



YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bazı ilaç mad. iyon çifti  
ekt. ile mik. tayini

Yüksek Lisans Tezi

Güzin Yurdakul

361  
79

18

kimya

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

361  
79

66

BAZI İLAÇ MADDELERİNİN İYON ÇİFTİ  
EKTRAKSİYONU İLE MİKTAR TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GÜZİN YURDAKUL

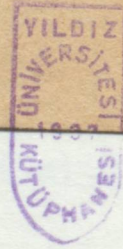
İSTANBUL 1990

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
GENEL KİTAPLIĞI

R 361

79

Kot : .....  
Alındığı Yer : ~~Fen Bil. Enst.~~ .....  
Tarih : 12.12.1990 .....  
Fatura : .....  
Fiatı : 12.000 ₺ .....  
Ayniyat No : 1/28 .....  
Kayıt No : 47402 .....  
UDC : 54 378.242 .....  
Ek : .....



YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ  
D.B. No 45061

Bu çalışmanın hazırlanmasında yardımlarını esir-  
gemeyen, bilgi ve fikirleriyle bana çok değerli hoca-  
mıyın Prof.

BAZI İLAÇ MADDELERİNİN İYON ÇİFTİ  
EKTRAKSİYONU İLE MİKTAR TAYİNİ

79

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GÜZİN YURDAKUL

İSTANBUL 1990

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. GENEL BİLGİ	2
2.1. İçerik ve Maddeleri Hakkında Genel Bilgi	2
2.1.1. Özellikleri	2
2.1.1.1. Tanınma Yöntemleri	3
2.1.1.2. Miktar Tayin Yöntemleri	4
2.1.2. Alkolol	5
2.1.2.1. Özellikleri	5
2.1.2.2. Tanınma Yöntemleri	7
2.1.3. Madecol	9
2.1.3.1. Özellikleri	9
2.1.3.2. Tanınma Yöntemleri	10
2.2. Beyaz Tımsak Havyası (BTK)	13
2.3. İyon Çifti Ekstraksiyonu	14
2.3.1. İyon Çifti Ekstraksiyonu ile Spektrofotometrik Tayin	14
2.3.2. İyon Çifti Ekstraksiyonunun Diğer Kullanım Alanları	16
3. DENEMESEL BİLGİ	23
3.1. Kullanılan Maddeler	23
3.2. Cihazlar	23

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. GENEL BÖLÜM	2
2.1. İncelenen İlaç Maddeleri Hakkında Genel Bilgi	2
2.1.1. Asebutolol	2
2.1.1.1. Özellikleri	2
2.1.1.2. Tanınma Yöntemleri	3
2.1.1.3. Miktar Tayin Yöntemleri	4
2.1.2. Atenolol	6
2.1.2.1. Özellikleri	6
2.1.2.2. Tanınma Yöntemleri	7
2.1.3. Nadolol	9
2.1.3.1. Özellikleri	9
2.1.3.2. Tanınma Yöntemleri	10
2.2. Brom Timol Mavisı (BTM)	13
2.3. İyon Çifti Ekstraksiyonu	14
2.3.1. İyon Çifti Ekstraksiyonu ile Spektrofotometrik Tayin	14 14
2.3.2. İyon Çifti Ekstraksiyonunun Diğer Kullanım Alanları	18
3. DENEYSEL BÖLÜM	23
3.1. Kullanılan Maddeler	23
3.2. Çözeltiler	23

3.3. Araç ve Gereçler	24
3.4. Yöntemler	25
3.4.1. BTM ile İyon Çifti Ekstraksiyonu ve Spektrofotometrik Tayin	25
3.4.1.1. Deney Koşullarının Saptanması	25
3.4.1.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	25
3.4.2. Mol Oranlarının ve İyon Çiftlerinin Kararlılık Sabitlerinin Saptanması	26
3.4.3. Farmasotik Preperatların Analizi	28
3.4.3.1. Geliştirilen Yöntem	28
3.4.3.2. Kıyaslama Yöntemi	28
4. SONUÇLAR	30
4.1. BTM ile Spektrofotometrik Tayin Yöntemi	30
4.1.1. Deney Koşulları	30
4.1.1.a. pH	30
4.1.1.b. Ekstraksiyon Çözücüsü	31
4.1.1.c. Dalga Boyu	31
4.1.1.d. Belirteç Miktarı	33
4.1.1.e. Rengin Dayanıklılığı	33
4.1.2. Ölçü Eğrileri	34
4.2. Mol Oranları	37
4.3. İyon Çiftlerinin Kararlılık Sabitleri	42
4.4. Farmasotik Preperatların Analizi ve Sonuçların İstatistik Olarak Değerlendirilmesi	44
5. KAYNAKLAR	47

## ÖZET

Asebutolol.HCl, atenolol ve nadolol'ün brom timol mavisi ile oluşturdukları iyon çiftlerinin kloroformdaki absorbansları ölçülerek spektrofotometrik yöntemle tayin edildi.

15-90 mcg. miktarlarında ilaç maddesi içeren bir ml. sulu çözelti üzerine asebutolol.HCl için pH = 6 daki, nadolol ve atenolol için pH = 5.8 deki tamponda hazırlanmış  $2 \cdot 10^{-4}$  M BTM<sup>3ml.</sup> çözeltilerinden ilave ederek oluşturulan iyon çifti bir dakika süreyle girdap karıştırıcıda karıştırılarak 6 ml. kloroforma ekstre edildi. Fazların ayrılması için 3 dakika süreyle santrifüjlendikten sonra kloroform fazının absorbansı boş denemeye karşı asebutolol için 412, atenolol ve nadolol için ise 414 nm.de ölçüldü. 2.5-15.0 mcg.ml<sup>-1</sup> konstrasyon alanında ölçü eğrileri hazırlandı. İlaç maddelerinin BTM ile verdiği iyon çiftlerinin mol kesri ve kararlılık sabitleri Job'un Sürekli Değişim ve Mol Oranı yöntemleriyle bulundu. Her üç ilaç maddesi için mol oranınının 1:1 ve kararlılık sabitlerinin ise  $10^6$  düzeyinde olduğu gözlemlendi.

Geliştirilen iyon çifti yöntemi tabletlere uygulandı ve sonuçlar UV spektrofotometrik yöntemle elde edilen sonuçlarla t- ve F- testleri yardımıyla karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlardan aralarında anlamlı bir fark olmadığı anlaşıldı.

## SUMMARY

Acebutolol.HCl, atenolol and nadolol were determined spectrophotometrically by measuring the absorbance of the ion pairs by these drugs with bromthymol blue in chloroform solution.

The ion pairs formed by adding 3 ml. of  $2 \times 10^{-4}$  M BTB solution in the buffer of pH 6 for acebutolol and pH 5.8 for nadolol and atenolol to the 1 ml. of aqueous solution containing 15-90 mcg. of drugs were extracted with 6 ml. of chloroform by mixing for 1 min. in a vortex mixer. After centrifugating for 3 minutes for separation the phases, the absorbance of chloroform solution was measured at  $\lambda=412$  nm for acebutolol and  $\lambda=414$  nm. for nadolol and atenolol against blank solution Calibration curves were prepared in the 2.5-15.0 mcg.ml<sup>-1</sup> concentration range. The mole fractions and the stability constants of the ion pairs were determined by the Job's Continuous Variations and Mole Ratio Methods. Mole fractions were determined as 1:1 and the stability constants were found in the range of  $10^6$  for all three drugs.

Developed ion pair method was applied to the tablet preparations of the drugs and the results were compared to the results obtained by UV spectrophotometric method by using t and F tests. It was found that there is no significant difference between them.

## 1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Sekonder amin grubu içeren ilaç maddeleri olan Asebutolol.HCl, atenolol ve nadolol bazı kalp hastalıklarının tedavisinde son yıllarda oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır.

İncelenen ilaç maddelerinin miktar tayini için UV spektrofotometrik, gaz kromatografik yöntemlere dayanan birçok analiz yöntemi geliştirilmiştir.

İyon çifti oluşturulması analitik kimyada çok kullanılan tekniklerden biridir. Bu teknikten birçok maddenin ekstraksiyonunda, spektrofotometrik ve fluorimetrik miktar tayininde, sıvı ve ince tabaka kromatografisinde yararlanılmaktadır.

Renksiz olan ilaç maddelerinin miktar tayini bu maddelerin asid boya larla oluşturduğu iyon çiftleri uygun pH'da organik çözücüye ekstre edilerek yapılmaktadır. Asebutolol.HCl, atenolol ve nadolol'un brom timol mavisi ile oluşturdukları iyon çiftleri üzerinden spektrofotometrik tayinleri yapılması düşünülmüştür.

Böylece incelenen ilaç maddelerinin tayinine yarayan basit ve kolay uygulanabilen bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BÖLÜM

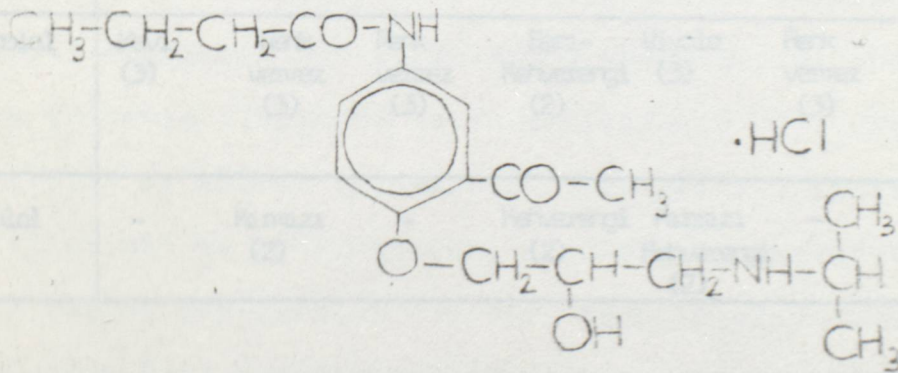
### 2.1. İncelenen İlaç Maddeleri Hakkında Genel Bilgi

Bu tezin inceleme konusunu oluşturan asebutolol hidroklorür, atenolol ve nadolol beta adrenerjik reseptör blokeri adı verilen ilaç gruplarındandır. Bu grup ilaç maddelerinin kullanımı son yıllarda oldukça yaygınlaşmıştır ve her yıl yenileri sentez edilmekte ve kullanıma girmektedir. Ülkemizde de bu gruptan yedi adet ilaç maddesinin preparatları tüketilmektedir. Beta adrenerjik reseptör blokeri ya da kısaca beta bloker adı verilen bu ilaçlar kalp atış hızını ve kan basıncını düşürücü etkileri nedeniyle yüksek tansiyon ve angina pectoris gibi bazı kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (1).

#### 2.1.1. Asebutolol

##### 2.1.1.1. Özellikleri

N - [3 - Asetil-4- [2-hidroksi-3- [(1-metil etil)amino] propoksi] fenil] butanamid.



Kapalı formülü :  $C_{18}H_{28}N_2O_4 \cdot HCl$

Molekül ağırlığı: 372,9 g/mol

$pK_a = 9.6$

Görünüş, renk, koku : Beyaz, kokusuz. E.N= 141<sup>o</sup>-144<sup>o</sup>

UV Spektrumu : Sulu asid çözeltisinde 234 ve 320 nm.de, metanolde 235 nm ve 328 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir (2).

Infrared Spektrumu : Başlıca pikler 1655, 1245, 1525, 1495, 1217, 1285  $cm^{-1}$  de dir (2).

Çözünürlüğü : Suda ve metanolde çözünür.

#### 2.1.1.2. Tanınma Yöntemleri

Asebutolol'un çeşitli belirteçlerle renkli türevler oluşturduğu saptanmıştır. Bu renkler Tablo 1.de toplu halde gösterilmiştir (2,3).

Tablo 1.

	Zwücker reagent	Marquis reagent	Vanilin/ der. $H_2SO_4$	Nessler reagent	Mandelin reagent	Metanol/ der. $H_2SO_4$	Metanol/ KOH	$H_2SO_4$
Asebutolol	Mavi (3)	Sarı (3)	Kırmızı (3)	Portakal (2)	Yeşil (3)	Sarı (2)	Sarı (2)	Sarı (2)
Atenolol	Mavi (3)	Renk vermez (3)	Renk vermez (3)	Sarı- Kahverengi (2)	Viyole (3)	Renk vermez (3)	Renk vermez (3)	-
Nadolol	-	Kırmızı (2)	-	Kahverengi (2)	Kırmızı Kahverengi (2)	-	-	-

Asebutolol'un ince tabaka kromatografisi ile tanınmasına ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Musumarra ve arkadaşları diğer birçok madde ile birlikte asebutolol için de farklı çözücü sistemlerini incelemişlerdir (4,5). Stead ve arkadaşları silikajel plak üzerinde üç ayrı çözücü sisteminde  $R_f$  değerleri bildirmiştir (6). İdrarda asebutolol ve metabolitlerinin tanınması için de ince tabaka kromatografisinden (TLC) yararlanılmıştır (7,8,9). Asebutolol'un ince tabaka kromatografisi ile tanınması için sekonder amin grubunun sülfonil klorürler ile reaksiyonuyla renkli ve fluoressan türevler oluşturulmuştur (10,11).

Literatürde asebutolol'un gaz kromatografisi (GC) (12,13) ve gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi (GC-MS)(14), yöntemleriyle tanınması ile ilgili çalışmalara da rastlanmıştır.

Asebutolol'un tanınmasında yüksek basınç sıvı kromatografisinden (HPLC) de yararlanılmıştır (15,16).

#### 2.1.1.3. Miktar Tayin Yöntemleri

Gillian ve Mason adlı araştırmacılar asebutolol'ü renkli substitüe benzokinon türevlerine dönüştürerek spektrofotometrik yöntemle ilaçlarda tayin etmişlerdir (17). Asebutolol'un doğrudan ve klorür veya asetat iyonları ile oluşturduğu iyon çiftlerinin UV absorbanları ölçülerek spektrofotometrik miktar tayini yapılmıştır (18,19). Asebutolol'un asid hidroliz ürününün Na-1,2-naftakinon-4-sülfonat ile oluşturduğu pembe-portakal renkli türevin 477 nm.deki (20), p-kloranilik asid

ile oluşturduğu kompleksin 530 nm.deki (21), absorbanları ölçülerek asebutolol tayin edilmiştir.

Asebutolol ve asetil metabolitinin plazma ve idrardaki miktarı GC ile saptanmıştır (23). Bu çalışmada N-metil bis (trifluorousetamid ) ve N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamid ile türevlendirme yapılmıştır.

Steyn (24), asebutolol ile başlıca metaboliti olan D-1-(2-asetil-4-N-butilamidofenox)-2-hidroksi-3-isopropilamino-propan'ın serum düzeylerinin tayininde TLC fluorodansitometrik yöntemden yararlanmıştır. Bu çalışmada internal standart olarak kinidin kullanılmıştır.

Tablette veya ampullerde asebutolol tayini polarografik olarak da yapılmıştır (25).

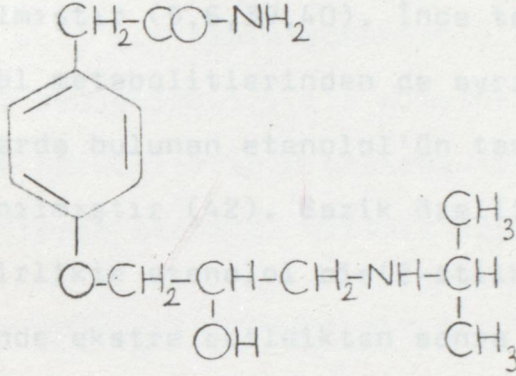
Cunrigham ve Freiser (26), diğer bazı kalsiyum blokerleri ile birlikte asebutolol tayininde polivinil klorür membran içeren iyon seçici elektrod kullanmıştır.

Likit kromatografisi yöntemiyle idrarda ve kan örneklerinde (27,28,29,30,31,32,33) ve farmasotik preparatlarda (28,34,35,36,37) asebutolol miktarı tayin edilmiştir. Normal veya ters faz sistemiyle ya doğrudan ya da türevlendirildikten sonra yapılan bu çalışmalarda pindolol ve (±)-1-(2-propil-4-bütülamidofenox)-2-hidroksi-3-(isopropilamino)propan gibi internal standartlardan yararlanılmış, UV, fluorensans ve elektrokimyasal dedektörler kullanılmıştır.

## 2.1.2. Atenololün Özellikleri

### 2.1.2.1. Özellikleri

2- [4-(2-Hidroksi-3-isopropilaminopropoksi)fenil] asetamid



Kapalı formülü : C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekül ağırlığı: 266,33 g/mol

pK<sub>a</sub> = 9.6

Görünüş, renk, koku : Beyaz, kokusuz, çok az acı tadıdır.

E.N. = 146°-148°

Çözünürlüğü : Metanolde ve asetik asitte çözünür, suda az çözünür, asetonda çok az çözünür, kloroformda çözünmez (38).

UV Spektrumu : Sulu asid çözeltisindeki maksimumlar 274 ve 280 nm. dedir (1).

Infrared Spektrumu : Başlıca pikler 1633, 1245, 1510, 1184, 805, 820 cm<sup>-1</sup> dedir (1).

### 2.1.2.2. Tanınma Yöntemleri

Atenolol çeşitli belirteçlerle farklı renklerde türevler oluşturmaktadır (Tablo 1).

Atenolol'ün TLC ile tanınması için çeşitli solvent sistemleri kullanılmıştır (5,6,39,40). İnce tabaka kromatografisi ile atenolol metabolitlerinden de ayrılmıştır (9,41). Biyolojik sıvılarda bulunan atenolol'ün tanınması için de TLC'den yararlanılmıştır (42). Bazik özellikteki bazı ilaç maddeleri ile birlikte atenolol bis(2-etilhekzil) fosfat iyon çifti halinde ekstre edildikten sonra normal ve ters faz ince tabaka kromatografisi sistemi ile ayrılmıştır (43). Atenolol'ün sekonder amin grubunun dimetil amino naftalen sülfonil klorür (Dönsil Klorür) ile oluşturduğu fluoresans (11), 4-dimetil amino azobenzen, 4'-sülfonil klorür (Dabsil Klorür) ile oluşturduğu portakal renkli türevler (10) bu maddenin ince tabaka üzerinde ayrılmasında ve tanınmasında kullanılmıştır.

Literatürde atenolol'ün GC (12,13,40), GC-MS(14,44,45) ve likit kromatografisi ile (39,40,46,47) tanınmasına ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır.

### 2.1.2.3. Miktar Tayin Yöntemleri

Atenolol (15:2) glasiyel asetik asit/asetik anhidrit'li ortamda 0.1 M  $\text{HClO}_4$  ile cam/kalomel elektrod çifti kullanılarak potansiyometrik olarak titre edilmiştir (39). Ordonej R. ve arkadaşları  $\text{HClO}_4$  asid çözeltisi ile glasiyel asetik asidli

ortamda potansiyometrik titrasyon ile tabletlerde atenolol'ü tayin etmişlerdir (48).

Aynı araştırmacılar atenolol'ü tabletten 0.1 N HCl çözeltilisine ekstre ettikten sonra 275 nm.de spektrofotometrik olarak da tayin etmişlerdir (48). Atenolol'ün sekonder amino grubunun asetik asit ile reaksiyonundan oluşan N-alkil vinil aminin halojenli benzokinonlar ile oluşturduğu renkli substitüe benzokinon çözeltilerinin absorbanları 645-690 nm.de ölçülerek tabletlerde atenolol miktarı saptanmıştır (17).

Atenolol'ün doğal fluoresansının ölçülmesine dayanan spektrofluorimetrik miktar tayinleri tabletten metanol ile ekstre edilerek (49), farmokokinetik bir çalışmada (50), ise kandan ve idrardan pH = 10.6 da  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 'nin bütanoldeki % 5'lik çözeltilisi ile ekstre edildikten sonra tekrar 0.01 N HCl çözeltilisine ekstre edilerek fluresans şiddetinin ölçülmesi ile yapılmıştır. Uyarma dalga boyları, metanolde 278 nm., HCl çözeltilisinde 280 nm., emisyon dalga boyları ise sırasıyla 301 ve 305 nm.dir.

Atenolol trifluoroasetil türevi halinde OV-17 ve OV-101 kolonlar ve çeşitli dedektörler kullanılarak GC yöntemi ile tayin edilmiştir (12,39). Plazma ve idrardan ekstre edilen atenolol sonra pentafluoropropiyonat (51), heptafluorobutirat veya bis-trifluoroasetat türevlerine (52), dönüştürülüp elektron yakalama dedektörü kullanılarak GC ile tayin edilmiştir.

Literatürde atenolol'ün GC-MS ile miktar tayinine ait bir çalışmaya da rastlanmıştır (53).

Schaefer ve Mutschler atenolol'ü kan plazmasında butanol-siklo hekzan karışımı ile ekstre edip silikajel plak üzerinde kromatografiye ettikten sonra fluorodansitometrik olarak tayin etmişlerdir (54).

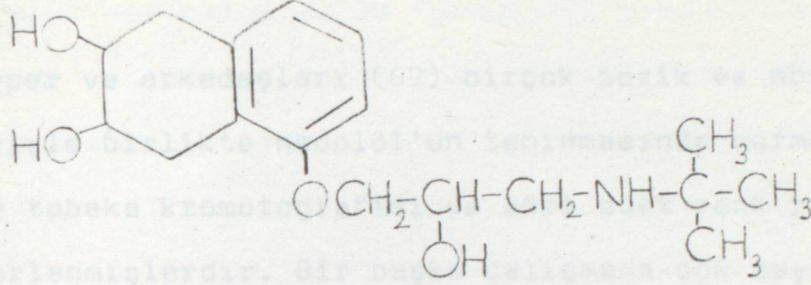
Atenolol'ün likit kromatografik miktar tayinleri de literatürde yer almaktadır. Farmasotik preperatlarda (55,56), ya da kan serumu, plazma veya idrarda (32,57,58,59,60,61,62,63,64,65), internal standart olarak metoprolol, prokainamid, pindolol gibi maddeler kullanılarak tayin edilmiştir. Normal veya ters faz yöntemiyle yapılan bu çalışmalarda UV veya fluresans dedektör kullanılmıştır.

Diğer  $\beta$ -blokerlerle birlikte atenolol de NMR spektroskopisi yöntemiyle tabletlerde tayin edilmiştir (66).

### 2.1.3. Nadolol

#### 2.1.3.1. Özellikleri

2,3-Naftalendiol,5-[3-(1,1-dimetiletıl)amino]-2-hidroksipropoksi]  
1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2,3-diol.



Kapalı formülü : C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub>

Molekül ağırlığı : 309,49. g/mol

pK<sub>a</sub> = 9.67

Görünüş, renk, koku : Beyaz, kristal, kokusuzdur. E.N.= 124<sup>o</sup>-136<sup>o</sup>

Çözünürlüğü : Suda ve etanolde çözünür. Kloroformda çok az çözünür. Eterde çözünmez (38).

UV Spektrumu : Sulu asid çözeltisinde absorpsiyon maksimumu 269 nm. ve 276 nm.dedir (2).

Infrared Spektrumu : Başlıca pikler 1092, 1070, 1248, 1262, 1582, 1217 cm<sup>-1</sup> dedir (2).

#### 2.1.3.2. Tanınma Yöntemleri

Nadolol'un çeşitli belirteçlerle renkli türevler oluşturduğu saptanmıştır (2,3). Bu renkler Tablo 1.de toplu halde gösterilmiştir.

Nadolol çeşitli solvent sistemleri kullanılarak silikajel plak üzerinde ayrılarak tanınmıştır (6).

Harper ve arkadaşları (67) birçok bazik ve nötral ilaç maddeleriyle birlikte nadolol'un tanınmasında normal ve ters faz ince tabaka kromatografisi ve dört adet renk reaksiyonundan yararlanmışlardır. Bir başka çalışmada çok sayıda bazik ve nötral ilaç maddesi yanında nadolol'un TLC ile tanınması için dört adet çözücü sistemden yararlanılmıştır (5). Nadolol ve başka tansiyon düşürücü ilaç maddeleri ile metabolitleri idrardan ekstre edildikten sonra silikajel plak üzerinde EtOAc-MeOH veya EtOAc-MeOH-NH<sub>3</sub> solvent sistemi kullanılarak kromatografiye edildikten sonra flüoresans lekeler 254 nm.de UV ışın ile saptanmıştır (8).

Literatürde nadolol'un GC (13) ve GC-MS ile (14,68), tanınması ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır.

Nadolol'un doğrudan ya da türevlendirildikten sonra HPLC ile tanınmasında çeşitli eluentler ve sütunlar kullanılarak normal (47,69,70,71) ve ters faz (68,72) sistemleriyle UV, flüoresans ya da elektrokimyasal dedektörler kullanılmıştır.

### 2.1.3.3. Miktar Tayin Yöntemleri

Nadolol saf halde ya da farmasotik preperatlarda sulu ya da susuz ortamda standart asit çözeltilisiyle titre edilerek tayin edilmiş, bitiş noktası gözle, potansiyometrik veya konduktometrik olarak saptanmıştır (73). Bir başka titrimetrik tayininde ise nadolol asitli ortamda aşırı periyodat çözeltilisiyle muamele edilmiş, aşırı periyodat miktarı iyodometrik olarak saptanmıştır (74).

Nadolol'un tabletlerde spektrofotometrik tayininde tablettten ekstre edilen nadolol periyodik asit ile aldehite oksitlenip 2,4-dinitro fenil hidrazin ile hidrazon türevine dönüştürülmüş, bu türev kloroforma ekstre edildikten sonra 352 nm.deki absorbanı ölçülmüştür (75). Bir başka spektrofotometrik tayininde nadolol'un brom fenol mavisi ile oluşturduğu iyon çiftinin 412 nm.deki absorbanı ölçülmüştür (76). Basic komputür programları kullanılarak girişim yapan birçok madde yanında nadolol spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (77).

0.01 mcg'ye kadar nadolol içeren serum ya da idrar örneklerinde ekstraksiyon işlemlerinden sonra nadolol periyodik asid ile aldehite yükseltgenmiş, oluşan fluresans bileşiğinin fluresans şiddeti ölçülerek nadolol miktarı tayin edilmiştir (78).

Nadolol biyolojik örneklerde fenilboronik asid ya da n-butil boronik asid ile siklik boronatlarına türevlendirildikten sonra N-selektif dedektör kullanılarak (79), farmasotik preperatlarda ise etanol ile ekstre edildikten sonra % 3'lük OV-101 kolonda, alev iyonizasyon dedektörü kullanılarak (80) GC yöntemi ile tayin edilmiştir.

Serumda nadolol düzeyi tayinini amaçlayan bir çalışmada (81), nadolol tri(trimetilsilil) eter türevi haline getirildikten sonra GC-MS ile tayin edilmiştir.

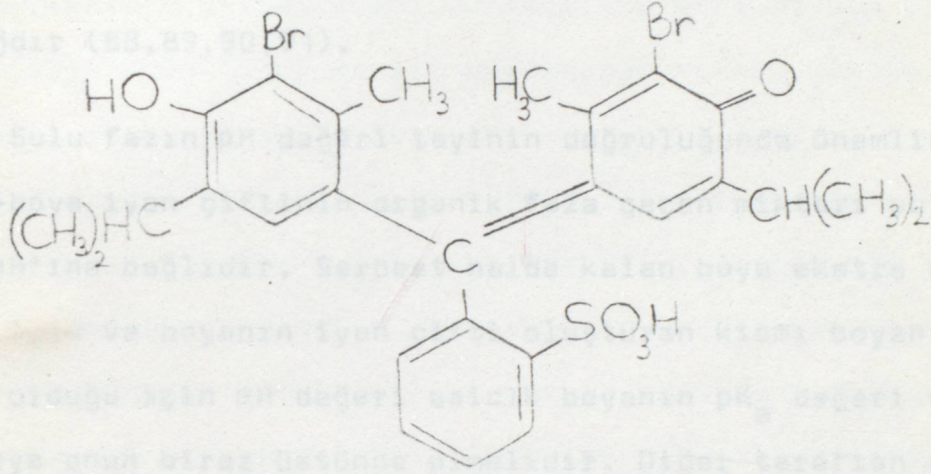
Nadolol'un plazma ve idrardan fluorodansitometrik miktar tayininde (82), NaOH ile kalevilendirilen örneklerden Et<sub>2</sub>O ile ekstre edilip, çözücü buharlaştırılmış, kalıntı metanol içersinde çözümlüp CHCl<sub>3</sub>-MeOH-HOAc (75:20:5) çözücü sistemi ile TLC'de ayrıldıktan sonra lekelerin fluoresans şiddeti ölçülmüştür.

HPLC yöntemiyle nadolol plazma, idrar, kan serumu gibi biyolojik sıvılarda (31,65,83,84,85,86,87) ve farmasotik preperatlarda (83), çeşitli kolonlar kullanılarak tayin edilmiştir. Bu çalışmalarda UV ve fluresans dedektörler kullanılmıştır.

## 2.2. Brom Timol Mavisi (BTM)

Katyon tipi renksiz bir organik bileşiğin spektrumun görünür alanında iyon çifti ekstraksiyonu ile karşıt iyon olarak renkli bir anyon kullanılması gerekir. Aminlerin bu esasa göre spektrofotometrik tayininde çoğu kez asit tipi boyalar ve

sülfonftaleinler kullanılmıştır. Brom timol mavisi bir sülfonftaleindir. 3-3'-Dibromotimol sülfonftalein olarak adlandırılır. Kapalı formülü  $C_{17}H_{28}Br_2O_5S$  şeklinde olup molekül ağırlığı 624.4 g/mol'dür.



Suda az, alkolde ve bazik çözeltilerde daha iyi çözünür. Ksilen, toluen ve benzende daha az çözünür. Petrol eterinde çözünmez.

### 2.3. İyon Çifti Ekstraksiyonu

#### 2.3.1. İyon Çifti Ekstraksiyonu ile Spektrofotometrik Tayin

Birçok amin ve kuarterner amonyum bileşiğinin tayinine yarayan iyon çifti ekstraksiyonu yönteminde yüksüz molekül veya negatif yüklü boya ile pozitif yüklü azot bileşiğinin oluşturduğu iyon çiftinden yararlanır. Oluşan iyon çifti organik çözücüye ekstre edilerek spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu yöntem asid boyama tekniği olarak da adlandırılmaktadır.

Amin-boya bileşiğini bazı araştırmacılar iyon çifti, bazıları tuz, bazıları ise kompleks olarak adlandırmışlardır.

Bu yöntemde kullanılmış olan karakteristik boyalar brom krezol moru, brom timol mavisi, brom krezol yeşili ve metil oranjdır (88,89,90,91).

Sulu fazın pH değeri tayinin doğruluğunda önemlidir. Amin-boya iyon çiftinin organik faza geçen miktarı sulu fazın pH'ına bağlıdır. Serbest halde kalan boya ekstre edilemediği için ve boyanın iyon çifti oluşturan kısmı boyanın anyonu olduğu için pH değeri asidik boyanın  $pK_a$  değeri yakınında veya onun biraz üstünde olmalıdır. Diğer taraftan aminin pozitif yüklü olması için pH değeri amini protonlayacak kadar asidik olmalıdır. Kuarterner amonyum bileşikleri bütün pH'larda pozitifdir. Bu özelliklerinden dolayı beraber bulunmaları halinde kuarterner amonyum bileşikleri ve aminler uygun pH kontrolü ile ayrılabilirler (92).

Das Gupta ve arkadaşları sulu fazın pH'ının ortalama olarak tahmin edilebilmesi için bir eşitlik geliştirmiştir (93). Bu eşitliğin çözümü için amin-boya iyon çiftinin ekstraksiyonunda tamponlanmış sulu çözelti ile ekstraksiyon için kullanılan organik çözücü arasındaki partisyon katsayısı ile boyanın  $pK_a$  değerinin bilinmesi gereklidir.

Das Gupta (94), atropin, klorfeniramin ve bunların malest tuzları ile dextrometofan hidrobromür, metapirilen. HCl,

kinin ve bunun HCl tuzu gibi bazı maddelerin brom timol mavisini ile oluşturduğu iyon çiftlerini incelemiştir. İyon çiftinin ekstraksiyonu için kloroform kullanılmış, iyon çiftinin mol oranı ve kararlılık sabiti tayin edilmiştir. Aynı araştırmacının Cadwallader ile birlikte yaptığı bir çalışmada (89), brom timol mavisini kullanarak tiamin miktar tayini yapılmış ve bu yöntemin farmasotik preparatlardaki tiaminin analizinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Das Gupta ve arkadaşlarının bir başka çalışmasında (95), tiamin-BTM iyon çiftinin organik çözücüye ekstraksiyonuna BTM konsantrasyonu ve pH'nın etkisi incelenmiştir. Sekiz adet aminin incelendiği başka bir çalışmada (96), amin ile brom timol mavisini arasındaki kompleksin ekstraksiyonunda en uygun pH seçimi teorik ve deneysel olarak araştırılmıştır. İdrarda yine BTM'den yararlanarak emepronium bromür tayini yapılmıştır (97). Amfetamin, atropin gibi bazı aminlerin brom timol mavisini ile oluşturdukları sarı komplekslerin benzen fazındaki absorbanansı 403 nm.de ölçülerek tayinleri yapılmıştır (98).

Farmasotik preparatlarda metil oranj kullanılarak kloropiramin.HCl pH = 4'de, klorfenamin pH = 5'de kloroforma, difenhidramin pH = 5'de dikloretana (91) metronidazol pH = 4.4'de kloroforma (99), ekstre edilerek brom krezol yeşiliyle klorheksidin pH = 5.7'de kloroforma çekilerek (90), spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Asid boyama tekniğinden yararlanarak meklizin.HCl ile metil oranj arasındaki kompleksin kloroform fazındaki absorbanansı ölçülerek farmasotik preparatlarda ve

biyolojik sıvılarda meklizin.HCl tayin edilmiştir (100). Tenalidin maleat ve tiazanyum metil sülfatın aynı teknikle tayininde çeşitli asit boya ve çözücüler denenmiştir (101). Tenalidin maleat için tropakolin 00 boyası ve çözücü olarak 1,2 dikloroetan, tiazanyum için de brom fenol mavisi ve monokloro benzen uygun bulunmuştur. Oksimetazolin.HCl ise brom krezol yeşili veya brom fenol mavisi ile çalışılmış, oluşan her iki iyon çiftinin bir saat süre ile kararlı olduğu bulunmuştur. Her ikisinde kloroform fazına ekstre edilerek 420 nm. deki absorpsiyon ölçülmüştür. Bu çalışmada brom krezolle yapılan çalışmanın hassasiyetinin biraz daha fazla olduğu bulunmuştur (102). Sane R.T. ve arkadaşları da (102), tetrahidrozolin.HCl, xometazolin.HCl, naftazolin nitrat, antazolin.HCl ile çalışmışlar ve asit boya olarak brom krezol yeşili, brom fenol mavisi, brom timol mavisi veya metil oranj kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bu kompleksler kloroform fazına ekstre edilmiştir. Beltagy Y.A. ve arkadaşları (104), toplam onsekiz adet organik esaslı madde ve bunların ilaç preparatlarını Tropdeolin 000 asit boyasından yararlanarak tayin etmişlerdir. Bazı alifatik aminler ve kuarterner amonyum bileşikleriyle metil oranj arasında oluşan iyon çiftinden yararlanarak yapılan spektrofotometrik tayinlerin bildirildiği bir başka çalışmada (105), benzoksol, dietil propion, dodeksil amin, emopronium, N-hidroksi etil prometazin ve protripitilin gibi maddelerden oluşan iyon çiftleri pH = 4.6'da ekstre edildikten ve primer ve sekonder

aminler asetilen ile primer aminler salisil aldehit ile maskelendikten sonra diğer aminlerin tayinleri yapılmıştır. pH = 6'da sulu fazda trifluoperazin tabletleri ile brom krezol moru arasındaki iyon çifti % 1 isoamil alkol içeren benzene ekstre edildikten sonra 410 nm.de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (88).

Tabletlerde siproheptadin hidroklorür tayini brom krezol yeşili ile oluşturduğu iyon çifti kloroforma daha sonra tekrar 0,1 N NaOH'e ekstre edildikten sonra 615 nm.deki absorbansı ölçülerek yapılmıştır (106).

Bazı biguanidinlerin idrardan tayinini amaçlayan bir çalışmada (107), metformin, fenformin ve buforminin brom timol mavisi ile oluşturdukları iyon çiftleri metilen klorüre ekstre edildikten sonra tetrabütülamonyum hidroksit (TBA) ilave edilerek organik fazda oluşan BTM-TBA iyon çiftinin absorbansı 630 nm.de ölçülmüştür.

### 2.3.2. İyon Çifti Ekstraksiyonunun Diğer Kullanım

#### Alanları

İyon çifti oluşturulmasından spektrofotometrik tayinden başka daha birçok alanda yararlanılır. Bunlar üç grupta toplanabilir.

- a) Ekstraksiyon ve fluorimetrik tayin
- b) İyon çifti titrasyonları
- c) Kromatografi

a) Ekstraksiyon ve fluorimetrik Tayin :

Bazı araştırmacılar ilaç maddelerinin fluoresans gösteren karşıt iyonlar kullanıp iyon çifti oluşturarak organik faza ekstre ettikten sonra fluoresans şiddetini ölçmüşlerdir.

Borg ve Schill karşıt iyon olarak propilprotriptilini kullanarak disüstitüe barbitüratların kantitatif tayinini fluorimetrik olarak yapmışlardır (108). Bu çalışmaya benzer olarak bromür, perklorat, nonilbenzensülfonat ve tetradekansülfonat gibi anyonların dimetilprotriptilin ile (109), amonyum bileşiklerinin antrasen-2-sülfonat (110) ile, pentazosinin klorür anyonu ile (111) oluşturdukları iyon çiftlerinin fluoresans şiddetlerini ölçmüşlerdir. İmipramin, presilamin, amitriptilin, nortriptilin ve kuarterner amonyum tuzlarının antrasen-2-sülfonat kullanılarak tayinleri yapılmıştır (112, 113). Fluorimetrik iyon çifti ekstraksiyonu ile Tserng ve Wagner bu tayin yöntemini geliştirmişlerdir (114).

Westerlund ve Borg, bu amaçla yapılan çalışmalar için karşıt iyon olarak 9,10-dimetoksiantrasen-2-sülfonatu kullanarak amitriptilin ve protriptilin ile kuarterner amonyum iyonlarının analizini yapmışlardır (115). Aynı karşıt iyon kullanılarak plazmadan organik çözücüye ekstre edilen etken maddenin fluoresans şiddeti tetrabütülamonyum hidroksit ilavesinden sonra ölçülmüştür (116).

Bazı aminlerin analizi için Gfeller ve Frey otomatik bir fluorimetrik iyon çifti yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde karşıt iyon olarak dimetoksiantrasen sülfonat kullanılmıştır (117).

b) İyon Çifti Titrasyonları :

Bu titrasyonlarda bitiş noktası tayininde, titrasyon sırasında oluşan iyonlardan birinin iyon çifti halinde organik çözücüye geçmesi özelliğinden yararlanılır. Örneğin,  $A^+Y^-$  tuzunun sudaki çözeltisinin  $X^+B^-$  titrantı ile titrasyonunda  $A^+$  katyonu ve  $B^-$  anyonundan oluşan,  $A^+B^-$  şeklindeki iyon çifti, titre edilen sulu çözeltiye katılmış olan ve onunla karışmayan organik çözücüye geçer. Titrasyon sırasında organik fazın absorbanı ölçülür, hazırlanan absorban-titrant hacmi grafiğinden bitiş noktası saptanır. Bu yöntem ilaç maddelerine ve ayrıca yüzey aktif maddelere uygulanmıştır. Bazı bazların (prometazin hidroklorür), asitlerin (sodyum lauril sülfat) kloroform-tampon çözelti sisteminde titrant olarak pikrat veya metilen mavisiyle titrasyonu bu konuda yapılan çalışmalara örnektir (118).

c) Kromatografi :

İyon çifti kromatografisi yöntemi iyon çiftinin normal veya ters fazlı kromatografi sisteminde partisyon esasına dayanır. Tomlinson ve arkadaşları bir derleme halinde bu çalışmalarını yayınlamışlardır (119).

Normal fazlı iyon çifti kromatografisinde silikajel, kieselguhr gibi bir taşıyıcıya, karşıt iyonu içeren sulu faz adsorbe ettirilir. Analiz edilecek örnek sütuna uygulandıktan sonra oluşturulan iyon çiftleri uygun bir organik çözücü ile azalan ekstraksiyon sabitlerine göre sırasıyla elüe edilir. Bazı karboksilli asitlerin analizi (120), fenilasetik asitlerin analizi (121) yapılmıştır.

Bir başka çalışmada alkil aminler, dipeptidler ve amino asitler karşıt iyon olarak naftalen-2-sülfonat içeren sulu stasyonier faz kloroform-pentanol karışımından oluşan hareketli faz ile ayrılmışlardır (122). Pikrat iyonu kullanılarak homatropin metilbromür analiz edilmiştir (123). Eksborg ve arkadaşları bazı karboksilli asitleri selüloz sütunda kuarterner amonyum bileşikleri kullanarak ve bazı amin ve kuarterner amonyum bileşiklerini pikrat veya  $\beta$ -naftalen sülfonat kullanarak ayırmışlardır (124). Kuarterner alkil amonyum bileşiklerinin miktar tayini pikratları halinde ve kloroform-pentanol hareketli fazı kullanarak yapılmıştır (125).

Karşıt iyon olarak perklorat ve metan sülfonat kullanarak biyolojik materyalden kinidin ve dihidrokinidin ile imipramin ve metabolitlerinin analizi, yine karşıt iyon olarak tetrabütil amonyum iyonu kullanarak indol ve hidroksiindol asetik asitlerin analizi yapılmıştır (126). Farmasotik ürünlerde tropan ve ergo alkaloidleri kieselguhr sütunda pikrik asitle doyurulmuş kloroform ile elüe edilerek tayin edilmiştir (127).

Stasyonier fazı organik çözücünün oluşturduğu ters fazlı iyon çifti kromatografisini ilk kez Wahlund ve arkadaşları uygulayarak organik amonyum iyonlarının inorganik iyonlar ile oluşturdukları iyon çiftlerinin ayrılmasında kullanmışlardır (128). Pentanol duran faz ile tetrabütil amonyum içeren sulu fazda karboksilli asitleri ve sülfonik asitleri ayırmışlardır (129). Benzer şekilde çalışılarak bazı organik asitlerin analizi yapılmıştır (130).

Amin grubu içeren bazı ilaç maddeleri Li-Chrosorb sütundan elüe edildikten sonra dimetoksiantrazen-2-sülfonat ile türevlendirilerek çözeltinin fluoresans şiddeti ölçülmüştür (131).

Brandström ve Junggren tarafından gaz kromatografik analizlerde iyon çifti ekstraksiyonu yöntemi geliştirilmiştir (132). Plazmada klortalidon analizinde madde bazik ortamda tetrahekzilamonyum karşıt iyonu ile oluşturduğu iyon çifti halinde diklorometana ekstre edildikten sonra metil iyodürün diklormetandaki çözeltisi ile kolayca metillenmektedir (133). Alifatik karboksilli asitlerin gaz kromatografik analizlerinde bu maddelerin pentafluorobenzil türevleri aynı yöntemle elde edilmiştir (134).

### 3. DENEYSEL BÖLÜM

#### 3.1. Kullanılan Maddeler

İlaç maddeleri: Asebutolol hidroklorür (Bayer, Birleşik Alman İlaç Fab.), atenolol (Doğu İlaç Fab.), nadolol (E.R. Squibb-Sons.İlaç A.Ş.).

Kimyasal maddeler ve çözücüler : Brom timol mavisi (BTM), sodyum hidroksit, metanol, hidroklorik asit, potasyum hidrojen ftalat, potasyum dihidrojen fosfat, borik asit, potasyum klorür, benzen ve toluen (Merck, E.Merck A.G Darmstadt), kloroform (BDH Chemical Ltd.). Sulu çözeltilerin hazırlanmasında bidestile su kullanıldı.

#### 3.2. Çözeltiler

Belirteç çözeltisi : BTM'nin çeşitli pH'da tampon çözeltilerdeki  $2 \times 10^{-4}M$ ,  $4 \times 10^{-4}M$ ,  $5 \cdot 10^{-4}M$  çözeltileri hazırlandı. Bu amaçla 0,1248 g. BTM, 0.2 ml. 1 N NaOH çözeltisinde çözüldükten sonra su ile 100 ml.ye tamamlanarak  $2 \times 10^{-3}M$  çözelti hazırlandı. Diğer çözeltiler bu çözeltiden gerekli miktar alınıp 0.2 M HCl veya NaOH çözeltisi ile ilgili pH'a getirildikten sonra aynı pH'da hazırlanmış olan tampon çözelti ile gerekli hacime tamamlanarak hazırlandı. Bu çözeltiler buzdolabında bekletilmek koşulu ile bir ay kullanıldı.

İlaç maddeleri çözeltileri : Asebutolol hidroklorür ve nadolol'un sudaki, atenolol'ün  $1 \times 10^{-3}$  M HCl deki çeşitli konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı; Optimum koşulların saptanması için  $75 \text{ mcg.ml}^{-1}$ ., Job eğrisinin çizilmesi için  $5 \times 10^{-4}$  M, mol oranı için  $100 \text{ mcg.ml}^{-1}$ ., ölçü eğrisinin çizimi için  $15-90 \text{ mcg.ml}^{-1}$  konsantrasyonda çözeltiler.

Tampon çözeltiler : Çeşitli pH alanlarındaki çözeltiler aşağıda gösterilen çözeltiler yardımı ile hazırlandı.

pH = 4	0.2 M	Potasyum hidrojen ftalat-0.2 M HCl
pH = 5	0.2 M	Potasyum hidrojen ftalat-0.2 M NaOH
pH = 6-8	0.2 M	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ -0.2 M NaOH
pH = 9	0.2 M	$\text{H}_3\text{BO}_3$ -0.2 M KCl-0.2 M NaOH

### 3.3. Araç ve Gereçler

Spektrofotometre (Shimadzu, UV-150-02),  $10 \times 10 \times 45 \text{ mm}$  cam küvetler (Hellma, 100 -0S), pH metre (Metrohm E510 Herisau) ile pH elektrodu (Metrohm AG CH-9101 Herisau), girdap karıştırıcı (Nüve), Analitik terazi (August Sauter GmbH D-7470) ( $0,1 \text{ mg.}$ 'a kadar duyarlı), santrifüj (Janetzki T30) ve ayrıca plastik kapaklı ağzı şilifli  $12 \text{ ml.}$ lik santrifüj tipleri, pastör pipetler kullanıldı.

### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. BTM ile İyon Çifti Ekstraksiyonu ve Spektrofotometrik Tayin

##### 3.4.1.1. Deney Koşullarının Saptanması :

İncelenen ilaç maddelerinin BTM ile iyon çifti oluşturması için en uygun koşulların saptanması amacıyla sulu çözeltinin pH'ı ekstraksiyon çözücüsü, absorbands ölçümlerinin yapılacağı dalga boyu, gerekli belirteç miktarı, oluşan rengin dayanıklılığı gibi parametrelerin incelenmesinde uygun miktarda ilaç maddesi içeren çözeltinin 1 ml'si cam tüpe kondu, üzerine gerekli miktarda BTM içeren ilgili pH daki tampon çözeltiden 3 ml. ilave edildi. Karışım 6 ml. ekstraksiyon çözücüsü ile bir dakika süreyle girdap karıştırıcıda karıştırıldı. Fazların ayrılması için 3 dakika süreyle santrifüjlendi. Organik faz pastör pipeti yardımıyla alındı ve absorbandsı ilgili dalga boyunda aynı şartlarda hazırlanmış olan boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü. Bu incelemelerden elde edilen bulgular ve bulgulara göre saptanan değerler tezis sonuçlar bölümünde verilmiştir.

##### 3.4.1.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

İncelenen ilaç maddelerinin BTM ile oluşturdukları sarı renkli iyon çiftlerinin kloroformdaki çözeltilerinin absorbandsının ilaç maddesinin konsantrasyonu ile olan ilişkisini incelemek üzere  $100 \text{ mcg.ml}^{-1}$  konsantrasyondaki ilaç maddesi

çözeltilerinden 0.15-0.9 ml'lik hacimler tüpe kondu. Çözeltinin hacmi su ile 1 ml.ye tamamlandıktan sonra herbirine ilgili tampon çözeltideki  $2 \times 10^{-4}$  M BTM çözeltisinden 3'er ml.ilave edildi. Bundan sonra işleme 3.4.1.1'de olduğu gibi devam edildi. Aynı koşullarda 5 kez çalışarak herbir konsantrasyon için ölçülen absorbands değerlerinin ortalaması ( $\bar{A}$ ) ve bağıl standart sapma değeri ( $\frac{S}{\bar{A}} \times 100$ ) hesaplandı. Ortalama absorbands değerleri ile karşılık konsantrasyon değerleri arasında ölçü eğrileri çizildi. Ölçü eğrilerine ait doğru denklemleri en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Sonuçlar bölüm 4.1.2 de verilmiştir.

### 3.4.2. Mol Oranlarının ve İyon Çiftlerinin Kararlılık Sabitlerinin Saptanması

İncelenen ilaç maddelerinin BTM ile iyon çifti oluştururken hangi mol oranında birleştiklerini ve iyon çiftlerinin kararlılık sabitlerini saptamak için Job'un Sürekli Değişim Yönteminden (135), yararlanıldı. Bu değerler ayrıca gerekli belirteç miktarının saptanması için yapılan incelemelerde (bölüm 4.1.1.d) elde edilen absorbands değerlerinden yararlanılarak oluşturulan mol oranı grafiğinden de hesaplandı.

#### a) Job'un Sürekli Değişim Yöntemi :

İlaç maddelerinin ve BTM nin (ilgili pH daki tamponda) aynı konsantrasyondaki ( $5 \times 10^{-4}$  M) çözeltileri hazırlandı.

Bu çözeltilerden Cetvel 7.de gösterilen hacimlerde alınarak ve toplam sulu hacmi sabit tutularak bölüm 3.4.1.1.de anlatılan şekilde çalışıldı. Elde edilen absorbens değerleri ordinatta, karşılık olan ilaç maddesi mol kesri absiste olmak üzere Job eğrisi oluşturuldu. Job eğrisinde en yüksek absorbens değerinin elde edildiği mol kesri saptandı. Kararlılık sabitleri Job eğrisindeki en yüksek absorbens değerine karşılık olan konsantrasyon değerinden hesaplandı.

b) Bölüm (4.1.1.d) de artan BTM miktarı ile elde edilen absorbens değerlerinden yararlanılarak absise BTM/ilâç maddesi mol oranı, ordinata ise bunlara karşılık olan absorbens değerleri konarak mol oranı grafiği oluşturuldu. Grafikteki eğrinin her iki tarafının ekstrapolasyonu ile bulunan kesim noktasının absis karşılığından mol oranları bulundu. Bu kesim noktasının ve bu noktadan absise indirilen dikmenin eğriyi kestiği noktanın ordinat değerlerinden ( $A$  ve  $A_m$ ) hesaplanan ayrışma sabiti üzerinden kararlılık sabiti bulundu.

Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar bölüm 4.2.de bildirilmiştir.

### 3.4.3. Farmasotik Preperatların Analizi

#### 3.4.3.1. Geliştirilen Yöntem :

İncelenen ilaç maddelerini içeren tabletlerin analizi için yirmi adet tablet tek tek tartıldı ve ortalama tablet ağırlığı saptandı. Daha sonra tabletler porselen havanda ince toz haline getirildi. Bu karışımdan 13 mg. civarında ilaç maddesine eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartıldı. 100-150 ml. kadar destile su (atenololde  $1 \times 10^{-3}M$  HCl) ile balon jojeye aktarılıp karıştırılarak çözüldükten sonra 15 dakika çalkalandı ve 250 ml.ye tamamlandı. Daha sonra bu çözelti mavi bantlı kuru süzgeç kağıdından süzüldü. Süzütünün ilk 25 ml.si atıldı. Kuru bir erlenmayere toplanan kalan kısımdan alınan 1'er ml.'lik hacimler bölüm (3.4.1) de anlatıldığı biçimde çalışıldı. İşlemler 5'er kez tekrarlandı. Ölçülen absorban değerlerine karşılık olan ilaç maddesi miktarları ilgili ölçü eğrileri yardımıyla hesaplandı.

#### 3.4.3.2. Kıyaslama Yöntemi

İlaç maddelerinin metanolde 1 mg/100 ml. konsantrasyondaki standart çözeltileri hazırlandı. UV spektrumları alınıp  $\lambda_{max}$  saptandı. Bu dalga boylarındaki absorbanlar kaydedildi. Ortalama tablet ağırlığı belli olan toz karışımından 10 mg. ilaç maddesine eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartılarak metanolde çözüldü. 100 ml.ye tamamlanan çözelti mavi bantlı süzgeç kağıdından süzülüp ilk 25 ml.si

atıldı. Geri kalan çözülden 1 ml. alınarak 100 ml.ye metanolla tamamlandı. Bu çözeltilerin  $\lambda_{max}$ 'daki absorbans değerleri okundu.  $\frac{A_s}{A_ö} = \frac{C_s}{C_ö}$  eşitliğinden yararlanarak ilaç preparatındaki ilaç maddesi miktarı hesaplandı.

Sonuçlar 4.4 bölümündeki cetvellerde verilmiştir.

a) pH : İncelenen ilaç maddelerinin  $10^{-4}$  konsantrasyondaki çözeltileri ve pH'ın 4 ile 9 arasında birer birim aralıkla değişen uygun çözeltilerde gerçekleştirilen  $2 \times 10^{-4} M$  çözeltileri ile karşılaştırarak en yüksek absorbansta elde edildiği pH tespit edildi. Bu pH'ın altında ve üstünde 0.2 birim aralıkla değişen dört adet pH'ın ölçümleri tekrar edildi. Sonuçlar tablo olarak Cetvel 1'de görülmektedir. Bu bulgulara göre çizilen ve sulu çözeltilerin pH'ının absorbansta etkisini gösteren grafikler Şekil 1'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre uygun pH'lar tespit edildi için S.D. standart ve kontrol için 5.8 dir.

Cetvel 1. Çizim 1'de görülen Absorban- pH ilişkisi.

pH	4	5	5.8	6.6	7	7.8	8.5	9
Aspirin	0.15	0.18	0.22	0.25	0.28	0.32	0.35	0.38
Atorvastatin	0.12	0.15	0.18	0.22	0.25	0.28	0.32	0.35
Aspirin	0.15	0.18	0.22	0.25	0.28	0.32	0.35	0.38

#### 4. SONUÇLAR

##### 4.1. BTM ile Spektrofotometrik Tayin Yöntemi

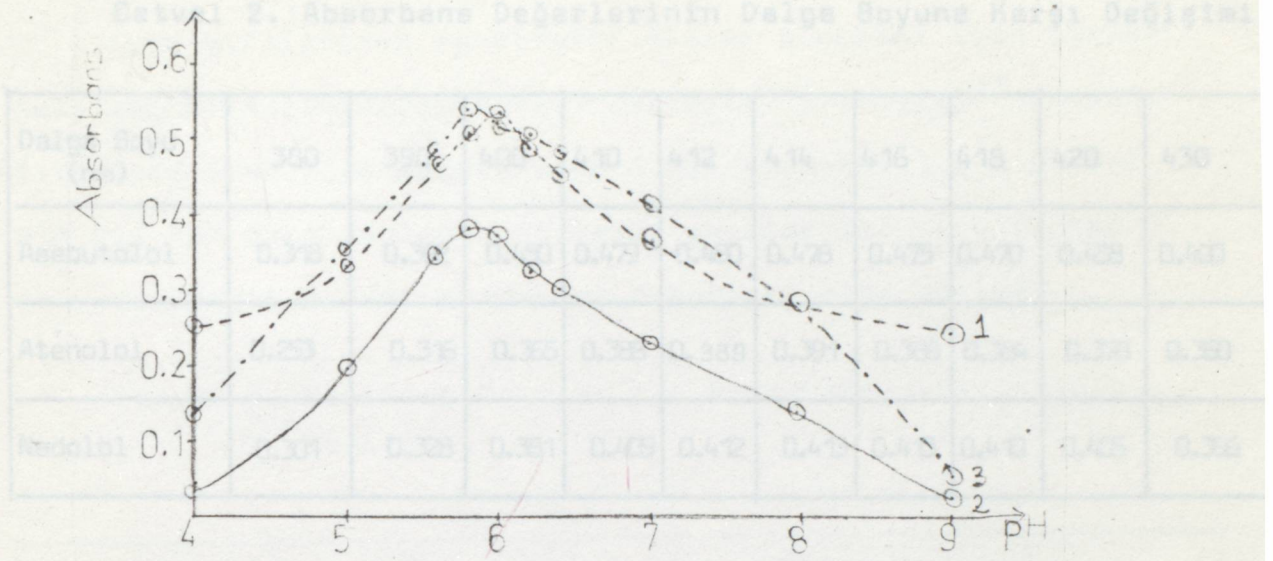
##### 4.1.1. Deney Koşulları :

Bölüm 3.4.1.1'de anlatılan şekilde çalışılarak yapılan incelemeler sonunda aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

a) pH : İncelenen ilaç maddelerinin  $75 \text{ mcg.ml}^{-1}$  konsantrasyondaki çözeltileri ve BTM'nin pH'ı 4 ile 9 arasında birer birim aralıkla değişen tampon çözeltilerde hazırlanmış olan  $2 \times 10^{-4} \text{ M}$  çözeltileri ile çalışılarak en yüksek absorbanstın elde edildiği pH saptandı. Bu pH'nın altında ve üstünde 0.2 birim aralıkla değişen dört adet pH'da işlemler tekrarlandı. Sonuçlar toplu olarak Cetvel 1.de görülmektedir. Bu bulgulara göre çizilen ve sulu çözeltinin pH'ının absorbansta etkisini gösteren grafikler Şekil 1.de verilmiştir. Bu sonuçlara göre uygun pH'lar asebutolol için 6.0, atenolol ve nadolol için 5.8 dir.

Cetvel 1. Çeşitli pH'larda Ölçülen Absorbans Değerleri.

PH	4	5	5.6	5.8	6	6.2	6.4	7	8	9
Asebutolol	0.250	0.333	0.463	0.523	0.543	0.485	0.452	0.365	0.284	0.243
Atenolol	0.033	0.197	0.340	0.382	0.370	0.321	0.298	0.230	0.137	0.025
Nadolol	0.135	0.353	0.484	0.540	0.536	0.507	0.481	0.413	0.280	0.052



Şekil 1. pH'nin Absorbansa Etkisi.  
(1.Asebutolol, 2.Atenolol,3.Nadolol)

b) Ekstraksiyon Çözücüsü :

İlaç maddelerinin BTM ile oluşturdukları iyon çiftlerinin sulu çözeltiden ekstraksiyonunda en uygun organik çözücünün saptanması için kloroform, benzen, toluen ve karbon tetra klorür ile yapılan denemelerde en yüksek absorbans değerleri kloroform ile elde edildiğinden ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform kullanıldı.

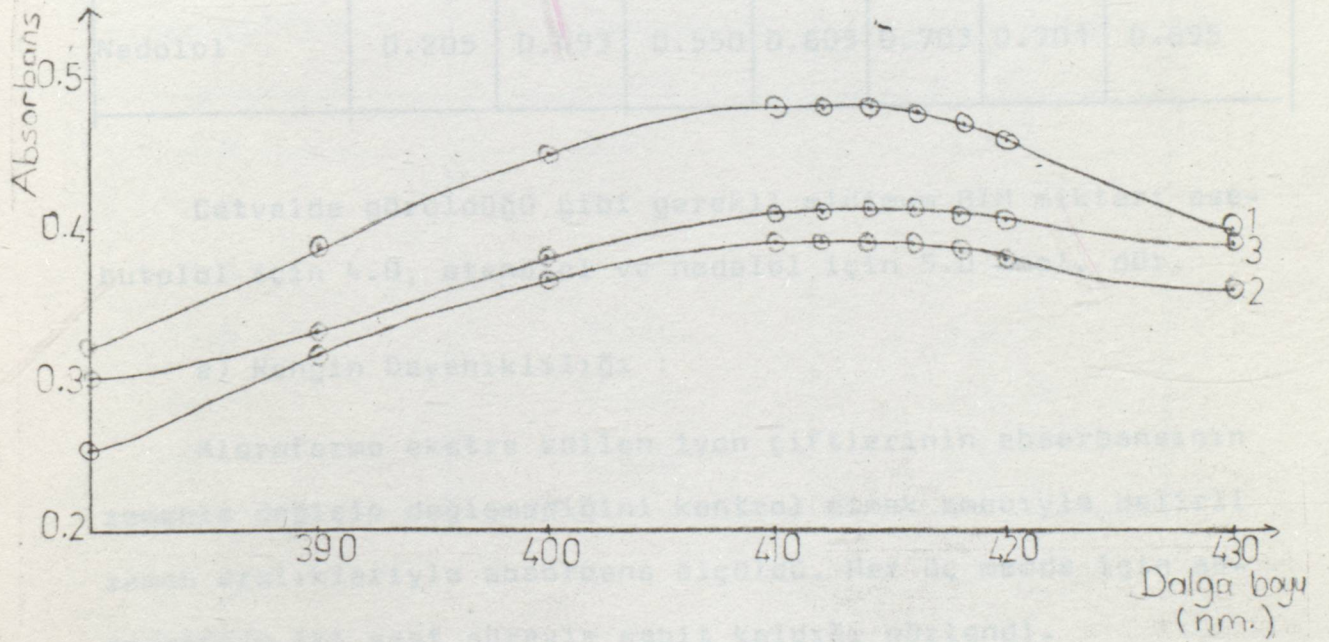
c) Dalga Boyu :

İncelenen ilaç maddeleri ile BTM'den oluşan iyon çiftlerinin kloroformdaki çözeltilerinin absorbanslarının dalga boyuna karşı değişimi Cetvel 2.de verilmiştir.

Çetvel 2. Absorbans Değerlerinin Dalga Boyuna Karşı Değişimi.

Dalga Boyu (nm)	380	390	400	410	412	414	416	418	420	430
Asebutolol	0.318	0.392	0.450	0.479	0.480	0.478	0.475	0.470	0.458	0.400
Atenolol	0.253	0.316	0.365	0.388	0.389	0.391	0.388	0.384	0.378	0.360
Nadolol	0.301	0.328	0.381	0.409	0.412	0.413	0.413	0.410	0.405	0.396

Çetvelde görüldüğü gibi her üçü için de 410 ile 420 nm. arasında en yüksek absorbans değerleri gözlenmiştir. Absorbans ölçümleri asebutolol için 412, atenolol ve nadolol için 414 nm. de yapılmıştır. Şekil 2.de ise absorpsiyon spektrumları görülmektedir.



Şekil 2. Asebutolol (1), Atenolol (2) ve Nadolol (3) un BTM ile iyon çiftlerinin absorpsiyon spektrumları.

d) Belirteç Miktarı :

İyon çiftlerinin kantitatif olarak oluşması için gerekli belirteç miktarının saptanması amacıyla  $100 \text{ mcg.ml}^{-1}$  konsantrasyonda olan ilaç maddesinden 1 ml. alınarak 1.0-8.0 mmol BTM ile "a" daki saptanan PH'larda yapılan bir seri deneme sonunda Cetvel 3.deki absorbens değerleri elde edildi.

Cetvel 3. Belirteç Miktarı ile Absorbans Değerlerinin Değişimi.

BTM (mmol)	1	2	3	4	5	6	8
Asebutolol	0.250	0.512	0.701	0.750	0.752	0.746	0.758
Atenolol	0.125	0.250	0.370	0.455	0.520	0.509	0.517
Nadolol	0.205	0.493	0.550	0.605	0.703	0.701	0.695

Cetvelde görüldüğü gibi gerekli minimum BTM miktarı asebutolol için 4.0, atenolol ve nadolol için 5.0 mmol. dür.

e) Rengin Dayanıklılığı :

Kloroforma ekstre edilen iyon çiftlerinin absorbensinin zamanla değişip değişmediğini kontrol etmek amacıyla belirli zaman aralıklarıyla absorbens ölçüldü. Her üç madde için absorbensin iki saat süreyle sabit kaldığı gözlemlendi.

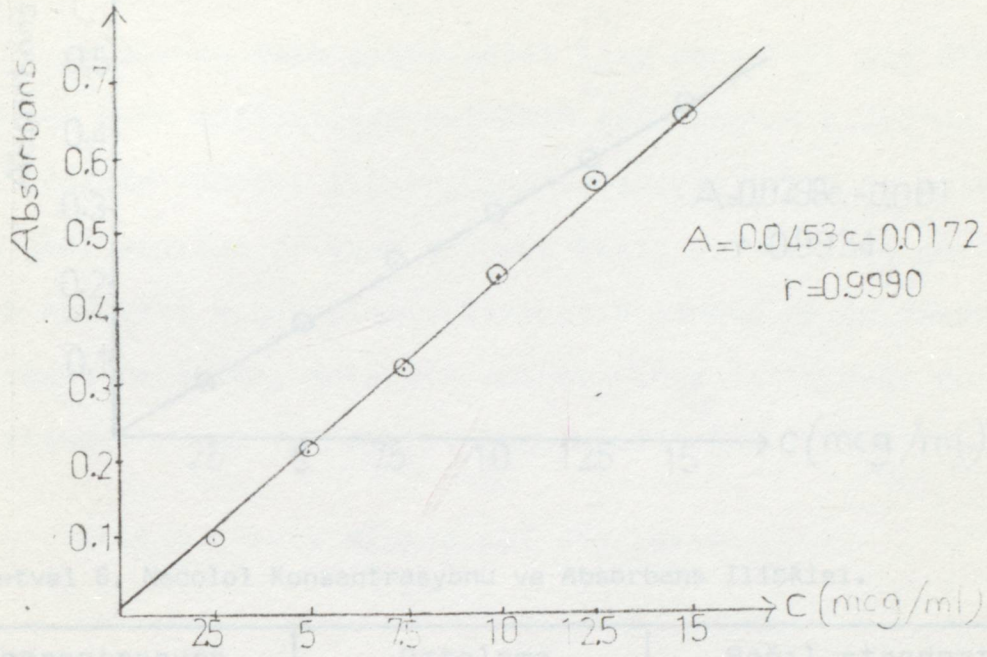
#### 4.1.2. Ölçü Eğrileri

Ölçü eğrileri ilaç maddesi nihai konsantrasyonunun 2.5-15.0 mcg.ml<sup>-1</sup> olduğu aralıkta hazırlandı. Bu amaçla bölüm 3.4.1.2. de anlatıldığı gibi çalışarak her bir konsantrasyon için bulunan ortalama absorbens ve bunlarla ilgili bağıl standart sapma değerleri Cetvel 4,5 ve 6 da ortalama absorbens değerleri ile bunlara karşılık olan ilaç maddesi nihai konsantrasyonu arasında oluşturulan ölçü eğrileri ise Şekil 3,4 ve 5 de görülmektedir. Ölçü eğrilerine ait doğru denklemleri, korelasyon katsayıları ile birlikte şekiller üzerinde verilmiştir.

Cetvel 4. Asebutolol Konsantrasyonu ve Absorbans İlişkisi.

Konsantrasyon c(mcg.ml <sup>-1</sup> )	Ortalama Absorbans ( $\bar{A}$ ) n=5	Bağıl Standart sapma ( $\frac{S}{\bar{A}} \times 100$ )
2.5	0.094	8.5
5.0	0.210	4.8
7.5	0.317	1.3
10.0	0.442	1.4
12.5	0.564	1.2
15	0.650	0.9

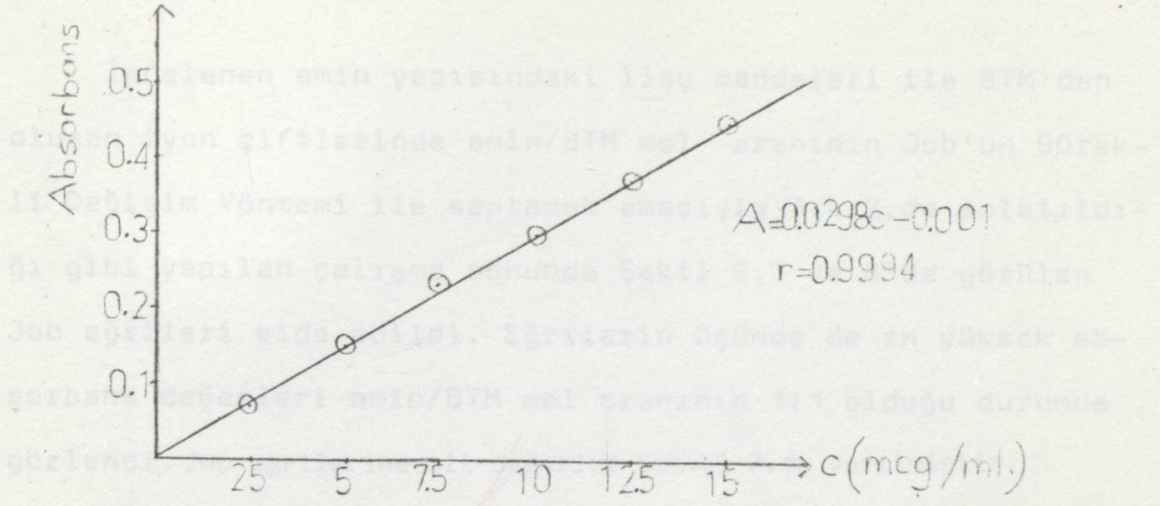
Şekil 3. Asebutolol'un Ölçü Eğrisi.



Cetvel 5. Atenolol konsantrasyonu ve Absorbans İlişkisi.

Konsantrasyon $c(\text{mcg.ml}^{-1})$	Ortalama Absorbans ( $\bar{A}$ ) N=5	Bağıl standart sapma ( $\frac{S}{\bar{A}} \times 100$ )
2.5	0.068	7.35
5.0	0.149	5.37
7.5	0.232	4.74
10.0	0.296	4.05
12.5	0.371	2.16
15	0.444	3.60

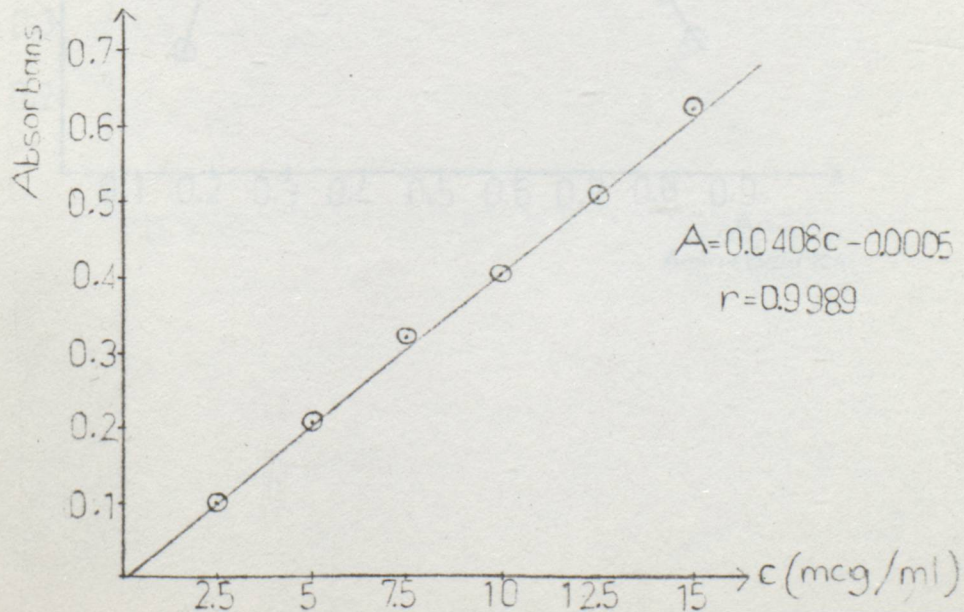
Şekil 4. Atenolol'ün Ölçü Eğrisi.



Cetvel 6. Nadolol Konsantrasyonu ve Absorbans İlişkisi.

Konsantrasyon $c(\text{mcg} \cdot \text{ml}^{-1})$	Ortalama Absorbans( $\bar{A}$ ) n=5	Bağıl standart sapma ( $\frac{S}{\bar{A}} \times 100$ )
2.5	0.098	8.7
5.0	0.208	4.8
7.5	0.319	1.9
10.0	0.400	1.3
12.5	0.502	1.0
15.0	0.620	0.7

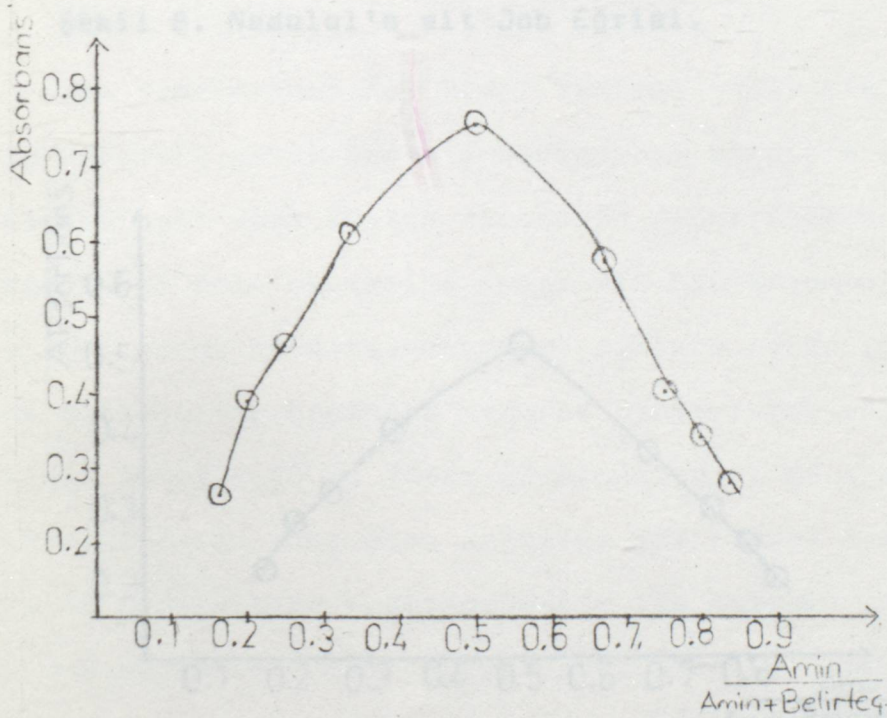
Şekil 5. Nadolol'un Ölçü Eğrisi.



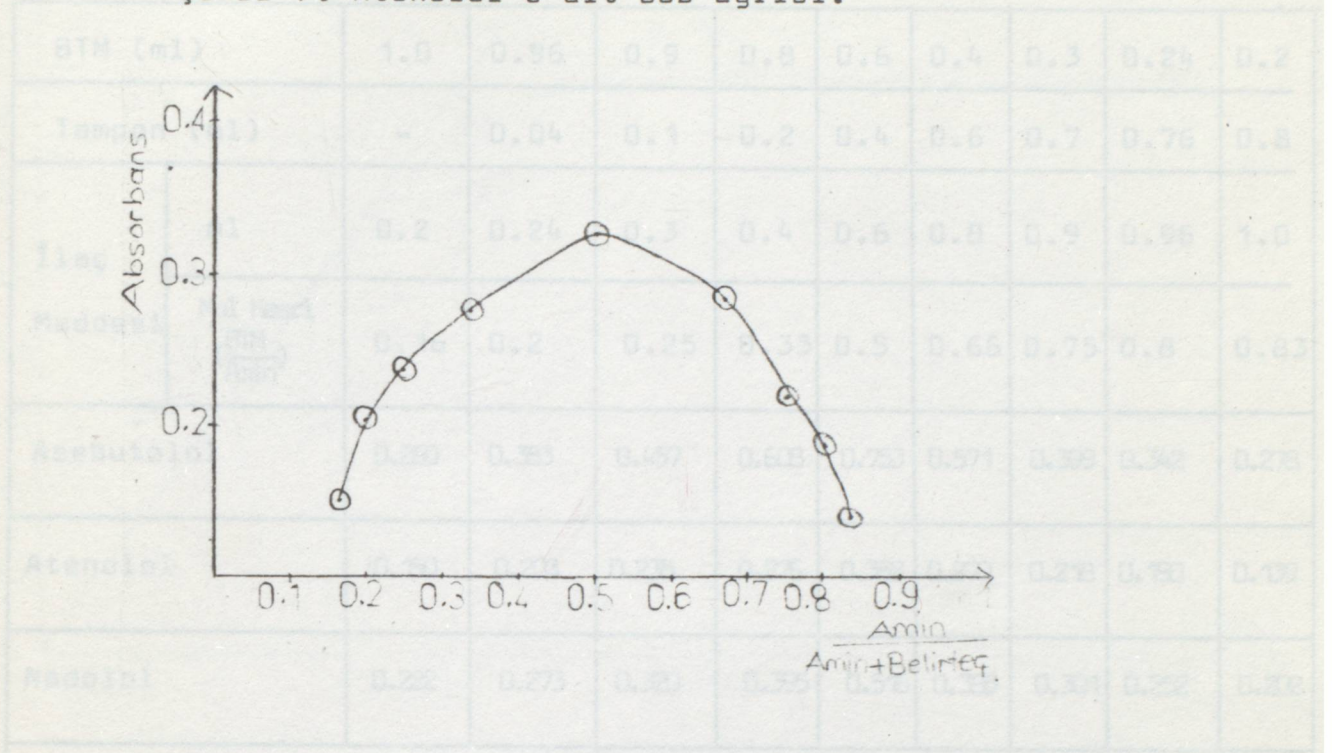
#### 4.2. Mol Oranları e ait Job Eğrisi.

İncelenen amin yapısındaki ilaç maddeleri ile BTM'den oluşan iyon çiftlerinde amin/BTM mol oranının Job'un Sürekli Değişim Yöntemi ile saptamak amacıyla 3.4.2.de anlatıldığı gibi yapılan çalışma sonunda Şekil 6,7 ve 8'de görülen Job eğrileri elde edildi. Eğrilerin üçünde de en yüksek absorban değerleri amin/BTM mol oranının 1:1 olduğu durumda gözlemlendi. Job eğrilerine ait değerler Cetvel 7.de verilmiştir.

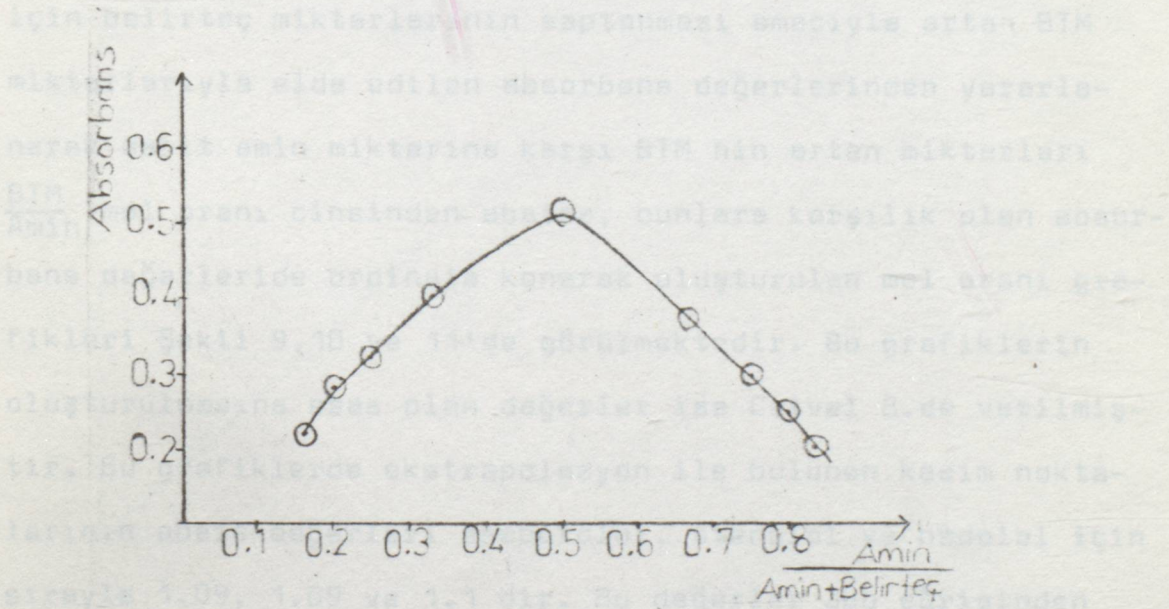
Şekil 6. Asebutolol'e ait Job Eğrisi.



Şekil 7. Atenolol'e ait Job Eğrisi.



Şekil 8. Nadolol'a ait Job Eğrisi.

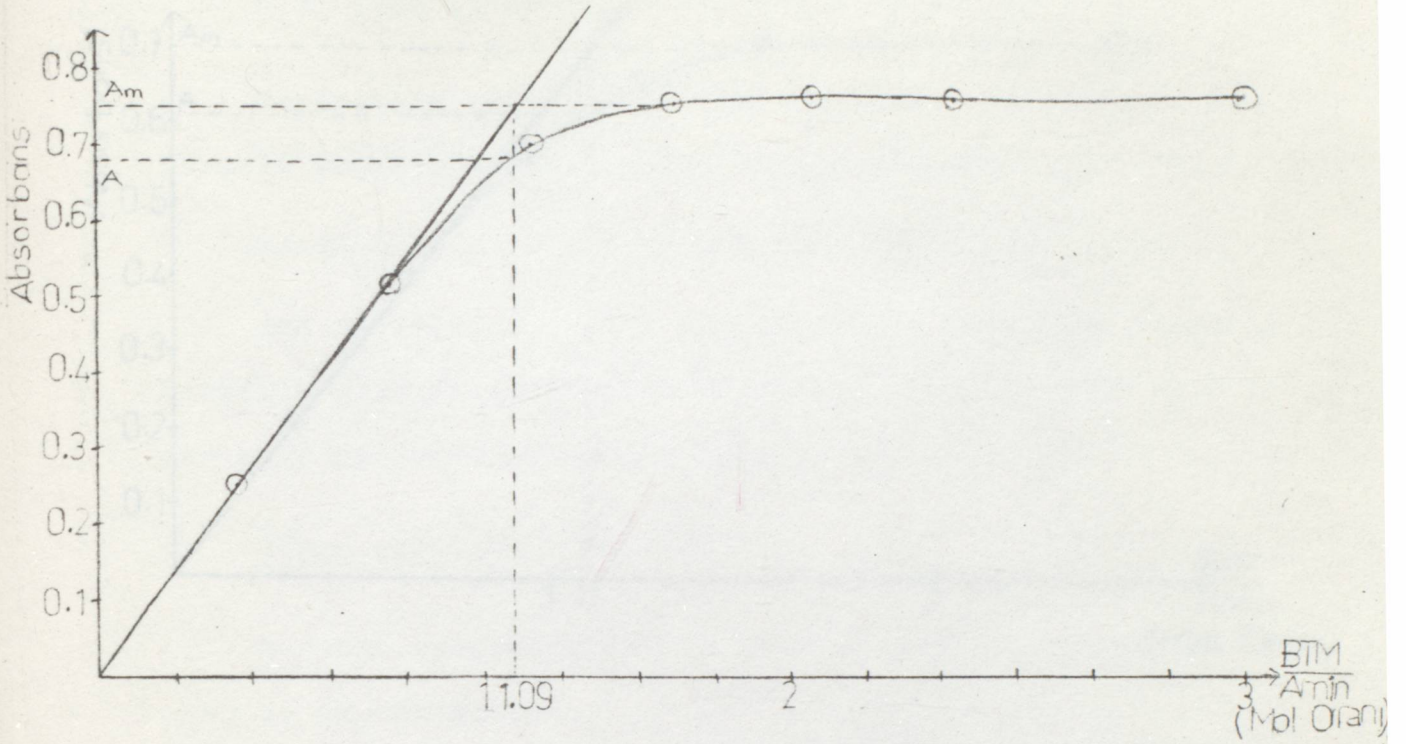


Cetvel 7. Job Eğrilerine Ait Değerler.

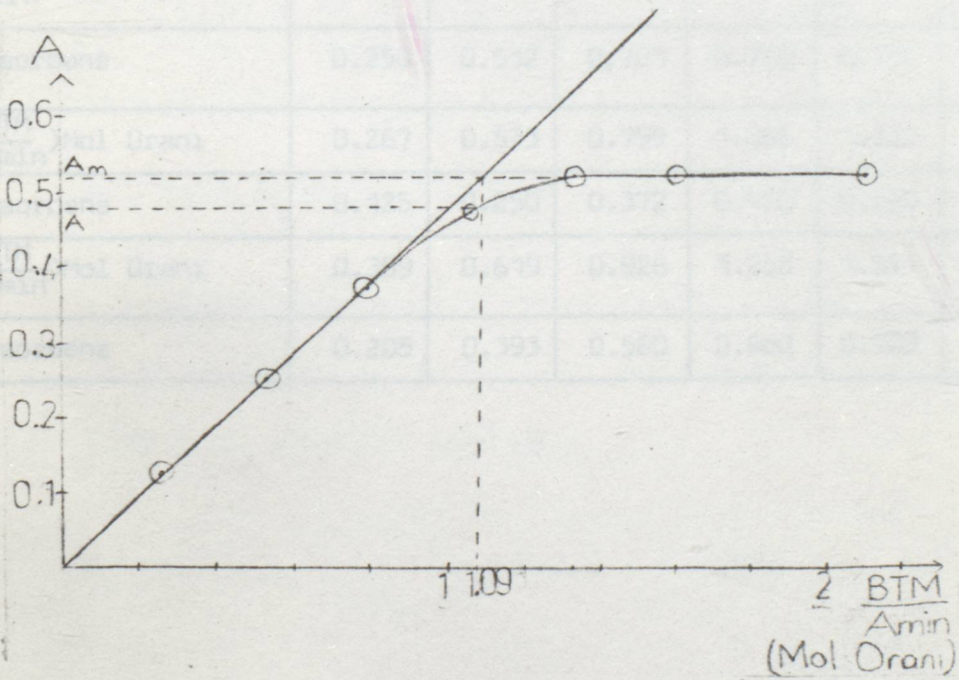
BTM (ml)	1.0	0.96	0.9	0.8	0.6	0.4	0.3	0.24	0.2	
Tampon (ml)	-	0.04	0.1	0.2	0.4	0.6	0.7	0.76	0.8	
İlaç Maddesi	ml	0.2	0.24	0.3	0.4	0.6	0.8	0.9	0.96	1.0
	Mol Kesri ( $\frac{BTM}{Amin}$ )	0.16	0.2	0.25	0.33	0.5	0.66	0.75	0.8	0.83
Asebutolol	0.260	0.383	0.457	0.608	0.753	0.571	0.399	0.342	0.278	
Atenolol	0.150	0.203	0.235	0.276	0.352	0.270	0.218	0.190	0.139	
Nadolol	0.222	0.273	0.320	0.395	0.516	0.385	0.301	0.252	0.202	

Mol oranlarının Mol Oranı Yöntemi (136) ile saptanması için belirteç miktarlarının saptanması amacıyla artan BTM miktarlarıyla elde edilen absorban değerlerinden yararlanarak sabit amin miktarına karşı BTM nin artan miktarları  $\frac{BTM}{Amin}$  mol oranı cinsinden absise, bunlara karşılık olan absorban değerleride ordinata konarak oluşturulan mol oranı grafikleri Şekil 9,10 ve 11'de görülmektedir. Bu grafiklerin oluşturulmasına esas olan değerler ise Cetvel 8.de verilmiştir. Bu grafiklerde ekstrapolasyon ile bulunan kesim noktalarının absis değerleri asebutolol, atenolol ve nadolol için sırayla 1.09, 1.09 ve 1.1 dir. Bu değerler Job eğrisinden bulunan sonuçlarla uyum göstermektedir.

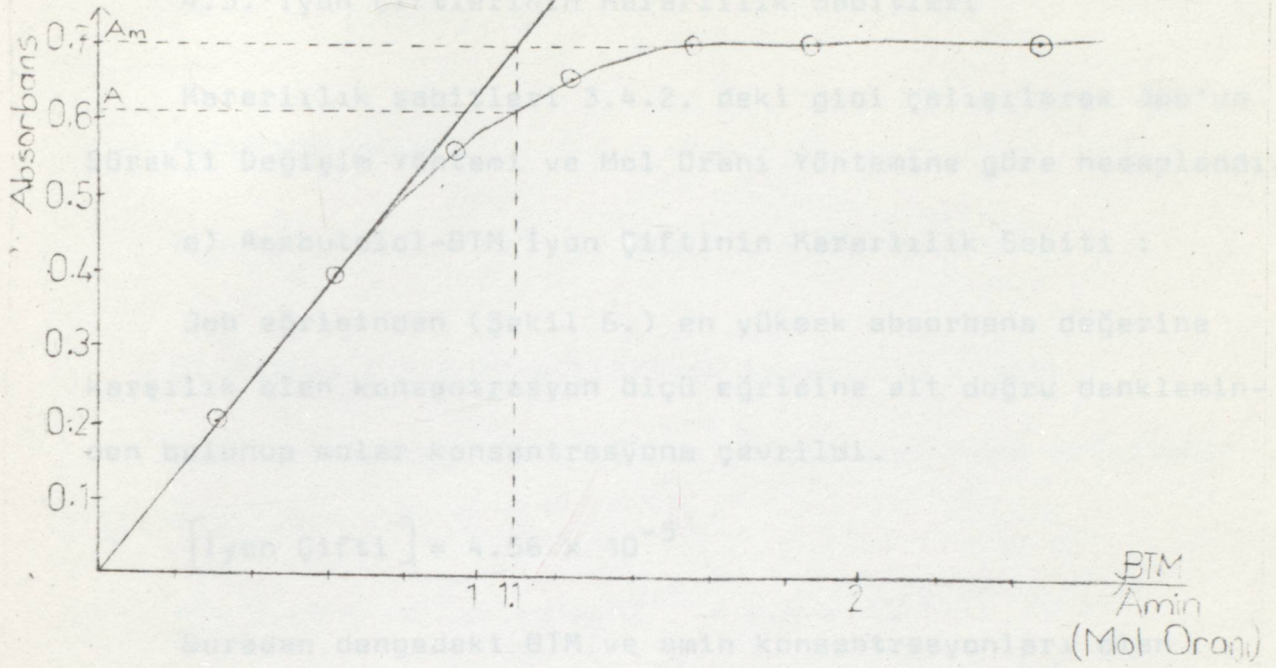
Şekil 9. Asebutolol'e ait Mol Oranı Grafiği.



Şekil 10. Atenolol'e ait Mol Oranı Grafiği.



Şekil 11. Nadolol'a ait Mol Oranı Grafiği.



Cetvel 8. İlaç Maddelerinin Mol Oranlarına Ait Değerler.

Asetbutolol	( $\frac{BTM}{Amin}$ ) Mol Oranı	0.373	0.746	1.119	1.492	1.865	2.238	2.984
	Absorbans	0.250	0.512	0.701	0.750	0.752	0.746	0.758
Atenolol	( $\frac{BTM}{Amin}$ ) Mol Oranı	0.267	0.533	0.799	1.066	1.333	1.599	2.133
	Absorbans	0.125	0.250	0.372	0.470	0.520	0.513	0.517
Nadolol	( $\frac{BTM}{Amin}$ ) Mol Oranı	0.309	0.619	0.928	1.238	1.547	1.857	2.476
	Absorbans	0.205	0.393	0.560	0.660	0.703	0.701	0.695

#### 4.3. İyon Çiftlerinin Kararlılık Sabitleri

Kararlılık sabitleri 3.4.2. deki gibi çalışılarak Job'un Sürekli Değişim Yöntemi ve Mol Oranı Yöntemine göre hesaplandı.

a) Asebutolol-BTM İyon Çiftinin Kararlılık Sabiti :

Job eğrisinden (Şekil 6.) en yüksek absorbans değerine karşılık olan konsantrasyon ölçü eğrisine ait doğru denklemin-den bulunup molar konsantrasyona çevrildi.

$$[\text{İyon Çifti}] = 4.56 \times 10^{-5}$$

Buradan dengedeki BTM ve amin konsantrasyonları olan [R] ve [A] hesaplandı.

$$[A] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.56 \times 10^{-5} = 4.44 \times 10^{-6}$$

$$[R] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.56 \times 10^{-5} = 4.44 \times 10^{-6}$$

6.25 Kararlılık Sabiti K :

$$K = \frac{4.56 \times 10^{-5}}{(4.44 \times 10^{-6})^2} = 2.35 \times 10^6 \quad \text{ve} \quad \log K = 6.37$$

Mol Oranı grafiğinden (Şekil 9)  $A = 0.680$ ,  $A_m = 0.750$  dir. C ise 6 ml'de 100 mcg asebutolol bulunduğuna göre  $4,47 \cdot 10^{-5} M$  dir. Buna göre ayrışma sabiti :

$$K_d = \frac{[1 - (A/A_m)]^2}{A/A_m} \cdot c \quad \text{den}$$

$$K_d = \frac{[1 - (0.680/0.750)]^2}{0.680/0.750} \cdot 4,47 \times 10^{-5} = 4.35 \times 10^{-7}$$

Kararlılık Sabiti :

$$K = \frac{1}{K_d} = 2.3 \times 10^6 \text{ ve } \log K = 6.36 \text{ bulundu.}$$

b) Atenolol-BTM İyon Çiftinin Kararlılık Sabiti :

Job Eğrisindeki (Şekil 7) en yüksek absorbands değerinden

$$[\text{İyon Çifti}] = 4.44 \times 10^{-5}$$

$$[A] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.44 \times 10^{-5} = 5.6 \times 10^{-6}$$

$$[R] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.44 \times 10^{-5} = 5.6 \times 10^{-6}$$

$$K = \frac{4.44 \times 10^{-5}}{(5.6 \times 10^{-6})^2} = 1.41 \times 10^6 \text{ ve } \log K = 6.15$$

Mol Oranı grafiğinden (Şekil 10),  $A = 0.480$ ,  $A_m = 0.520$  c ise  $6.25 \times 10^{-5} M$  dir.

Buna göre ayrışma sabiti;

$$K_d = \frac{[1 - (0.480/0.520)]^2}{0.480/0.520} \cdot 6,25 \times 10^{-5} = 4 \times 10^{-7}$$

Kararlılık sabiti;

$$K = \frac{1}{K_d} = 2.49 \times 10^6 \text{ ve } \log K = 6.39 \text{ dir.}$$

c) Job Eğrisinden (Şekil 8) en yüksek absorbans değerinden  
[İyon Çifti] =  $4.09 \times 10^{-5}$

$$[A] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.09 \times 10^{-5} = 9.1 \times 10^{-6}$$

$$[R] = 5.00 \times 10^{-5} - 4.09 \times 10^{-5} = 9.1 \times 10^{-6}$$

$$K = \frac{4.09 \times 10^{-5}}{(9.1 \times 10^{-6})^2} = 4.94 \times 10^5 \text{ ve } \log K = 5.69$$

Mol Oranı grafiğinden (Şekil 11),  $A = 0.610$ ,  $A_m = 0.700$ ,  $C$  ise  $5.38 \times 10^{-5} M$  dir.

Buna göre ayrışma sabiti :

$$K_d = \frac{[1 - (0.610/0.700)]^2}{0.610/0.700} \cdot 5,38 \times 10^{-5} = 1.02 \times 10^{-6}$$

Kararlılık Sabiti :

$$K = \frac{1}{K_d} = 9,79 \times 10^5 \text{ ve } \log K = 5.99 \text{ olarak bulunmuştur.}$$

#### 4.4. Farmasotik Preperatların Analizi ve Sonuçların İstatistik Olarak Değerlendirilmesi

İncelenen ilaç maddelerinin ticari preperatları olan tabletlerin bölüm 3.4.3 de anlatılan şekilde BTM ile ve karşılaştırma yöntemi olarak kullanılan UV spektrofotometrik yöntemle analizleri sonunda elde edilen sonuçlar Cetvel (9, 10 ve 11) de verilmiştir. Aynı cetvellerde 5 er adet tayin üzerinden hesaplanan ortama ( $\bar{x}$ ), standart sapma (s), bağıl standart sapma ( $\frac{s}{\bar{x}} \times 100$ ) ve % 95 güvenirlilik düzeyinde güven

Cetvel 10. Atenolol Tabletlerinin (100 mg Atenolol) Analizi.

aralığı  $(\bar{x} \pm t.s/\sqrt{n})$  değerleri de görülmektedir.

Geliştirilen yöntem ve UV spektrofotometrik yöntem ile elde edilen sonuçlar Student(t) Testi ile ortalamaları, Fisher (F) Testi ile presizyonlar yönünden % 95 güven düzeyinde karşılaştırıldı. Cetvel (9,10 ve 11) de görüldüğü gibi hesaplanan t ve F değerleri ile ilgili güven düzeyi ve 5 deneme için ilgili cetvellerden (137), verilmiş olan değerlerden küçüktür. Bu durumda bu ilaç maddelerinin analizinde geliştirilen yöntem ile UV spektrofotometrik yöntem arasında gerek doğruluk gerekse presizyon yönünden anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır.

Cetvel 9. Asebutolol Tabletlerinin (221.6 mg Acebutolol. HCl) Analizi.

n = 5 p = 0.05

n	Geliştirilen Yöntem	UV Spektrofotometrik Yöntem
1	218.8	221.3
2	224.3	215.7
3	217.8	216.7
4	225.3	223.3
5	217.8	222.7
$\bar{x}$	220.8 (% 99.7)	219.9 (% 99.3)
S	3.7	3.5
$\frac{S}{\bar{x}} \times 100$	1.7	1.6
$\bar{x} \pm \frac{t.S}{\sqrt{n}}$	216.2-225.4	215.6-224.2
t testi	t = 0.35 < 2.31	
F testi	F = 1.12 < 6.39	

Cetvel 10. Atenolol Tabletlerinin (100 mg Atenolol) Analizi .

n = 5 p = 0.05

n	Geliştirilen Yöntem	UV Spektrofotometrik Yöntem
1	98.8	100.1
2	101.8	97.8
3	95.5	99.0
4	100.7	99.5
5	99.9	97.8
$\bar{x}$	99.3(% 99.3)	98.8 (% 98.8)
S	2.4	1.03
$\frac{S}{\bar{x}} \times 100$	2.4	1.06
$\bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$	96.3-102.3	97.5-100.1
t testi	t = 0.38 < 2.31	
F testi	F = 5.43 < 6.39	

Cetvel 11. Nadolol Tabletlerinin (80 mg.Nadolol) Analizi.

n	Geliştirilen Yöntem	UV Spektrofotometrik Yöntem
1	79.3	79.0
2	78.3	79.7
3	79.5	77.3
4	78.9	78.8
5	81.5	79.3
$\bar{x}$	79.5(% 99.4)	78.8(% 98.5)
S	1.2	0.9
$\frac{S}{\bar{x}} \times 100$	1.5	1.1
$\bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$	78.0-81.0	77.7-79.9
t testi	t = 0.93 < 2.31	
F testi	F = 1.77 < 6.39	

5. KAYNAKLAR

- 1- Kayaalp, D., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji; Garanti Basımevi. Ankara, 1978.
- 2- Clarke, E. G. C., Clarke's Isolation and Identification of Drugs., The Pharmaceutical Press, London, 1986.
- 3- Abdel-Hamit, M. E., Bedair, M., Korany, M. A., Pharmazie., 40 (7), 494 (1985).
- 4- Musumarra, G., Scarlata, G., Cirma, G., Romano, G., Palazzo S., Clementi, S., Giulietti, G., J. Chromatogr., 350 (1), 151 (1985).
- 5- Musumarra, G., Scarlata, G., Romano, G., Clementi, S., Wold, S., J. Chromatogr. Sci., 22 (12), 538 (1984).
- 6- Stead, A. H. et al., Analyst., 107, 1106 (1982).
- 7- Moll, H., Clerc, J. T., Phar. Acta Helv., 62 (8), 210 (1987).  
- Ref., C. A., 107, 168162 f (1987).
- 8- Jack, D. B., Dean, S., Kendall, M. J., J. Chromatogr., 187 (1), 277 (1980).
- 9- Bonicamp, J. M., Pryor, L., J. Anal. Toxicol., 9 (4), 180 (1985).  
- Ref., C. A., 103, 98232 v (1985).
- 10- Sungur, S., Ersoy, L., Alpertunga, B., Yalçın, M. S., Die Pharmazie., (1989) (Baskıda).
- 11- Schulz, H. G., Zapka, R., Fresenius' Z. Anal. Chem., 323 (2), 162 (1986).  
- Ref., C. A., 104, 122488 b (1986).
- 12- Yamaji, A., Kataoka, K., Kanamori, N., Dishi, M., Hiraoka, E., Yakugaku Zasshi., 105 (12), 1179 (1985).
- 13- Ardrey, R. E., Moffat, A. C., J. Chromatogr., 220, 195 (1981).

- 14- Maurer, H., Pflieger, K., J. Chromatogr., 382, 147 (1986).
- 15- Kaefenstein, H., Sticht, G., Beitr. Gerichtl. Med., 44, 253 (1986).  
- Ref., C. A., 106, 28572 u (1987).
- 16- Jansson, S. O., Johansson, M. L., J. Chromatogr., 395, 495 (1987).
- 17- Elsayed, M. A., J. Pharm. Belg., 40 (3), 178 (1985).  
- Ref., C. A., 103, 129174 j (1985).
- 18- Marmo, E., Spaniate, G., Pentimalli D., Marfella, A., Ruggiero, E.,  
De Carlo R., Ruta, A., Matera, G. M., Int. J. Clin. Pharmacol. Res.  
2 (1), 41 (1982).  
- Ref., C. A., 96, 155382 g (1982).
- 19- Dallet, P., Dubost, J. P., Audry, E., Colloter, M., Jean, C.,  
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux., 120 (3-4), 140 (1981).  
- Ref., C. A., 96, 110058 q (1982).
- 20- Hakyemez, G., Acta Pharm. Turc., 30 (4), 153 (1988).
- 21- Abdel-Hay, M. H., Korany, M. A., Galal, S. M., Elsayed, M. A.,  
Alexandria J. Pharm. Sci., 1 (1), 11 (1987).  
- Ref., C. A., 110, 82608 f (1989).
- 22- Roux, A., Flouvat, B., Delaveau, P., Ann. Biol. Clin., 32, 281 (1975).  
- Ref., C. A., 84, 38514 t (1976).
- 23- Meffin, P. J., Harapat, S. R., Harrison, D. C., Res. Commun. Chem.  
Pathol. Pharmacol., 15, 31 (1976).  
- Ref., C. A., 85, 186400 p (1976).
- 24- Steyn, J. M., J. Chromatogr., 120, 465 (1976).

- 25- Nasierowska, Z., Deres, J., Suffczynski, J., Stanczak, W., Farm. Pol., 40 (2), 87 (1984).  
- Ref., C. A., 101, 116791 s (1984).
- 26- Cunningham, L., Freiser, H., Anal. Chim. Acta., 157 (1), 157 (1984).  
- Ref., C. A., 100, 150554 f (1984).
- 27- Hoogewijs, G., Massart, D. L., J. Pharm. Biomed. Anal., 3(2), 165 (1985).  
- Ref., C. A., 103, 47771 n (1985).
- 28- Meffin, P. L., Harapat, S. R., Yee, Y. G., Harrison, D. C., J. Chromatogr., 138 (1), 183 (1977).  
- Ref., C. A., 87, 126827 q (1977).
- 29- Buskin, J. N., Upton, R. A., Jones, R., Matthew, W., Roger, L., J. Chromatogr., 230 (2), 438 (1982).
- 30- Roux, A., Flouvat, B., J. Chromatogr., 166 (1), 327 (1978).  
- Ref., C. A., 90, 80612 x (1979).
- 31- Ferry, D. G., Mc Queen, E. G., Hearn, M. T. W., Proc. Univ. Otago Med. Sch., 56 (2), 44 (1978).  
- Ref., C. A., 92, 87 h (1980).
- 32- Tracqui, A., Kintz, P., Himber, J., Lugnier, A. A. J., Mangin, P., Forensic, Sci. Int., 38 (1-2), 37 (1988).  
- Ref., C. A., 110, 185244 p (1989).
- 33- Zhiri, A., Houot, O., Wellman, B., Bednauska, M., Siest, G., Clin. Chem., 31 (1), 109 (1985).  
- Ref., C. A., 102, 75082 m (1985).
- 34- Patel, B. R., Kirschbaum, J. J., Poet, R. B., J. Pharm. Sci., 70 (3), 336 (1981).

- 35- Alpertunga, B., Sungur, S., Ersoy, L., Yalçın, M. S., Arch. Pharm.,  
(1989) Baskıda.
- 36- Jansson, S. O., Andersson, I., Johansson, M. L., J. Chromatogr.,  
247 (1), 15 (1982).
- 37- Flanagan, R. J., Storey, G. C. A., Bhamra, R.K., Jane, I. J.  
Chromatogr., 247 (1), 15 (1982).
- 38- Florey, K. Analytical Profiles of Drug Substance., Vol. 9, 13  
Academic Press, New York, London, Paris, San Diego, San Francisco,  
Sao Paulo, Sdney, Tokyo, Toronto. 1981, 1984.
- 39- Caplar, V., Mikotic- Mihun, Z., Hofman, H., Kuftinec, J., Skreblin,  
M., Kajfez, F., Nagl, A., Blazevic, N., Acta Pharm. Jugoslav.,  
33 (2), (1983).  
- Ref., C. A., 187099 y (1983).
- 40- Daldrup, T., Susanto, F., Michalke, P., Fresenius' Z. Anal. Chem.,  
308 (5), 413 (1981).  
- Ref., C. A., 96, 29498 m (1982).
- 41- Jack, D. B., Dean, S., Kendall, M. J., Laughler, S., J. Chromatogr.,  
196 (1), 189 (1980).
- 42- Ojanpera, I., Ruohonen, A., J. Anal. Toxicol., 12 (2), 108 (1988).  
- Ref., C. A., 108, 179480 e (1988).
- 43- Ojanpera, I., Vuori, E., J. Liq. Chromatogr., 10 (16), 3595 (1987).  
- Ref., C. A., 108, 160614 v (1988).
- 44- Leloux, M. S., De Jong, Ed G., Maes, R. A. A., J. Chromatogr.,  
488 (2), 357 (1989).  
- Ref., C. A., 110, 185246 r (1989).

- 45- Delbeke, F. T., Debackere, M., Desmet, N., Maertens, F., J. Pharm. Biomed. Anal., 6 (6-8), 827 (1988).  
- Ref., C. A., 110, 70613 r (1989).
- 46- Patel, B. R., Kirschbaum, J. J., Poet, R. S., J. Pharm. Sci., 70, 336 (1981).
- 47- Jane, et al., J. Chromatogr., 323, 191 (1985).
- 48- Ordonej, R., Gloria, O., Consuegra, M. S., Ibanez, C. S., Cubana Farm., 21 (2), 243 (1987).
- 49- Wang, J., Qin, Z., Dong, J., Zhang, J., Ehanghai Yike Daxue Xuebau., 15 (6), 417 (1988).  
- Ref., C. A., 110, 199325 c (1989).
- 50- Flouvat, B., Bazin, M., Lucsko, M., Roux, A., Guedon, J., Ann. Biol. Clin., 36 (4), 339 (1978).  
- Ref., C. A., 90, 145433 m (1979).
- 51- Wan, S.H., Marunde, R. F., Matin, S. B., J. Pharm. Sci., 67 (9), 1340 (1978).  
- Ref., C. A., 89, 190686 m (1978).
- 52- Ervik, M., Kylberg-Hanssen, K., Lagerstroem, P. O., J. Chromatogr., 182 (3-4), 341 (1980).
- 53- Delbeke, F. T., Debackere, M., Desmet, N., Maertens, F., J. Chromatogr., 426 (1), 194 (1988).
- 54- Schaefer, M., Mutschler, E., J. Chromatogr., 169, 477 (1979).
- 55- Ficarra, R., Ficarra, P., Tommasini, A., Calabro, M. L., Guarniera, F. C., Farmaco, Ed. Prat., 40 (9), 307 (1985).  
- Ref., C. A., 103, 183633 w (1985).

- 56- Sa'sa, S. I., Jalal, I. M., Khalil, H. S., J. Liq. Chromatogr., 11 (8), 1673 (1988).  
- Ref., C. A., 109, 216094 a (1988).
- 57- Gillian, R. B., Mason, W. D., Anal. Lett., 16 (B12), 941 (1983).  
- Ref., C. A., 99, 168964 k (1983).
- 58- Weddle, D. H., Amick, E. N., Mason, W. D., J. Pharm. Sci., 67 (7),  
1033 (1978).
- 59- Yee, Yin-Gail., Rubin, P., Blaschke, T. F., J. Chromatogr., 171,  
357 (1979).
- 60- Lefebvre, M. A., Fourtillan, J. B., Courtouis, P., Bull. Soc. Pharm.  
Bordeaux., 119 (4), 219 (1980).  
- Ref., C. A., 95, 108318 k (1981).
- 61- Verghese, C., Mc Lead, A., Shand, D., J. Chromatogr., 275 (2),  
367 (1983).
- 62- Buehring, K. U., Garbe, A., J. Chromatogr., 382, 215 (1986).
- 63- Keech, A. C., Harrison, P. M., Mc Lean, A. J., J. Chromatogr.,  
426 (1), 234 (1988).
- 64- Vges en Medeverkes, D. R. A., Ziekenhuisfarmacie., 414, 137 (1988).  
- Ref., C. A., 110, 127936 e (1989).
- 65- Kaefenstein, H., Sticht, G., Beitr. Gerichtl. Med., 41, 95 (1983).  
- Ref., C. A., 99, 189093 r (1983).
- 66- Iorio, M. A., Mazzeo, F. A., Doldo, A., J. Pharm. Biomed. Anal.,  
5 (1), 1 (1987).  
- Ref., C. A., 106, 107987 m (1987).

- 67- Harper, J. D., Martel, P. A., O' Donnell, C. M., J. Anal. Toxicol., 13 (1), 31 (1989).  
- Ref., C. A., 110, 90042 g (1989).
- 68- Ivashkiv, E., J. Pharm. Sci., 66, 1168 (1977).
- 69- Jane, I., Mc Kinnon, A., Flaragan, R.J., J.Chromatogr., 323(2), 191 (1985).
- 70- Patel, B.R., Kirschbaum, J.J., Poet, R.B., J.Pharm.Sci., 70(3), 336 (1981).  
- Ref., C. A., 110, 90042 g (1989).
- 71- Kirschbaum, J., Perlman, S., Joseph, J., Adamovics, J., J. Chromatogr. Sci., 22 (1), 27 (1984).
- 72- Arendt, R. M., Greeblalt, D. J., J. Pharm. Pharmacol., 36 (6), 400 (1984).  
- Ref., C. A., 101, 157599 d (1984).
- 73- Perlman, S., Szyper, M., Kirshbaum, J. J., J. Pharm. Sci., 73 (2), 259 (1984).
- 74- Mohammed, M. E., Towakkol, M. S., Lotfi, E. A., Aboul-Enein, H. Y., Anal. Lett., 14 (85), 349 (1981).  
- Ref., C. A., 95, 49502 r (1981).
- 75- Mohammed, M. E., Towakkol, M. S., Abul-Enein, H.Y., Pharmazie., 36 (7), 516 (1981).
- 76- Ivashkiv, E., J. Pharm. Sci., 67 (7), 1024 (1978).
- 77- Üzden, S., Gümüş, F., Arch. Pharm., 321 (9), 565 (1988).
- 78- Wahbi, A. A., Mahgoub B. M., Analyst., 114 (4), 505 (1989).  
- Ref., C. A., 110, 199284 p (1989).

- 79- Yamagucki, T., Morimoto, Y., Sekine, Y., Hoshimoto, M., J. Chromatogr., 239, 609 (1982).
- 80- Mohammed, M. E., Towakkol, M. S., Aboul-Enein, H. Y., Anal. Lett., 15, B(2), 205 (1982).  
- Ref., C. A., 96, 187390 z (1982).
- 81- Funke, P. T., Malley, M. I., Ivashkiv, E., Cohen, A. I., J. Pharm. Sci., 67 (5), 653 (1978).
- 82- Schaefer, K. M., Mutschler, E., J. Chromatogr., 230 (2), 461 (1982).
- 83- Poey, J., Puig, P., Analysis., 14 (8), 421 (1986).  
- Ref., C. A., 106, 9471 u (1987).
- 84- Piotrovskil, V.K., Veiko, N.N., Rummyantsev, D., Zhirkov, Y.A., El'man, A.R., Metelitsa, V.I., Farmacol, Toxicol. Moscow, 48(6), 62 (1985).  
- Ref., C.A., 104, 14433 w (1986).
- 85- Piatrovskii, V.K., Belalipetskaya, V.G., El'man, A.R., Metelitsa, V.I., J.Chromatogr. 278(2), 469(1983).
- 86- Kinney, C.D., J.Chromatogr. 305(2), 489(1984).
- 87- Gupta, R.N., Haynes, R.B., Logan, A., Mac Donald G., Lorry, A., Pickersgill, R., Achber, C., Clin. Chem., 29(6), 1085(1983).  
- Ref.C.A., 99, 32682 j (1983).
- 88- Watson, J.R., Matsui F., French, W.W., J.Pharm. Sci., 59(3), 391(1970).
- 89- Das Gupta, V., Cadwallader, D.E., J.Pharm. Sci. 57 (1), 112 (1968).
- 90- Andermann, G., Buhler, M.O., Erhart, M., J.Pharm. Sci. 69(2), 215(1980).
- 91- Dessovky, Y.M., Mousa, B.A., Pharmazie., 29(9), 577(1974).
- 92- Mukerjee, P., Anal.Chem. 28, 870(1956).
- 93- Das Gupta, V., Cadwallader., J.Parm.Sci., 57(12), 2140(1968).

- 94- Das Gupta, V., J.Pharm.Sci., 60 (10), 1584(1971).
- 95- Das Gupta, V., Cadwallader, D.E., Herman, H.B., Honigberg, I.L.,  
J.Parm.Sci. 57(7), 199(1968).
- 96- Das Gupta, V., Herman, H.B., J.Pharm.Sci., 62(2), 311(1973).
- 97- Eksborg, S., Persson, B.A., Vessman, J., Enell, B., J.Pharm.Sci,  
60(3), 475 (1971).
- 98- Matthew, W.R., Browne, H.C., Weber, J.B., J.Ass.off analyt. Chem. 55  
(4), 789(1972).
- Ref.A.A., 24, 1088(1973).
- 99- Bhatkar, R.G., Chodankar, S.K., Ind.J.Pharm. Sci. 6, 127(1980).
- 100- Hom., F.S., Ebert, W.R., J.Pharm. Sci., 66(5), 711(1977).
- 101- Dessouky, Y.M., Mousa, B.A., Nour El-din, H.M., Pharmazie., 29(9),  
579(1974).
- 102- Sane, R.T., Vaidya, U.M., Sane, S., Curr. Sci. 47(22), 853(1978).  
- Ref.A.A., 37(3), 3E69(1979).
- 103- Sane, R.T., Sane, S., Indian Drugs., 16(10), 239(1979).  
- Ref.A.A., 39(6), 6E60(1979).
- 104- Beltagy, Y.A., Issa, A., Rida, S.M., Pharmazie, 31(7), 484(1976).
- 105- Nyberg, L, J.Pharm. Pharmac. 22, 500 (1970).
- 106- Adamski, S., Acta Pharm., 22 (4), 311(1965). - Ref.A.A., 12, 6503(1966).
- 107- Garrett, E.R., Tsau, J., J.Pharm. Sci., 61(9), 1405(1972).
- 108- Borg, K.O., Schill, G., Acta Pharm. Suec., 5, 323(1968).
- 109- Borg, K.O, Acta Pharm. Suec. 6, 425(1969).
- 110- Westerlund, D., Borg, K.O., Acta Pharm. Suec. 7, 267(1970).
111. Borg, K.O., Mikaelsson, A., Acta Pharm. Suec. 7, 673(1970).

- 112- Borg, K.O., Westerlund, D., *Fres.Z.Anal.Chem.*, 252, 275(1970).
- 113- Lagerström, D.O., Borg, K.O., Westerlund, D., *Acta Pharm. Suec.*, 9, 53 (1972).
- 114- Tserng, K.Y., Wagner, J.G., *Anal.Chem.*, 48, 348 (1976).
- 115- Westerlund, D., Borg, K.O., *Anal.Chim.Acta.*, 67, 89(1973).
- 116- Westerlund, D., Karset, K.H., *Anal. Chim. Acta*, 67, 99(1973).
- 117- Gfeller, J.C., Frey, G., *Fres. Z.Anal. Chem.*, 291, 332(1978).
- 118- Mohammed, H.V., Cantwell, F., *Anal.Chem.*, 52, 553(1980).
- 119- Tomlinson, E., Jefferies, T.M., Riley, C.M., *J.Chromatogr.*, 159, 315 (1978).
- 120- Persson, B.A., Karger, B.L., *J.Chromatogr. Sci.*, 12, 521(1974).  
- Ref. C.A., 81, 147882 V(1974).
- 121- Wahlund, K.G., Lund, U., *J.Chromatogr.*, 122, 269(1976).
- 122- Crommen, J., Fransson, B., Schill, G., *J.Chromatogr.* 142, 283(1977).
- 123- Hanna, S., Rosen, M., Rasera, L., Lachman, L., *J.Pharm. Sci.*, 66, 123(1977).
- 124- Eksborg, S., Lagerström, P.O., Madin, R., Schill, G., *J.Chromatogr.*, 83, 99(1973).
- 125- Eksborg, S., Schill, G., *Anal. Chem.*, 45, 2092(1973).
- 126- Persson, B.A., Lagerström, P.O., *J.Chromatogr.*, 122, 305(1976).
- 127- Santi, W., Huen, J.M., Frei, R.W., *J.Chromatogr.*, 115, 423(1975).
- 128- Wahlund, K.G., Gröningsson, K., *Acta Pharm. Suec.*, 7, 615(1970).
- 129- Wahlund, K.G., *J.Chromatogr.*, 115, 411(1975).
- 130- Fransson, B., Wahlund, K.G., Johansson, J.M., Schill, G., *J.Chromatogr.*, 125, 327(1976).

- 131- Gfeller, J.C., Frey, G., Huen, J.M., Thevenin, J.P., J.Chromatogr.,  
172, 141(1979).
- 132- Brandström, A., Junggren, U., Acta Chem. Scand., 23, 2203(1969).  
- Ref. C.A., 71, 123464 c(1969).
- 133- Ervik, M., Gustavii, K., Anal. Chem., 46,39(1974).
- 134- Ehrsson, H., Acta Pharm. Suec., 8, 113(1971).
- 135- P.Job., Ann. de Chim., (10), 9, 113(1928).
- 136- Meyer, A.Ş., Ayres, G.H., J.Am.Chem.Soc., 79,49(1957).
- 137- Chalmers, R.A., Errors, Measurement and Results in Chemical Analysis.,  
London, 1972.

1976 yılında İktisadi İhtisat Fakültesi'nden mezun oldum. 1987 yılında Yıldız Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak başladığım görevi devam ettirmekteyim.

## ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında İstanbul'da doğdum. 1976 yılında İlkokulu, 1979 yılında Ortaokulu, 1982 yılında liseyi bitirdikten sonra 1987 yılında Yıldız Üniversitesi Fen,Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünden mezun oldum. 1987 yılında Yıldız Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak başladığım göreve devam etmekteyim.

