeltiler

3.1.1 İlaç maddesi

İlaç maddesi olarak farmasotik saflıkta Lisinopril kullanıldı *.

3.1.2 Kimyasal maddeler

Trietilamin, fosfat asiti, sodyum dihidrojen fosfat, disodyum hidrojen fosfat, potasyum klorür**. HPLC'de kullanılabilecek saflıkta metanol ve asetonitril ***.

3.1.3 Çözeltiler

1000 µg / ml'lik lisinopril çözeltisi; 0,011 g lisinopril suda çözülür ve su ile 10 ml'ye tamamlanır.

Tampon çözeltiler ; Çeşitli pH larda 0,02 M tampon çözeltiler için aşağıdaki çözeltilerden hazırlandı.

pH: 2,0	H ₃ PO ₄
pH: 2,5	H ₃ PO ₄ - NaH ₂ PO ₄
pH: 3,0 - 4,0	H ₃ PO ₄ - NaH ₂ PO ₄
pH: 5,0	NaH ₂ PO ₄ - Na ₂ HPO ₄
pH: 6,0	NaH ₂ PO ₄ - Na ₂ HPO ₄
pH: 7,0	NaH ₂ PO ₄ - Na ₂ HPO ₄
pH: 8,0	Na ₂ HPO ₄ - Na ₃ PO ₄

Bu çözeltilerin iyonik şiddeti KCl ilavesiyle eşitlendi (I = 0,03).

Mobil faz ; pH 5 fosfat tamponu - asetonitril - trietilamin (85 : 15 : 0,1)karışımı kullanıldı.

* İlsan ilaç Sanayi Tic. A.Ş.

** Merck, E. Merch A.G. Darmstadt

*** HPLC kalitede, J.T.Baker

3.1.4 Kullanılan aletler ve diğer gereçler

- 1- 3,9 µm çapında 30 cm boyunda 10 µm Bondapak C₁₈ ters faz kolon, 501 model yüksek basınç pompası, 486 model absorbands detektör, bilgisayar ve yazıcıdan (Star LC-20) oluşan sıvı kromatografi cihazı (Waters)
- 2- Spektrofotometre (Philips PU 8700)
- 3- Kuvars Küvet (Hellma, 100-QS)
- 4- Yazıcı (Philips)
- 5- Ultra pure su cihazı (Elga)
- 6- pH metre (Jenway 3040 Ion Analyser)
- 7- Etüv (Heraeus)
- 8- Isıtıcı (Nüve HP 121)
- 9- Magnetik karıştırıcı (Chiltern HS 31)
- 10- Ultrasonik banyo (Azaklı)
- 11- Analitik terazi (Sartorius) 0,1 mg' a kadar duyarlı
- 12- Enjektör (Hamilton 25µl)
- 13- Termometre
- 14- Su trompu
- 15- Cam kapaklı, ağzı şilifli, 12ml'lik tüpler ve diğer cam eşyalar

3.2 Yöntemler

3.2.1 Kromatografik analiz

C₁₈ kolon ve pH 5 fosfat tamponu - asetonitril - trietilamin (85 : 15 : 0,1) karışımından oluşan mobil faz ile hazırlanan kromatografik sistemde yapılan ayırmadan sonra 209 nm dalga boyuna ayarlanmış olan absorbands detektöründe saptama yapıldı. Mobil fazın akış hızı 1 ml / dak. olarak ayarlandı (1100 PSI basınç). Stabilitate çalışmasında hazırlanmış olan çözeltiden 10 µl sisteme enjekte edildi. Her çalışma 3 kez tekrarlandı. Elde edilen kromatogramlar sonuçlar bölümünde verilmiştir.

3.2.2 Stabilite çalışması

Çeşitli pH'lardaki tampon çözeltileri içinde 100 µg / ml konsantrasyonda hazırlanmış olan lisinopril çözeltileri 80° C ' de bir etüvde farklı sürelerde bekletildi. Bekletme süresi bitiminde buz banyosunda soğutma yapıldı. Her bir çözeltiden 10 µl sıvı kromatografa enjekte edildi.

3.2.3 Standart eğrinin hazırlanması

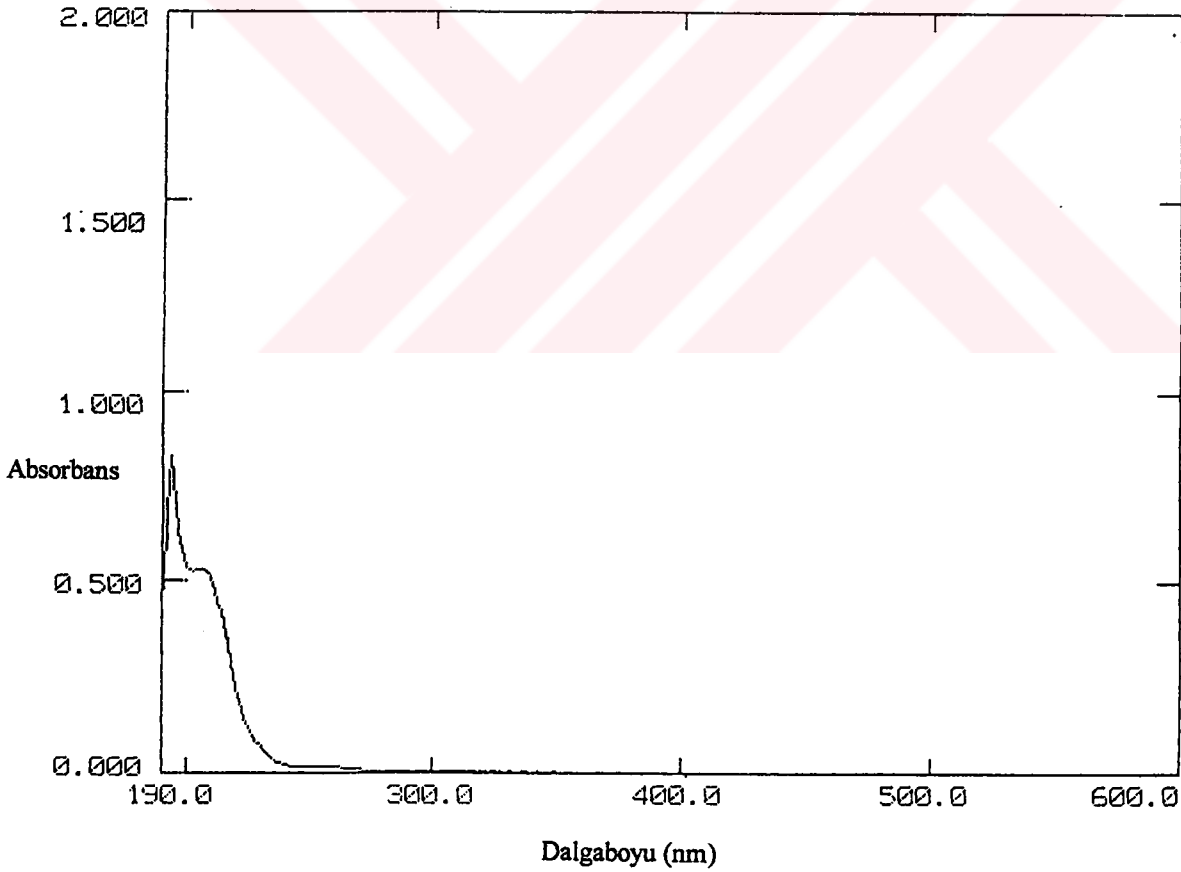
Lisinopril konsantrasyonundaki değişim ile pik alanları arasındaki ilişkiyi incelemek üzere 1000µg / ml konsantrasyonundaki lisinopril çözeltisinden 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 ve 1ml'lik hacimler alınarak 10ml'ye su ile tamamlandı. Böylece 20 - 40 - 60 - 80 ve 100 µg / ml' lik çözeltiler hazırlandı. Her bir örnekten 10µl'lik 4 'er enjeksiyon yapıldı. Her bir konsantrasyona ait pik alanı değerlerinin ortalaması (\bar{A}) ve bağıl standart sapma [(S / \bar{A}) x 100] hesaplandı. Ortalama pik alanı değerleri ile konsantrasyon değerleri arasındaki ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisine ait regresyon denklemi en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Sonuçlar 4.1.2'de verilmiştir.

4. SONUÇLAR

4.1 Kromatografik Analiz

4.1.1 Ayırma

Stabilite çalışmaları sonunda elde edilen çözeltilerdeki lisinopril ve bozunma ürünlerini ayırmak ve lisinopril konsantrasyonunu tayin etmek için Sane vd., (1992) tarafından lisinopril'in miktar tayininde önerilmiş olan ters faz sistemi kullanıldı. Bu sistem C₁₈ kolon ile Bölüm 3.1.3'de belirtilen mobil fazdan oluşmaktadır. Detektör dalga boyunu saptamak üzere lisinopril'in mobil fazda alınmış olan UV spektrumu Şekil 4.1'de görülmektedir. Görüldüğü gibi absorpsiyon maksimumu 205 nm'dedir. Ayrıca 209 nm de bir omuz mevcuttur. Çalışmalarımızda 209 nm tercih edilmiştir.



Şekil 4.1 Lisinopril'in UV spektrumu

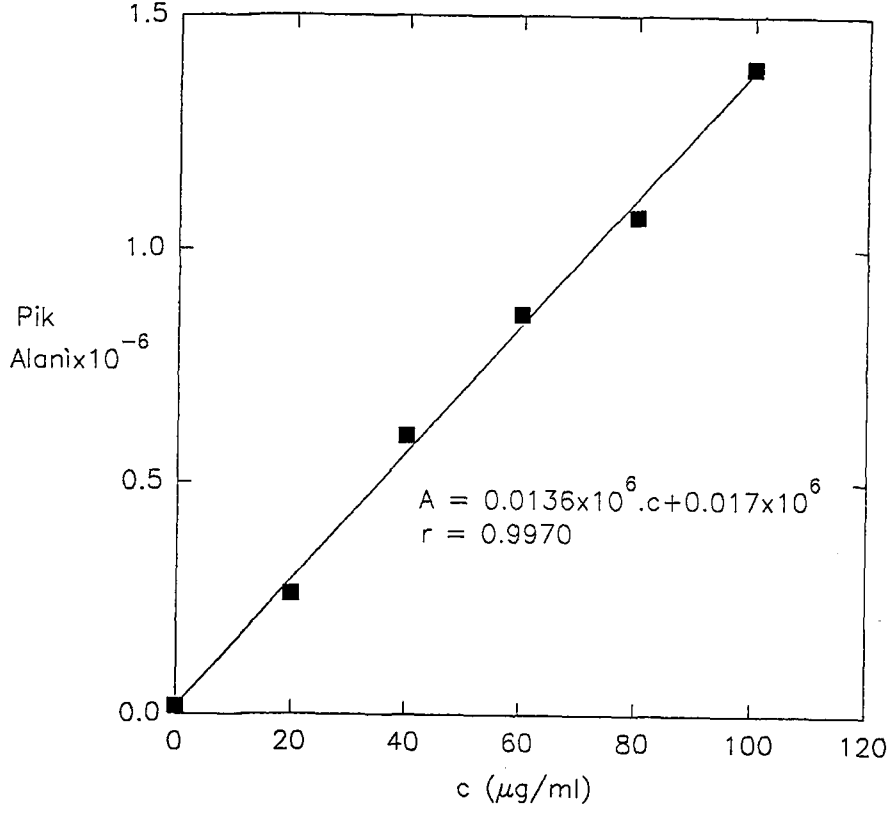
4.1.2 Standart eğri

Bölüm 3.2.3’de anlatıldığı gibi yapılarak, her bir konsantrasyon için bulunan pik alanı değerleri ve bu değerlerle oluşturulan ölçü eğrisinin regresyon analizlerine ait parametreler Cetvel 4.1 ’ de gösterilmektedir.

Ortalama pik alanı değerlerinden çizilen ölçü eğrisi ve bu eğriye ait doğru denklemi Şekil 4.2’de gösterilmektedir.

Cetvel 4.1 Standart eğrinin pik alanı değerleri ve regresyon analizlerine ait parametreler

Lisinopril ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	$A_1 \times 10^{-6}$	$A_2 \times 10^{-6}$	$A_3 \times 10^{-6}$	$A_4 \times 10^{-6}$	$\bar{A} \times 10^{-6}$	S	%S
100	1,31	1,43	1,36	1,49	1,39	$0,678 \times 10^5$	4,879
80	1,07	1,12	1,02	1,07	1,07	$0,408 \times 10^5$	3,815
60	0,84	0,86	0,82	0,92	0,86	$0,432 \times 10^5$	5,024
40	0,61	0,56	0,63	0,60	0,60	$0,294 \times 10^5$	4,906
20	0,28	0,26	0,26	0,24	0,26	$0,163 \times 10^5$	6,280
$A = 0,013650 \times 10^6 c + 0,017 \times 10^6 \quad r = 0,997041$							



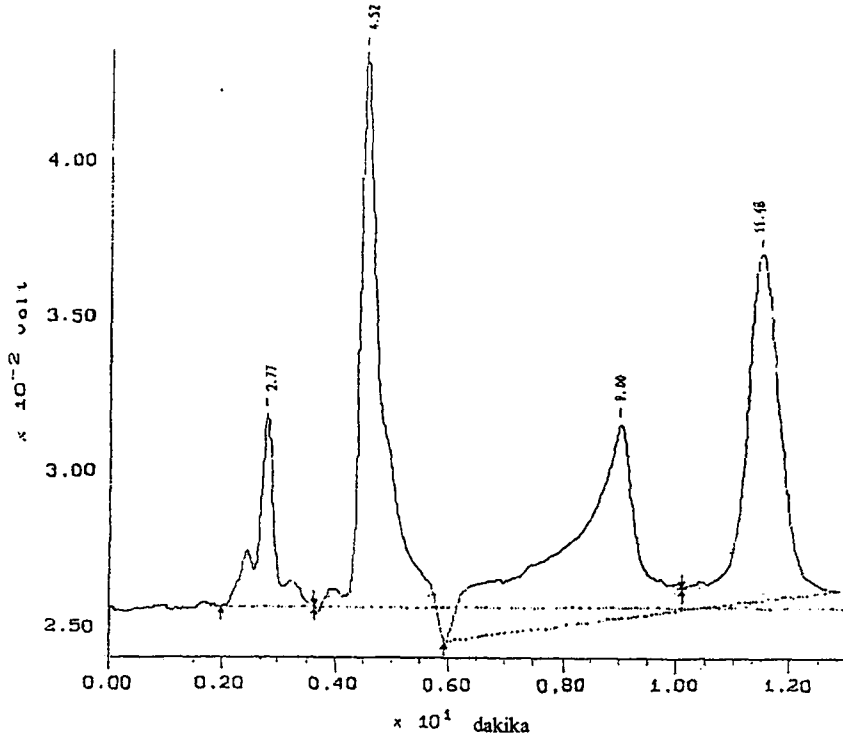
Şekil 4.2 Standart eğri

4.2 Stabilite çalışmaları

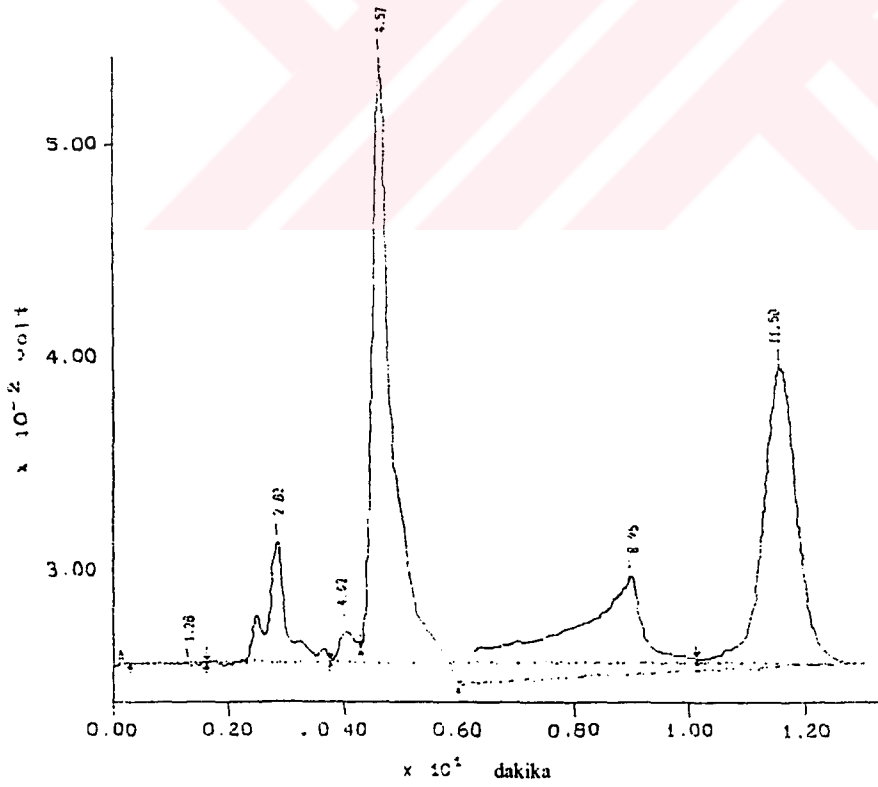
4.2.1 Kromatogramlar

Bölüm 3.2.2 de anlatılan stabilite çalışmaları pH = 2 - 8 arasında, 80°C de, 72, 96 ve 120 saat bekletilerek yapıldı. Şekil 4.3 - 4.10 da çeşitli pH larda 80°C de 120 saat bekletilmiş olan çözeltilere ait kromatogramlar gösterilmektedir. Şekil 4.11 da ise bozunmaya uğramamış lisinopril'e ait kromatogram verilmiştir. 4,5 dakika civarında görülen pik lisinopril'e aittir.

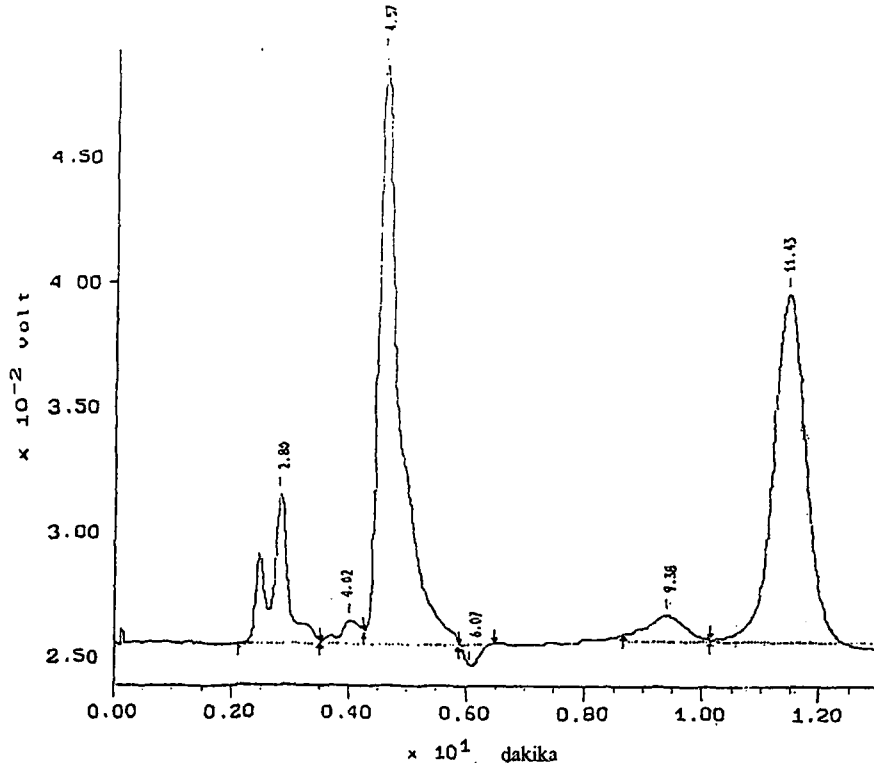
Kromatogramlar incelendiğinde görüldüğü gibi, en yüksek bozunma pH = 2 'de meydana gelmiştir. Kromatogramlarda yaklaşık 2,8 , 9,0 ve 11,5 dakikalarda görülen piklerin alanları pH = 2 'de en büyük değerleri almıştır, pH değeri yükseldikçe alanlar küçülmektedir.



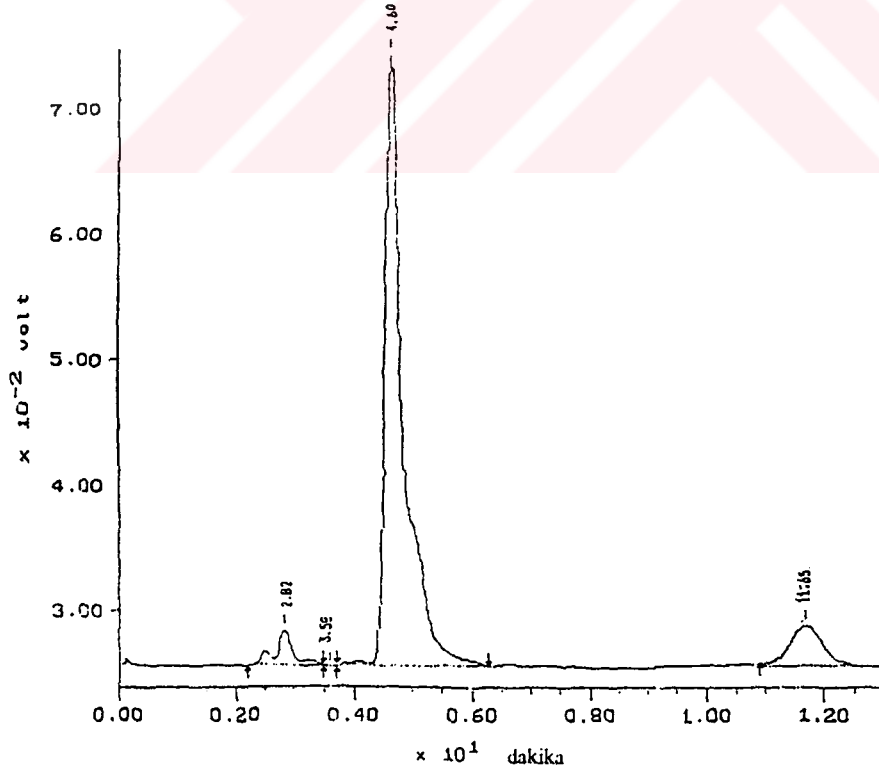
Şekil 4.3 pH = 2'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



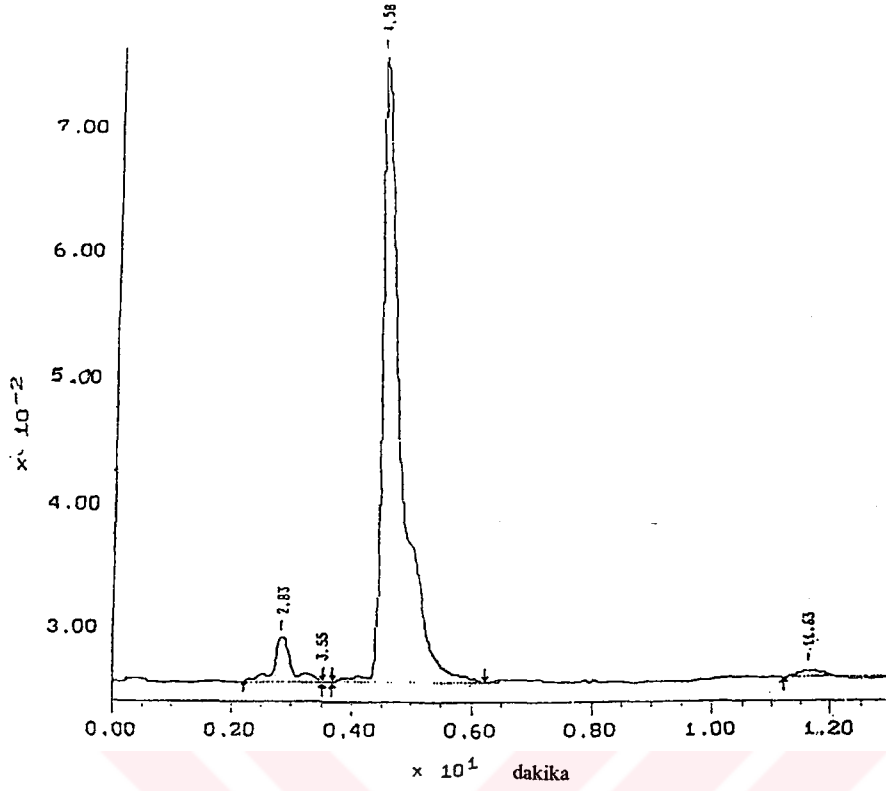
Şekil 4.4 pH = 2,5'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



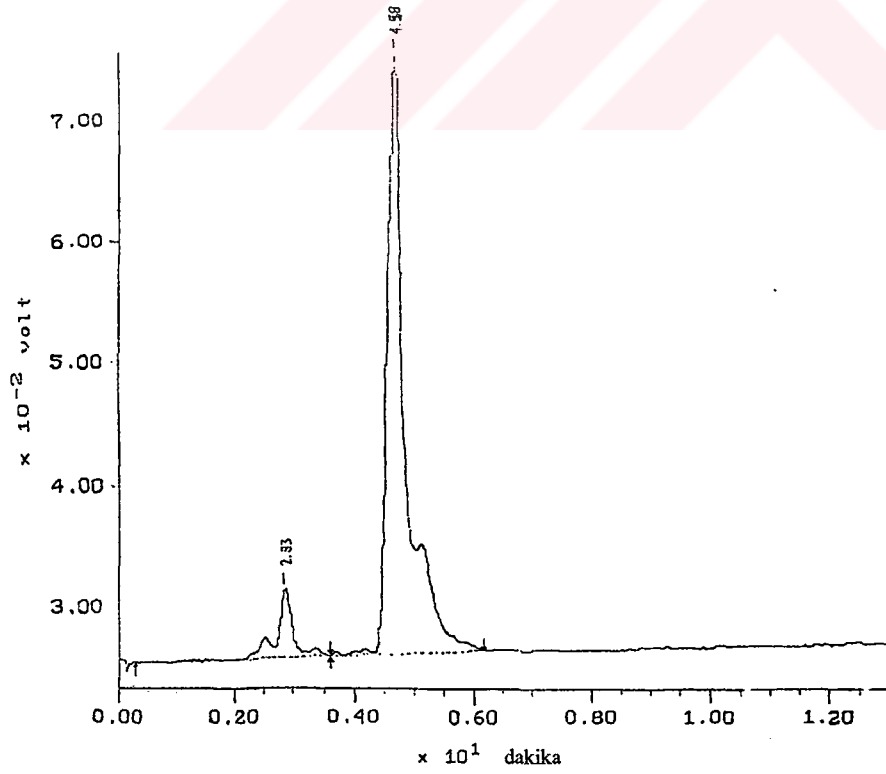
Şekil 4.5 pH = 3'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



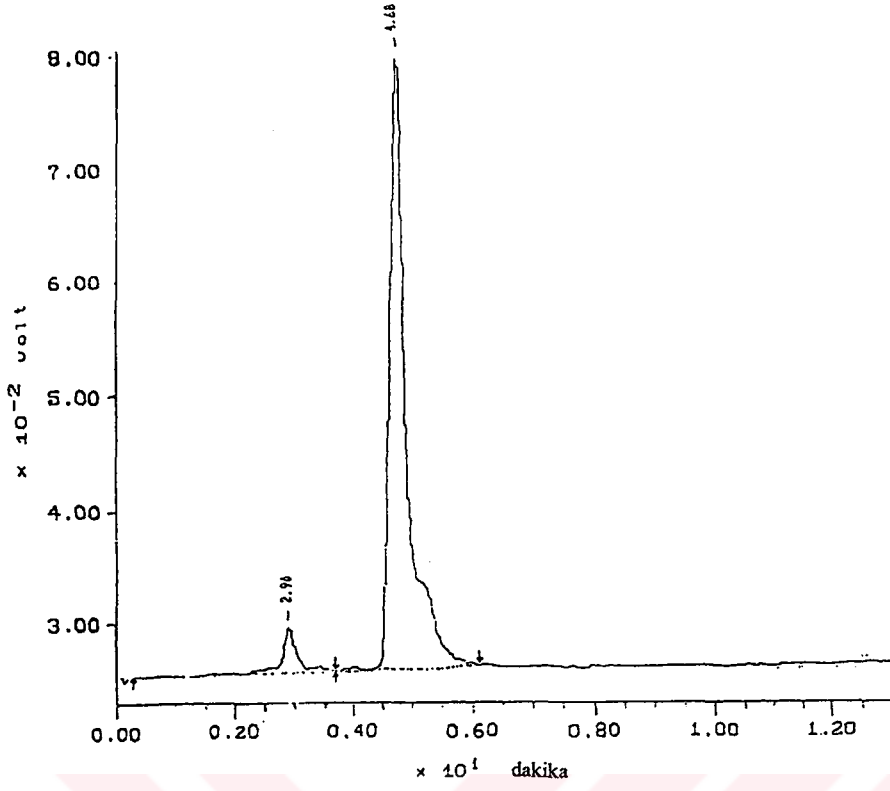
Şekil 4.6 pH = 4'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



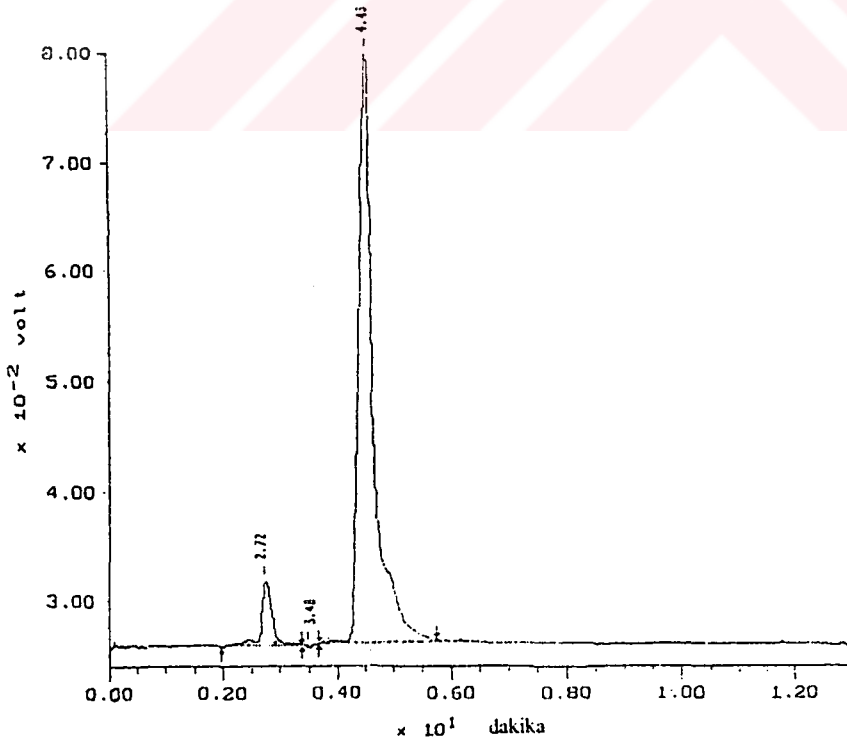
Şekil 4.7 pH = 5'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



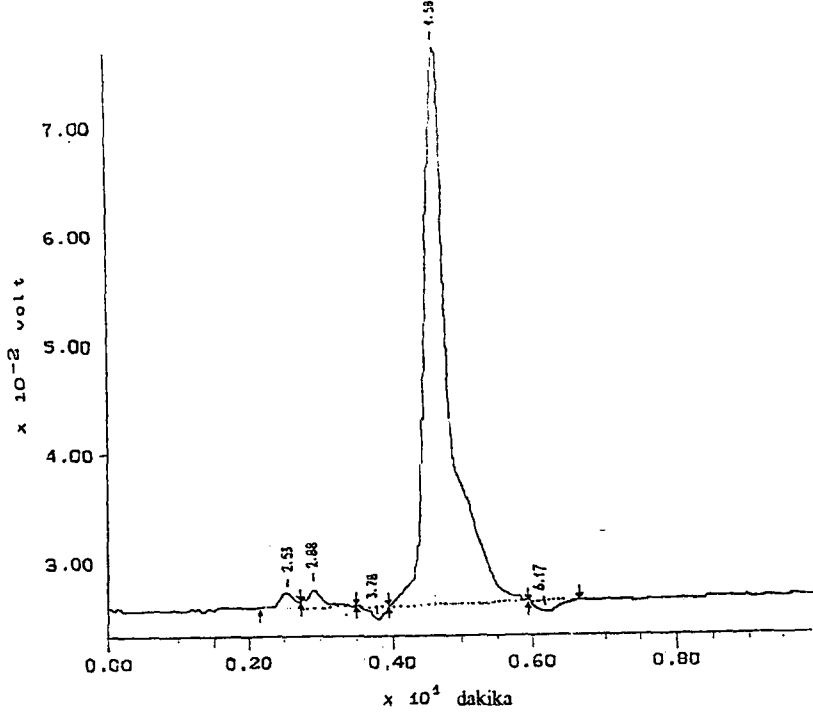
Şekil 4.8 pH = 6'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4.9 pH = 7'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4.10 pH = 8'de 80°C de 120 saat bekletilmiş olan lisinopril çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4.11 Hiç bozunmaya uğramayan lisinopril çözeltisine ait kromatogram

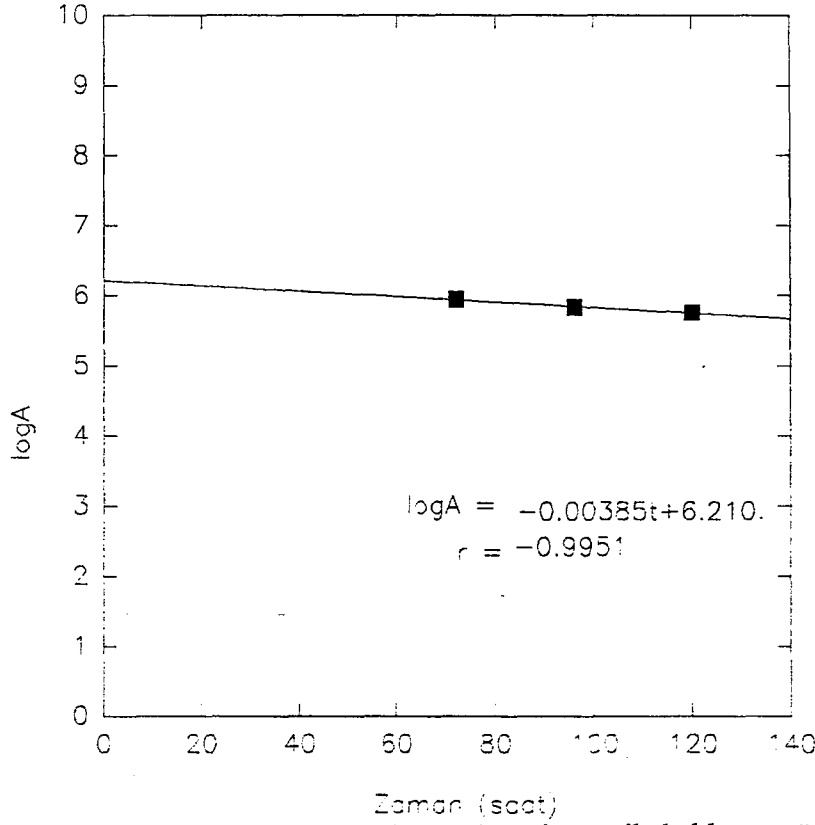
4.2.2 Reaksiyon Hızları

Çeşitli pH lardaki sulu çözeltilerde bozunmalara ait psödo birinci dereceden reaksiyon hız sabitlerinin hesaplanması amacıyla 80°C de 72, 96 ve 120 saat bekletilmiş olan çözeltilerin kromatografik analizlerinden elde edilen kromatogramlardaki lisinopril pik alanları (ortalama değerleri ve bağıl standart sapma , $\bar{A} \pm \% S$) Cetvel 4.2 'de, bu alanların logaritması ile bekleme süreleri arasındaki grafikler (t - log A) Şekil 4.12- 4.19 'de verilmiştir.

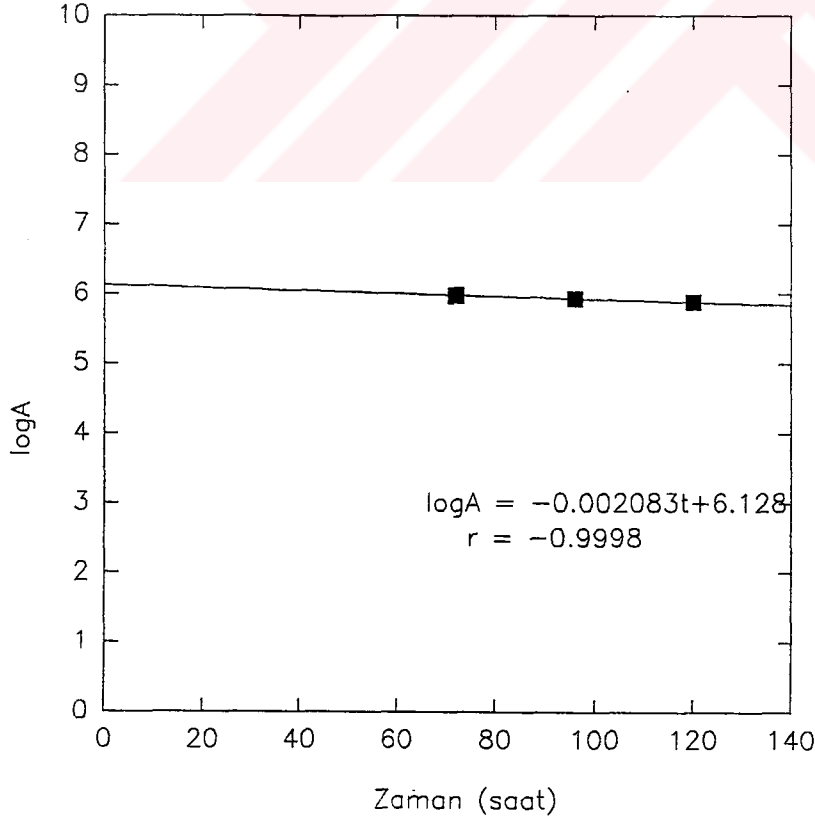
Elde edilen doğrulara ait denklemler grafiklerin üzerinde gösterilmiştir. Bu denklemlerin eğiminin - 2.303 ile çarpılması sonunda bulunan reaksiyon hız sabitleri Cetvel 4.2 de görülmektedir. Şekil 4.20 da ise pH ile reaksiyon hız sabitleri arasındaki ilişki gösterilmektedir.

Cetvel 4.2 Çeşitli pH ve sürelerde elde edilen pik alanları (Ortalama \pm % S) ve reaksiyon hız sabitleri

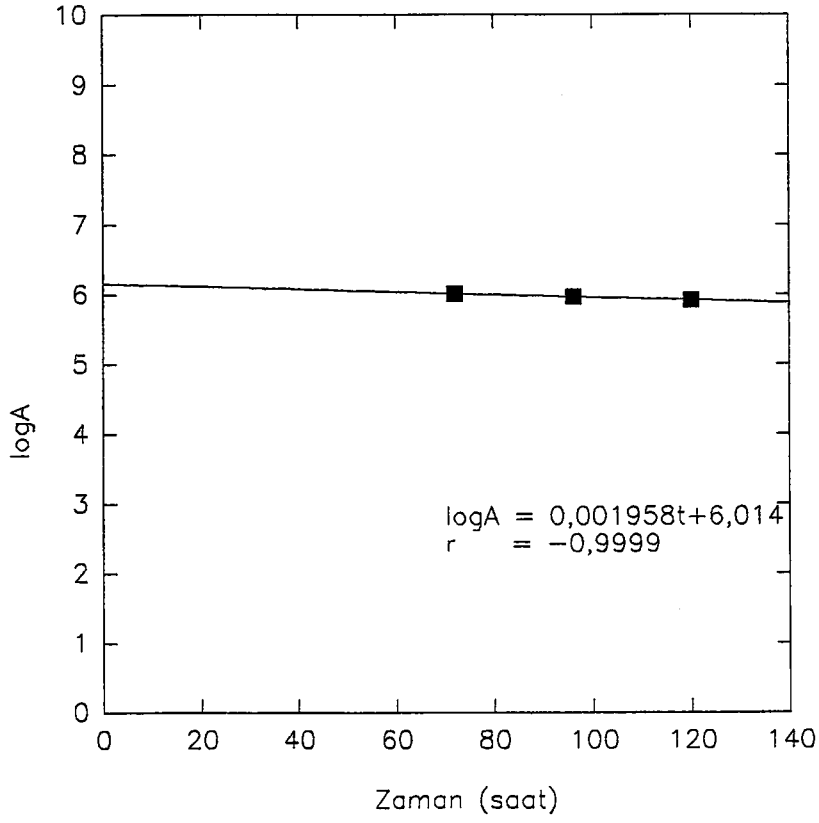
pH	Ortalama \pm % S			$k \times 10^3$ (saat ⁻¹)
	Bekletme süreleri (saat)			
	72	96	120	
2,0	$0,8676 \times 10^6 \pm \%3,921$	$0,6754 \times 10^6 \pm \%3,864$	$0,5659 \times 10^6 \pm \%5,552$	8,876
2,5	$0,9512 \times 10^6 \pm \%2,919$	$0,8503 \times 10^6 \pm \%3,429$	$0,7552 \times 10^6 \pm \%3,364$	4,797
3,0	$1,032 \times 10^6 \pm \%1,880$	$0,9301 \times 10^6 \pm \%2,745$	$0,8326 \times 10^6 \pm \%3,532$	4,509
4,0	$1,154 \times 10^6 \pm \%2,382$	$1,076 \times 10^6 \pm \%2,123$	$0,993 \times 10^6 \pm \%3,288$	3,118
5,0	$1,210 \times 10^6 \pm \%2,258$	$1,136 \times 10^6 \pm \%2,070$	$1,082 \times 10^6 \pm \%2,179$	2,351
6,0	$1,241 \times 10^6 \pm \%1,266$	$1,213 \times 10^6 \pm \%2,666$	$1,153 \times 10^6 \pm \%2,901$	1,535
7,0	$1,259 \times 10^6 \pm \%0,716$	$1,260 \times 10^6 \pm \%2,116$	$1,211 \times 10^6 \pm \%2,169$	0,815
8,0	$1,309 \times 10^6 \pm \%1,184$	$1,261 \times 10^6 \pm \%1,032$	$1,231 \times 10^6 \pm \%1,963$	1,295



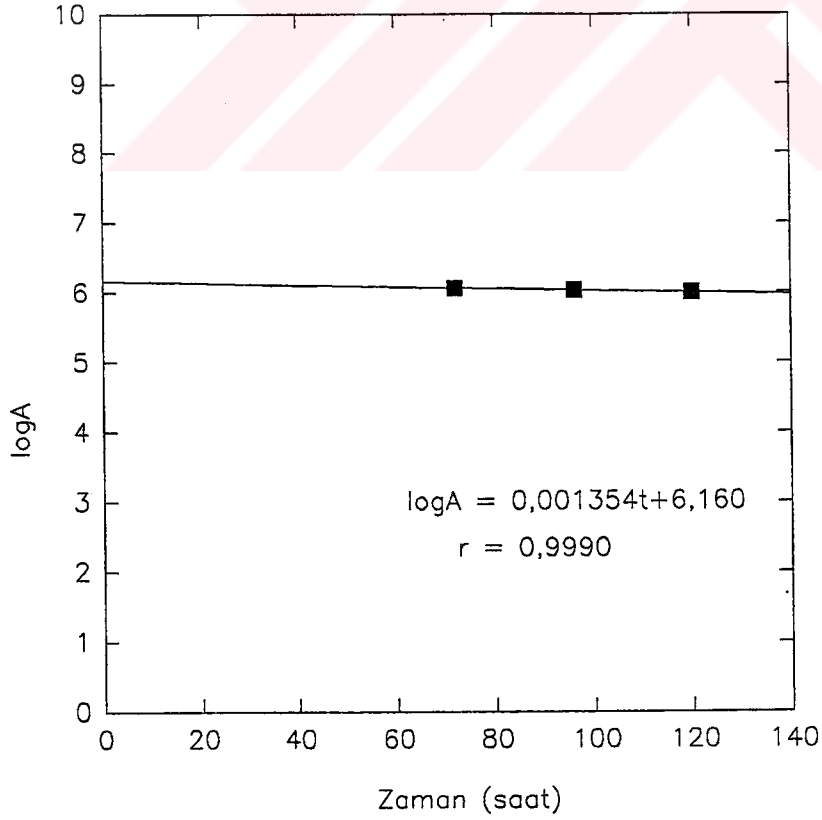
Şekil 4.12 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 2,0)



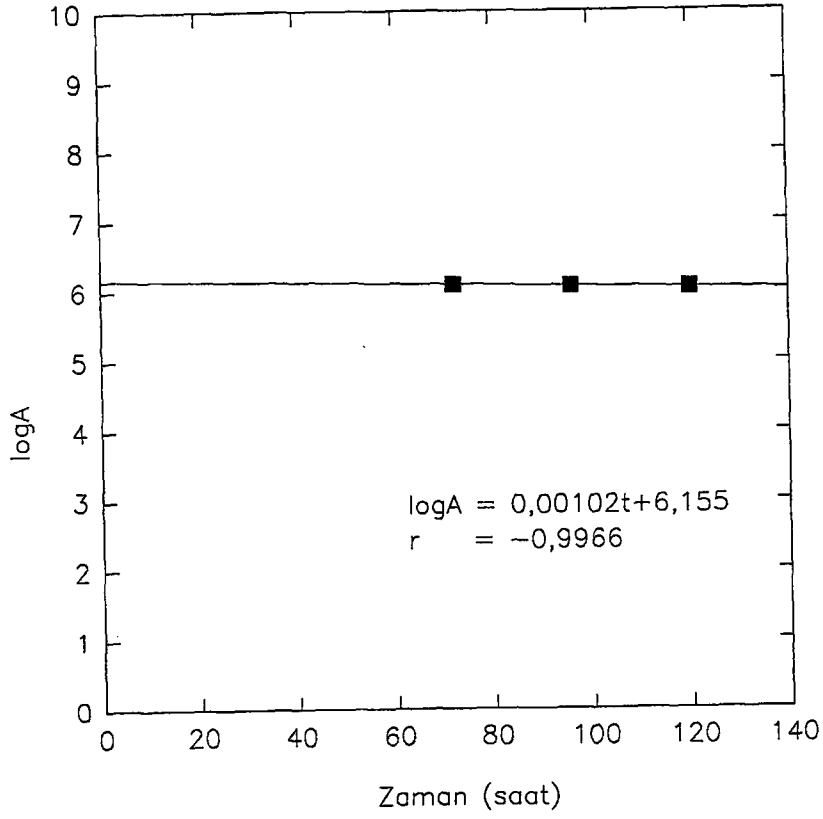
Şekil 4.13 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 2,5)



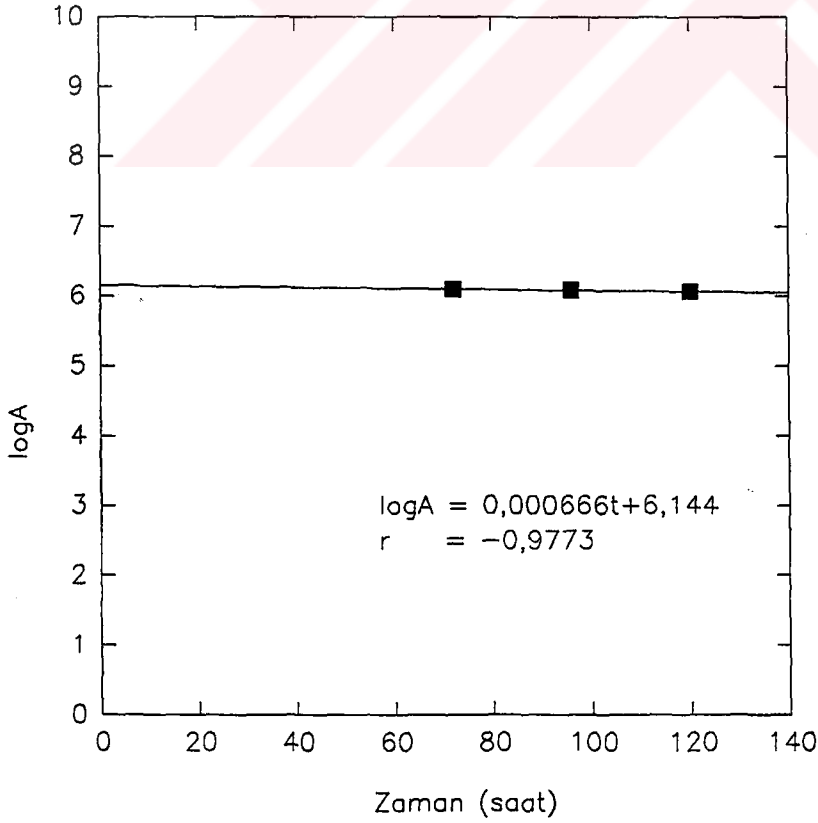
Şekil 4.14 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekleme süreleri arasındaki grafik (pH = 3,0)



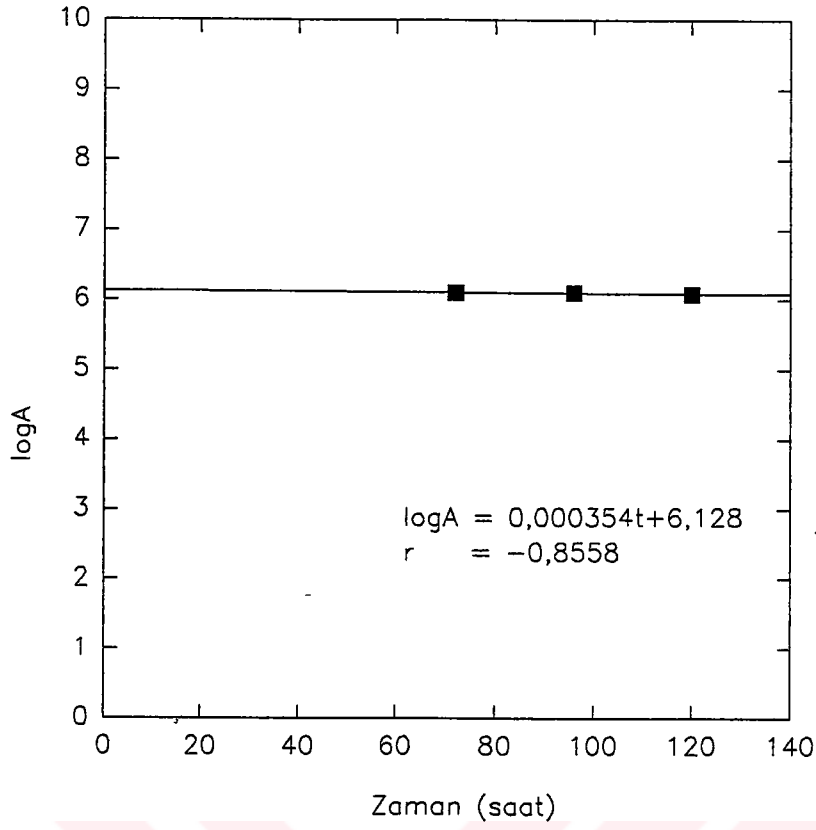
Şekil 4.15 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekleme süreleri arasındaki grafik (pH = 4,0)



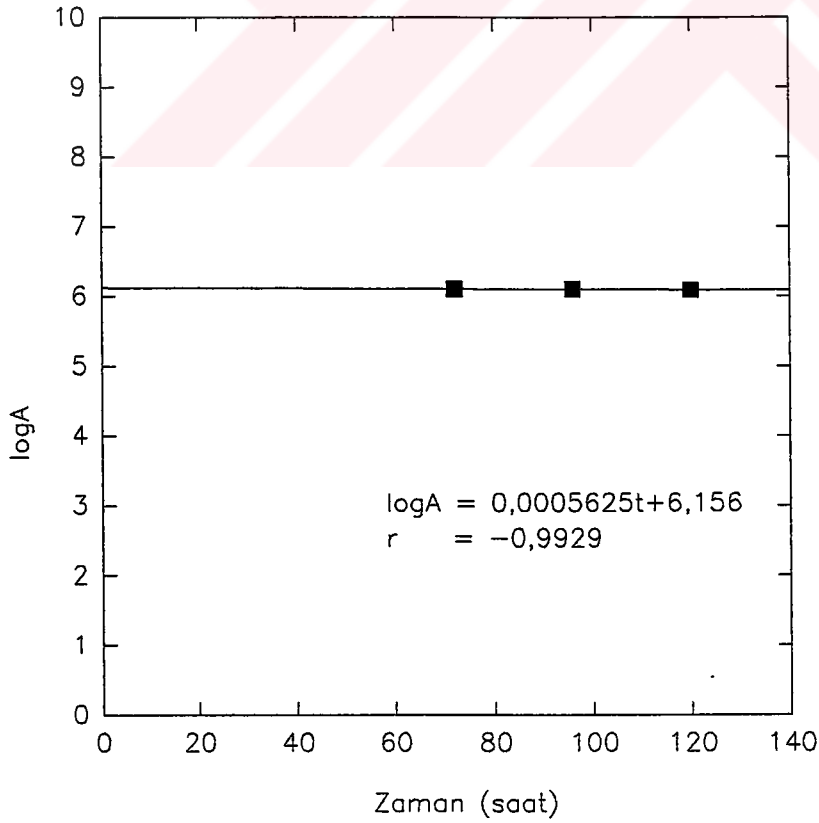
Şekil 4.16 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 5,0)



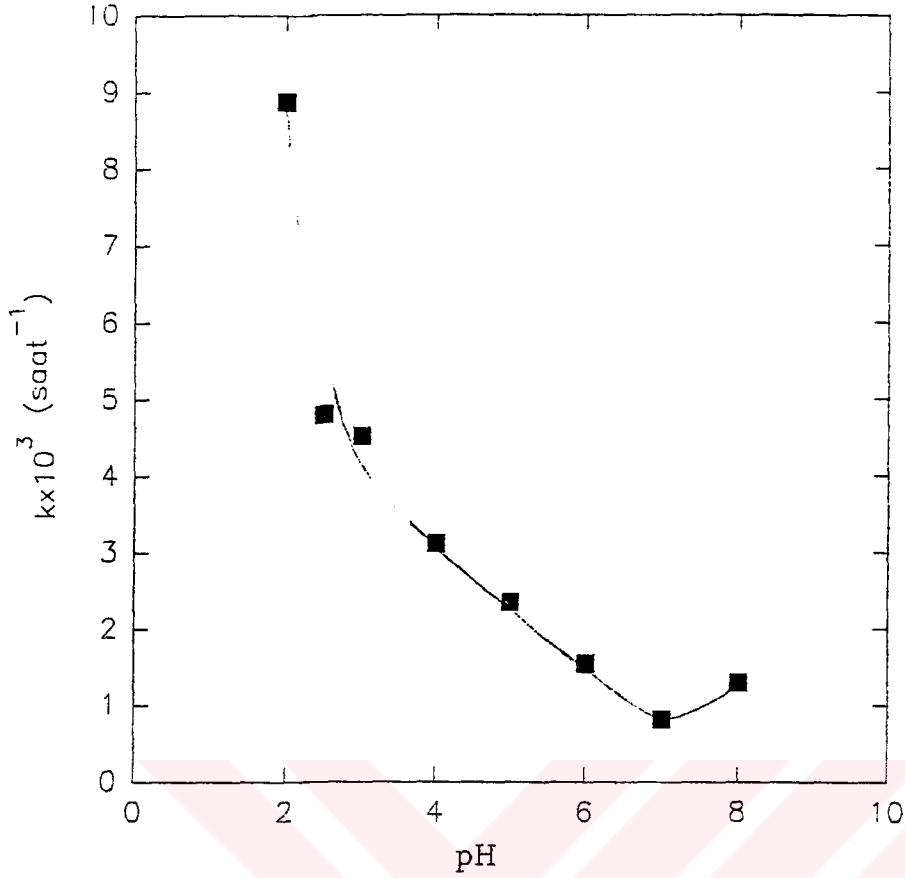
Şekil 4.17 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 6,0)



Şekil 4.18 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 7,0)



Şekil 4.19 Lisinopril çözeltisine ait pik alanlarının logaritması ile bekletme süreleri arasındaki grafik (pH = 8,0)



Şekil 4.20 pH ile reaksiyon hız sabitleri arasındaki ilişki

Şekil 4.20 'deki grafikte görüldüğü gibi lisinopril'in sulu çözeltide en kararlı olduğu pH 7 'dir. pH değeri küçüldükçe bozunma hızlanmaktadır, lisinopril nötral ortamda dayanıklıdır. Gerek HPLC kromatogramlarına gerekse reaksiyon hız sabitleri değerlerine bakıldığında çözeltinin pH' ı düştükçe lisinopril'in daha hızlı bozunduğu görülmektedir. pH = 2 'ye ait kromatogramda dokuzuncu dakika civarında ortaya çıkan pik pH = 4 'de kaybolmuştur. 11. dakika civarındaki pik ise pH = 5 'de çok küçük olarak görülmekte, pH = 6 'da kaybolmaktadır. Üçüncü dakikaya doğru çıkan pik ise pH = 3 'den sonra çok küçülmüştür. Bu piklerin varlığı lisinopril'in bozunma ürünlerinin en az üç adet olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışma süresinin kısa olması sebebiyle bunların karakterize edilmesi mümkün olmamıştır. Ayrıca lisinopril'in bozunmasına sıcaklık , oksijen ve ışığın etkisinin de incelenmesi ve Arrhenius grafiklerinin oluşturulmasıyla devam edilerek çalışmanın tamamlanması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Aycan, Ş., Yalçın, S.M., Sungur, S., (1994), "Kimya 94 " X. Ulusal Kimya Kongresi, 19-21 Eylül 1994, Bursa

Avadhanulu, A.B., Pantulu, A.R.R.,(1993), Indian Drugs, 30 (12): 646-649
-Ref. C.A. 120, 86601 c (1994)

Conoy, O., (1992), İlaç İndeksi; İlaç Sözlüğü., s.73

Dökmeci, İ., (1979), Farmakoloji; Diyarbakır Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Diyarbakır

Ip,D.P, Demorco, J.D., ve Brooks, A.M., (1992), Anal. Profiles Drug Subst., 21: 233 - 276

İskender G. ve Yarenci B., (1993), Kimya 93 g. Kimya ve Kimya Mühendisliği Sempozyumu Trabzon Bildiri Özetleri Kitabı, S.233

İskender G. ve Yarenci B., (1996), Acta Pharm. Turc , 38 (3): 65-68
- Ref. C. A. 125, 285085r

Jackson, B., Cubela, R., Johnston, C. I., (1987), Biochem. Pharmacol., 36 (8): 1357-60
-Ref. C.A. 107, 51283 e (1987)

Johnston,C. I., Cubela, R., Jackson, B., (1988), Clin.Exp. Pharmacol. Physiol., 15 (2): 123-9
-Ref. C.A. 111, 108408 p (1989)

Komatsu,S., Sasaki, H., Kurotori , M., Iwamoto, S., Shibuya, M., Inokuchi, T., Iida, S., (1990), Yakuri to Chiryō, 18 (4) : 1677-95
-Ref. C.A. 114, 36553 u (1991)

Komatsu,S., Sasaki, H., Kurotori , M., Iwamoto, S., Shibuya, M., Inokuchi, T., Iida, S., (1990), Yakuri to Chiryō, 18 (4) : 1697-708
-Ref. C.A. 114, 94553e (1991)

Qin , Xue Zhi; Nguyen, Diem Suong T.; Ip, Dominic P., (1993), J. Liq. Chromatogr., 16 (17): 3713-34
-Ref. C.A. 120,62464 j (1994)

Sane, R.T., Valiyare, G.R., Deshmukh, U.M. , Singh,S.R., Sodhi, Renu , (1992), Indian Drugs 29 (12) : 558-60
-Ref. C.A. 117, 220244 g (1992)

Shepley K., Rocci M. L., Jr,Patrik, H. , Mojoverion, P. (1988) , J. Pharm. Biomed. Anal., 241-51
-Ref. C.A. 109, 314612 (1988)

The Merck Index. Merck and Co. , Inc Rahway, N. USA (1990)

The United States Pharmacopoeia, The National Formulary , USP XXIII, NF XVII, The United States Pharmacopoeia Jing. (1990)

Tike, C.A., Vavia, P.R., Tipnis, H.P., (1992), Indian Drugs, 29 (13) : 601-4
-Ref. C.A.117, 258101 w (1992)

Wong, Y. C., Charles,,B. G., (1995), J. Chromatogr., -B: - Biomed. - Appl., 673 (2):
306- 310

Worland P. J. Ve Jarrott B., (1986), J. Pharm. Sci. 75: 512



ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi	03 . 02 . 1972	
Doğum Yeri	İstanbul	
Lise	1986 - 1989	Bakırköy Lisesi
Lisans	1990 - 1995	Yıldız Teknik Üniv. Fen - Edebiyat Fak. Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	1995 - 1998	Yıldız Teknik Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı

