

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLORFENİRAMİN MALEAT İÇEREN
FARMASÖTİK PREPARATLARDA TÜREVSEL UV
SPEKTROFOTOMETRİSİ İLE ANALİZ ÇALIŞMALARI**

Analitik Kimya Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kim. Filiz SAYIN

Ocak 1993, ANKARA

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

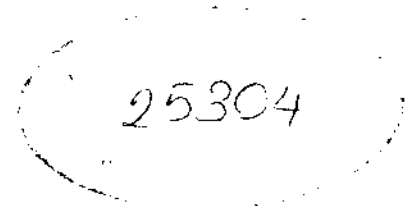
**KLORFENİRAMİN MALEAT İÇEREN
FARMASÖTİK PREPARATLARDA TÜREVSEL UV
SPEKTROFOTOMETRİSİ İLE ANALİZ ÇALIŞMALARI**

Analitik Kimya Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kim. Filiz SAYIN

Tez Yöneticisi : Doç.Dr. Sedef KIR



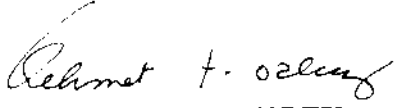
Ocak 1993, ANKARA

2798.93

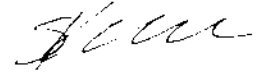
Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi



Prof.Dr. Aytakin TEMİZER
(Başkan)



Doç.Dr. M. Teflik ORBEY
(Üye)



Doç.Dr. Sedat KIR
(Danışman Üye)

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
II.1. ANTİHİSTAMİNİK İLAÇLAR (Histamin Reseptör Blokörleri).....	2
II.1.1.H ₁ Reseptör Blokörleri (Klasik Antihistaminikler).....	2
II.1.1.1.Kimyasal Yapı	2
II.1.1.2.Farmakokinetik Özellikler.....	4
II.1.1.3.Farmakolojik Etki.....	4
II.1.1.4.Kullanım Alanları	5
II.1.1.5.Yan Etkileri	5
II.1.2.H ₂ Reseptör Blokörleri	6
II.1.3.Mast Türevi Stabilizatörleri	6
II.2. ALFA-MİMETİK İLAÇLAR	6
II.2.1.Efedrin	7
II.3. ANTİTUSSİF İLAÇLAR.....	7
II.3.1.Kodein	8
II.4. ANALİZ YÖNTEMLERİ	9
II.4.1.Titrimetrik Yöntemler.....	9
II.4.2.Kromatografik Yöntemler	9
II.4.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi	9
II.4.2.2.Gaz-Sıvı Kromatografisi (GC).....	10
II.4.2.3.Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	10

II.4.3.Spektrofotometrik Yöntemler	12
II.4.3.1.Kolorimetrik Yöntemler	12
II.4.3.2.Türev Spektrofotometrisi	13
II.4.4.Elektroanalitik Yöntemler.....	14
II.5.TÜREV SPEKTROSKOPİSİ	15
II.5.1.Tarihçe.....	15
II.5.2.Teorik Prensipler	16
II.5.2.1.Türevlendirme	16
II.5.2.2.Türev Derecesi (n)	18
II.5.2.3.Dalga Boyu Aralığı ($\Delta\lambda$)	19
II.5.2.3.1. $\Delta\lambda$ 'nın Türev Sinyaline Etkisi	19
II.5.2.3.2. $\Delta\lambda$ 'nın Ayırıcılığa Etkisi	19
II.5.2.3.3. $\Delta\lambda$ 'nın Sinyal /Gürültü Oranına Etkisi	19
II.5.2.4.Ayırıcılıkta Artış	20
II.5.2.5.Analitik Bantların Türevleri	23
II.5.2.6.Türev Spektrumlarını Etkileyen Faktörler	25
II.5.2.7.Türev Spektrumlarının Değerlendirilmesi	27
II.5.2.7.1.Pikten Pike Ölçüm	27
II.5.2.7.2.Pikten Sıra Ölçüm	27
II.5.2.7.3.Teğet Yöntemi	27
II.5.2.7.4.Pik Oranı Yöntemi	28
II.5.3.Aletin Yapısı	28
II.5.3.1.Türev Spektrumunun Alınması	28

II.5.4.Türev Spektroskopisi Yönteminin Uygulamaları	31
III.DENEYSEL KISIM	37
III.1.KULANILAN MADDELER	37
III.2.KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	38
III.3. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	39
III.3.1.Deneysel Çözeltilerin Hazırlanması	39
III.3.2.Stok Çözeltilerin Hazırlanması	40
III.4.KULLANILAN ETKEN MADDELERİN SAFLIK KONTROL ANALİZLERİ ..	40
III.5.YÖNTEMLER	40
III.5.1.Uygun Ortam ve Türev Derecesinin Seçimi	40
III.5.1.1.Klorfeniramin maleat	40
III.5.1.2.Efedrin hidroklorür	41
III.5.1.3.Kodein fosfat	41
III.5.2.Standart Eğri Çizimleri	41
III.5.2.1.Tekli Standart Çözeltiler	41
III.5.2.1.1.Klorfeniramin maleat	41
III.5.2.1.2.Efedrin hidroklorür	41
III.5.2.1.3.Kodein fosfat	42
III.5.3.Alet Parametrelerinin Seçimi	42
III.5.4.Karışım Analizleri İçin Yöntemin Uygulanışı	43
III.5.4.1.Sentetik Karışımdan ve Şuruptan Tüketme İşlemi	43
III.5.4.2.Spektrofotometrik Analiz İşlemleri	44
III.5.4.3.Tekli Standart Çözeltilerin Analizi	45
III.5.4.3.1.Klorfeniramin maleatın Analizi	45

III.5.4.3.2.Efedrin hidroklorürün Analizi	46
III.5.4.3.3.Kodelin fosfatın Analizi	46
III.5.4.4.Sentetik Üçlü Karışımların Analizi	46
III.5.4.4.1.Klorfeniramin maleatın Analizi (efedrin hidroklorür ve kodelin fosfatın varlığında).....	46
III.5.4.4.2.Efedrin hidroklorürün Analizi (klorfeniramin maleat ve kodelin fosfatın varlığında)	46
III.5.4.4.3.Kodelin fosfatın Analizi (klorfeniramin maleat ve efedrin hidroklorürün varlığında)	47
III.5.4.5.Yöntemin Müstahzarlara Uygulanışı	47
III.5.4.5.1.Şuruplardan Klorfeniramin maleatın Tüketilmesi ve Analizi ...	47
III.5.4.5.2.Şuruplardan Efedrin hidroklorürün Tüketilmesi ve Analizi	47
III.5.4.5.3.Şuruplardan Kodelin fosfatın Tüketilmesi ve Analizi	47
III.5.5.Farmakope Yöntemlerinin Uygulanışı	48
III.5.5.1.Klorfeniramin maleatın Analizi	48
III.5.5.2.Efedrin hidroklorürün Analizi	48
III.5.5.3.Kodelin fosfatın Analizi	49
IV. BULGULAR	50
V . SONUÇ VE TARTIŞMA	81
ÖZET - Türkçe	88
ÖZET - İngilizce	89
KAYNAKLAR	90
EKLER.....	101

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1 : Klorfeniramin maleatın kimyasal yapısı	3
Şekil 2 : Efedrin hidroklorürün kimyasal yapısı	7
Şekil 3 : Kodelin fosfatın kimyasal yapısı	8
Şekil 4 : Absorpsiyon bandının türev eğrisi	17
Şekil 5 : Doğrusal geril zemin fonksiyonunun ($y=ax$) türevlendirme ile uzaklaştırılması (1.derece türev $dE/d\lambda$)	21
Şekil 6 : Maksimum türevlendirme ile sinyallerin keskinleştirilmesi ve ayırcılığıın artması; a) Esas fonksiyon (....) ve 2.derece türevi $d^2E/d\lambda^2$ (—) b) Esas fonksiyon (....) ve 4.derece türevi $d^4E/d\lambda^4$ (—) c) Omuzların türevlendirilmesi ile sinyallerin keskinleştirilmesi, esas eğri ve 1. ile 4.derece türevler	22
Şekil 7 :a) Gauss eğrisi türevleri : Esas eğri ve 1. ile 4.derece türevleri; $E_\lambda = E_0 \exp.(-C\lambda)^2$ b) Eşit olmayan iki Gauss eğrisinin üst üste binmesi; $E_\lambda = E_1(\lambda_0) + E_2(\lambda_0 - \Delta\lambda)$ c) Eşit olmayan iki karışım durumunda Gauss eğrisinin türevleri; esas eğri ve 1. ile 4.derece türevler	24
Şekil 8 : Türev spektrumunun değerlendirilmesi ; a) Pikten pikte ölçüm , b) Pikten sıfıra ölçüm , c) Teğet yöntemi	28
Şekil 9 : Spektrofotometrenin optik bölümleri	29
Şekil 10 : Kullanılan etken maddelerin saflık kontrol analizleri için alınan IR spektrumları ; a) Klorfeniramin maleat, b) Efedrin hidroklorür, c) Kodelin fosfat	51
Şekil 11 :Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin: a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu	52
Şekil 12 :Klorfeniramin maleatın 0.1 N H_2SO_4 'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	

c) 2.derece türev spektrumu	53
Şekil 13 : Klorfeniramlin maleatın 0.1 N NaOH'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	54
Şekil 14:Klorfeniramlin maleatın pH:7 fosfat tamponundaki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu,	
b) 1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu.....	55
Şekil 15 : Efedrin hidroklorürün 0.1 N HCl'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	56
Şekil 16: Efedrin hidroklorürün 0.1 N H_2SO_4 'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	57
Şekil 17 :Efedrin hidroklorürün 0.1 N NaOH'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	58
Şekil 18 :Efedrin hidroklorürün pH:7 fosfat tamponundaki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu,	
b) 1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu	59
Şekil 19 : Kodelin fosfatın 0.1 N HCl 'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	60
Şekil 20 : Kodelin fosfatın 0.1 N H_2SO_4 'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	61
Şekil 21 : Kodelin fosfatın 0.1 N NaOH'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,	
c) 2.derece türev spektrumu	62
Şekil 22: Kodelin fosfatın pH:7 fosfat tamponundaki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin;	
a) UV absorpsiyon spektrumu,	
b)1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu	63

- Şekil 23 : Klorfeniramin maleatın 288.2 nm'de çizilen standart eğrisi64
- Şekil 24 : Efedrin hidroklorürün 255.2 nm'de çizilen standart eğrileri65
- Şekil 25 : Kodein fosfatın 292.6 nm'de çizilen standart eğrileri66
- Şekil 26 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine hücre kalınlığı
değişiminin etkisi: a) 0.1cm b) 1cm67
- Şekil 27 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine düzeltmenin
(smoothing) etkisi: a) N=3 b) N=3+S67
- Şekil 28 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine tarama dalga boyu
değişiminin etkisi: a) 200-280 nm b) 200-300 nm c) 200-400 nm
d) 220-400 nm67
- Şekil 29 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine N ($\Delta\lambda$) değişiminin
etkisi: a) N= 3 b) N= 4 c) N=5 d) N= 7 e) N= 968
- Şekil 30 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine zaman faktörünün
etkisi: a) 1 günlük b) 1 haftalık c) 2 haftalık d) 4 haftalık68
- Şekil 31 : Klorfeniramin maleatın analiz şartları uygulanan efedrin hidroklorür ve
kodein fosfatın, klorfeniramin maleatın nicel analizinin yapıldığı λ 'ya
olan etkileri; a) Klorfeniramin maleat, b) Efedrin hidroklorür,
c) Kodein fosfat69
- Şekil 32: Efedrin hidroklorürün analiz şartları uygulanan klorfeniramin maleat ve
kodein fosfatın, efedrin hidroklorürün nicel analizinin yapıldığı λ 'ya olan
etkileri; a) Efedrin hidroklorür, b) Klorfeniramin maleat, c) Kodein fosfat ..69
- Şekil 33 : Kodein fosfatın analiz şartları uygulanan klorfeniramin maleat ve efedrin
hidroklorürün, kodein fosfatın nicel analizinin yapıldığı λ 'ya olan etkileri;
a) Kodein fosfat, b) Klorfeniramin maleat, c) Efedrin hidroklorür70
- Şekil 34: Dephedrin® şurubun içerdiği klorfeniramin maleatın standart
ekleme yöntemi ile miktar tayini; a) 20 ml şurup numunesi
b) 4 ml c) 6 ml d) 8 ml (1mg/10 ml)' ilk stok çözeltiden eklemeler73

TABLOLARIN LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1 : Çalışılan farmasötik preparatlar	37
Tablo 2 : Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür, kodein fosfat için saptanan alt, üst sınırlar, doğrusallık aralığı ve standart eğrilere ait veriler	72
Tablo 3 : Artan miktarlarda hazırlanan sentetik üçlü karışımlarda % geri kazanılabilirlik	72
Tablo 4 : Antibeksin® şurup analiz bulguları	74
Tablo 5 : Dephedrin® şurup analiz bulguları	75
Tablo 6 : Codis® şurup analiz bulguları	76
Tablo 7 : Corex® şurup analiz bulguları	77
Tablo 8 : Klorfeniramin maleat içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile Türk Farmakopesi yönteminin istatistiksel karşılaştırılması	78
Tablo 9 : Efedrin hidroklorür içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile Türk Farmakopesi yönteminin istatistiksel karşılaştırılması	78
Tablo 10 : Kodein fosfat içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile Türk Farmakopesi yönteminin istatistiksel karşılaştırılması	79
Tablo 11 : Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür, kodein fosfat için çalışılan standart eğrilerin korrelasyon ve regresyon katsayıları ile doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü için yapılan istatistiksel hesaplamalar	80
Tablo 12 : Varyans analiz tablosu	103

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Türev spektrofotometrisi; özellikle birbirine yakın dalga boylarında maksimum absorpsiyon veren maddeleri içeren karışımların analizinde, spektrumların ayırım gücünü artırarak, her bir maddenin nicel analizinin yapılmasına olanak sağlamaktadır (1,2).

Kuvvetli bir antihistaminik etki gösteren, alkilamin türevi olan klorfeniramin maleat, çeşitli farmasötik preparatların yapısında bulunmaktadır. Çalışmamızda, klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodeln fosfat içeren şurup farmasötik şekillerinde, her bir bileşenin analizinin türevsel UV spektrofotometrisi ile yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, klorfeniramin maleatın ve preparatların yapısında birlikte bulunan efedrin hidroklorür ve kodeln fosfatın türevsel UV spektrofotometrisi ile tekli, ikili, üçlü analizleri için yöntem geliştirilmesi ve yöntemin şuruplara uygulanması düşünülmüştür.

Türevsel UV spektrofotometrisi ile yapılan analiz sonuçlarının, aynı preparatlara Türk Farmakopesinde (3) verilen nicel analiz yönteminin uygulanması ile elde edilen sonuçların istatistiksel karşılaştırılması yapılarak, yöntemin duyarlık, doğruluk, kesinlik ve tekrarlanabilirlik açılarından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. ANTİHİSTAMİNİK İLAÇLAR (4-7)

(Histamin Reseptör Blokörleri)

Antihistaminik ilaçlar, hücrelerin histamin reseptörlerine karşı histamin ile yarışıp, histaminin etkisini kompetitif bir şekilde bloke ederler. Bu ilaçlar reseptörlerle ilgili olarak kendi başlarına etki oluşturmazlar. Reseptörler histamin tarafından aktive edilmiş ve bir etki olmuş ise, antihistaminik ilaçlar histaminin etkisini antagonize ederek kendi spesifik etkilerini meydana getirirler. Eğer önceden verilirlerse, vücutta salınan histaminin etki yapmasını engellerler.

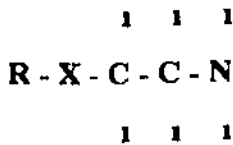
Antihistaminik ilaçların bir bölümü, sadece histaminin H_1 reseptörlerini, diğer bölümü ise sadece H_2 reseptörlerini bloke ederler. H_1 reseptörünü bloke edenlere aynı zamanda "Klasik Antihistaminikler" de denir.

II.1.1. H_1 Reseptör Blokörleri

(Klasik Antihistaminikler)

II.1.1.1. Kimyasal Yapı

Kimyasal molekülleri, ortada bir etil grubu ile bunun bir ucundaki tersiyer amin grubundan ve diğer ucundaki oksijen, azot veya karbon'la bağlanmış aromatik veya heterosiklik halkaların yaptığı baş kısımdan oluşur.



X= O, N ve C

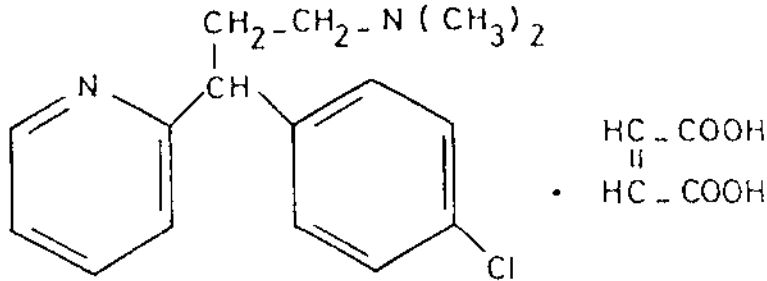
R= Aromatik veya heterosiklik halkalar

Bu yapı özelliğinden dolayı, parasempatolitik ilaçlara ve fenotiazin türevi nöroleptik ilaçlara benzerler. Yapı benzerliğinden dolayı klasik antihistaminiklerin çoğu

parasempatolitik etki gösterirler. Bu ilaçlar, küçük dozlarda veya düşük derişimlerde seçici olarak H_1 reseptörlerini bloke ederler. Yüksek dozda veya derişimde ise seçicilikleri azalır. Genellikle preparatlarda uygulanabilen çok yüksek derişimlerde ise, bütün eksitabl hücreleri deprese ederek "Lokal anestezi" oluştururlar.

Kimyasal yapılarına göre klasik antihistaminikler 5 gruba ayrılırlar:

1. Etanolamin türevleri ; Genel formüldeki X atomu oksijendir. Bu grup ilaçların çoğunun antihistaminik etkileri yanı sıra sedatif ve antikollnerjik etkileri de güçlüdür.
2. Etilendiamin türevleri ; Genel formüldeki X atomu azottur. Güçlü antihistaminik ve sedatif etki gösterirler.
3. Alkilamin türevleri ; Genel formüldeki X atomu karbondur. En güçlü etkinlik gösteren antihistaminiklerdir. Sedatif etkileri zayıf olup, stimulan etki gösterme potansiyelleri bulunmaktadır. Klorfeniramin maleat bu gruptan bir antihistaminik olup, kimyasal yapısı açık olarak Şekil 1'de gösterilmiştir.



2 - [p - kloro - α - [2 - (dimetilamino) etil] benzil] piritidin maleat

Şekil 1. Klorfeniramin maleatın kimyasal yapısı

Boğmaca, astım, tüberküloz, pnömoni, bronşit ve postinfluenza sendromunda yumuşatıcı, antispazmodik, antialerjik ve ekspektoran etkisinden dolayı kullanılmaktadırlar. Parasempatolitik etkilerinden dolayı ağız kuruluğu, bulanık görme, idrar retansiyonu, nadiren sinirlilik, huzursuzluk ve uykusuzluk gibi eksitasyon belirtilerine neden olabılırlar. Klorfeniramin maleatın oral enjeksiyon, şurup ve tablet şeklindeki doza formalarında preparatları bulunmaktadır.

4.Piiperazın türevleri ;Uzun etki süreli ilaçlardır. Sedatif etkileri zayıftır, hareket hastalığına karşı etkilidirler.

5.Fenotiazinler ;Güçlü antihistaminik ve sedatif etki gösterirler. Ayrıca antiemetik ve antikolinergik etkileri de vardır.

II.1.1.2. Farmakokinetik Özellikler

Klasik antihistaminiklerin çoğu nispeten fazla lipofilik bileşiklerdir.Bu ilaçlar mide-bağırsak kanalından iyi absorbe olurlar. Karaciğerde ise, önemli oranda ilk geçişte ayrılmaya maruz kaldıklarından çoğunun sistematik biyoyararlanımı tam değildir ve bireylerarası değişkenlik gösterir. Doruk plazma derişimine, oral alınışlarından 2-3 saat sonra ulaşırılar.

II.1.1.3. Farmakolojik Etki

a) Histamin ile ilgili (spesifik) etkiler:

Dışardan verilen veya vücutta salıverilen histaminin, H_1 reseptörlerinin derişimine bağlı vazodilatasyon, kapiller permeabilitesinde artma, hipotansiyon, bronkokonstrüksiyon ve bağırsak tonus ve motilitesindeki artma gibi etkilerini antagonize ederler. Afferent sinir uçlarındaki H_1 reseptörlerini bloke ederek, cilt içine histamin injeksiyonuna bağlı yanma ve kaşıntıyı giderirler.

Mast hücrelerinde histamin sentezine dokunmazlar. Alerjik olaylarda mast hücrelerinden histamin salınmasını inhibe etmezler. Tip 1 alerjik reaksiyonları kısmen antagonize ederler. Histaminin yaptığı bronkospazmı ortadan kaldırırlar ancak bronşlarda tam bir dilatasyon yapmazlar. Histaminin solunum yolları mukozasında mukus salgısını ve dış salgı bezleri üzerinde histaminin salgıyı artırıcı etkisini de inhibe ederler.

b) Spesifik olmayan etkiler:

Bu etkilerin histamin reseptörlerinin blokağı ile ilgili yoktur. Çeşitli antihistaminik ilaçların reseptör blokörü etkilerinin gücü ile spesifik-olmayan etkilerinin gücü arasında bir paralellik bulunmaz. Güçlü antihistaminik etki gösteren bir ilacın sedatif etkisi zayıfsken, başka bir antihistaminik ilacın etkisi fazla olabilir.

Klasik antihistaminiklerin çoğu mutad dozlarda uyuşukluk ve sedasyon oluşturarak santral sinir sistemi depresyonu yaparlar. Bazılarının antiparkinson etkisi, bazılarının da antiemetik etkisi vardır ve toksik doz düzeylerinde santral sinir sistemlerini stimüle ederek konvülsiyonlara neden olurlar. Bazı antihistaminikler ise lokal anesteziye etki yaparlar. Bazıları kokain benzeri semptomimetik etki yapar ve tiramin benzeri ilaçların etkisini inhibe ederek, otonomik etki gösterirler.

II.1.1.4. Kullanım Alanları:

En önemli kullanım yeri, alerjik hastalıklardır. Lokal anafilaksiye bağlı ürtiker ve anjiyonörotik ödeme karşı etkilidirler. Saman nezlesi yani mevsimsel alerjik rinit'e ve böcek sokmasına karşı etkilidirler. Taşıt tutması ve meniere hastalığında kullanılmaktadırlar. Antiemetik olarak genel anestezi ve ameliyatlardan sonra gelişen bulantı ve kusmalarda kullanım alanı bulmuşlardır. Bir virüs infeksiyonu olan nezlede, parasempatolitik etkileri ile burun ve solunum yolunun diğer kısımlarının salgısını azaltarak sadece buna bağlı belirtileri palyatif olarak düzeltirler. Ayrıca premedikasyon ilacı olarak ve parkinson hastalığında kullanılmaktadırlar.

II.1.1.5. Yan Etkileri:

Klasik antihistaminiklerde en çok görülen yan etki sedasyondur. Santral sinir sistemleri depresyonuna bağlı olarak uyuşukluk, dikkati toplayamama, zihinsel yeteneklerde azalma, baş dönmesi ve uyuma durumu söz konusudur. Bu ilaçlar santral sinir sistemini deprese eden alkol ve trankeşizanların sedatif etkisini artırır.

Parasempatolitik etkileri nedeniyle ağız kuruluğu, idrar retansiyonu, taşikardi vb. yan etkileri gelişebilir. Yüksek dozda kalpteki iletim sistemi üzerinde kinidin benzeri etki yaparlar ve buna bağlı aritmilere neden olurlar. Lokal uygulanan antihistaminikler, alerjik dermatite neden olurlar. Nadiren agranülositoz, trombositopeni, hemolitik anemi gibi hematolojik bozukluklara neden olabilirler.

Süte geçtiklerinden, emzikteki bebeklerde uyusukluk, irritabilite ve apati oluşur. Akut zehirlenmede, çocuklarda psikoz ve santral sinir sistemi stimülasyonu belirtileri ön plandadır. Erişkinlerde uyuklama hali ve koma görülebilir, tedavi tamamıyla semptomatiktir.

II.1.2.H₂ Reseptör Blokörleri

H₂ reseptörleri üzerinde histaminin kompetitif antagonistidirler. Yapıları histamine benzer, imidazol grubuna bağlı uzun bir yan zincir içerirler.

Klinik bakımdan en önemli etkileri, histaminin midedeki asit salgılatıcı etkisini bloke etmeleridir. Önemli olan diğer bir husus da, sadece stimüle edilmiş asit salgılanmasını değil, bazal (istirahatteki) ve uykudaki salgılanmayı da inhibe etmeleridir.

Çeşitli H₂ reseptör blokörleri ise; Simetidin, Ranitidin, Famotidin ve Nizatidin'dir. H₂ reseptör blokörleri; Duodenum ülserinde, Zollinger-Ellison sendromu ve diğer aşırı salgılanma durumlarında, mide ülseri, asit-aspirasyonu sendromu, Mendelson sendromu, gastroözofagal reflüks hastalığı, akut erezyonlu gastrit ve kanama, karsinoid sendromu ve kronik pankreatik olgularında kullanılmaktadırlar.

II.1.3.Mast Türevi Stabilizatörleri:

Bu ilaçlar, mast hücrelerinin membranını stabilize ederek histamin ve diğer otokoidlerin salıverilmesini inhibe ederler. Histamin reseptörleri üzerinde belirgin bir bloke edici etkileri yoktur.

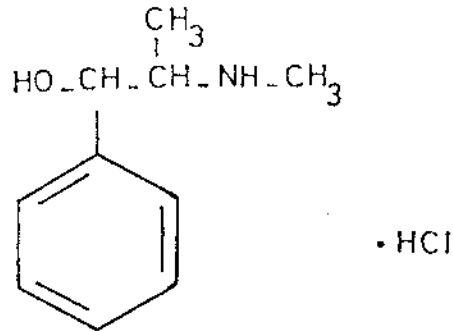
II.2. ALFA - MİMETİK İLAÇLAR (4-7)

Bu gruptaki ilaçların bir kısmı saf alfa-mimetik etkinlik gösterirler, diğer kısmın da beta-mimetik etkinliği vardır ancak azdır. Bu tür ikili etkinlik gösteren ilaçların kan basıncını artırmalarında (vazopresör etkide), vazokonstriksiyona (α -mimetik etkiye) bağlı total periferik damar rezistansı artması yanında, kalp debisinin artması (beta-mimetik etki) de rol oynar. Saf alfa-mimetik etkinlik gösterenler direkt etki

olanlardır. Diğerleri karma etki gösterirler, anti hipotansif, dekonjestan olarak kullanılırlar.

11.2.1.Efedrin

Efedrin, farmasötik preparatlarda; sülfat ve hidroklorür tuzu olarak kullanılmaktadır.Efedrin hidroklorürün kimyasal yapısı Şekil 2' de verilmiştir.



Benzenmetanol, α - [1 - (metilamino) etil] - hidroklorür

Şekil 2. Efedrin hidroklorürün kimyasal yapısı

Periferik etkinliğinin niteliği bakımından adrenaline benzer, ancak granimetrik etki gücü daha düşüktür. Esas olarak adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salıvererek indirekt etki yapar. Kalpteki stimulan etkisinden dolayı kan basıncını yükseltir. Santral sinir sistemini stimüle eder ve belirgin bronkodilatör etkisi vardır. Nezle ve diğer solunum yolu enfeksiyonlarına eşlik eden akut rinitte, saman nezlesi, parental rinit ve diğer rinit şekillerinde bronş adalelerini gevşeterek solunum yollarını açar, damarları büzer, konjesyonu azaltır. Sempatomimetik etkiye sahiptir, lokal ve sistemik olarak kullanılabilir. Geçici hipotansiyon, palpasyon, taşikardi, sinirlilik, bulantı, baş dönmesi ve bazan ruhsal eksitasyon görülebilir. Efedrin hidroklorürün eliksir, tablet ve burun damlası şeklinde praperatları bulunmaktadır.

11.3. ANTITUSSİF İLAÇLAR (4-7)

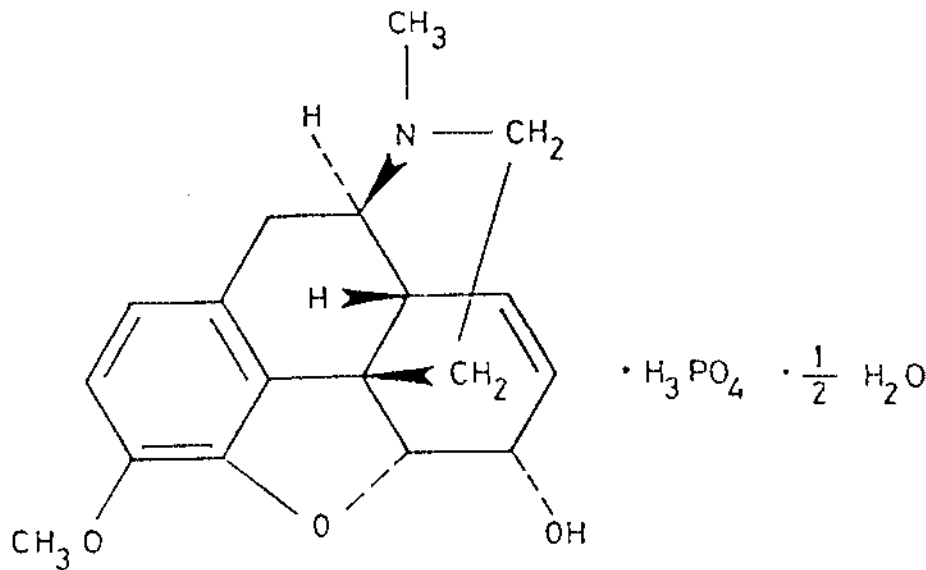
Öksürük refleksini inhibe ederek öksürüğü kesen ilaçlardır (anodinler, öksürük süpresanları). Antitussifler, öksürük refleksini iki şekilde deprese edebilirler; biri,

öksürük merkezini inhıbe ederek (narkotik analjezik ilaçlar), diğeri ise, periferik yani akciğır ve diğır yerlerdeki reseptörlere etki ederek olur.

Bu ilaçlar, söz konusu reseptörleri spazmolitik etkilerinden dolayı indirekt olarak veya lokal anestezi etkileri ile direkt olarak inhıbe ederler. Bütün antitussif ilaçlar ağızdan kullanılırlar.

11.3.1.Kodein

Kodein, morfinin metil eteri olan bir afyon alkaloididir. Kodein fosfat tuzu halinde farmasötik preparatların yapısına girmektedir. Kimyasal yapısı Şekil 3' de gösterilmiştir.



7,8 - dihidro - 4,5α -epoksi - 3 - metoksi - 17 - metilmorfinan - 6α - ol]

fosfat (1:1) tuzu (1/2 sulu)

Şekil 3. Kodein fosfatın kimyasal yapısı

Her çeşit öksürük, akut ve kronik bronşit, larenjit, faranjit, rinit,grip, nezle, soğuk algınlığı, akciğır ve plevra hastalığı, akciğır irritasyonları, enfeksiyon ve virütik hastalıklarda görülen bronş akciğır hastalıklarında antitussif ve zayıf bir analjezik etki göstermekle birlikte, ekspektoran bronkodilatör özellik taşırlar. Solunum yolları

mukozasındaki bezlerin salgısını azaltarak mukozada kuruluk yaparlar, ayrıca yüzeysel epitel hücrelerin siliyumlarının hareketini inhibe ederler. Mutad dozlarda yan etkisinin görülmesi olasılığı az olmakla beraber, oral süspansiyonlarında birlikte olduğu diğer etken maddelere karşı görülebilir. Kodein fosfatın injeksiyon, şurup, tablet şeklindeki preparatları bulunmaktadır.

II.4. ANALİZ YÖNTEMLERİ

II.4.1 Titrimetrik Yöntemler

T. F. 1974 (3)'e göre, klorfeniramin maleat ve kodein fosfat için verilen analiz yöntemi susuz ortam titrasyonudur. Bu maddelerin glasiyel asetik asitteki çözeltileri kristal viyole indikatörü varlığında perklorik asit ile titre edilir.

Kodein fosfat içeren tabletlerde ise, kloroform ile tüketme, H_2SO_4 ilavesi ve asidin fazlasının NaOH ile titre edilmesi istenmektedir.

Efedrin hidroklorürün miktar tayini için eter, H_2SO_4 ve su ile tüketmeler yapıldıktan sonra asidin fazlası metil kırmızı varlığında NaOH ile titre edilir. Efedrin hidroklorür tabletlerine de aynı yöntem önerilir.

B.P. (8) ve U.S.P. XX (5)'de klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın miktar tayini için çeşitli son-noktası tayinleri ile susuz ortam titrasyonları verilmektedir.

II.4.2. Kromatografik Yöntemler

II.4.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi

Al-Kaysi,H. ve Salem,M.S., klorfeniramin maleat, kodein fosfat, fenilefrin hidroklorür ve asetaminofen içeren farmasötik dozaş şekillerinin analizi için ince tabaka kromatografisini önermişlerdir. Hareketli faz olarak n-butanol-metanol-toluen-su ve

asetik asit kullanarak ayırımı sağlayıp, nıcel analizlerini densitometrik olarak yapmışlardır (9).

11.4.2.2.Gaz-Sıvı Kromatografisi (GC)

Madsen,R.E. ve Magin, D.F., klorfeniramin maleat da ve fenilpropanolamin hidroklorürün fazla miktarda aspirin içeren tabletlerden analizini % 3'lük OV-17 kolon ve alev iyonizasyon dedektörü kullanarak GC ile yapmışlardır (10).

Sadece klorfeniramin maleat ve fenilpropanolamin hidroklorürün insan idrarından tayini ise % 3'lük OV-1 kolon ve azot seçici dedektör kullanılarak Kinsun, H.ve ark., tarafından yapılmıştır (11).

Fabrizio,F.,klorfeniramin maleatın içinde bulunduğu altı etken maddeyi asetil türevleri haline getirmiş ve % 8'lik OV-101 cam kolon ve alev iyonizasyon dedektörü ile analiz etmiş ve bu yöntemi kapsül dozaı şeklindeki farmasötik preparatlara uygulamıştır (12).

11.4.2.3.Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Greco, G.T., soğuk algınlığı preparatlarının bileşiminde bulunan klorfeniramin maleatın tayinini iyon-çifti HPLC ile yapmış ve sonuçları USP XX'de bulunan yöntem ile karşılaştırıp, geliştirdiğı yöntemin üstünlüklerini tartışmıştır (13).

Kozioł, T. R. ve ark. tarafından., katı ve sıvı dozaı şekillerinde bulunan antihistaminik ve dekonjestanların analizi yline aynı yöntem ile yapılmış, μ -Bondopak fenil kolonlar ve 254 nm'de UV dedektörü kullanılarak belirlenebilir sınıırı klorfeniramin maleat için 14 ng, efedrin hidroklorür için 60 ng olarak bulunmuştur (14).

Gupta, V. D. ve Heble, A. R., klorfeniramin maleat, asetaminofen, dekstrometorfan hidrobromür ve fenilpropanamin hidroklorür karışımındaki tabletlerde; 1 kolon (μ -Bondopak fenil) ve 3 farklı mobil faz kullanarak HPLC ile analizi gerçekleştirmişlerdir. Klorfeniramin maleat için uygun mobil faz; 0.005 M sodyum 1-

heptasülfonat, % 1 (h/h) glasiyel asetik asit ve % 48 (h/h) metanol içeren pH:3.3 tamponudur (15).

Richardson, H., ve Biddingmeyer, B.A., tamponlanmış sulu organik hareketli fazla antihistaminlerin sıvı kromatografik ayırımını gerçekleştirmişlerdir. Fenilpropanolamin hidroklorür, klorfeniramin maleat, dekstrometorfan hidrobromür 0.01M amonyum bifosfatta % 25 su ve % 75 metanol (hareketli faz) ve saf silika (sabit faz) ile 8 dak. da ayrılmış, aynı hareketli faz'la yapıdaki ilave bileşenleri ayırt etmişlerdir.

Alvi, S. U. ve Castro, F., efedrin hidroklorür ile birlikte teofilin ve fenobarbital içeren tablet ve süspansiyonlardan; efedrin hidroklorürün analizini, C18 Bondopak kolon, 0.01M monobazik potasyum fosfat, metanol (2:1) hareketli fazı ve UV spektrofotometresi ile 215 nm 'de çalışarak gerçekleştirmişlerdir (17).

Bedford, K. R. ve White, P. C. ise., morfin - kodein - dihidrokodein gibi opiatların kandaki çok az miktarlarının saptanmasında; silil türevleri meydana getirmiş ve en önemlisi elektrokimyasal dedektör içeren HPLC kullanmışlardır (18).

Sprleck, T. L., klorfeniramin maleat ile psödoefedrin hidroklorür karışımı ve klorfeniramin maleat ile fenilpropanolamin hidroklorür karışımı içeren tablet ve şurup tipli farmasötik preparatların analizini HPLC ile hareketli faz olarak % 36 dioksan-su karışımındaki 0.02 M amonyumbifosfat kullanarak sağlamıştır (19).

Yacobi, A. ve ark., klorfeniramin maleat ve psödoefedrin içeren farmasötik preparatların analizi için; nonpolar bir kolon ve 254 nm' de UV dedektör kullanarak HPLC ile çalışmışlardır. Aynı preparatları gaz-sıvı kromatografisi ile de analiz etmişler ve sonuçlar arasında iyi bir korrelasyon bulmuşlar, HPLC ile analizin doğruluk, kesinlik ve tekrarlanabilirlik açısından daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır (20).

Chao, M. K. ve ark. ise., şuruplardan efedrin hidroklorür, bromfeniramin maleat ve dekstrometorfan hidrobromürün ayırım ve miktar tayinini zıt-faz iyon-çiftli

HPLC ile yapmışlardır. Bondopak C18 kolon ve hareketli faz olarak asetonitril-su-asetik asit (40:60:1) ile 0.01 N oktan sülfonik asit sodyum tuzu ve 0.05 N potasyum nitrat kullanmış, bileşenlerin belirlenebilmesini ise 265 nm' de UV dedektör ile sağlamışlardır (21).

Lal, C.M. ve ark., HPLC ile klorfeniramin ve iki metaboliti; psödoefedrin ve non psödoefedrin için uygulanabilir bir yöntem geliştirmişlerdir (22).

11.4.3. Spektrofotometrik Yöntemler

11.4.3.1. Kolorimetrik Yöntemler

T.F. 1974' de klorfeniramin maleat tableti için; H_2SO_4 ile çalkalamadan sonra, önce eter sonra H_2SO_4 ile tüketme, NaOH ilavesini takiben yine önce eter sonra H_2SO_4 ile tüketme işleminin yapılması ve asidik çözeltinin absorpsiyonunun 265 nm'de okunarak miktar tayinine geçilmesi önerilmiştir (3).

U.S.P. XX'de de; klorfeniramin maleat tableti ve şurubu için çeşitli tüketme işlemlerinden sonra asidik fazın 264 nm'deki absorbansı okunarak tayinler yapılmıştır (5).

Gupta, V. D. ve Lara, A. J. L., klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve potasyum guayakol sülfonat içeren şuruplardaki maddelerin tayinini kolorimetrik olarak yapmışlardır. Klorfeniramin maleatı slyanojen bromür yöntemi ile 480 nm'de, efedrin hidroklorür yöntemi (bromtimol mavisi) ile 420 nm'de kolorimetrik olarak analiz etmişlerdir (23).

Fattah, S. A. ve ark., klorfeniramin maleat ve feniramin maleatın tayini için Fe (III) ile oluşturdukları kompleksleri incelemişler, feniramin maleat ve klorfeniramin maleatı 2:1 oranında saptamışlardır. Her iki Fe (III) kompleksi için (pH : 5) 273 nm' de maksimum absorpsiyon gözlemişlerdir (24).

Biswas, A., efedrin hidroklorür ve kodein fosfat içeren farmasötik preparatlarda klorfeniramin maleatın analizini spektrofotometrik olarak yapmıştır. Koyu sarı renklenmeyi sağlayan siyanojen bromidin varlığında klorfeniramin maleatın anilin ile reaksiyona girmesiyle, pH:7' de ve 482 nm' de maksimum absorpsiyon oranını saptamış, böylece türev üzerine pH ve zaman faktörünün etkilerini incelemiştir (25).

Barary, M. H. ve Wahbi, A. M. İse., klorfeniramin maleat ve klorfeniramin hidroklorürün her ikisinin kafeln ile yaptıkları ikili karışımlardan tayinlerini spektrofotometrik olarak gerçekleştirmişlerdir (26).

11.4.3.2. Türev Spektrofotometrisi

Leung, C.P. ve ark., 1 cm'lik silika hücre kullanarak 2. türev absorpsiyon spektrofotometrisi ile tabletlerden klorfeniramin maleatı tayin etmişler ve ölçümlerinde 262-265 nm dalga boyundaki pik aralığını almışlardır (27).

Korany, M. A. ve ark., efedrin hidroklorür, fenilefrin hidroklorür, antazolin hidroklorür içeren göz damlalarından üç bileşeni de 1.derece türev UV spektrofotometrisi ile analiz etmişlerdir. Efedrin hidroklorür için, 0.1N H_2SO_4 'de 262 nm'deki piktan yararlanmışlardır (28). Ayrıca efedrin hidroklorür miktarı, Onur, F. ve Acar, N. tarafından içerisinde luminal ve kodein fosfat bulunan tableten 4.derece türev UV spektrofotometrisi ile tayin edilmiştir. Bu çalışmada 266.1 nm'deki türev absorbans değeri okunmuştur (29).

Davidson, A. G. ve Elshelikh, H., farmasötik preparatlarda bulunan efedrin veya psödoefedrin tayini için hızlı 2. ve 4.derece türev UV spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir (30).

Hoover, J. M. ve ark., klorfeniramin maleat ve psödoefedrin hidroklorür içeren tablet ve kapsül farmasötik şekillerin analizini 1.derece türev UV spektrofotometrisi ile dizli diyot dedektörü kullanarak yapmışlardır. Klorfeniramin maleat için 230 nm'de, efedrin hidroklorür için 267 nm'de türev absorbans değerlerini okumuşlardır (31).

Korany, M. A. ve ark., klorfeniramin maleat, dihidrokodelin bitartarat, efedrin hidroklorür içeren karışımların analizini fark spektrumlarını, 1. ve 2.derece türev spektrumlarını alarak yapmışlar, klorfeniramin maleat için 276 nm'de, dihidrokodelin bitartarat için 282 nm'de, efedrin hidroklorür için 243 nm'de absorbans ölçümleri almışlardır (32).

El-Yazbi, F. A. ve ark., prednisol-salisilik asit, prednisol-klorfeniramin maleat, deksametazon-klorfeniramin maleat gibi iki bileşenli karışımlar halindeki bazı kortikosteroidleri, türevsel spektrofotometri ile analiz etmişlerdir. Klorfeniramin maleatı 278 nm'de ΔD_2 ölçümüyle, prednisol ve deksametazonu 248 nm'de D_1 değerlerinin ölçümüyle belirlemişlerdir (33).

Murtha, J.L. ve ark. ise., 2. türev dizli diyot spektroskopisi yöntemi ile önceden ayırma işlemi yapmadan, dekstrometorfan hidrobromür, klorfeniramin maleat ve psödoefedrin hidrobromürü aynı anda analiz etmişlerdir. Çalışmalarını 1 cm'lik kuvars hücre, 0.1 M sodyum asetat tamponu kullanarak pH : 5'de gerçekleştirmişler ve 240-300 nm dalga boyu aralığında 1. ve 2. türevlerini almışlardır (34).

Tan, H. S. I. ve Salvador, G. C., klorfeniramin maleat (1), pirilamin maleat (2) ve fenilpropanolamin hidroklorür (3) içeren tabletlerden bu karışımın analizi fark spektrofotometrisi kullanarak yapmışlardır. (1) ve (2) pH:1 ve 6'da farklı spektrum verirken, (3) aynı kalmaktadır. Fenilpropanolamin için ise; metaperiyodat ile benzaldehitte yükseltgenme sonucu oluşan spektral değişimin artışı (1) ve (2)'de görülmektedir (35).

II.4.4. Elektroanalitik yöntemler

Jacobsen, E. ve ark., farmasötik preparatlardan klorfeniramin maleatın tayinini polarografik olarak yapmışlardır. Bu çalışmada, klorfeniramin maleatın elektrokimyasal indirgenmesini a.c. ve d.c. polarografisi, kulometrik ve dönüşümlü voltametri ile incelemişler ve 0.2 M sülfirik asitte 2 elektron aktarılması şeklinde mekanizma ileri sürdükleri yöntemin, 0.3-400 $\mu\text{g/ml}$ derişim aralığında doğrusal olduğunu belirtmişlerdir (36).

II.5. TÜREV SPEKTROSKOPİSİ (1,2,37-43)

II.5.1. Tarihçe

Tekniğin teorik temelleri 1953 yılında Hammond ve Price tarafından atılmıştır ve deneysel eğrilerin türevlendirilmesi birçok çalışmalara uygulanmıştır.

Teorik inceleme, etkinlik ve yararların ortaya konmasıyla, pek çok sayıda yöntem ve araştırmayı temsil edebilecek seçimler yapılmış ve

UV -VIS absorpsiyon spektrometrisi,

IR ve Raman spektrometrisi,

NMR spektrometrisi,

ESR spektrometrisi,

Alev -emilyon ve absorpsiyon spektrometrisi,

Lüminesans spektrometrisi,

Atomik ve moleküler spektroskopisi,

Gaz kromatografisi,

Polarografi,

Potansiyometrik titrasyon ve diğer elektrokimyasal yöntemler, tepkime kinetiklerinin analizinde ilk olarak uygulanmıştır.

1976-78 yılları arasında türev spektrometrisinin önemi artmış, özellikle yüksek derece türev spektroskopisi yöntemi ($n > 2$) analitik çalışmalarda geniş kullanım alanı bulmuş ve eser miktar analizi giderek artan bir önem kazanmıştır.

1978-80'lerde bilgi işlem teknolojisinin anında türev alarak, doğrudan türev spektrumunu vermesi bu tekniğin kalite kontrol gibi günlük işlerde kullanılmasını sağlamıştır. Moleküler tanımlama yanında çoklu bileşenlerin analizi için, normal spektrum ile analizin zor olduğu durumlarda uygulanmaya başlanmıştır.

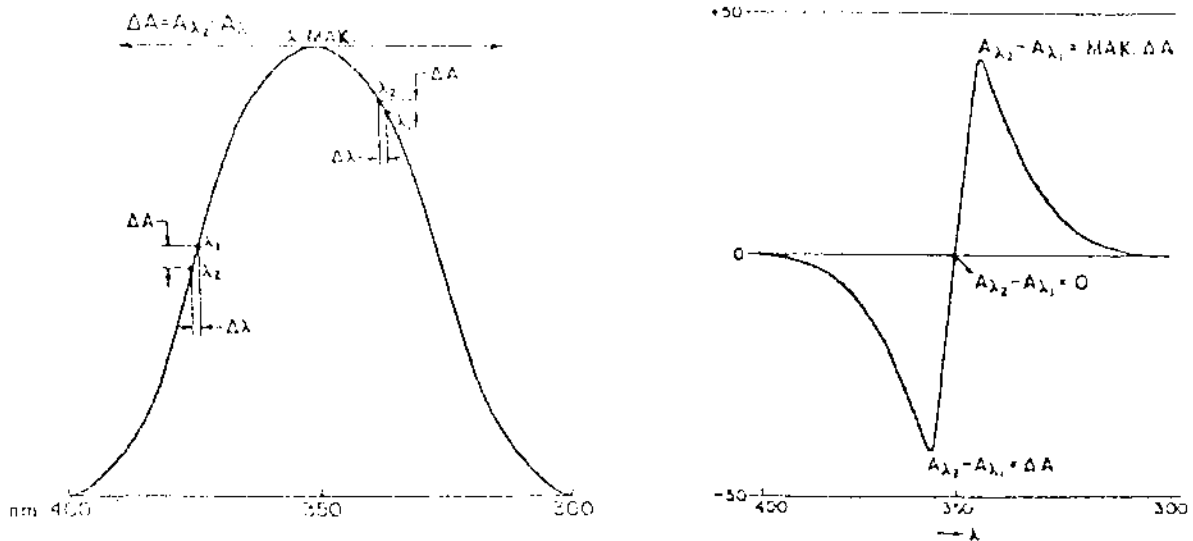
Modern elektronik sürece bağlı olarak hızlı gelişmeler kaydedilmiştir. Talsky ve arkadaşları (1) benzer türev sinyallerini doğrudan bilgisayara bağlayarak, spektrumların 1.dereceden 5.dereceye kadar olan türevlerinin bu şekilde kaydedilebildiğini saptamışlardır. 7.derece ve hatta özel durumlarda, 9.dereceye kadar düşük gürültülü spektrum ilk olarak elde edilmiştir. Daha pahalı olan dijital türevlendirme ile bilgisayarların kullanımı artmış ve türevlendirme aleti ile yüksek dereceden türevler hakkında, UV-VIS spektrumunda bilgi alımının artırılıp artırılmıyacağı ve ne boyutlara kadar artırılabilceği, sistematik olarak incelenmiştir. Ayrıca yüksek dereceden türevlerin parmak izi bölgesi veya karışım sinyallerinin ayırımı için yararlı olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda türev spektrofotometrisinin çoklu kanal dedektörleri ile kullanılmasıyla HPLC 'de kullanım alanı bulmuştur.

II.5.2. Teorik Prensipler

II.5.2.1. Türevlendirme

Bir eğrinin türev fonksiyonu, matematiksel olarak tüm alan içinde, eğrinin eğimi olarak tanımlanır, yani türev, eğrinin bir noktasından geçen teğetin eğimini verir. Bir spektrumun belli bir noktasındaki eğimi için değişkenler; dalga boyu (λ) ve absorbanans (A) ise; türev spektroskopisi; $dA/d\lambda$: $d^2A/d\lambda^2$: $d^3A/d\lambda^3$... gibi ilişkilere dayanır.

Spektrumun pik dönüşimlerinde λ 'nın bir birim değişimine karşılık A sıfır değişim göstereceğinden, bu noktada teğet eğimi sıfır olur, yani apse paraleldir (Şekil 4). Sonuçta, 1. türev eğrisi sıfırdan geçer, apsis keser. Bu şekilde bir çan eğrisinin 1. türev eğrisi iki dönüm noktası, 2.türevi üç dönüm noktası gösterir. Böylece türevlendirme ile spektrum daha ayrıntılı ve net bir görünüm kazanır.



Şekil 4. Absorpsiyon bandının türev eğrisi

Spektrofotometride ışık değişim oranı , ışığın örneğe girmeden önceki şiddeti (I_0) ve örnekten çıktıktan sonraki şiddeti (I) ile belirlenir. Beer -Lambert kuralına göre aşağıdaki ilişki elde edilir;

$$I/I_0 = e^{-C.b.\epsilon}$$

C =örneğin derişlmi (mol/l)

b =hücrenin derinliği (cm)

ϵ =molar absorptivite katsayısı

Birinci eşitliğin türevi şu şekildedir;

$$(dI/d\lambda) / I = - C.b. d\epsilon / d\lambda$$

1.derece türev, her λ 'da C ile doğrusal ilişkilidir. Bükülmenin olduğu yerde ölçüm daha duyarlıdır, çünkü burada $d\epsilon/d\lambda$ 'nın daha yüksek değerleri vardır.

2.derece türev için eşitlik aşağıdaki şekli alır;

$$(d^2I/d\lambda^2) / I = C^2.b^2 (d\epsilon/d\lambda)^2 - C.b (d^2\epsilon / d\lambda^2)$$

ϵ 'nun 1.derece türevi ($d\epsilon/d\lambda$) sıfıra eşitse, C ile doğrusal orantı söz konusudur. Buna ilave olarak ϵ 'nun 2.derece türevi ($d^2\epsilon/d\lambda^2$) yüksek bir değere sahipse, o zaman duyarlık daha da artar.

Benzer şekilde 3.derece türev de;

$$(d^3I/d\lambda^3) / I = - C.b (d^3\epsilon/d\lambda^3) + 3C^2.b^2(d\epsilon.d^2\epsilon/d\lambda.d\lambda^2) - C^3.b^3(d\epsilon/d\lambda)^3$$

$(d\varepsilon/d\lambda)$ 'nın C ile doğrusal olması için, sıfır olması gerekir. Özellikle yüksek ölçüm duyarlılığı, eğrinin küçük aralıklarında ve bükülme noktasına çizilen yatay tanjantlarla, omuzlarda elde edilir (Şekil 4).

Yüksek dereceden türevler için eşitlikler benzer şekilde hazırlanabilir. 4.derece türev için hatırlanması gereken nokta, doğrusal orantı için $d\varepsilon/d\lambda$ ve $d^2\varepsilon/d\lambda^2$ 'nın her ikisinin de değerlerinin sıfır olması gerektiğidir;

$$(d^4I/d\lambda^4)/I = -C.b(d^4\varepsilon/d\lambda^4) + 4C^2.b^2(d\varepsilon/d\lambda)(d^3\varepsilon/d\lambda^3) + 3C^2.b^2(d^2\varepsilon/d\lambda^2)^2 - C^4.b^4(d\varepsilon/d\lambda)^4$$

II.5.2.2. Türev Derecesi (n)

İki pikin yükseklikleri; Y^A_o ve Y^B_o taban genişlikleri; T_A ve T_B ise, n. dereceden türevlerde maksimum pik tavan, taban yükseklik farkları Y^A_n ve Y^B_n ise, bunların oranı;

$$Y^A_n/Y^B_n = (Y^A_o/Y^B_o) \cdot (T_B/T_A)^n \text{ olur.}$$

Türev derecesinin artışı ile geniş pik küçülür, dar pik belirginleşir. Gürültü pikleri dar ve sivri olduğundan belirginleşirler.

Raslantısal olan gürültü pikleri ortalama alınarak ortadan kaldırılır, ancak spektrum tekrarlama işlemi tüm tarama aralığında değil, yalnızca uygun bölgelerde yapılmalıdır. Türevin daha geniş bir dalga boyu aralığında (ΔDB) alınması, giderek artan oranda pik çarpılmalarına neden olur. Yani alınan orijinal spektrumun istenilen bölümleri seçilerek bir üst derece türev spektrumu alınmalıdır. Alet orijinal spektrumu sayısal hale getirilerek türevini alır; 1. ve 2. derece türev hesaplamaları aşağıda verilmektedir;

1. derece türev için;

$$(dA/dDB)DB = DB' = D1/DB' = \Delta A/\Delta DB = [A(DB' + \Delta DB/2) - A(DB' - \Delta DB/2)]/\Delta DB$$

2.derece türev için;

$$[A(DB' + \Delta DB) - 2A(DB') + A(DB' - \Delta DB)]/(\Delta DB)^2$$

...

n.dereceden türev spektrumun bir noktasındaki değeri, $n.\Delta DB$ aralığında dağılan absorblama değerlerini içerir.

11.5.2.3. Dalga Boyu Aralığı (ΔDB)

Spektrum değerlendirilmesinde; ΔDB 'nin, türev sinyalinin, ayırıcılığı ve sinyal/gürültü oranına etkisi göz önüne alınır.

11.5.2.3.1. ΔDB 'nin Türev Sinyalinin Etkisi

Belli bir ΔDB değerli türev sinyalinin küçülmesi ve ayırıcılığın azalması şeklinde bir etki yapar. Gerçek türev spektrumuna karşı; hesaplanan türevin eğrisi bir bozulma faktörü (F_n) kadar değişir.

Yani gerçek pikte; $\Delta DB \times F_n$

kadar pik taban-tavan yüksekliğinde azalma olur.

$$F_n \Delta DB = H_n \Delta DB / H_n(dB)$$

Bu eşitliğe göre dar bir bandın türev sinyalindeki azalma, geniş olanındakinden daha fazla olmak üzere türev sinyali azalır ve pik şekli bozulur. Çünkü spektrumun alındığı ΔDB 'nin pikin λ aralığına oranı dar pikte daha büyüktür.

11.5.2.3.2. ΔDB 'nin Ayırıcılığa Etkisi

$n \Delta DB$ ile pik tabanı oranı büyüyüp, pik tabanı küçüldükçe türev spektrumu keskinleşir. Ters durumda ise, türev spektrumunun ayırıcılığı düşer.

$$n \Delta DB = 2T$$

olduğunda, ayırıcılığın düştüğü, orijinal spektrum değerlerine indiği gözlenir. Bu bilgilerden türev spektrumundan iyi sonuç alabilmek için, orijinal spektrumun farklı bölgelerinde farklı tarama ve türev değişkenlerinin kullanılması gerekmektedir.

11.5.2.3.3. ΔDB 'nin Sinyal/Gürültü Oranına Etkisi

ΔDB ve n büyüdükçe sinyal büyür ve pikin taban, tavan uzaklığı artar. Buna karşılık, gürültü sinyalinin büyüklüğü orijinal spektrumda N_0 ise,

1. derecede türevde gürültü düzeyi (N);

$$N_1 = \sqrt{N_0^2 + N_0^2} = \sqrt{2N_0}$$

2. derece türevde;

$$N_2 = \sqrt{N_0^2 + (2N_0)^2} + N_0^2 = \sqrt{6N_0}$$

3. derece türevde;

$$N_3 = \sqrt{20N_0}$$

4. derece türevde;

$$N_4 = \sqrt{70N_0}$$

olur. Yani gürültü düzeyi (N), $\Delta DB'$ ' ından bağımsız, sinyal ile bağımlı değişkendir. Sonuçta sinyal/gürültü oranı ΔDB ile büyür.

Zamana bağlı türev hesabında $\Delta DB'$ ' nın büyüklüğü doğrudan tarama hızına bağlı olarak değişir. Her tarama programı için optimum n ve ΔDB iyi seçilmelidir;

1.Derece türevde;

$$\Delta DB = T/1$$

2.derece türevde;Bu değer bir kat büyük olmalıdır ki sinyal/gürültü oranı aynı oranda kalsın ve ayırıcılık yeterli olsun.

4.derece türevde;

$$\Delta DB = T/4$$

İse elde edilen türev değeri $\Delta DB = T/2$ olduğu durumdakinden bir kat daha küçük olur. Sinyalin bu şekilde düşmesi zemin girişiminin etki oranını artırır.

II.5.2.4. Ayırıcılıkta Artış

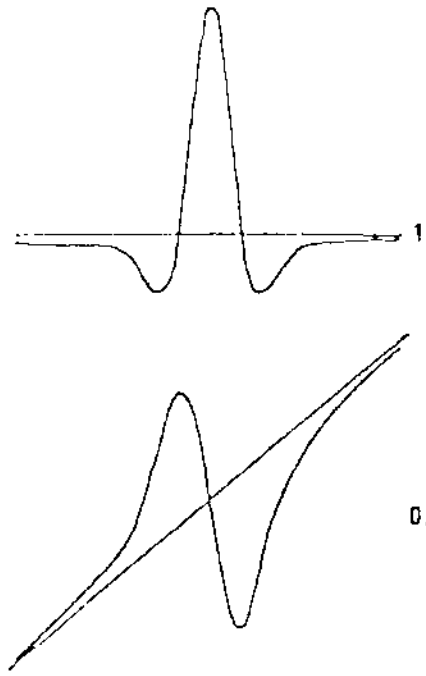
Herhangi bir fonksiyon üslü seriler halinde ifade edilebilir.

$$E_\lambda = C_0 + C_1\lambda + C_2\lambda^2 + C_3\lambda^3 + \dots U_\lambda$$

eğer bu eşitliğin türevi alınırsa, C_0 yok olur ve doğrusal terim $C_1\lambda$ sabit hale gelir.

$$E'_\lambda = C_1 + 2C_2\lambda + 3C_3\lambda^2 + U'_\lambda$$

Pratikte bunun anlamı, doğrusal geril zeminin uzaklaştırılmasıdır (Şekil 5).



Şekil 5. Doğrusal geri zemin fonksiyonunun ($y=ax$) türevlendirme ile uzaklaştırılması (1.derece türev $dE/d\lambda$).

Esas fonksiyonun 2.derece türevlendirmesinde;

$$E''_{\lambda} = 2C_2 + 6C_3\lambda + U''_{\lambda}$$

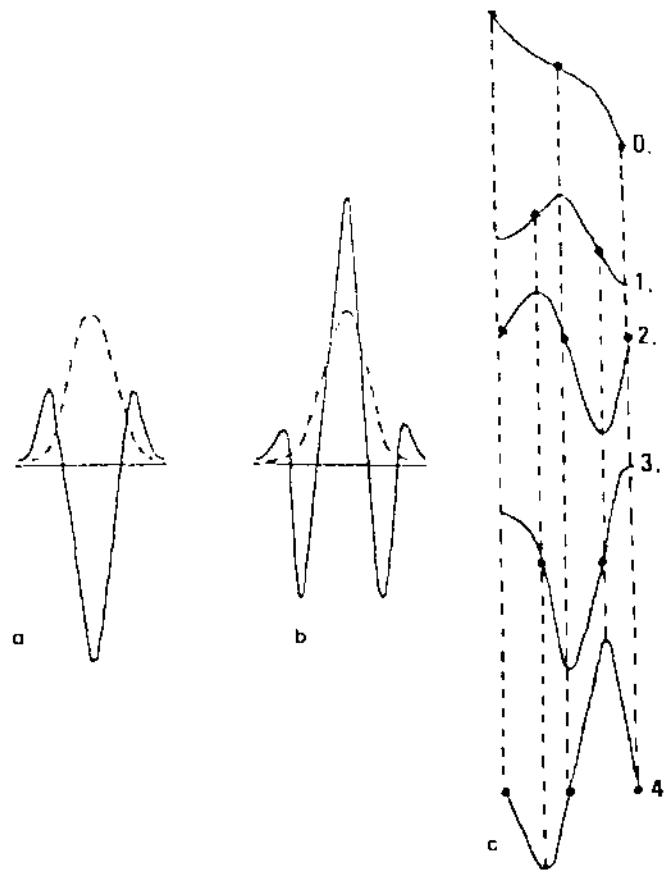
" $C_0 + C_1\lambda$ " terimi sabit olur ve kaybolur, $C_2\lambda^2$ (örneğin parabolik geri zemin fonksiyonu) ise doğrusal bir fonksiyon haline dönüşür.

Yüksek derecenin türevlerinde de, yüksek derecedeki geri zemin fonksiyonları yok edilerek, λ 'nın fonksiyonu olarak cevaplar elde edilmektedir.

$$E'''_{\lambda} = 6C_3 + U'''_{\lambda}$$

$$E''''_{\lambda} = U''''_{\lambda}$$

Ayırıcılık, türev spektrofotometrisi ile elde edilen keskin sinyallerle artırılır. Bu durumda Lorentz veya Gauss fonksiyonlarında, birinci fonksiyonun yarı genişliğinin, 2.derece türevin yarı genişliğine oranı 1:0.33 olur, bu ise orijinal değeri üç kez düşürür. Buna rağmen, eğer özel ölçümler alınmaz ise, $0.33^2/1$ faktörü ile gürültü artar. Genellikle $2n$ ($n=1,2,\dots$)' den büyük türev derecesi kullanıldığında uç değerler birbirleri ile karşılaşırlar (Şekil 6a-6b).



Şekil 6. Maksimum türevlendirme ile sinyallerin keskinleştirilmesi ve ayırıcılığın artması;
 a) Esas fonksiyon (...) ve 2. derece türevi $d^2E/d\lambda^2$ (—).
 b) Esas fonksiyon (...) ve 4. derece türevi $d^4E/d\lambda^4$ (—).
 c) Omuzların türevlendirilmesi ile sinyallerin keskinleştirilmesi. Esas eğri ve 1. ile 4. derece türevler.

Pikteki omuzların, türev alınarak daha keskin sinyal haline dönüştüğü gözlenir, bu durum aşağıdaki iki etki sonucu oluşur;

- 1) Tek derecenin türevlerinde omuzların bir uç değere çevrilmesi,
- 2) Şekil 6a ve 6b'de gösterilen sinyallerin keskinleştirilmesi.

Analizlerde, özellikle biyokimyasal analizlerde bu işlem bir saflık kriteri olarak, iki dalga boyundaki absorpsiyon oranının oluşması açısından önemli olup, tanıma ve saflaştırma testlerinde üstünlük sağlar.

Türev spektrofotometrisi spektrumun bilgi oranını artıramayabilir, fakat geri zemin sinyallerin kaybindan dolayı ayırıcılığı artırır. Bu ise maskelenmiş daha zayıf bantların belirlenmesini artırır veya bu bantların nitel ve nicel olarak belirlenmesini sağlar.

II.5.2.5. Analitik Bantların Türevleri

Absorpsiyon bandı aynı zamanda analitik bant olarak adlandırılarak, Gauss ve Lorentz fonksiyonları ile açıklanabilir.

Gauss'a göre; Belli bir λ 'da bandın absorpsiyonu aşağıdaki gibidir;

$$E_{\lambda} = E_{\text{mak}} \cdot e^{-C\lambda^2}$$

E_{mak} = Maksimum absorpsiyonun absorptivitesi

C = Derişim

Yarı genişlik için eğrinin bükülme noktaları arasındaki apsise paralel uzaklık, aşağıdaki şekilde verilir;

$$S = \sqrt{2/C}$$

Basit bir analitiksel bandın türevi (Şekil 7.a)'da grafiksel olarak verilmiştir. Esas eğrinin maksimumu tek dereceli türevde sıfırdan geçer ve çift dereceli türevlerde uç (minimum veya maksimum) bir değere karşı gelir.

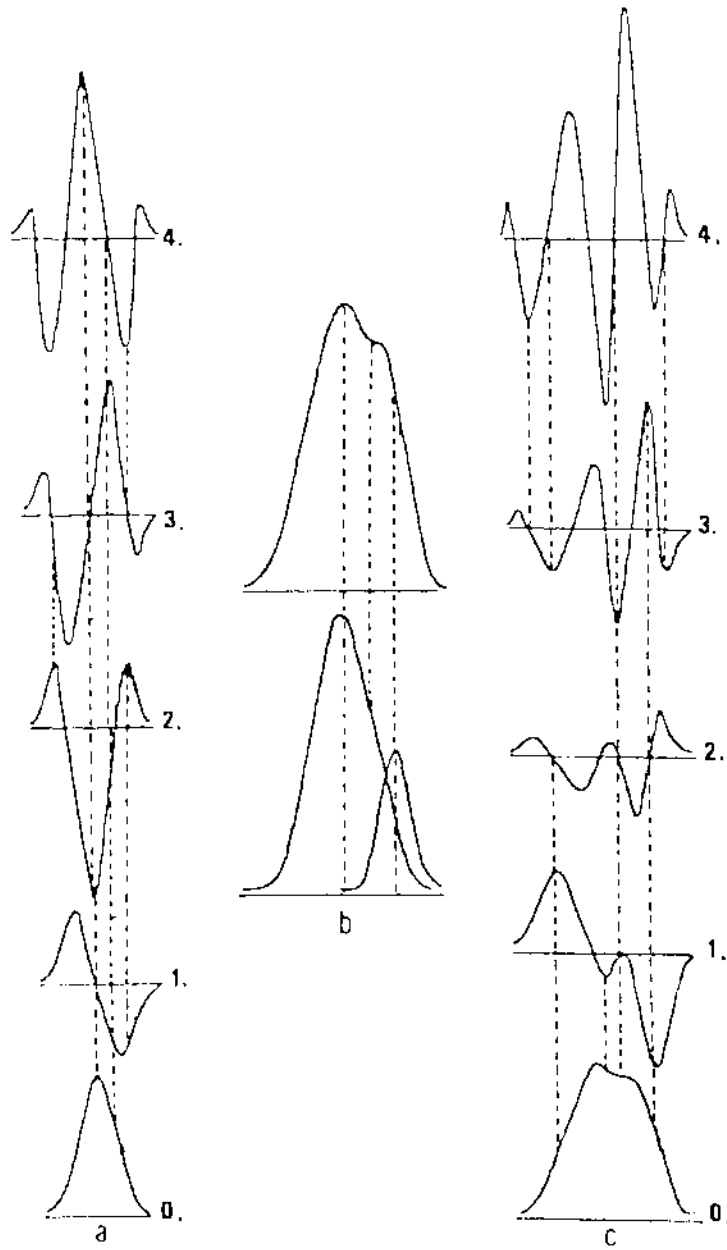
Türev derecesinin artışı ile bantların keskinliği artar ve boyu azalır. Esas eğrideki bükülme tek dereceli türevlerde uç noktalara yol açar ve çift derece türevlerde sıfırdan geçer. Gerçek uç noktaların esas eğri üzerinde olmadığı, ancak türev eğrisindeki bükülmelerden kaynaklandığı söylenebilir. Sonuç olarak bükülmeler ne kadar iyi saptanırsa, spektrum o kadar iyi aydınlatılabilir. Diğer yandan, bir maksimum, n. derece türevde n+1 tane uç noktası oluşturur ve artan derece ile analiz zorlaşır.

Ayrıca türev spektrofotometrisi, iki veya daha çok Gauss eğrisinin üst üste binmesi ile oluşan eğrilerin incelenmesinde de kullanılmaktadır;

$$E(\lambda) = E_1(\lambda_0) + E_2(\lambda_0 - \Delta\lambda) \quad E(\lambda) = \text{Karışım durumunda}$$

$E_1(\lambda_0)$ = λ_0 noktasında maksimum absorpsiyon bandı

$E_2(\lambda_0 - \Delta\lambda)$ = $\Delta\lambda$ ile $E_1(\lambda_0)$ dan kayan maksimum absorpsiyon bandı



Şekil 7. a) Gauss eğrisi türevleri ; esas eğri ve 1. ile 4.derece türevler ;
 $E_{\lambda} = E_0 \exp. (-C\lambda)^2$
 b) Eşit olmayan iki Gauss eğrisinin karışım durumu ;
 $E_{\lambda} = E_1(\lambda_0) + E_2(\lambda_0 - \Delta\lambda)$
 c) Eşit olmayan iki karışım durumunda Gauss eğrisinin türevleri ; esas eğri ve 1. ile 4.derece türevler

Birinci derece türev spektrumlarında, mutlak değer olarak pik büyüklüğü (+) ve (-) iki dönüm noktası arasında orijinali ile aynı kalırsa da, orijinale göre yarı yarıya küçülmüş iki pik verir. Orijinal pik dönüm noktası kaybolur ve o λ 'da apsisi keser (Şekil 7.a2). 2.derece türev spektrumlarında, orijinal spektrumla ters yönde olan daha keskin ve büyük bir pik minimumu oluşur. Ayrıca tek bir pik içinde kaybolmuş ve omuzlar yapan iki veya üç pik net olarak ortaya çıkar. Bu nedenle 2.derece türev, uygulamada en çok kullanılan yöntemdir (Şekil 7.a3). 3. ve 4. derece türev spektrumları, orijinal spektrumda belirsiz, görülmeyen eğim değişimlerini de verdiği için yorumu zorlaştırır, ancak az miktardaki safsızlıkları da ortaya çıkarır. Bu spektrumlarda optik ve elektronik gürültü zahlı olarak büyür, bu gürültüler ortalama alınarak temizlenebilir. 3.derece türev eğrisinde orijinal eğrinin maksimum noktasına aynen 1.derece türevde olduğu gibi bir kesim noktası karşılık gelmektedir, 4.derece türevde ise orijinal spektrumdaki maksimum noktaya yine bir maksimum nokta karşılık gelir (Şekil 7a.4 ve 7a.5).

İki eşit olmayan Gauss eğrisinin karışım halinde olduğu durumlarda $\Delta\lambda$; en az yarı genişlik ile eşitse üçüncü ve dördüncü bükülmeler ortaya çıkar. Bununla birlikte bantlar farklı ordinatlarda maksimum değerleri ile çakıştığında maksimum ayırma en büyük yarı genişlikten daha az olsa dahi omuzlar oluşur. Bu bantların türevleri alınarak omuzlar düz noktalar haline dönüştürülür. Bu özellik, karışım spektrumu üzerindeki dördüncü bükülmenin görünümü ile ilişkilidir (Şekil 7b). Esas eğrinin türevlendirilmesinden sonra tek dereceden türevlerde düz noktalar bir uç değer halini alır (3.derece türevde en keskin minimum), böylece spektrum daha kararlı bir yapı gösterir ve her iki bileşenin miktar tayini kolayca gerçekleştirilir (Şekil 7c).

Orijinal Gauss eğrisi tipindeki bir pike karşılık n.türevde n+1 tane maksimum ve minimuma rastlanmaktadır. Yani 1.derece türevde 2, 2.derece türevde 3, 3.derece türevde 4 tane gibi maksimum ve minimum noktası gözlenmektedir.

II.5.2.6. Türev Spektrumlarını Etkileyen Faktörler

UV-VIS spektroskopisinde çeşitli gazlar ve buharların zaman zaman keskin pik vermesine karşın, sıvılar veya çözülmüş maddelerin genelde daha az belirgin spektrum

vermesi elektronik geçişlerinin birçok defa üst üste binmesi ile açıklanabilir ($\pi-\pi^*$, $\sigma-\sigma^*$, $\pi-\pi^*$, dönme ve çevirme).

Türev uygulaması gerçek bir optik-elektronik spektrum üzerinde yapılmalı ve oluşacak pik kayması ile şekil bozulmaları gözönüne alınmalıdır. Ordinat değerleri absorpsiyon değerleri ile değil absorpsiyon değişimleri ile orantılıdır, bu ise maksimum absorbanza karşı gelen λ 'da mümkündür ve maksimum-minimum farkı karakteristik olur. Nicel analizde ancak bu farklar değerlendirilerek sonuca gidilebilir.

Optik ve elektronik gürültülerin verdiği piklerin gerçek piklerle benzerlik göstermesi, spektrumun detaylandırılması ile bağli olarak büyümesi yanlış değerlendirmelere neden olabilir. Bunun yanında gerçek piklerin türev eğrilerinin λ eksenli doğrultusunda şekil değiştirmelerinin türev sayısı ile artacağı göz önüne alınmalıdır. Gürültü pikleri ise, spektrum ortalamalarının alınması ile yok edilir. En çok 1.derece türev eğrisi, doğrudan optik olarak elde edilir, diğer türevler ise, bu veya orijinal spektrumdan elektronik olarak elde edilir. Bu nedenle, 2.derece ve diğer türev işlemlerinde A' 'nın λ 'ya karşı değil, zamana (t) karşı türevi alınır (zaman sabitli aynı);

$$dA/dt, d^2A/dt^2, d^3A/dt^3 \dots$$

Bu ilişki ise, spektrofotometrenin tarama hızına göre şiddetli değişen bir türev spektrumunun oluşmasına neden olur, çünkü tarama hızlandıkça orijinal spektrumda eğrilerin keskinleşmesi ve eğimlerinin artması söz konusudur. Uygulama amacına göre tarama hızı değiştirilebilir (örneğin; tabanı geniş olan pikler için hızlı, dar tabanlı olanlar için ise yavaş tarama hızı seçilmektedir).

1.derece türevde, zaman sabitliğinin bir basamak artışı sinyal büyüklüğünün iki kat kadar artmasına neden olurken, 2.derece türevde duyarlık üstel olarak artar. Türev derecesi yanında λ tarama hızı ve hız değişimi ordinat sinyal büyüklüğünü etkilerse de bu etkinin oranı ve yönü konusunda genelleme yapmak zordur. Yalnız, 2.derece türevde zaman sabitli aynı tutulduğunda 1.derece türeve göre daha yüksek duyarlık ve ayrıntılı bilgi elde edilebilir. Ayrıca optik yarı genişliğinin azalması da, piklerin ayırıcılık ve şiddetini artırır.

Uygulamada çok pik içeren IR spektrumlarında; türev uygulaması anlamsız olur, ancak incelenecek bölgenin dar bir kısmı belleğe alınıp, verilerin istendiği gibi dilimlenmesi, büyütülmesi ve ondan sonra türevin uygulanması spektruma anlam kazandıracaktır.

11.5.2.7. Türev Spektrumlarının Değerlendirilmesi

Genelde; I/I_0 'ın türevi derişimle doğru orantılıdır. 1. ve 2.derece türev spektrumunda; ordinat değişimleri normal spektrumdaki ordinat değerinin büyüklüğü ile değişir ve bu özellik eğim değişimi ile de ilişkilidir. Bu nedenle türev eğrisinin apsisteki konumu ile dönüm noktalarının birbirine karşı durumları karakteristiktir. Çoklu bileşenlerin tayininde seçilen türev derecesi, düzeltme derecesi, düzeltme eğimi veya türevlendirme ve referans ışının şiddeti nicel analizin kesinliğini etkilemektedir.

11.5.2.7.1. Pikten Pike Ölçüm

Bir spektrumda art arda gelen maksimum-minimum noktaları alınarak, bu iki noktanın mutlak değer olarak farkı ölçülür. Bir kaç nokta var ise, ordinat farkının en büyük olduğu bir bitişik çift seçilir (Şekil 8a). Bu ölçüm şekli genelde çok bileşenli nicel analizlerde kullanılır.

11.5.2.7.2. Pikten Sıfıra Ölçüm

Ölçümü yapılacak olan pikin, maksimumu ile sıfır arası veya minimumu ile sıfır arası uzaklığı ölçülür (Şekil 8b). Özellikle apsisle göre simetrik sinyaller içeren yüksek derece türevler için ve üst üste çakışan eğrilerden biri sıfırdan geçtiğinde kullanılır.

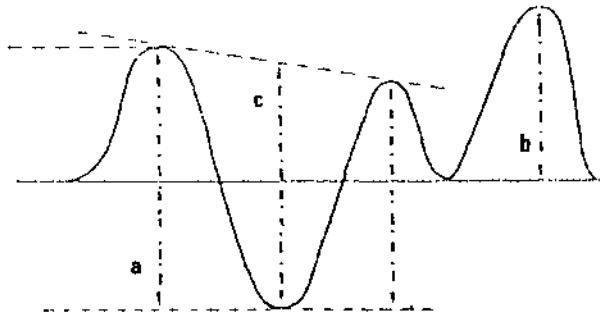
11.5.2.7.3. Teğet Yöntemi

Spektrumda art arda gelen iki maksimum üzerinden geçirilen teğetin iz düşüm noktasından arada kalan minimuma uzaklığı veya iki minimumdan geçen teğetin aradaki maksimuma iz düşüm noktasındaki uzaklığı ölçülür (Şekil 8c). Bu yöntem doğrusal geri zemine çok rahat uygulanabilir. Özellikle geri zemin absorpsiyonunun belirlenemediği bulanık örneklerle uygulanır. Bulanık örneklerde bulanıklık arttıkça,

spektrum daha kısa λ 'ya doğru kayar, 1. ve 2.derece türev alınarak bu etki ortadan kaldırılabilir.

II.5.2.7.4. Pık Oranı Yöntemi

Spektrumdaki komşu pikler arasındaki oran olarak tanımlanır. Eğer bu oran, büyük olursa geril zemin gelişim yapar ve böylece maddenin miktarı gerçekten daha az olarak belirlenir.



Şekil 8.Türev spektrumunun değerlendirilmesi

- a)Pikten pıke ölçüm,
- b)Pikten sıfıra ölçüm,
- c)Teğet yöntemi,

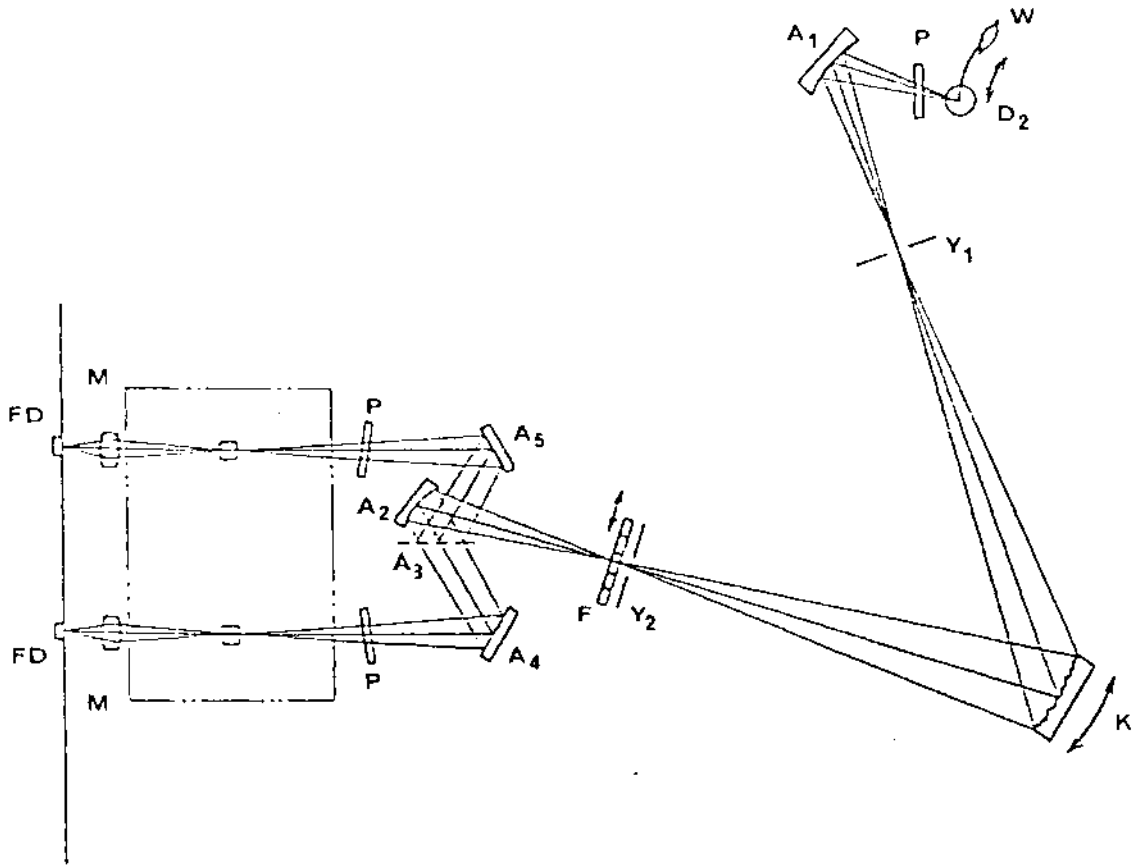
II.5.3. Aletin Yapısı

UV spektrofotometresinin optik bölümleri Şekil 9'da gösterilmiştir. Işık kaynağından (D_2 veya W lamba) çıkan ışın A_1 aynası ile yansıtılır ve monokromatöre gönderilir. Işık kaynağı dışındaki tüm optik elemanlar, P pencere levhası ile dış atmosferden izole edilerek tozdan korunur. Kırınım ağı monokromatörün gelen ışın F filtresini kesen ışın boyunca geçer. Daha sonra A_2 aynası ile yansıtılır, A_3 yarı ayna ile de referans ve örnek ışınlarına ayrılır ve her bir ışın kendi hücrelerinden geçerek dedektöre gelir. Elektronik sistemi ise, ışın kaynağını kontrol eden CPU bir bilgisayardır.

II.5.3.1. Türev Spektrumunun Alınması

Türev spektrumu değişik yöntemlerle elde edilebilir;

- a)Çıkış sinyalinin;elektronik veya sayısal olarak türevinin alınması veya elektronik takometrelerle işleme tabi tutulması ile;



D₂ : Döteryum lambası

W : Halojen lamba

F : Filtre

K : Kırınım ağı

Y₁ : Giriş yarığı

Y₂ : Çıkış yarığı

P : Pencere levhası

A₁ , A₅ : Aynalar

A₃ : Yarı ayna

M : Mercek

FD : Fotodiyot

Şekil 9. Spektrofotometre'nin optik bölümleri

b)Çift- λ sinyel farkı taraması veya λ modülasyonu yapabilen özel optik sistemli olan spektrofotometrelerin kullanılması ile optik türev spektrumu elde edilir.

Elektromekanik takometre; 1.derece türevi kaydeden bir yöntemdir, λ 'yı tararken kaydedicinin ordinata göre hareket oranı 1.derece türev ile orantılı olup, filtre ve düzeltme işlemi yapılabilir.

λ -Modülasyonu; Gazların tek ışınli spektrumuna uygundur. Sinüzoidal λ modülasyonunda esas λ_0 sinüzoidal olarak yerleşmiştir. Bu yöntemle 2.derece türev spektrumunun alınışı mümkün olmaktadır, ama kullanımı azdır.

Çift- λ 'lı Spektrofotometre; en çok kullanılan yöntemdir, türevlendirme optik olarak yapılır. Yöntemde ışın iki monokromatör arasında bölünür, şiddetleri ise foto çoğaltıcı ile ölçülür. Yükselticiden sonra yazıcının Y-girişinin çıkış ünitesine bağlanması ve yazıcının X-ekseninin λ 'yı taraması ile ve aynı zamanda çevrilmesi ile sinyaller kaydedilir. Eğer λ 'ları arasındaki fark oldukça küçük ise (1-2 nm) λ 'ya göre 1.derece türev elde edilir. Bu yöntem biyokimya, klinik, çevre, ilaç analizlerinde sıvı örnekler için uygundur.

Dijital türevlendirmede; spektrofotometrenin çıkış sinyali öncelikle, dijital değiştiriciyi beslemelidir. Üretkenliği artırmak için, her bir λ 'daki sinyaller toplanır ve düzeltilir, daha sonra ortalama değer elde edilir. Bundan sonraki işlemlerde ise, eğriler en küçük kareler yöntemi ile elde edilir. Ölçümdeki λ farkı genellikle 0.1-1.0 nm'dir.

Elektronik türevlendirmede; optik sistemde bir değişme yapılmaz. Yükselticilerin kullanımından kaçınılır, ölçüm işlemi üzerine geri besleme kolaydır, filtreleme ve düzeltme işlemi söz konusudur. Daha yüksek derece türevler kısmen daha basit olarak elde edilebilir ve bozulma riski oldukça azdır. Bu yöntemde, λ tarama hızı ve türev zaman sabitine bağlı olarak sinyallerde kaymalar oluşmaktadır. Bu nedenle yöntem, otomatik uygulanan yarıkların bulunduğu spektrofotometreler için uygun değildir.

11.5.4. Türev Spektroskopisi Yönteminin Uygulamaları

Elsayed, M. A. H. ve ark., piridoksin hidroklorür, tiamin hidroklorür ve tolbutamit içeren karışımların analizini spektrofotometrik olarak gerçekleştirmişlerdir. Karışım halindeki preparatlarda ve tek doz tabletlerde tolbutamitin tayini için 1.derece türev eğrisini kullanmışlar ve piridoksin ile tiamin analizi sırasında tolbutamitten kaynaklanan girişimlerin çözücü tüketimi ve pH'a bağlı türevsel spektrofotometri ile ortadan kaldırıldığını vurgulamışlardır (44).

Jones, K. G. ve Sweeney, G. D., idrardaki porfirini 2.derece türev spektroskopisi ile tayin etmişler ve ortalama günlük, porfirin salgısını hamilelerde daha çok bulmuşlardır (45).

Balestrieri, C. ve ark., proteinler üzerinde çalışmışlar, trosl gruplarının tayini için 2.derece türev spektroskopisini kullanmışlardır (46).

Fell, A. F. ve Allan, J. G. ise., türevsel UV-VIS spektroskopisi ile farmasötik preparatlardaki renklendirici bileşenlerin analizini yapmışlardır (47).

Fell, A. F. ve ark., serum, plazma ve diyaliz sıvılarındaki paraquat analizini 2. ve 4.derece türev spektroskopisi yöntemini kullanarak gerçekleştirmişler ve yöntemin 1.derece türev spektrumuna nazaran daha fazla bir avantaj sağladığını belirtmişlerdir (48).

Davidson, A. G., benzenoid ilaçlara UV absorpsiyon spektrumları ile 1. ve 4.derece türev UV spektrumlarında 0-40 °C arasındaki sıcaklık değişiminin etkilerini incelemişlerdir (49).

Meal, L. ise., ketonların nitel olarak tayinini 2.derece türev UV spektrofotometresi ile yapmıştır (50).

Sell, El-Din, A. A. ve ark., 2.derece türev UV spektrofotometri yöntemi ile uçucu yağlarda karson ve sinnamik aldehit tayini yapmışlardır (51).

Davidson, A. G. ve Hassan, S. M., tablet ve kapsül formülasyonlarındaki benzenold ilaçların tayinini 2.derece türev UV spektrofotometrisi ile gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca bu yöntem ile temel UV spektrofotometrik yöntemindeki formülasyondaki yardımcı maddelerin girişimini ortadan kaldırmışlardır (52).

Abdel-Hamid, M. E. ve ark., farmasötik preparatlardaki flamin hidrokorür (vit.B.) ve askorbik asit (vit.C.)'in spektrofotometrik tayinini; vit.B. için 2.derece türev, vit.C. için 1.derece türev ile başarmışlardır (53).

Korany, M. A. ve ark., oral kontraseptif tabletlerde bulunan noretisteron'un varlığında etinilöestradiolün tayini için türevsel fark spektrofotometrik yöntemini uygulamışlardır (54).

Bermejo, A. ve ark., 2.derece türev spektrokopisi yöntemini kullanarak plazmadaki teofilinin fenobarbital varlığında analizini yapmışlardır (55).

Parks, J. ve Worth, H. G. J., 2.derece türev spektroskopisi ile 418 nm'de karboksihemoglobin ve 430 nm'de indirgenmiş hemoglobin tayinini yapmışlar ve yöntemin sigara kullananlar ile kullanmayanların kanındaki farklı karboksihemoglobin miktarlarına oldukça duyarlı olduğunu vurgulamışlardır (56).

El-Yazbi, F. A. ve Barary, M. H., yine aynı yöntemi, sodyum sefalotin, segradin ve sefalekslin gibi bazı sefalosporinlerin tayininde kullanmışlar ve bozunma ürünlerinin herhangi bir etkisi olmadan saf ilaç derişimlerini değerlendirmişlerdir (57).

Abdel-Khalek, M. M. ve ark., bazı benzenold ilaçların tayininde 2.derece türev spektrofotometrisi yöntemini uygulamış ve temel UV spektrofotometrik yöntemlerde formülasyondan kaynaklanan spektral girişimlerin böylece elimine edildiğini göstermişlerdir (58).

Poluou, M. ve Macheras, P., idrardaki nitrofurantoin miktarını; etilasetat ile ilacın iyonize olmayan formunun tüketimi ve 2.derece türev absorpsiyon pik şiddetinin ölçümü ile belirlemişlerdir (59).

Meal, L., arson analizi için 2.derece türev UV spektrofotometresini kullanmıştır (60).

Mura, P. ve ark., sodyum fenitoin içeren tabletlerden, bu maddenin analizini 2.derece türev UV spektrofotometri ile yapmışlardır (61).

Mori, S., türevsel UV ve VIS spektrofotometrisini çeşitli polimer analizlerine uygulamıştır (62).

Fernandez, P. ve ark., plazma amitriptilin ve perfenazın tayinleri için türev spektrofotometri yöntemini önermişler ve yöntemi; tek bir tüketme işlemi ile her iki ilaç için en hızlı, duyarlı yöntem olarak tanımlamışlardır (63).

Morelli, B., sodyum ampisilin ve sodyum diklosasilin içeren ikili karışımların analizinde 2.derece türev spektrofotometrisini kullanmışlardır (64).

Martinez, M. I. A. ve ark., kokain ve diğer lokal anesteziklerin tayini için türev spektrofotometrisini kullanmışlar ve kokain-ildokain, kokain-prokain, kokain-tetrekain, kokain-benzokain karışımlarının analizini 2.derece türev spektrofotometrisi ile başarmışlardır (65).

Wahbi, A. A. M. ve ark., aynı yöntem ile öksürük şurubundan potasyum guakolsülfanatın tayinini yapmışlardır (66).

Abdel-Hay, M. H. ve ark., isopentil hidroklorür, dimetotiazin mesilat ve trimetoprazin tartarat içeren tabletlerde; bu üç fenotiazin ilacın tayinini türevsel UV spektrofotometrisi ile gerçekleştirmişlerdir (67).

Morelli, B., Injektabl preparatlarda bulunan L-Arjinin ve bir beta-laktam antibiyotikli olan aztreonamin analizini benzer yöntemler ile yapmıştır (68).

Mortelongo, F., ve ark., alkolsüz içeceklerde, asitlendirici ve antloksidan olarak kullanılan askorbik asitin 2. ve 3.derece türev spektrofotometrisi yöntemi ile analizini yapmışlardır (69).

Bermejo, A. M. ve ark. ise., 2.derece türev spektroskopisini uygulayarak plazmada salisilat ve parasetamolun analizini gerçekleştirmişlerdir (70).

Nevado, J. J., ve ark., 3. ve 4.derece türev spektrofotometrisi yöntemiyle, sülfanilamid ve sülfatiazol bulunan farmasötik preparatlarda bu maddelerin miktar tayininin yapılabilirliğini göstermişlerdir (71).

Leung, C. P. ve Wong, K. C. C., göz damlalarında yaygın kullanılan ve antikolinerjik etkiye sahip olan homatropin hidrobromürün analizini 2.derece türev spektroskopisi yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir (72).

Abdel-Moety, E. M., kapsüllerde ikili karışım halinde bulunan amoksisilin ve dikloksasilin'in analizini 1.derece türev spektrofotometrisi ile yapmışlardır.(73). Ayrıca oral süspansiyonlarda amoksisilin tayini de Yeşilada, A. ve Ertan, M. tarafından, 2.derece türev spektrofotometrisi ile yapılmıştır (74).

Fraga, J. M., ve ark., trisiklik antidepresan olarak kullanılan amitriptilin ve imipromin'in analizini türevsel olarak gerçekleştirmişler, 1. ve 2.derece türev spektrumlarını diizi-diyoit spektrofotometre ile almışlardır (75).

Kır, S. ve ark., farmasötik preparatlardaki metakarbamol ve parasetamolun analizlerini 2.derece türev spektrofotometrisi ile gerçekleştirmişlerdir (76).

Yeşilada, A. ve ark., parasetamol varlığında p-aminofenolün analizini yine aynı yöntem ile yapmışlardır (77).

Murillo, J. A. ve ark., 2.derece türev spektrofotometrisi ile karışımlardan (7-ADCA) ve (7-ACA)'nın analizini yapmışlar, yöntemin farmasötik preparatların analizinde rutin olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır (78).

El-Yazbi, F. A. ve ark., bazı trankilizan antideprasan karışımlarının analizlerini 1. ve 2.derece türev spektrofotometrik yöntemini uygulayarak yapmışlardır(79).

El-Walily, A. F. M. ve ark., 2.derece türev spektroskopik yöntemi ile angino pektoriste kullanılan kromonor hidroklorürün metabolitinin idrarda tanınmasını gerçekleştirmişlerdir (80).

Abuirjele, M. ve ark., şampuan ve aerosolde bulunan alletrin ve piperonil butoksitin ikili karışımlarını 3.derece türev spektrumu ile ve ölçümde sıfır geçişini kullanarak tayin etmişlerdir (81).

Shoukrallah, I., iki bileşenli farmasötik preparatların analizinde 1. derece UV spektrofotometri yöntemini kullanarak, fenilefrin hidroklorür ve karbinoksamin maleat bulunan kapsüllerde, difenhidramin hidroklorür ve naphazolin hidroklorür içeren nazal jellerde yöntemin uygulanmasını göstermiştir (82).

Salem, H. ve ark ise., ikili karışımları (spironolakton ile hidroklorotiazit, kaptopril ile hidroklorotiazit ve spironolakton ile furosemit) UV, 1. ve 2. derece türev spektroskopisi yöntemlerini ve ölçümde sıfır geçiş tekniğini kullanarak uygulamışlardır (83).

Mahrous, M.S. ve ark., minoksidil ve tretinoinin farmasötik ve sentetik preparatlardan benzer tayinini 1. türev spektrofotometrisi yöntemi ile yapmışlar ve

herhangi bir girişim olmadan 290 nm'de mlnoksidilin, 351 nm'de tretinoinin ölçümlemlni almışlardır (84).

Lau, O.W. ve ark., çay, kahve ve içkilerdeki kafeinin 2.türev UV spektrofotometrisi ile tayını için geri zemin düzeltme yöntemini geliştirmişlerdir. Çay ve içkilerdeki tanenden kaynaklanan girişimi, Cu(II) asetat ile taneni çöktürerek ve örneği 0.1 M /dm³ NaOH ile muamele ederek azaltmışlar, kahve örneklerini ise NaOH ile muamele etmişler ve maddelerin standart eğrilerini çizerek doğrusal oldukları aralıkları saptamışlardır (85).

III. DENEYSEL KISIM

III.1. KULLANILAN MADDELER

Kullanılan Etken Maddeler:

Klorfeniramin maleat (Sigma)

Efedrin hidroklorür (Sigma)

Kodein fosfat (Sigma)

Çalışılan farmasötik şekiller, şurupdur. Bu şuruplar Ankara eczanelerinden temin edilmiştir. Çalışılan farmasötik preparatlar birim doz içerikleri ile birlikte Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Çalışılan farmasötik preparatlar

Müstahzar adı	Etken maddelerin birim doz içeriği (mg/10ml)		
	Klorfeniramin maleat	Efedrin hidroklorür	Kodein fosfat
Antibeksin	30.00	10.00	—
Dephedrin	2.00	15.00	15.00
Codis	2.00	24.00	20.00
Corex	10.00	12.50	25.00

Kullanılan Diğer Maddeler :

Monobazlık potasyum fosfat (Merck)

Sodyum metaperiyodat (Merck)

Sodyum klorür (Merck)

Hidroklorik asit (Merck)

Sülfürlük asit (Merck)

Sodyum hidroksit (Merck)

Kloroform	(Merck)
Dietileter	(Merck)
n-Hekzan	(Merck)

III.2. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

UV Spektrofotometresi : SHIMADZU-160A, Shimadzu, Corporation, Japan

FTIR : Perkin Elmer FTIR Spectrophotometre 1720 X

Hassas terazi : METTLER H20, Mettler Instrument, Switzerland

pH metre : ORION (Model SA 720),Orion Research Incorporated, U.S.A.

Ultrasonik temizleyici : Bandelin Sonorex Super AK-514-BH, Bandelin Electronic Berlin, West Germany

Etüv : NÜVE FN-400, Nüve San. Malz. İml. ve Tic.A.Ş., Türkiye

Manyetik karıştırıcı :IKAMAG® RH, Janke & Kunkel IKA-Labor Technik, Janke & Kunkel GMBH & CO.KG

Çalkalayıcı : KARL-KOLB, 2363, Karl-Kolb Scientific Technical Supplies, West Germany

Erime noktası tayin aleti : Büchl 535 Melting Point

Çeşitli boy cam balonjoje, büret, pipet, beher, erlenmayer, cam süzgeç, huni ve ayırma hunileri, turnusol kağıdı.

Süzgeç kağıdı : 12 cm (Whattman 42)

III.3. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

III.3.1. DeneySEL Çözeltilerin Hazırlanması:

pH:7 Fosfat tamponu : 295.4 ml 0.1 N NaOH ve 250 ml 0.2 M monobazik potasyum fosfat alınarak,hacim 100 ml'ye suyla tamamlanır.

0.4 M Sodyum metaperiyodat çözeltisi : 2.139 g sodyum metaperiyodat alınarak 25 ml'ye su ile tamamlanır ve ışık almayacak şekilde saklanır.

0.2 M Monobazik potasyum fosfat çözeltisi : 27.218 g monobazik potasyumfosfat alınarak, 1000 ml'ye su ile tamamlanır.

Doygun NaCl çözeltisi : Bir miktar suya katı NaCl ilave edilir ve çözülür,sulu kısımda çözünmeyen sodyum klorür kalana kadar işleme devam edilir.

1 N HCl çözeltisi : 82.85 ml HCl alınarak,önceden bir miktar su bulunan balonjojeye konulur ve hacim su ile 1000 ml'ye tamamlanır. 0.1 N ve 0.5 N 'lık çözeltiler stok asit çözeltisinden hazırlanmıştır.

0.5 N Seyreltik HCl R çözeltisi : 260 ml HCl R (HCl'in % 25'lik ürünü) alınarak, içerisinde bir miktar su bulunan balonjojede hacim su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

0.1 N H_2SO_4 : Bir miktar su üzerine 5.43 ml derişik H_2SO_4 konularak ,hacim 1000 ml'ye su ile tamamlanır. 0.02 N ve 0.5 N 'lık çözeltiler stok asit çözeltisinden hazırlanmıştır.

5 N NaOH çözeltisi : 200 g NaOH alınarak az miktar su ile yıkanır (ortamdan CO_2 'i uzaklaştırmak için), çözülür ve hacim su ile 1000 ml'ye tamamlanır. 0.02 N, 0.1 N ve 1 N'lık çözeltiler stok baz çözeltisinden hazırlanmıştır.

Metil kırmızısı indikatörü : 0.025 g metil kırmızısı R (reaktif saflığında) 0.95 ml 0.05 N NaOH ile ısıtılır ve 5 ml etanol R (% 90) ilave edilir.Madde tamamen eridikten sonra etanol R (% 50) ile hacim 250 ml'ye tamamlanır.

III.3.2.Stok Çözeltilerin Hazırlanması:

Klorfeniramin maleat çözeltisi : 20 mg klorfeniramin maleat tartılarak , 0.1 N HCl çözeltisi ile hacim 100 ml'ye tamamlanır ($5.12 \times 10^{-4}M$). 0.1 N H_2SO_4 , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponu çözeltileri ile de aynı şekilde stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Efedrin hidroklorür çözeltisi : 400 mg efedrin hidroklorür tartılarak, 0.1 N HCl çözeltisi ile hacim 100 ml'ye tamamlanır ($1.98 \times 10^{-2}M$). 0.1 N H_2SO_4 , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponu çözeltileri ile de benzer şekilde stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Kodelin fosfat çözeltisi : 100 mg kodelin fosfat tartılarak, 0.1 N HCl çözeltisi ile hacim 100 ml'ye tamamlanır ($2.46 \times 10^{-3}M$). 0.1 N H_2SO_4 , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponu çözeltileri ile de aynı şekilde stok çözeltiler hazırlanmıştır.

III.4. KULLANILAN ETKEN MADDELERİN SAFLIK KONTROL ANALİZLERİ

Kullanılan etken maddelerin erime noktaları tayinl yapılarak ve IR spektrumları alınarak saflıkları saptanmıştır.

III.5. YÖNTEMLER

III.5.1.Uygun Ortam Ve Türev Derecesinin Seçimi

III.5.1.1.Klorfeniramin maleat

Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl , 0.1N H_2SO_4 , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden $5.11 \times 10^{-5}M$ 'lık çözeltiler hazırlanmış ve 220-300 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları, 1.derece ve 2.derece türev spektrumları (N=3-9 arasında) alınmıştır.

III.5.1.2.Efedrin hidroklorür

Efedrin hidroklorürün 0.1 N HCl , 0.1 N H₂SO₄ , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden 2.47×10⁻³M'lık çözeltiler hazırlanmış ve bu çözeltilerin 220-300 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları, 1.derece ve 2.derece türev spektrumları (N=3-9 arasında) alınmıştır.

III.5.1.3.Kodelin fosfat

Kodelin fosfatın 0.1 N HCl , 0.1 N H₂SO₄ , 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden 2.46×10⁻⁴M'lık çözeltiler hazırlanmış, bu çözeltilerin 220-300 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları, 1.derece ve 2.derece türev spektrumları (N=3-9 arasında) alınmıştır.

III.5.2. Standart Eğri Çizimleri

III.5.2.1.Tekli Standart Çözeltiler

III.5.2.1.1.Klorfeniramin maleat

Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl, 0.1 N H₂SO₄, 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden 0.05-4.00 ml alınarak, her bir çözeltinin hacmi uygun çözücü ile 10 ml'ye tamamlanmış ve bu çözeltilerin 2.derece türev spektrumları için 288.2 nm'de okunan absorbans değerleri derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (N=3+S).

III.5.2.1.2. Efedrin hidroklorür

Efedrin hidroklorürün 0.1 N HCl, 0.1 N H₂SO₄, 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden 0.0125-4.5 ml alınarak, her bir çözeltinin hacmi uygun çözücü ile 10 ml'ye tamamlanmış ve bu çözeltilerin 2.derece türev spektrumları için 255.2 nm'de okunan absorbans değerleri derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (N=3+S).

III.5.2.1.3.Kodeln fosfat

Kodeln fosfatın 0.1 N HCl, 0.1 N H₂SO₄, 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponunda hazırlanan stok çözeltilerinden 0.01-4.00 ml alınarak,her bir çözeltinin hacmi uygun çözücü ile 10 ml'ye tamamlanmış ve bu çözeltilerin 2.derece türev spektrumları için 292.6 nm'de okunan absorbans değerleri derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (N=3+S).

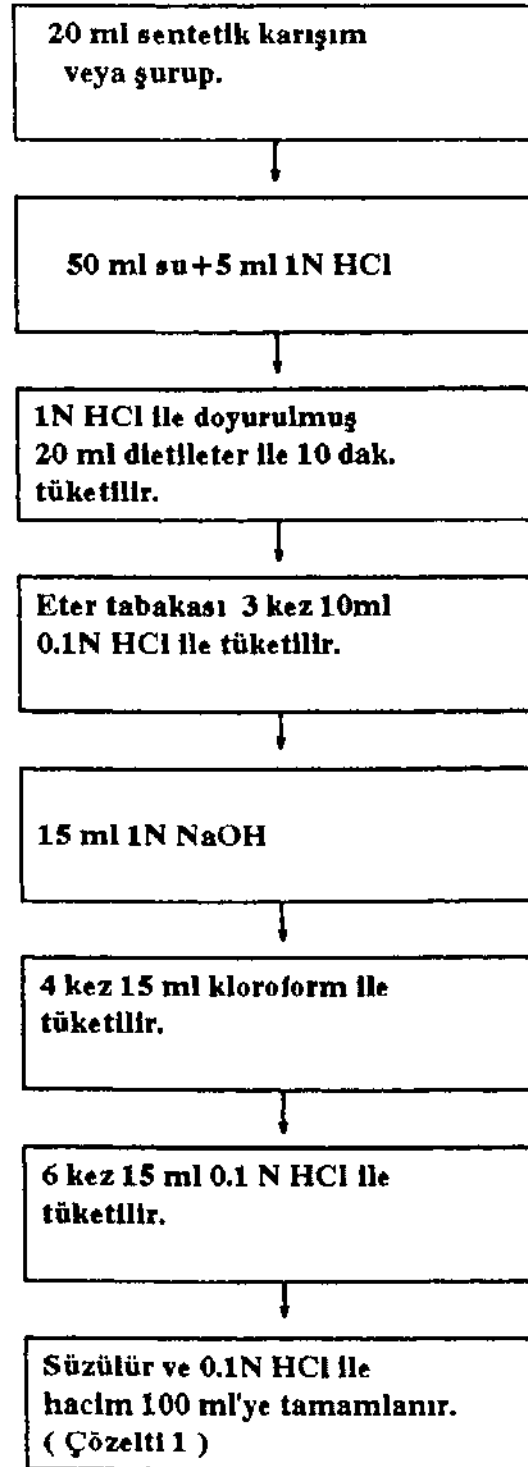
III.5.3. Alet Paremetrelerinin Seçimi

Hücre kalınlığının değışimi , düzeltmenin (smoothing) yapılması , tarama dalga boyu değışiminin etkisi , N($\Delta\lambda$) değışimi ve zaman faktörünün etkisi standart klorfeniramin maleat üzerinde incelenmiştir.

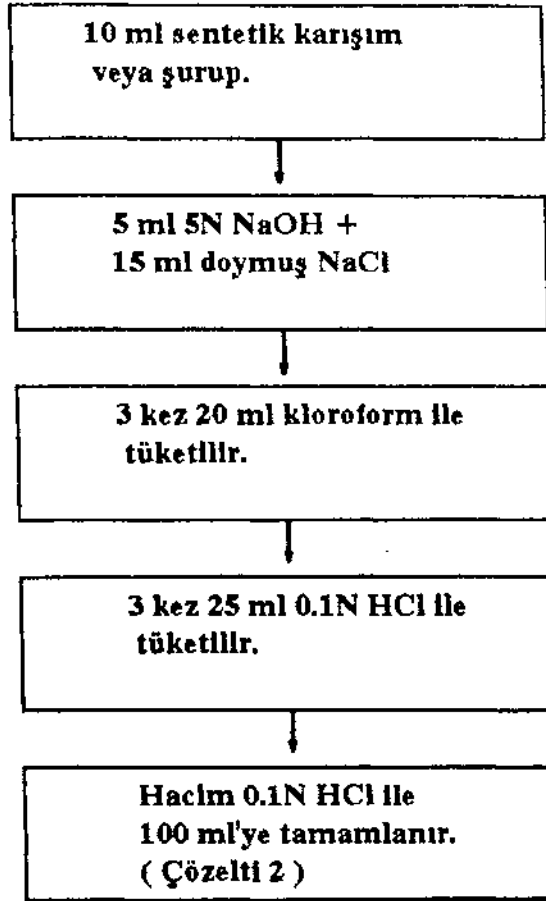
III.5.4. Karışım Analizleri İçin Yöntemin Uygulanışı

III.5.4.1.Sentetik Karışımdan ve Şuruptan Tüketme İşlemleri

1.Klorfeniramin maleat ve Kodein fosfat İçin ;

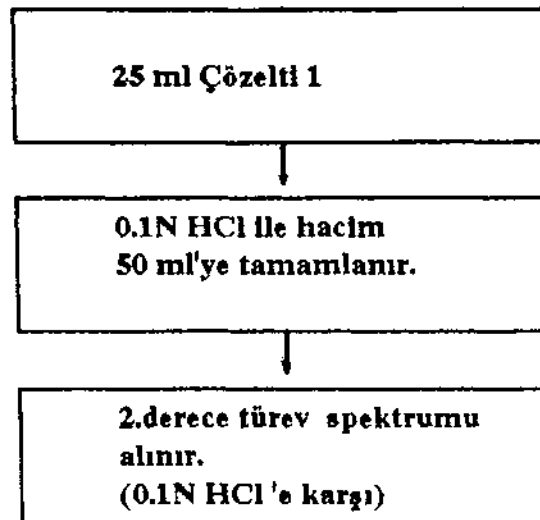


2.Efedrin hidroklorür için ;

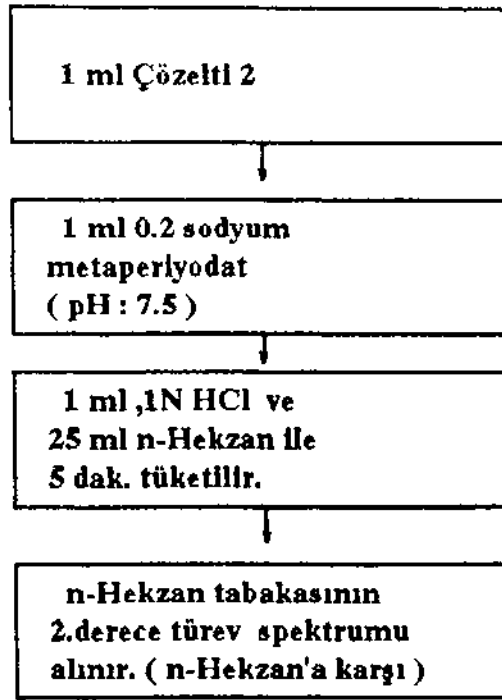


III.5.4.2.Spektrofotometrik Analiz İşlemleri

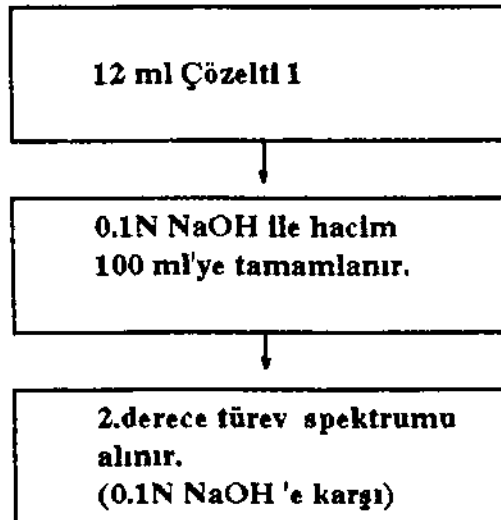
1.Klorfeniramin maleat için ;



2.Efedrin hidroklorür için ;



3. Kodelin fosfat için ;



III.5.4.3. Tekli Standart Çözeltilerin Analizi

III.5.4.3.1. Klorfeniramin maleatın Analizi

Klorfeniramin maleatın asidik stok çözeltisinden 10 ml alınarak III.5.4.2'deki birinci işlem uygulanmış ve bu çözeltinin 240-400 nm dalga boyu aralığında 2.derece türev

spektrumu alınmıştır. Aynı şartlarda hazırlanan kodein fosfat ve efedrin hidroklorür çözeltilerinin de spektrumları alınarak, bu iki maddenin klorfeniramin maleatın nicel analizinin yapıldığı λ 'ya olan etkileri incelenmiştir .

III.5.4.3.2. Efedrin hidroklorürün Analizi

Efedrin hidroklorürün asidik stok çözeltisinden 1.2 ml alınarak III.5.4.2'deki ikinci işlem uygulanmış ve bu çözeltinin 220-400 nm dalga boyu aralığında 2.derece türev spektrumu alınmıştır. Aynı şartlarda hazırlanan klorfeniramin maleat ve kodein fosfat çözeltilerinin de spektrumları alınarak, bu iki maddenin efedrin hidroklorürün nicel analizinin yapıldığı λ 'ya olan etkileri incelenmiştir .

III.5.4.3.3. Kodein fosfatın Analizi

Kodein fosfatın asidik stok çözeltisinden 4 ml alınarak III.5.4.2'deki üçüncü işlem uygulanmış ve bu çözeltinin 240-400 nm dalga boyu aralığında 2.derece türev spektrumu alınmıştır. Aynı şartlarda hazırlanan klorfeniramin maleat ve efedrin hidroklorür çözeltilerinin de spektrumları alınarak, bu iki maddenin kodein fosfatın nicel analizinin yapıldığı λ 'ya olan etkileri incelenmiştir.

III.5.4.4. Sentetik Üçlü Karışımların Analizi

III.5.4.4.1. Klorfeniramin maleatın Analizi

Klorfeniramin maleatın (efedrin hidroklorür 15mg/10ml ve kodein fosfatın 20mg/10ml varlığında) değişik derişimlerdeki asidik çözeltisine III.5.4.1'deki birinci işlem uygulanmıştır. Elde edilen Çözelti 1'e III.5.4.2'deki birinci işlem uygulanarak 2.derece türev spektrumları alınmıştır.

III.5.4.4.2. Efedrin hidroklorürün Analizi

Efedrin hidroklorürün (klorfeniramin maleat 2mg/10ml ve kodein fosfatın 20mg/10ml varlığında) değişik derişimlerdeki asidik çözeltisine III.5.4.1'deki ikinci işlem uygulanmıştır. Elde edilen Çözelti 2'ye III.5.4.2'deki ikinci işlem uygulanarak 2.derece türev spektrumları alınmıştır.

III.5.4.4.3.Kodein fosfatın Analizi

Kodein fosfatın (klorfeniramin maleat 2mg/10ml ve efedrin hidroklorürün 15mg/10ml varlığında) değişik derişimlerdeki asidik çözeltisine III.5.4.1'deki birinci işlem uygulanmıştır. Böylece elde edilen Çözelti 1'e III.5.4.2'deki üçüncü işlem uygulanarak 2.derece türev spektrumları alınmıştır.

III.5.4.5. Yöntemin Müstahzarlara Uygulanışı

III.5.4.5.1.Şuruplardan Klorfeniramin maleatın Tüketilmesi ve Analizi

Şurup numunesine III.5.4.1'deki birinci işlem uygulanmış ve elde edilen Çözelti 1'e III.5.4.2'deki birinci işlem uygulanarak 220-400 nm λ aralığında, 288.2 nm'de (N=3+S) 2.derece türev spektrumu alınmış ve bu λ 'da standart ekleme yöntemi ile şurupların içerdği klorfeniramin maleatın miktar tayini yapılmıştır.

III.5.4.5.2.Şuruplardan Efedrin hidroklorürün Tüketilmesi ve Analizi

Şurup numunesine III.5.4.1'deki ikinci işlem uygulanmış ve elde edilen Çözelti 2'ye III.5.4.2'deki ikinci işlem uygulanarak 220-400 nm λ aralığında, 255.2 nm'de (N=3+S) 2.derece türev spektrumu alınmış ve bu λ 'da standart ekleme yöntemi ile şurupların içerdği efedrin hidroklorürün miktar tayini yapılmıştır.

III.5.4.5.3.Şuruplardan Kodein fosfatın Tüketilmesi ve Analizi

Şurup numunesine III.5.4.1'deki birinci işlem uygulanmış ve elde edilen Çözelti 1'e III.5.4.2'deki üçüncü işlem uygulanarak 220-400 nm λ aralığında, 292.6 nm'de (N=3+S) 2.derece türev spektrumu alınmış ve bu λ 'da standart ekleme yöntemi ile şurupların içerdği kodein fosfatın miktar tayini yapılmıştır.

III.5.5. Farmakope Yöntemlerinin Uygulanışı

III.5.5.1.Klorfeniramin maleatın Analizi

T.F.1974'de belirtilen şekilde analiz yapılmıştır. Bu yöntemde 0.003 g klorfeniramin maleata karşılık gelen ml şurup (Antibeksin-1 ml ; Dephedin - 15 ml ; Codis - 15 ml ; Corex-30 ml) ayırma hunisine alınarak 20 ml 0.1 N H_2SO_4 eklenmiş ve 5 dak. tüketilmiştir. Daha sonra 20 ml eter R eklenerek tüketilmiş ve asit tabakası başka bir ayırma hunisine süzülmüş, eter tabakası 10'ar ml 0.1 N H_2SO_4 ile iki defa tüketilmiş ve her defasında asit tabakası ikinci ayırma hunisine süzülmiştir. Birleştirilen asitli fazlar 1 N NaOH turnusol kağıdı R'ye karşı bazlık yapılmış ve fazladan 2 ml eklenmiştir. Bu çözelti 50'şer ml eter R ile iki defa tüketilmiş, her bir eterli faz aynı 20 ml su ile yıkanmış ve eterli çözelti 20, 20 ve 5 ml 0.5 N H_2SO_4 ile tüketilmiş, birleştirilen asitli çözeltiler 0.5 N H_2SO_4 ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 10 ml'si 0.5 N H_2SO_4 ile 25 ml'ye tamamlanmış ve elde edilen çözeltinin absorpsiyonu 1 cm'lik küvette , 265 nm'de ölçülmüştür. Klorfeniramin maleat'ın 265 nm'de E (% 1.1 cm) 212 olan değerinden şurupların içerdği klorfeniramin maleatın miktarı hesaplanmıştır.

III.5.5.2.Efedrin hidroklorürün Analizi

T.F.1974'de belirtilen şekilde analiz yapılmıştır. Bu yöntemde 0.25 g efedrin hidroklorür'e karşılık gelen ml şurup (Antibeksin-250 ml ; Dephedin-166.6 ml ; Codis-104.16 ml ; Corex-200 ml) ayırma hunisinde bulunan 10 ml su ve 0.5 ml seyreltik HCl R karışımında çözülmüş, NaCl R ile doyurulmuştur. Daha sonra 5 ml NaOH TS ilave edilerek arka arkaya 25 ml ve beş defa 10'ar ml eter R ile tüketilmiştir. Birleştirilen eterli kısım NaCl R ile doymuş 5 ml su ile iki defa yıkanarak, yıkama suları 10 ml eter R ile tüketilmiş ve eterli kısım ile birleştirilmiştir. Bu çözeltiye 20 ml 0.1 N H_2SO_4 eklenmiş ve eter tamamen uçuncaya kadar ısıtılmış ve daha sonra soğutularak asidin fazlası 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir (indikatör ; metil kırmızısı TS). 1 ml 0.1 N H_2SO_4 0.02017 g olduğundan şurupların içerdği efedrin hidroklorürün miktarı hesaplanmıştır.

III.5.5.3.Kodein fosfatın Analizi

T.F.1974'de belirtilen şekilde analiz edilmiştir. Bu yöntemde 0.15 g kodein fosfata karşılık gelen ml şurup (Dephedin-100 ml ; Codis-75 ml ; Corex-60 ml) 100 ml'lik balonjojeye alınarak 20 ml 0.5 N H_2SO_4 ilave edilmiş ve ara sıra çalkalanarak iki saat bekletilmiştir. Daha sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış (100 ml'nin altındaki çözeltilerde) ve karıştırılarak cam süzgeçten süzölmüştür. Elde edilen çözeltinin yaklaşık 0.075 g kodein fosfata karşılık gelen kısmı bir ayırma hunisine alınmış ve amonyak TS ile bazık yapılarak, alkaloid birkaç defa 15'er ml kloroform R ile tüketilmiştir. Birleştirilen kloroformlu kısımlar su banyosunda kuruluğa kadar uçurulmuş, 25 ml 0.02 N H_2SO_4 eklenmiş ve hafifçe ısıtılarak kodeinin erimesi sağlanmıştır. Daha sonra soğutularak asidin fazlası 0.02 N NaOH titre edilmiştir (indikatör;metil kırmızısı TS). 1 ml 0.02 N H_2SO_4 0.008128 g olduğundan şurupların içerdği kodein fosfatın miktarı hesaplanmıştır.

IV . BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda, çalışmamızda kullanılan etken maddelerin saflık kontrol analizleri için erime noktaları aşağıdaki gibi bulunmuştur. Maddeler için elde edilen IR spektrumları Şekil 10' da verilmiştir.

Klorfeniramin maleat : 136.8 °C

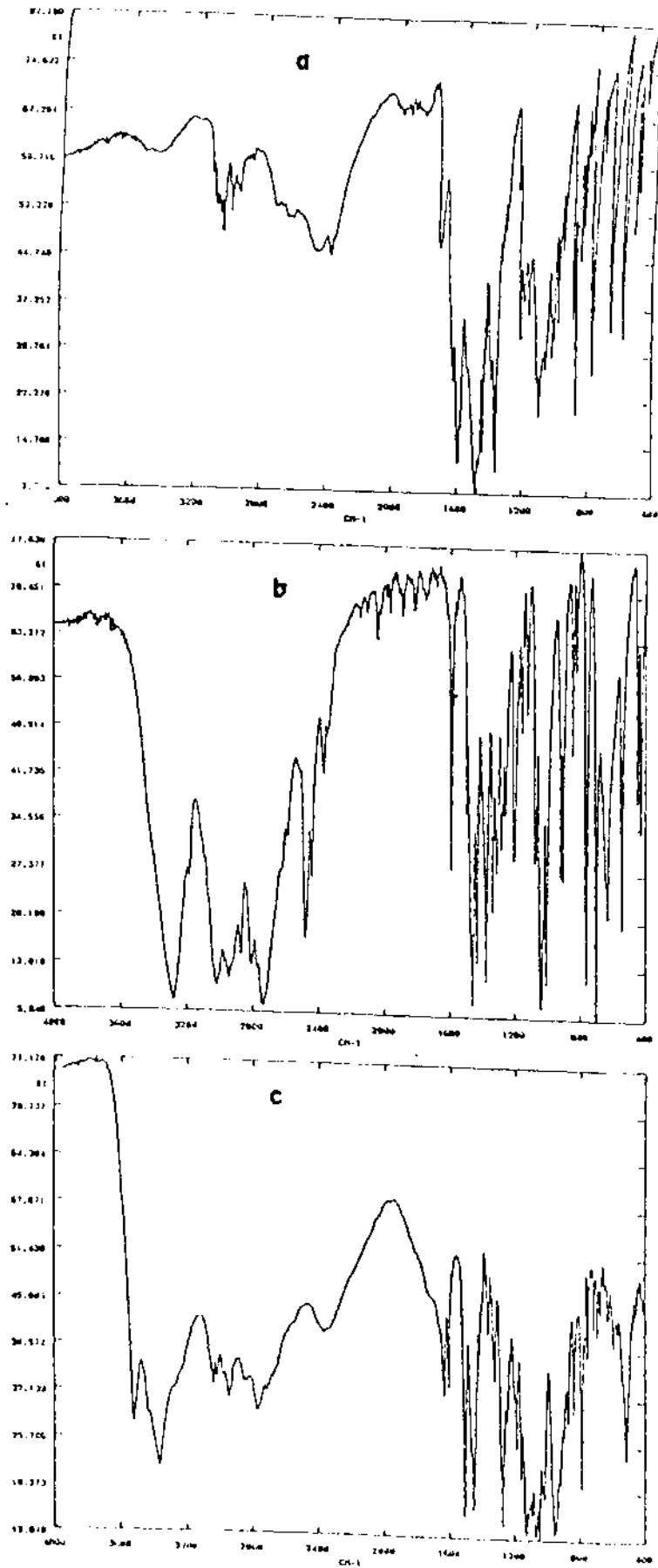
Efedrin hidroklorür : 187.3 °C

Kodein fosfat : 155.8 °C

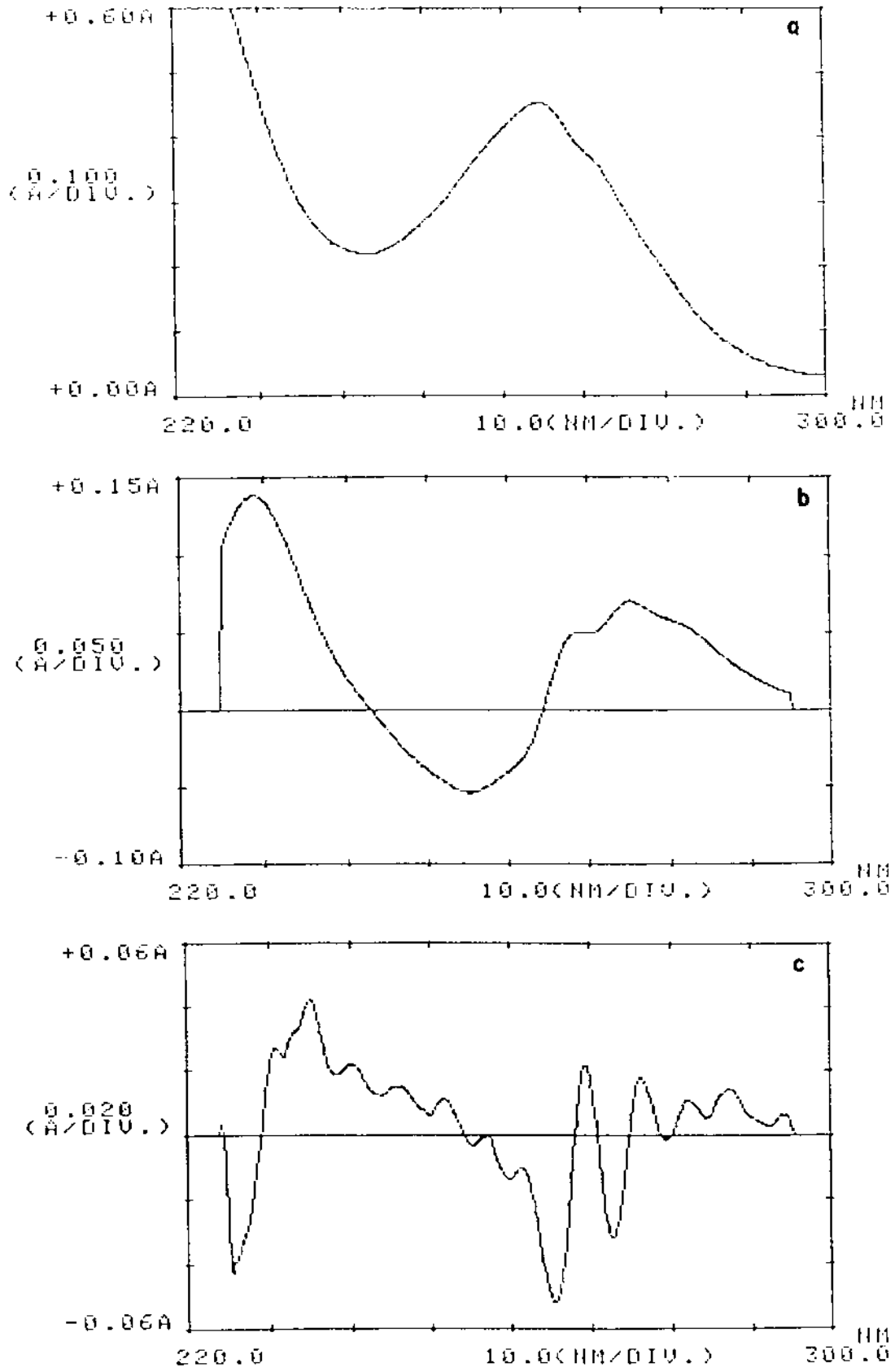
Etken maddelerin uygun ortam ve türev derecesinin seçilmesi ile ilgili bulgular ; klorfeniramin maleat için 0.1 N HCl, 0.1 N NaOH, 0.1 N H₂SO₄ ve pH:7 fosfat tamponu çözeltilerinden elde edilen UV spektrumları, 1. ve 2.derece türev spektrumları Şekil 11 - 14' de verilmiştir. Efedrin hidroklorür için aynı ortam ve çalışılan şartlarda elde edilen spektrumlar Şekil 15 - 18 ' de görülmektedir. Kodein fosfat için de dört değişik çözeltilinin aynı şartlardaki spektrumları Şekil 19 - 22 ' de gösterilmiştir.

Klorfeniramin maleat için 0.1 N HCl' li ortamda 2.derece türev spektrofotometrisi ile çalışmada 288.2 nm seçilmiş ve bu λ'da Şekil 23' de verilen standart eğri çizilmiştir. Efedrin hidroklorür için 0.1 N HCl' li ortamda 2.derece türev spektrofotometrisi ile 255.2 nm çalışma λ olarak seçilmiş ve bu λ'da çizilen standart eğrileri Şekil 24' de verilmiştir. Kodein fosfat için 0.1 N HCl' li ortamda 2.derece türev spektrumu alınarak 292.6 nm 'de çizilen standart eğriler Şekil 25' de yer almaktadır. Alet parametrelerine ait değişkenler 1.28×10^{-4} M' lik (0.05 mg/ml) asidik klorfeniramin maleat çözeltilisi üzerinde incelenmiştir, hücre kalınlığının değişimi Şekil 26' da, düzeltmenin etkisi Şekil 27' de, tarama dalga boyunun etkisi Şekil 28' de, N (Δλ) değişimi Şekil 29' da ve zaman faktörünün etkisi Şekil 30' da verilen spektrumlarda gözlenmiştir.

Türev spektrofotometrik yönteminin uygulanması sonucunda klorfeniramin maleatın nıcel analizinin yapıldığı λ'da efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın etkileri Şekil 31' de, aynı şekilde efedrin hidroklorüre olan etkiler Şekil 32' de ve kodein fosfatın nıcel analizine diğer iki maddenin etkisi Şekil 33' de verilmiştir.

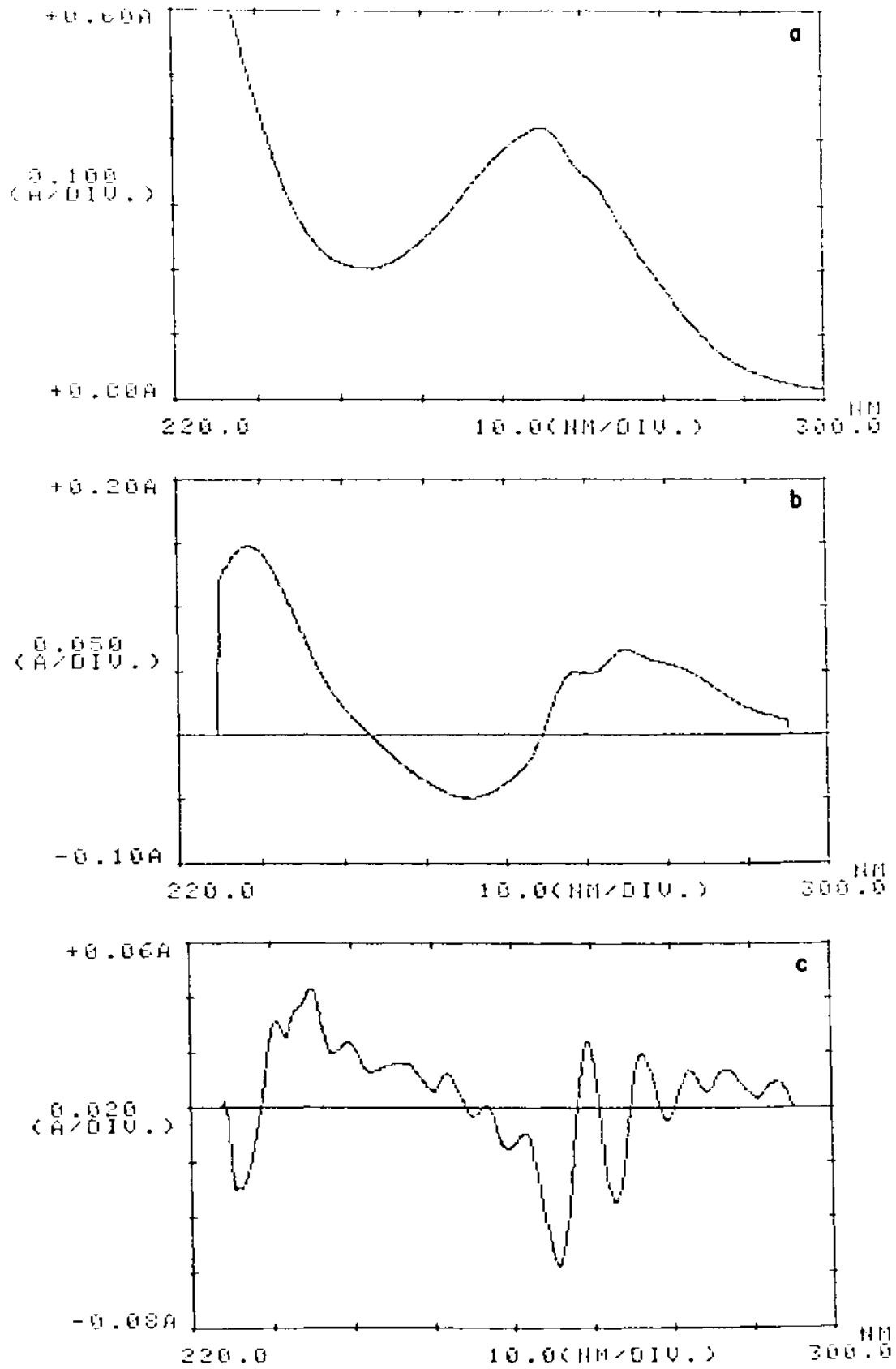


Şekil 10 : Kullanılan etken maddelerin saflık kontrol analizleri için alınan IR spektrumları ; a) Klorfeniramin maleat, b) Efedrin hidroklorür, c) Kodeln fosfat



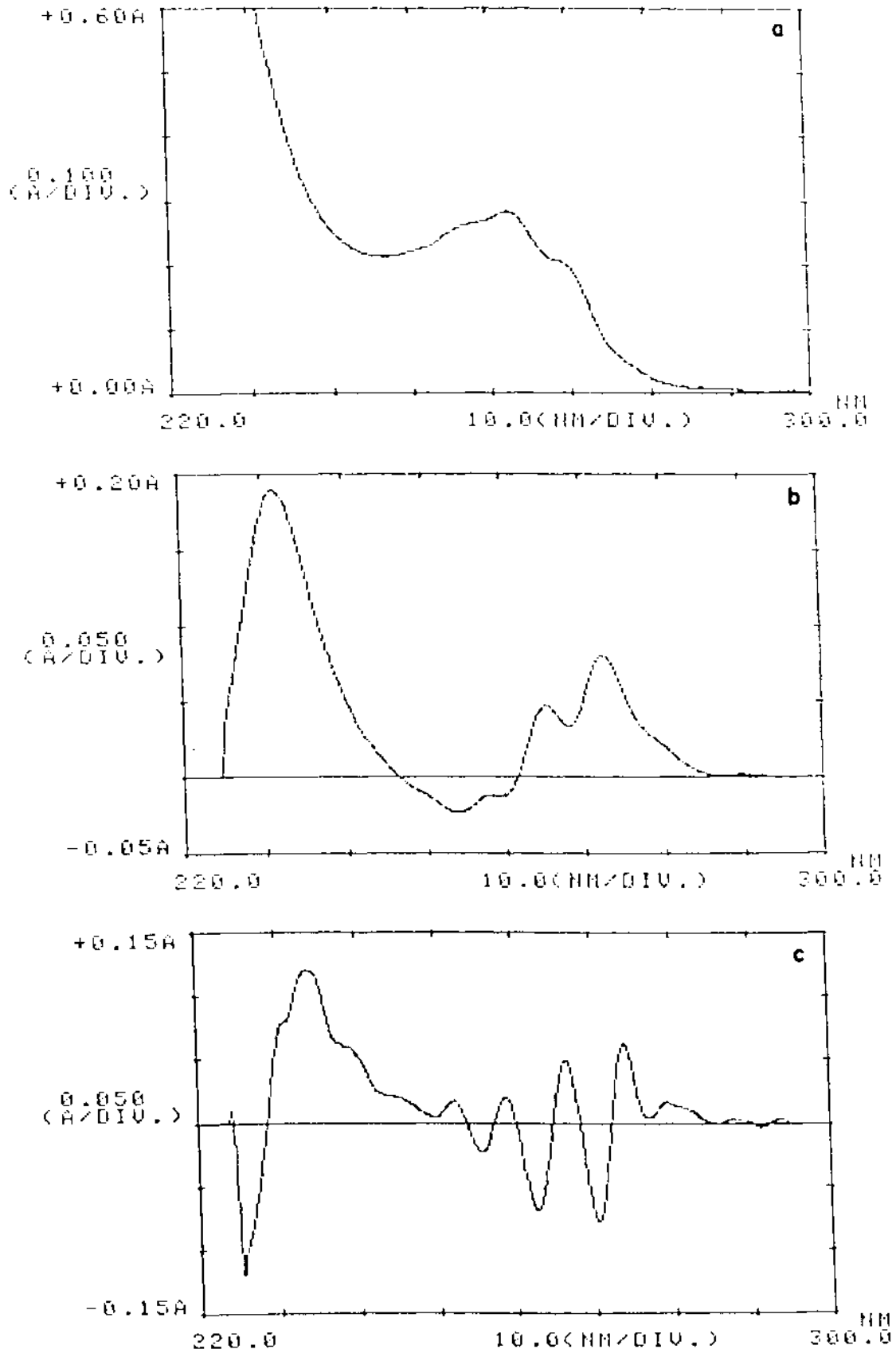
Şekil 11 :Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin:

- a) UV absorpsiyon spektrumu , b) 1.derece türev spektrumu,**
- c) 2.derece türev spektrumu**



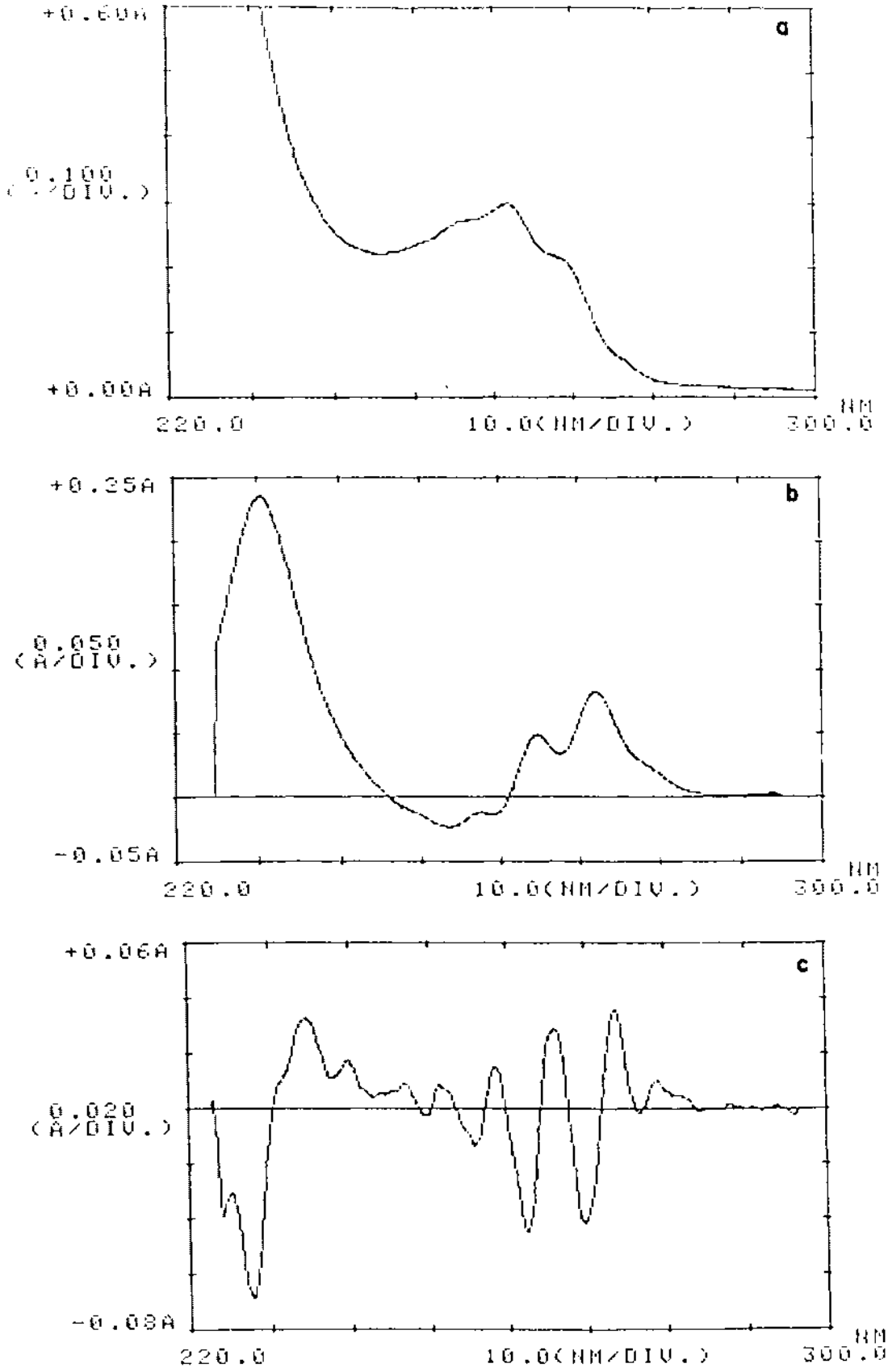
Şekil 12 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N H_2SO_4 'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin :

- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu

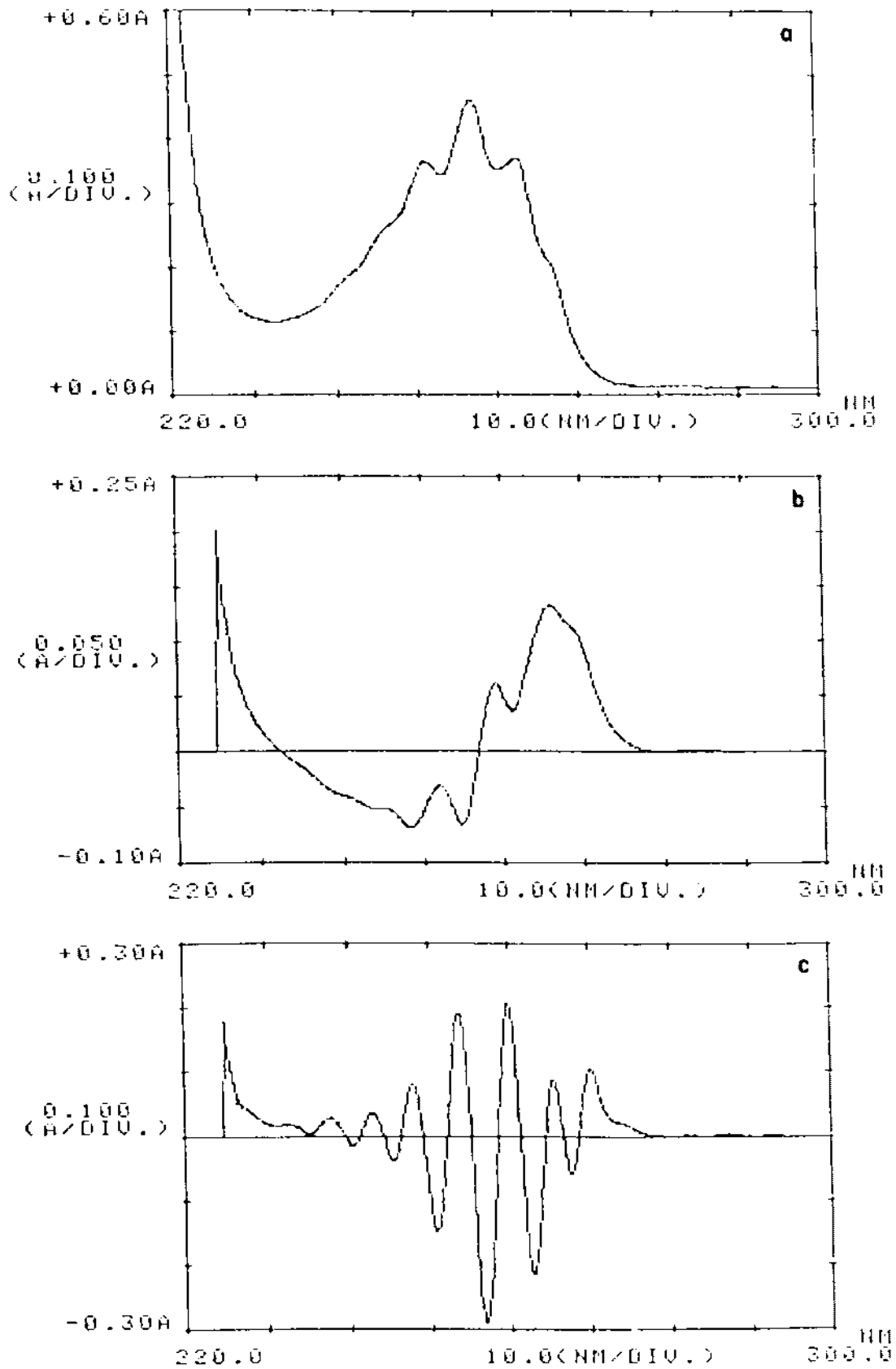


Şekil 13: Klorfeniramin maleatın 0.1 N NaOH'deki 5.11×10^{-5} M'lık çözeltisinin :

- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu

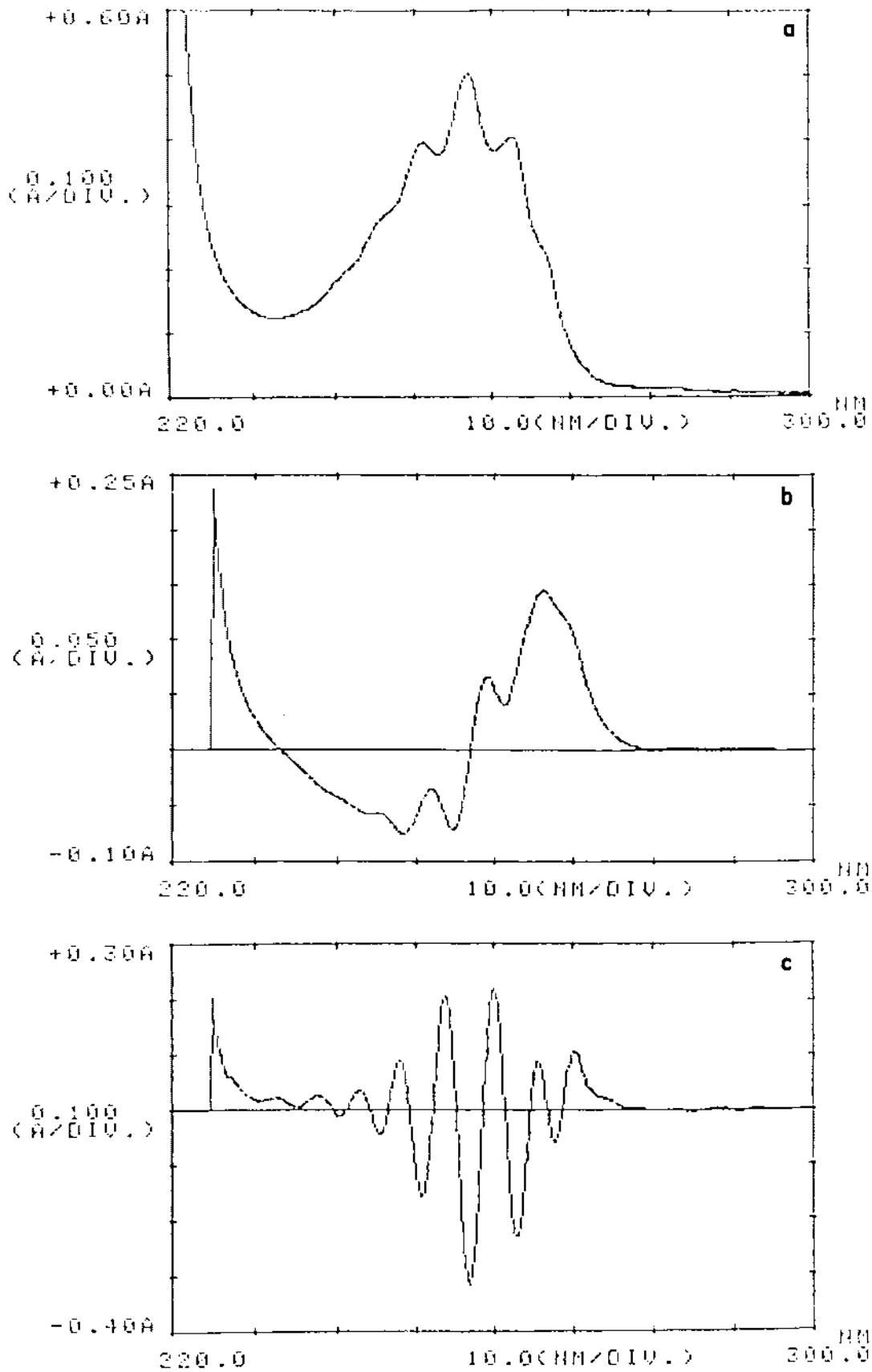


Şekil 14:Klorfeniramin maleatin pH:7 fosfat tamponundaki $5.11 \times 10^{-5}M$ 'lık çözeltisinin; a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu



Şekil 15: Efedrin hidroklorürün 0.1 N HCl'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin :

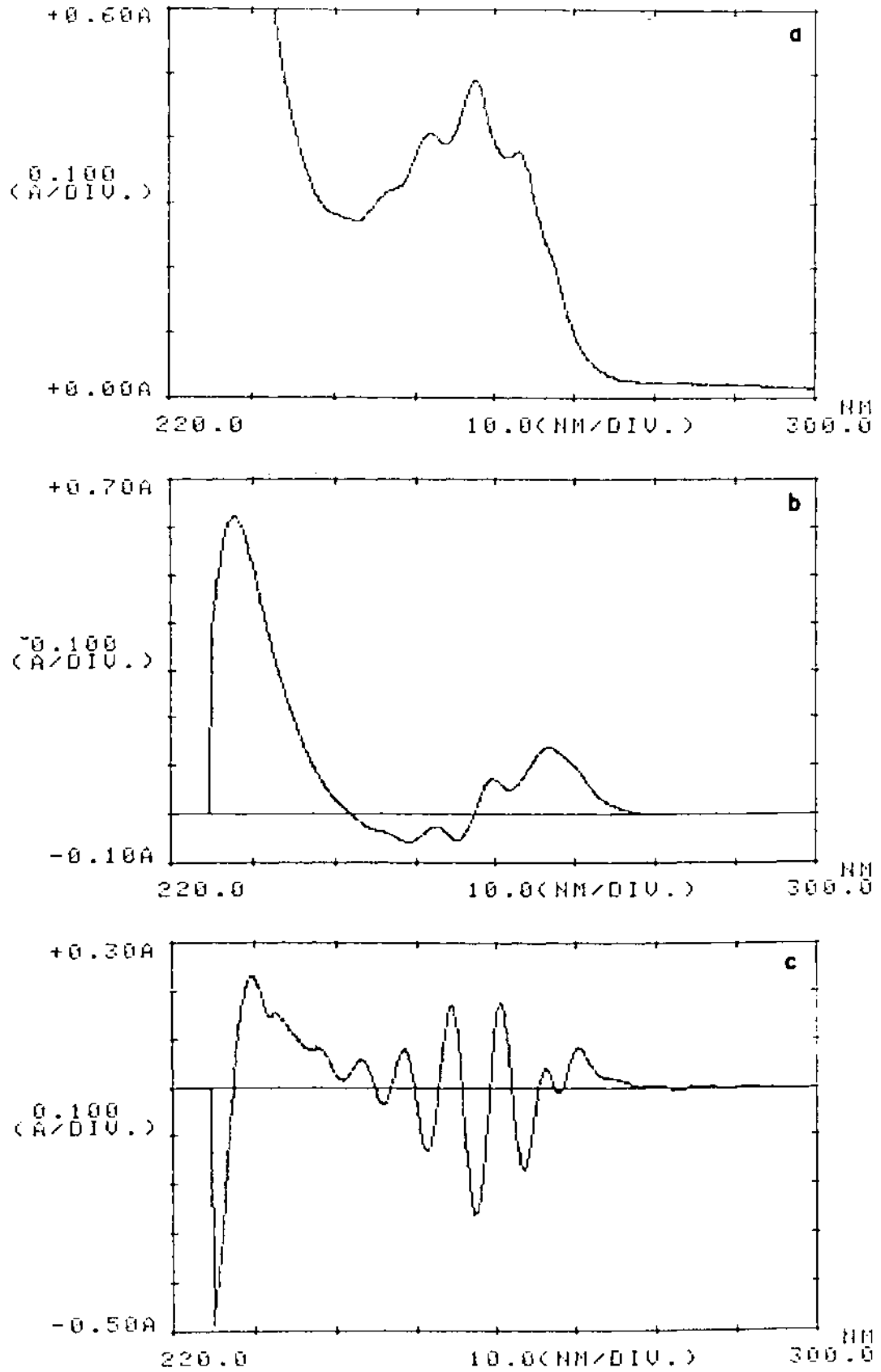
- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu



Şekil 16: Efedrin hidroklorürün 0.1 N H_2SO_4 'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin;

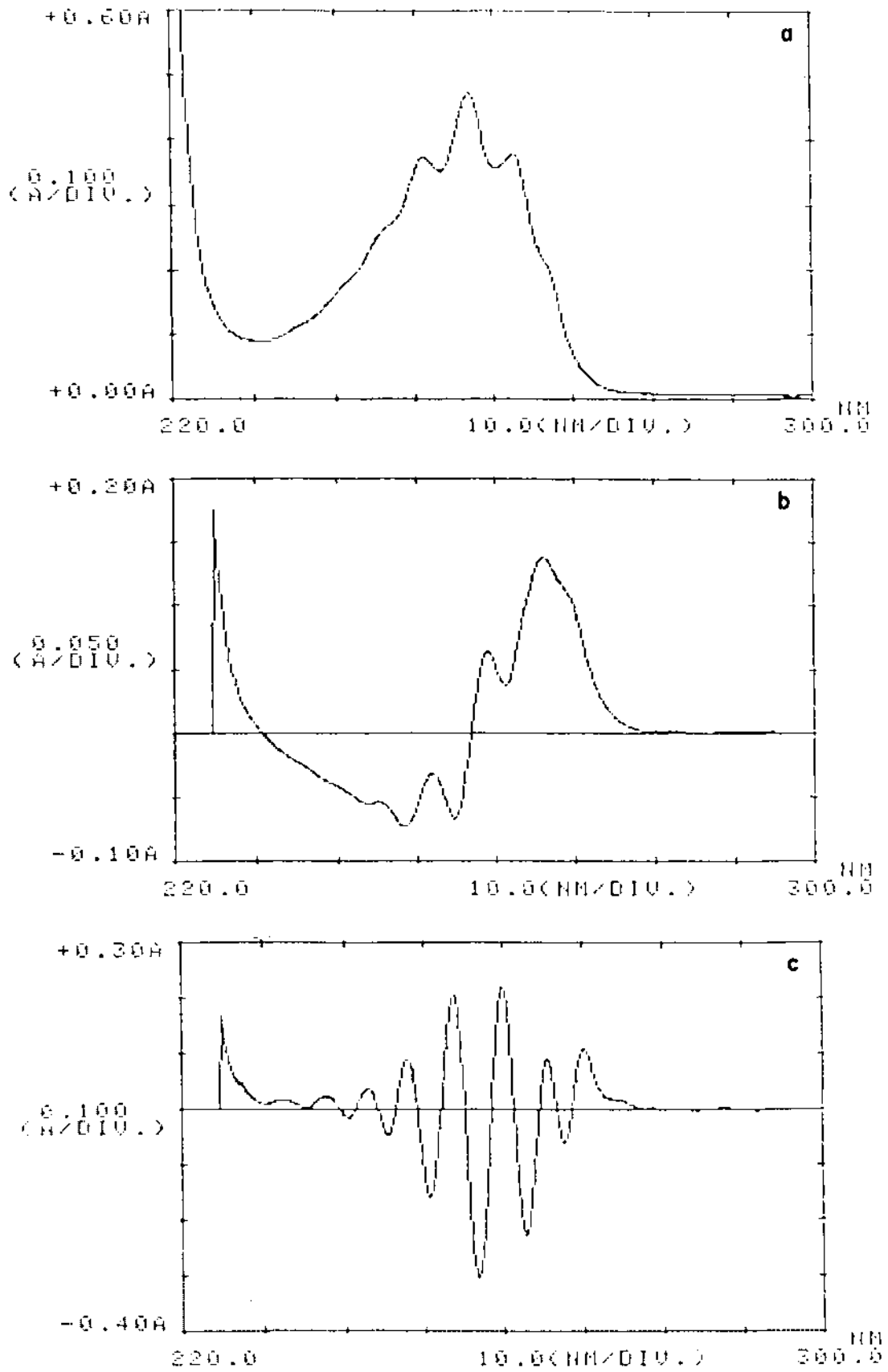
a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,

c) 2.derece türev spektrumu

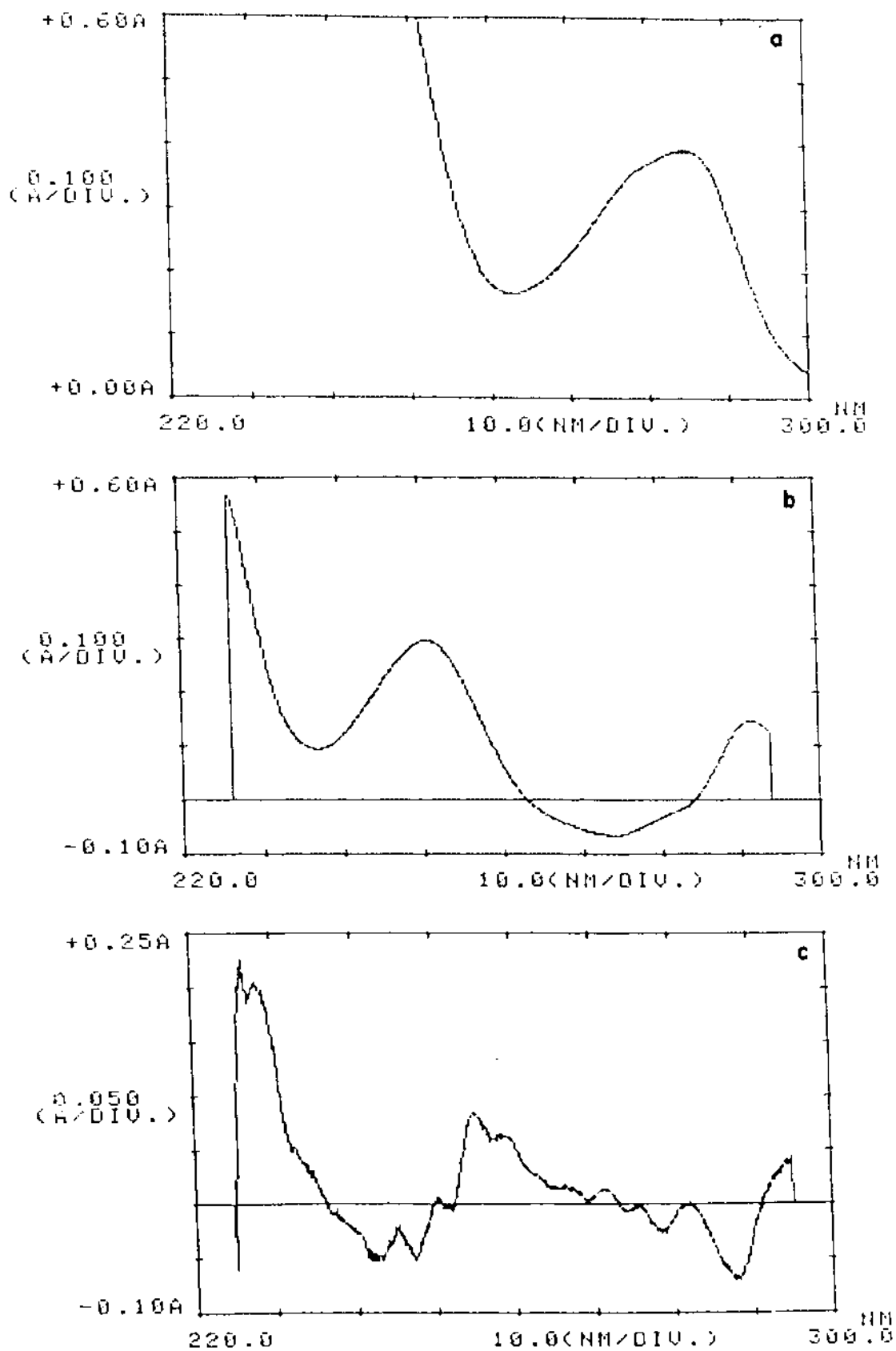


Şekil 17 :Efedrin hidroklorürün 0.1 N NaOH'deki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin :

- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu

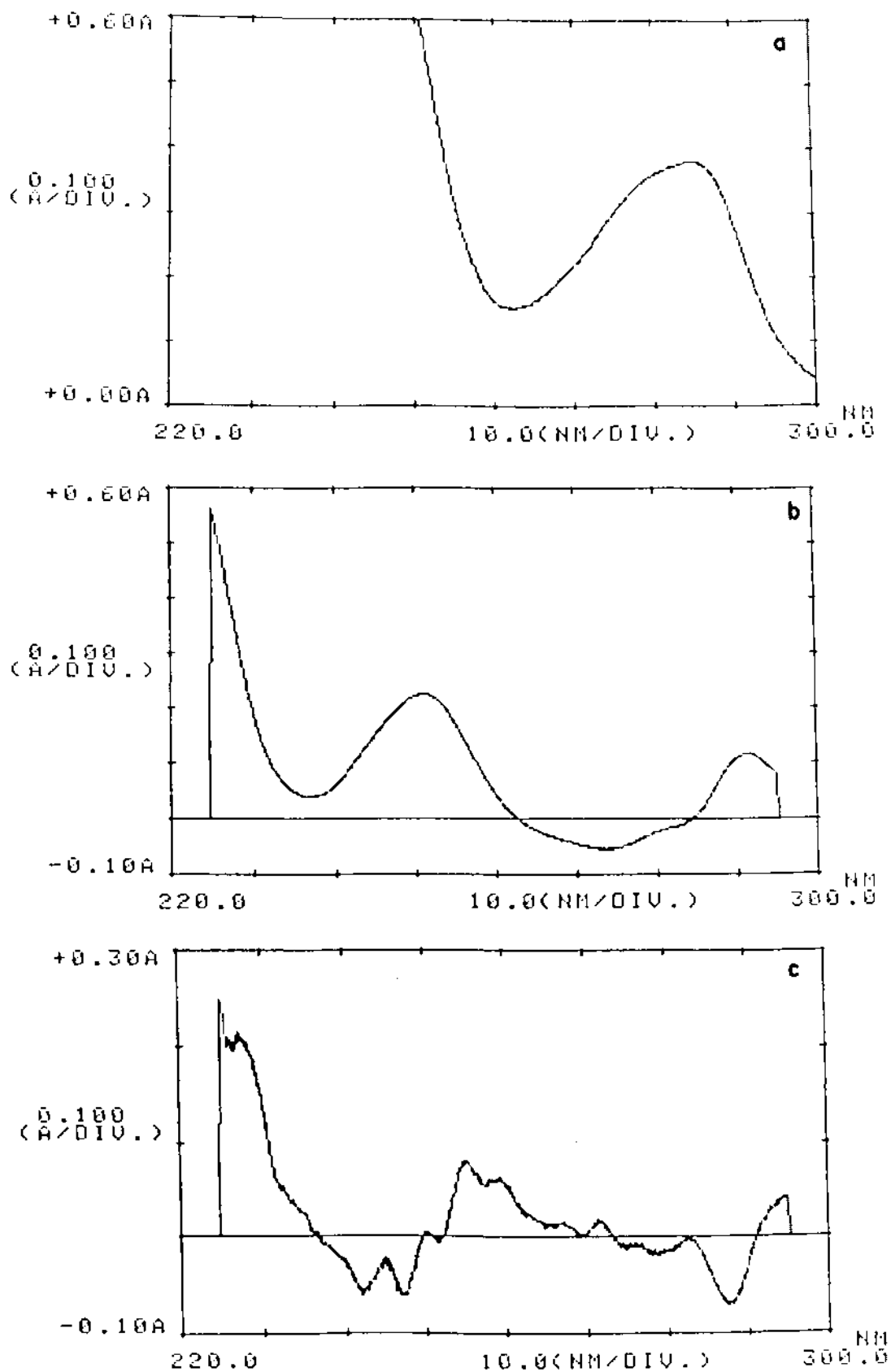


Şekil 18 : Efedrin hidroklorürün pH:7 fosfat tamponundaki 2.47×10^{-3} M'lık çözeltisinin; a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu



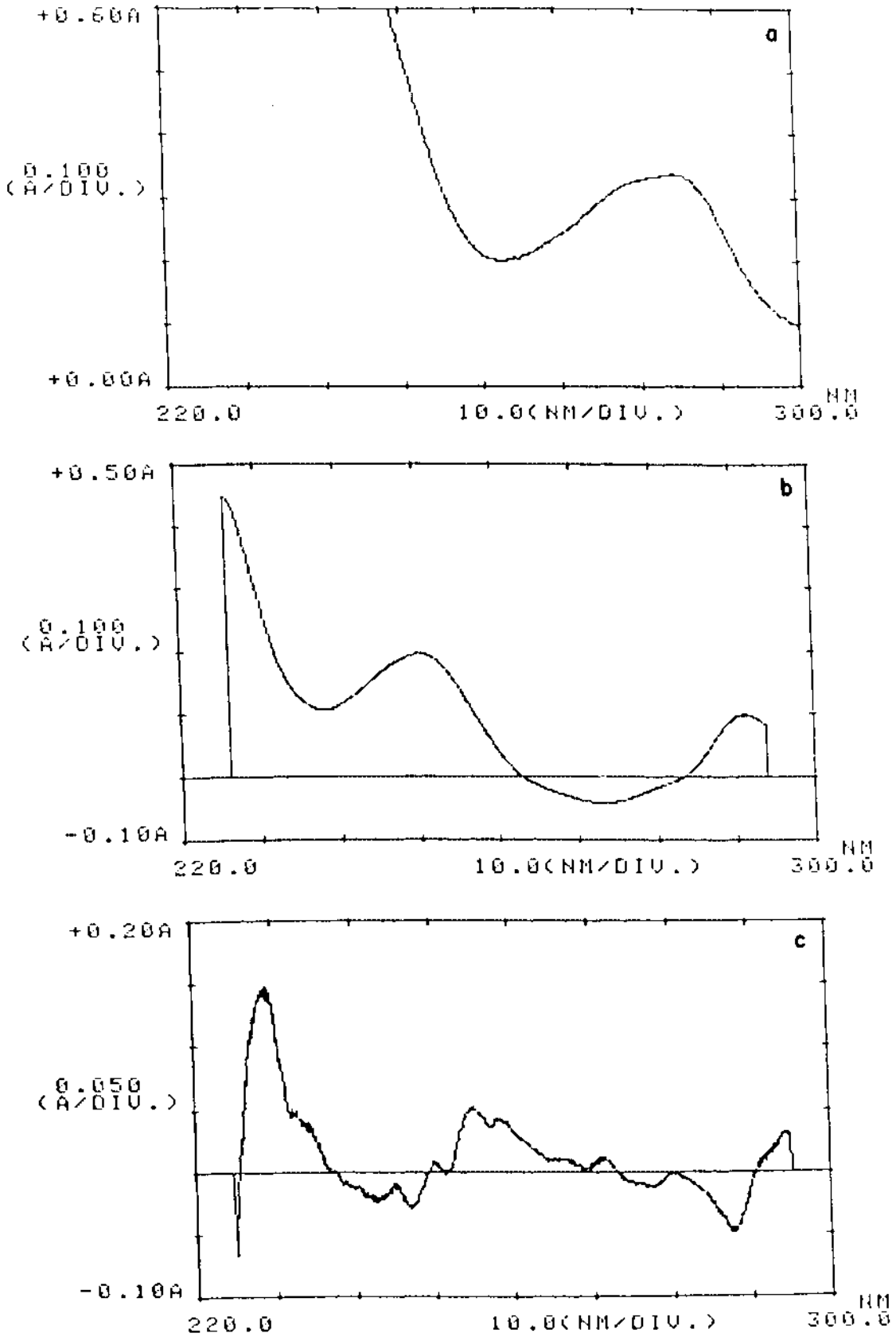
Şekil 19: Kodeln fosfatın 0.1 N HCl 'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin :

- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu



Şekil 20 : Kodexin fosfatın 0.1 N H₂SO₄'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin :

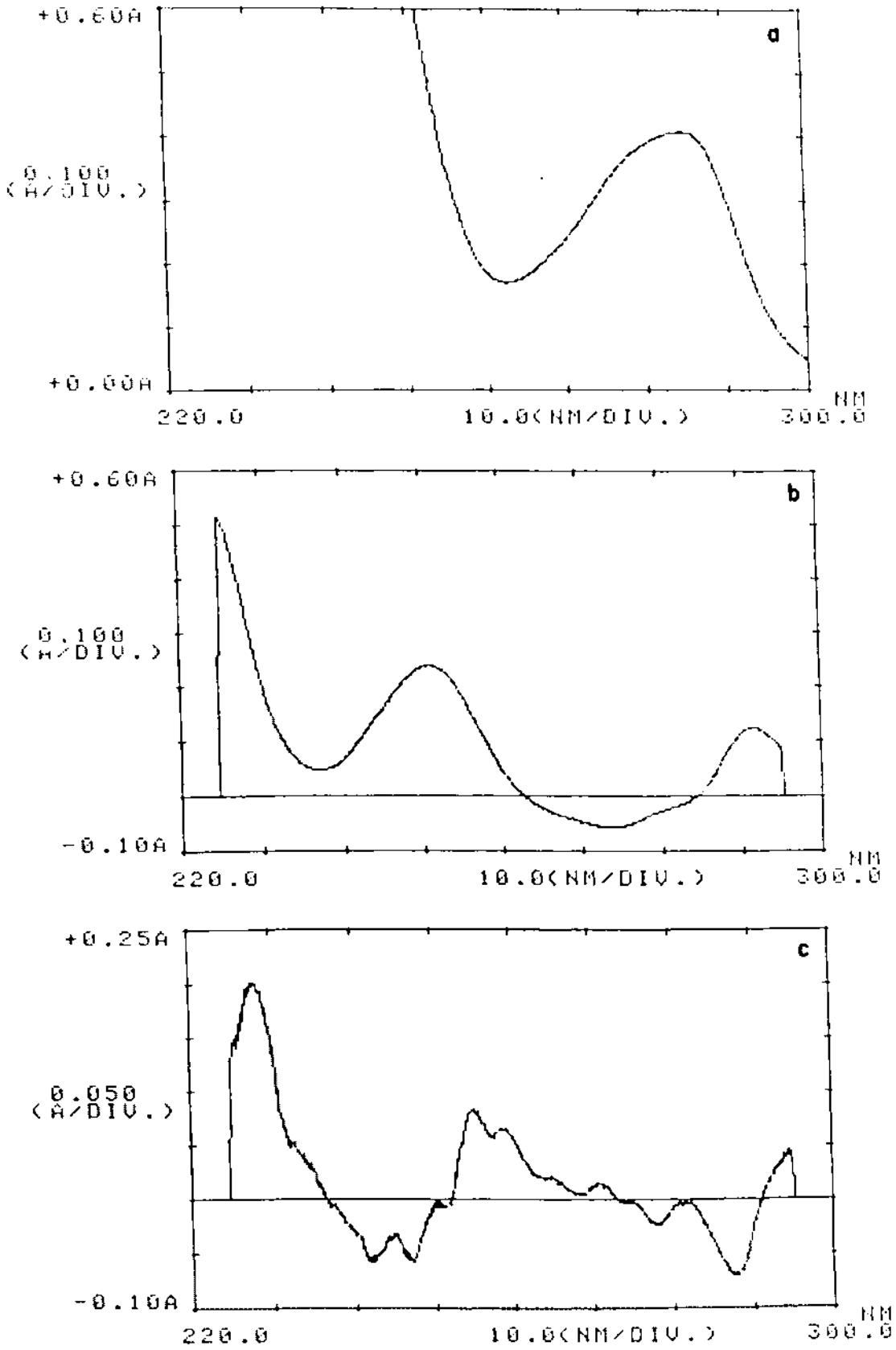
- a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,
- c) 2.derece türev spektrumu



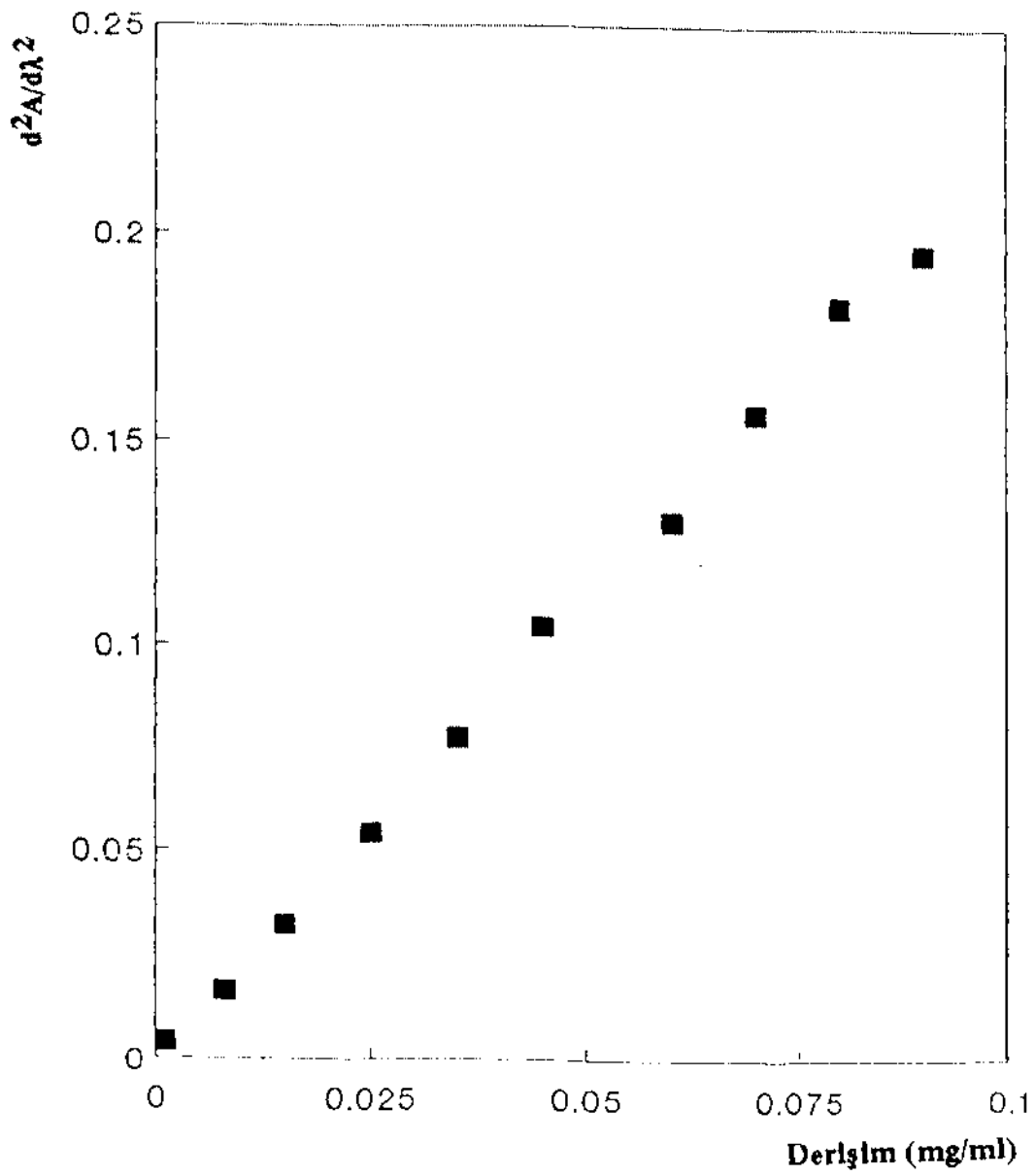
Şekil 21 : Kodeln fosfatın 0.1 N NaOH'deki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin;

a) UV absorpsiyon spektrumu, b) 1.derece türev spektrumu,

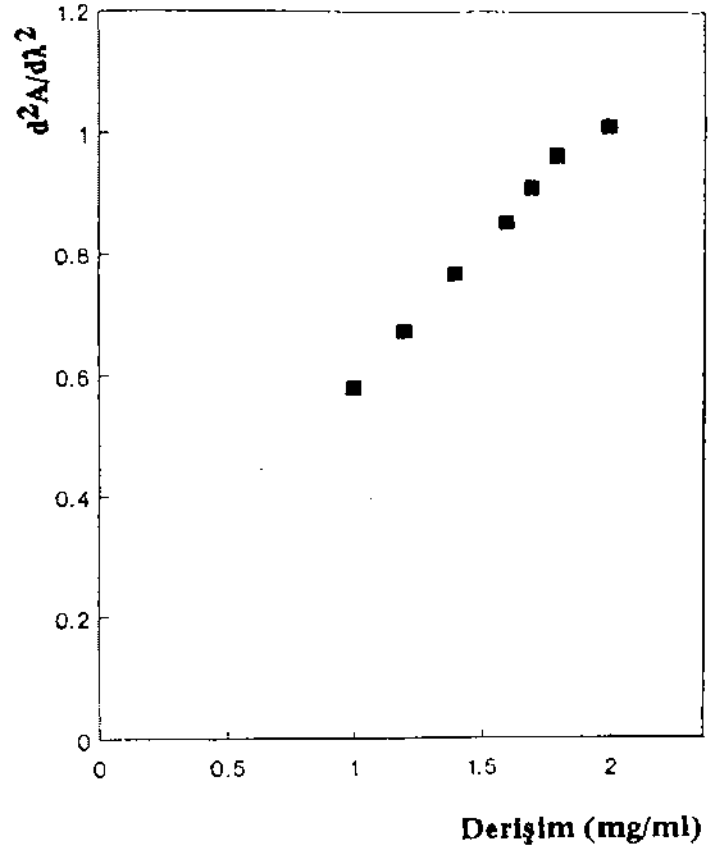
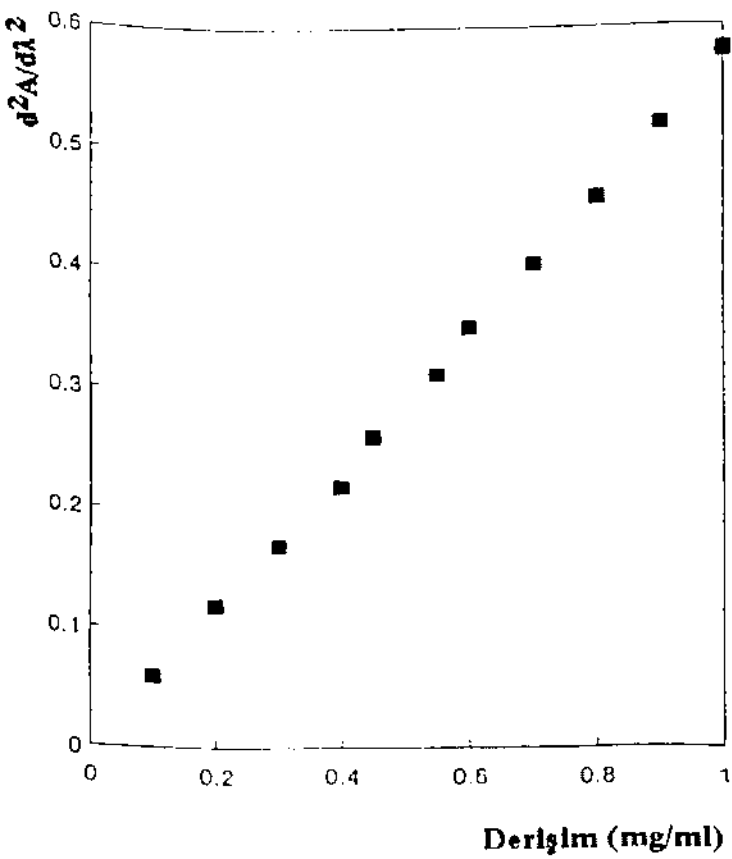
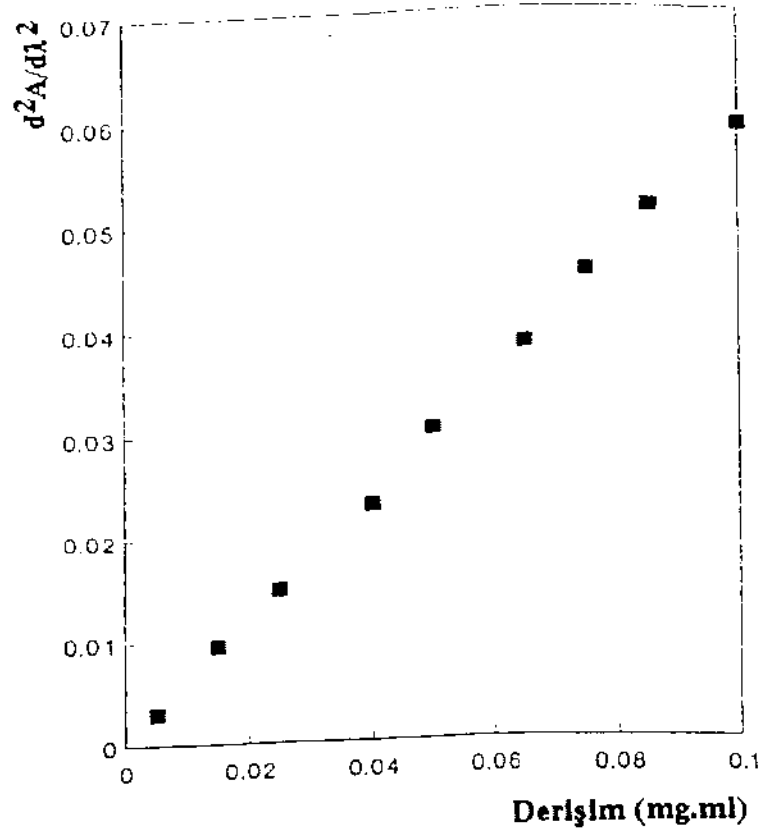
c) 2.derece türev spektrumu



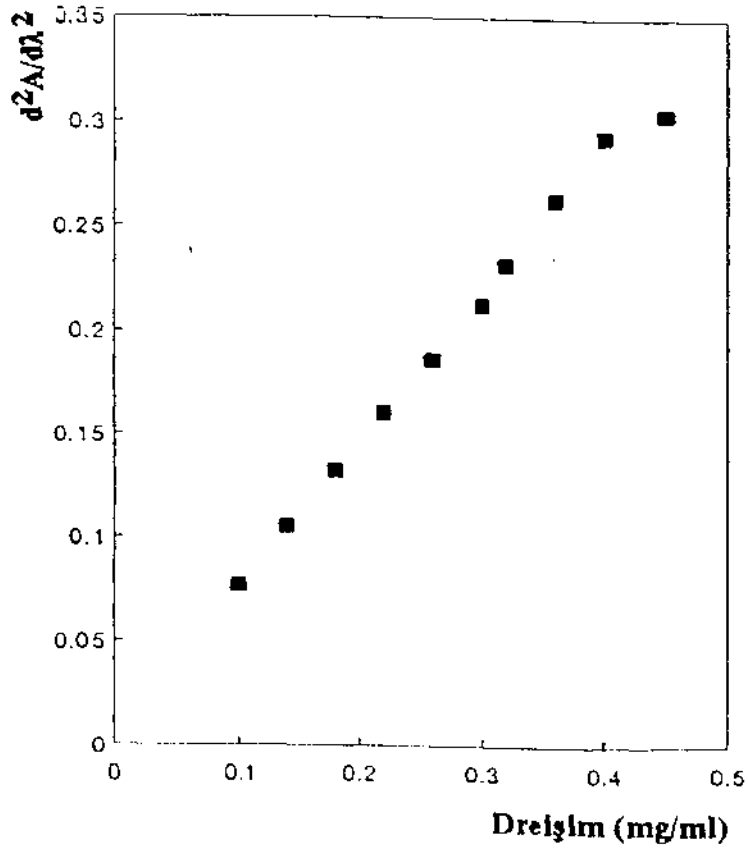
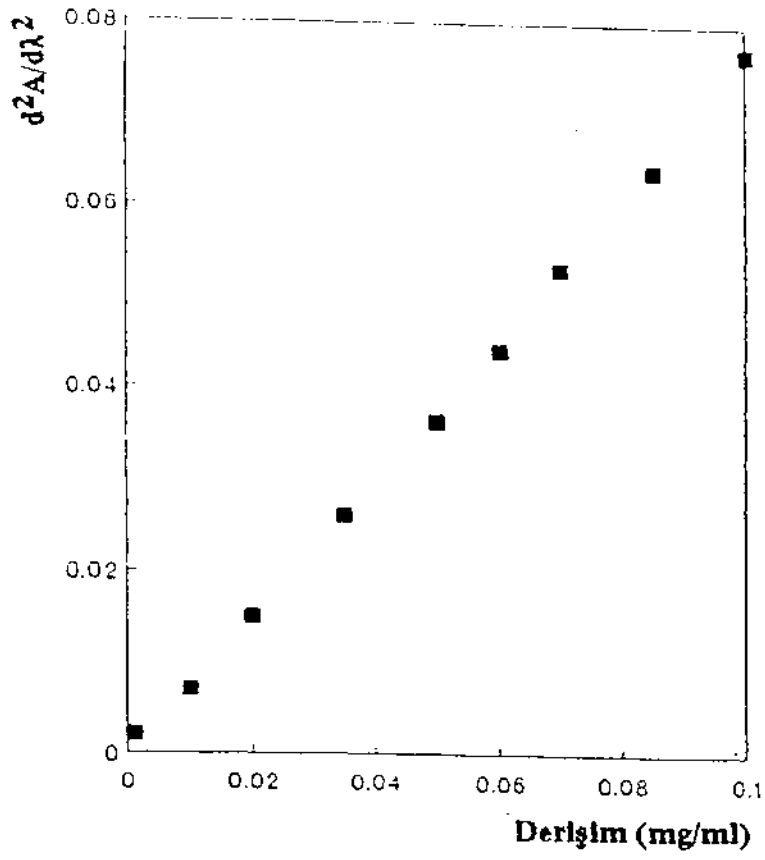
Şekil 22: Kodein fosfatın pH:7 fosfat tamponundaki 2.46×10^{-4} M'lık çözeltisinin : a) UV absorpsiyon spektrumu, b)1.derece türev spektrumu, c) 2.derece türev spektrumu



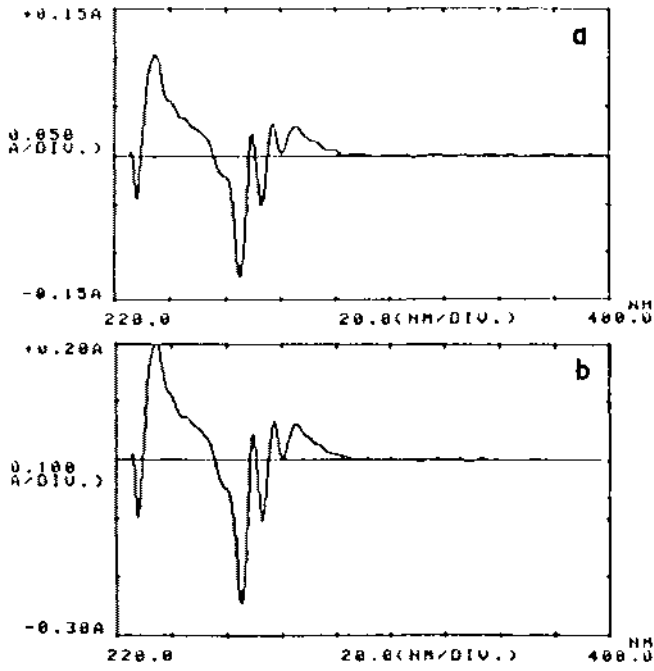
Şekil 23 : Klorfeniramin maleatın 288.2 nm'de çizilen standart eğrisi



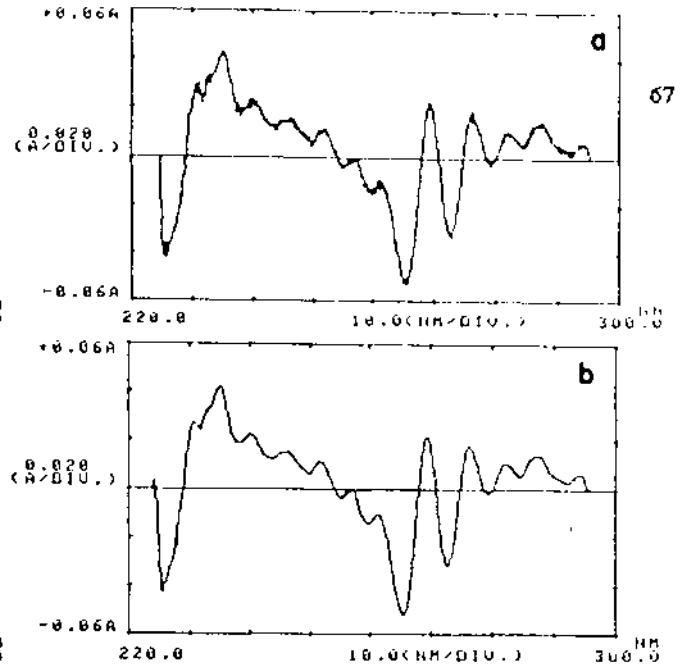
Şekil 24 : Efedrin hidroklorürün 255.2 nm'de çizilen standart eğrileri



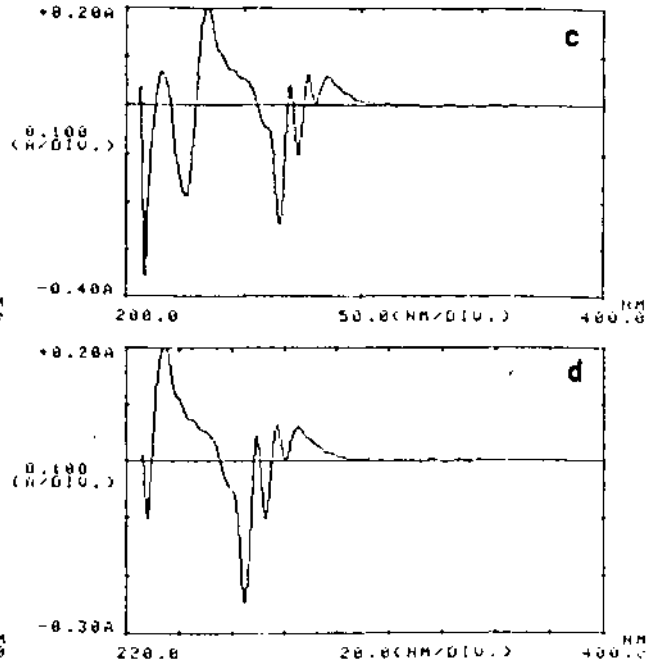
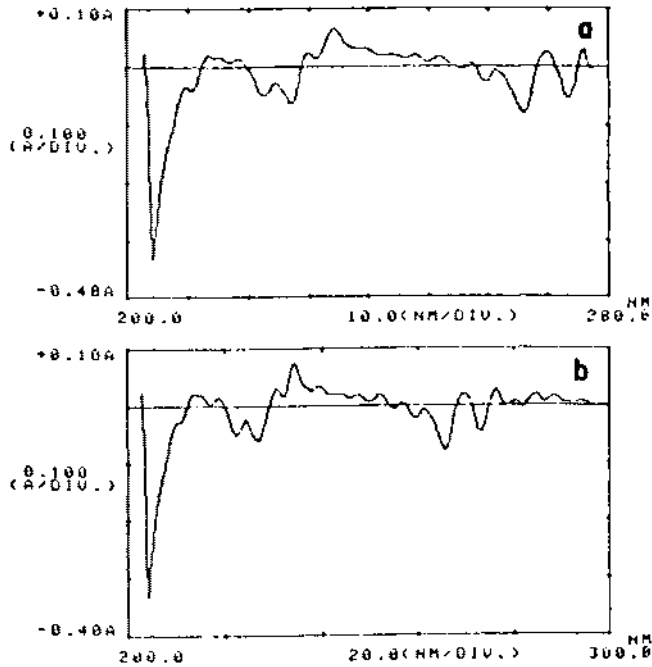
Şekil 25 : Kodeln fosfatın 292.6 nm'de çizilen standart eğrileri



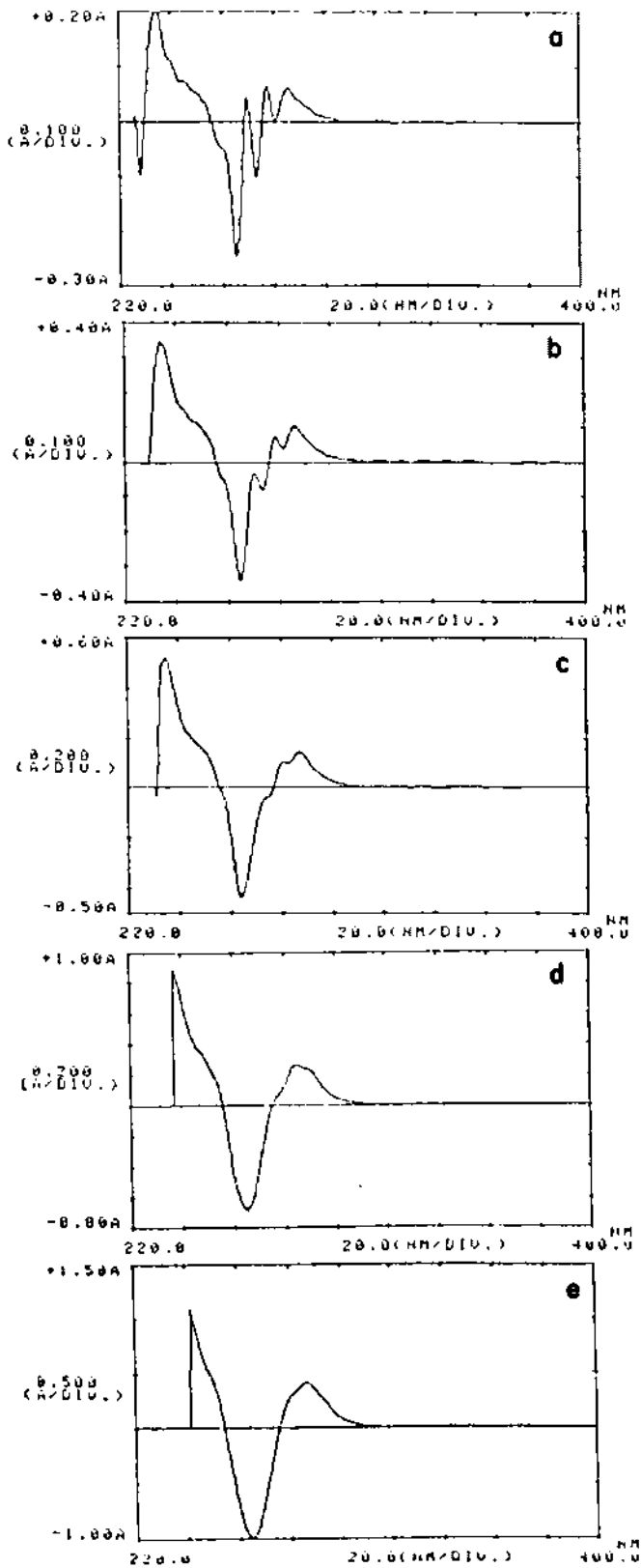
Şekil 26 : Klorfeniramin maleatın
0.1 N HCl' deki çözeltisine
hücre kalınlığı değişiminin
etkisi: a) 0.1cm b) 1cm



Şekil 27 : Klorfeniramin maleatın
0.1 N HCl' deki çözeltisine
düzeltilmenin (smoothing)
etkisi: a) N=3 b) N=3+S



Şekil 28 : Klorfeniramin maleatın 0.1 N HCl' deki çözeltisine tarama dalga boyu
değişiminin etkisi: a) 200-280 nm b) 200-300 nm c) 200-400 nm
d) 220-400 nm



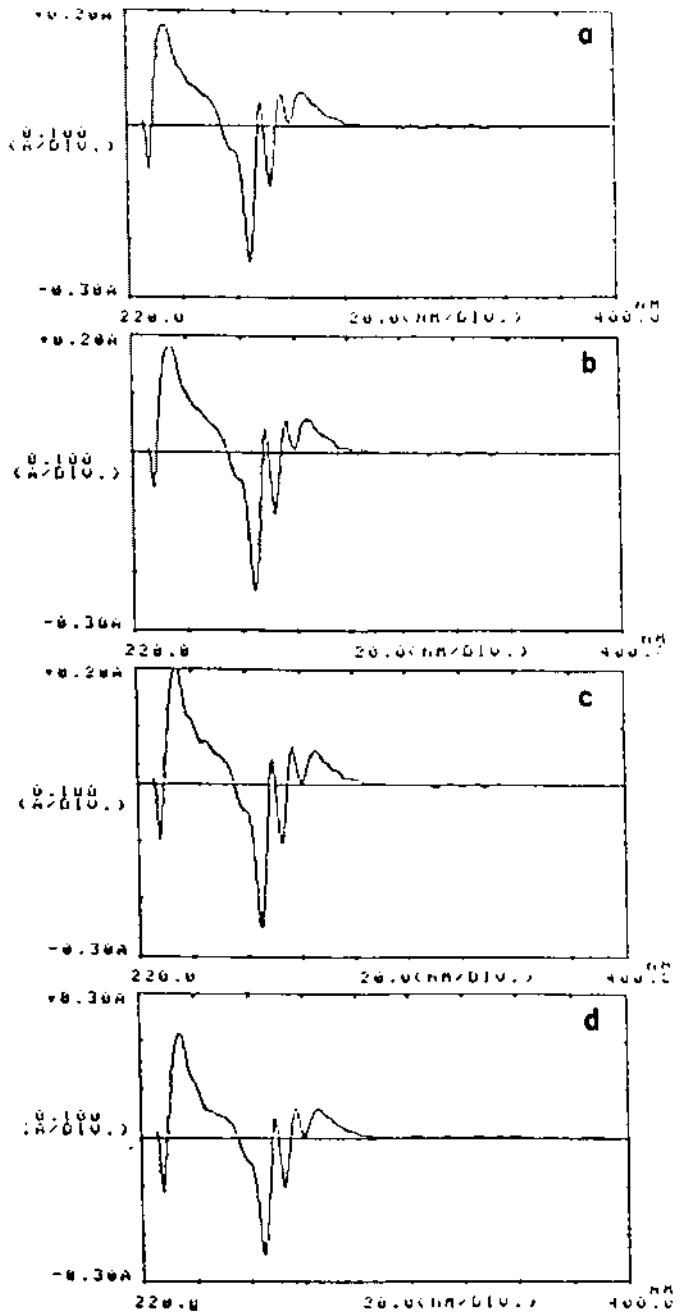
Şekil 29 : Klorfeniramin maleatın

0.1 N HCl' deki çözeltisine

N ($\Delta\lambda$) değişiminin etkisi :

a) N= 3 b) N= 4 c) N=5

d) N= 7 e) N= 9



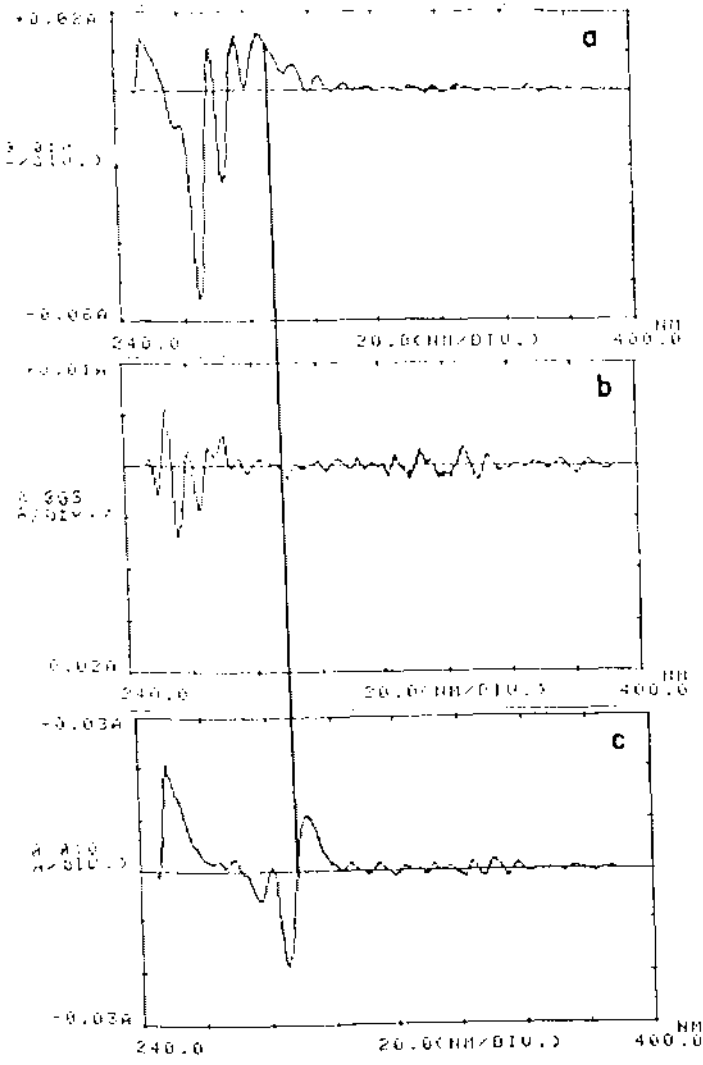
Şekil 30 : Klorfeniramin maleatın

0.1 N HCl' deki çözeltisine

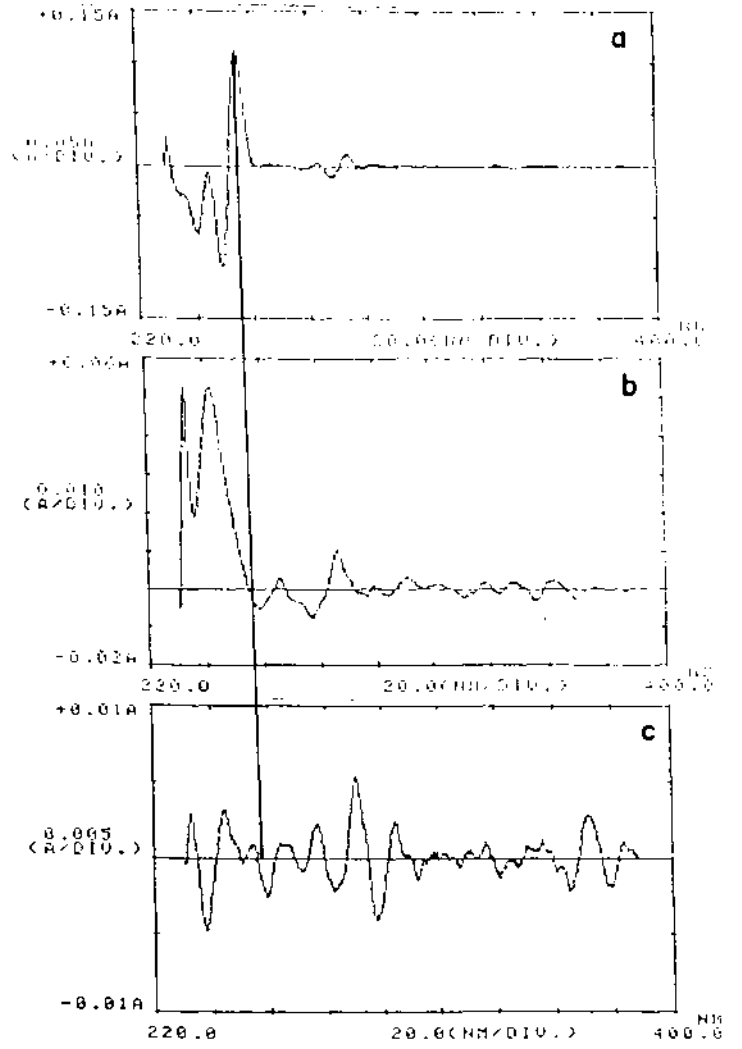
zaman faktörünün etkisi :

a) 1 günlük b) 1 haftalık

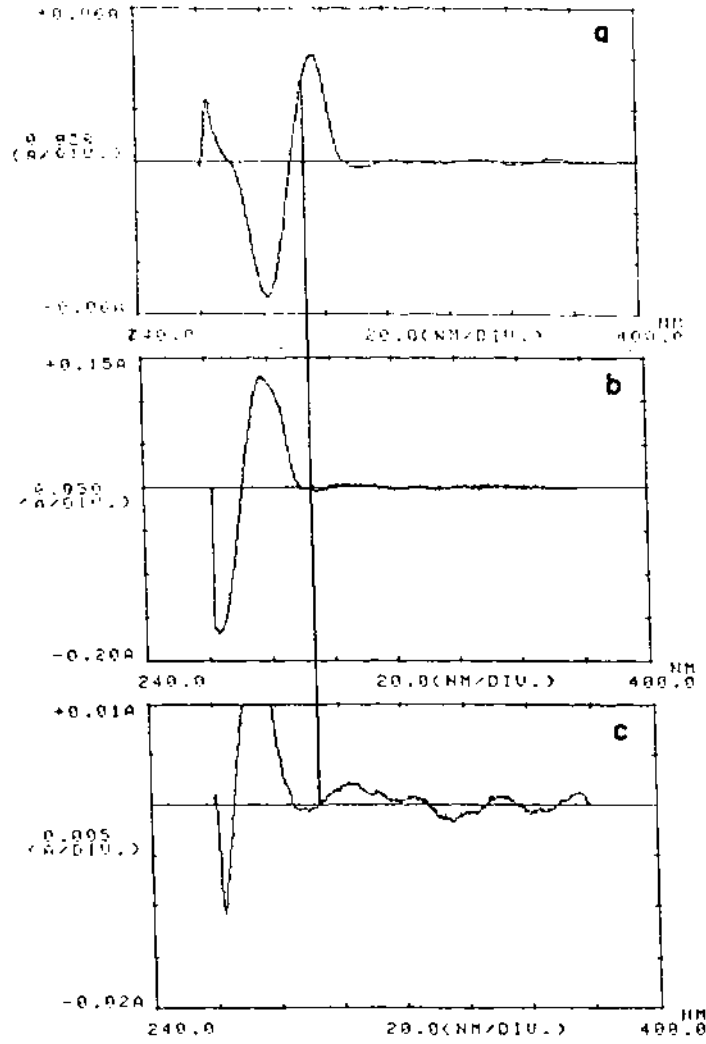
c) 2 haftalık d) 4 haftalık



Şekil 31 : Klorfeniramin maleatın analiz şartları uygulanan efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın, klorfeniramin maleatın nicel analizinin yapıldığı λ 'ya (288.2 nm) olan etkileri; a) Klorfeniramin maleat, b) Efedrin hidroklorür, c) Kodein fosfat



Şekil 32: Efedrin hidroklorürün analiz şartları uygulanan klorfeniramin maleat ve kodein fosfatın, efedrin hidroklorürün nicel analizinin yapıldığı λ 'ya (255.2 nm) olan etkileri a) Efedrin hidroklorür, b) Klorfeniramin maleat, c) Kodein fosfat



Şekil 33 : Kodein fosfatın analiz şartları uygulanan klorfeniramin maleat ve efedrin hidroklorürün, kodein fosfatın nıcel analizinin yapıldığı λ' ya (292.6) olan etkileri ; a) Kodein fosfat, b) Klorfeniramin maleat, c) Efedrin hidroklorür

Her üç madde için alt ve üst tayin sınırları, doğrusallık aralığı ve oluşturulan standart eğrilere ait bilgiler Tablo 2' de verilmiştir.

Hazırlanan çeşitli sentetik karışımlardan % geri kazanılabilirlik çalışmaları yapılmış ve elde edilen bulgular Tablo 3' de verilmiştir (86).

Geliştirilen yöntem ile şurup farmasötik şekillerinden klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın analizleri standart ekleme yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Dephedin® şuruptan standart ekleme yöntemi ile klorfeniramin maleatın tayini Şekil 34' de verilmiştir.

Saptanan şartlarda standart ekleme yöntemi ile şuruplardan etken maddelerin analizleri yapılmıştır. Şuruplara ait analiz bulguları, Antibeksin® şurup için Tablo 4, Dephedin® şurup için Tablo 5, Codis® için Tablo 6 ve Corex® şurup için Tablo 7' de verilmiştir.

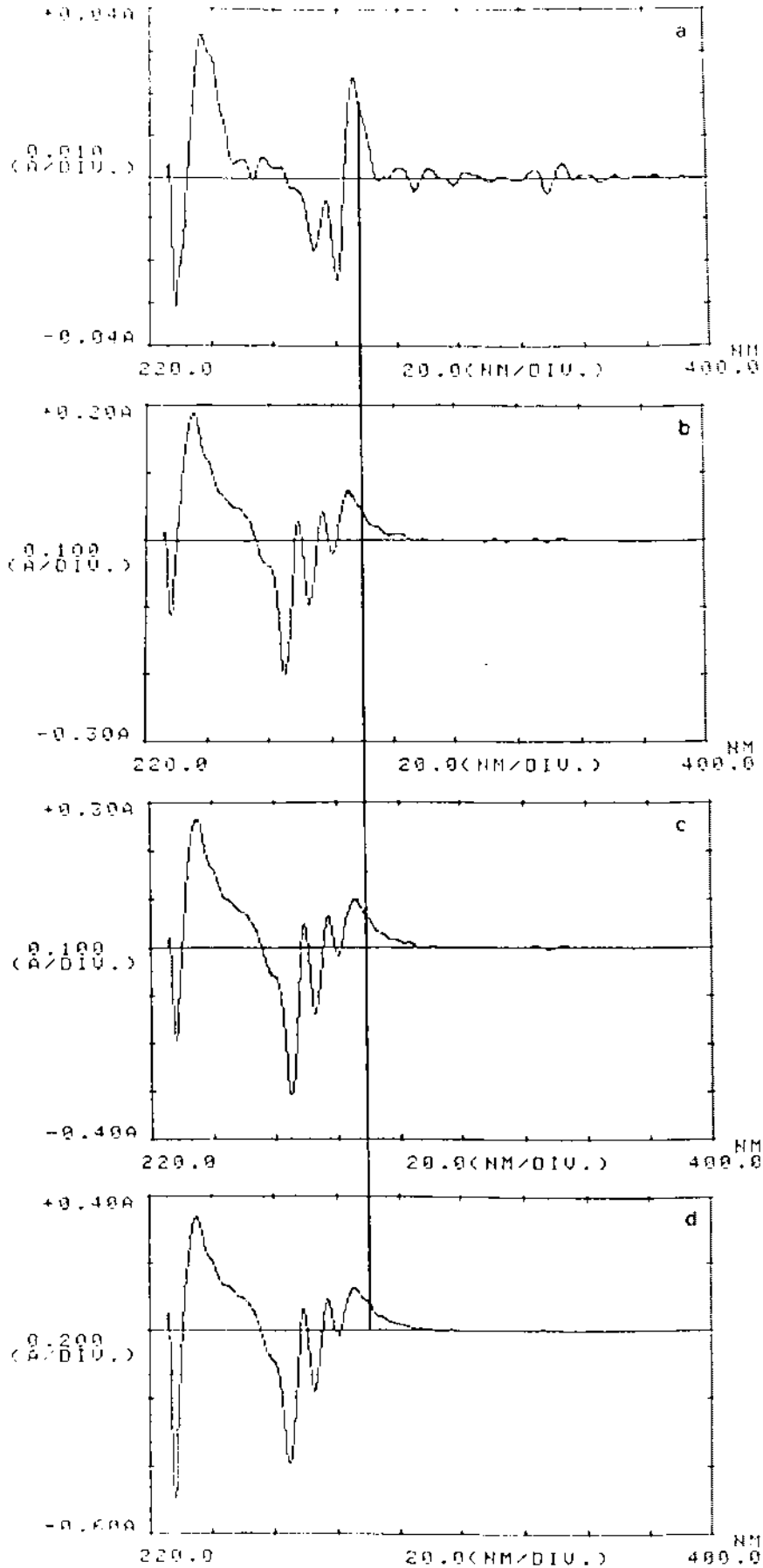
Şuruplara T.F.1974'de belirtilen spektrofotometrik yöntem klorfeniramin maleat, titrimetrik yöntem ise efedrin hidroklorür ve kodein fosfatı uygulanarak analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ve iki yöntem ile bulunan değerler arasında fark bulunup bulunmadığının istatistiksel olarak karşılaştırılmasına ait bulgular Tablo 8-10' da verilmiştir. Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfat için iki yöntem arasında fark bulunmamıştır. Ayrıca, her üç maddenin çalışma aralığında korrelasyon, regresyon katsayıları ile doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolüne ait yapılan istatistiksel hesaplamaların sonuçları Tablo 11' de yer almaktadır.

Tablo 2 :Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür, kodein fosfat için saptanan alt, üst sınırlar, doğrusallık aralığı ve standart eğrilere alt veriler.

Maddeler	Alt tayın sınırı (mg/ml)	Üst tayın sınırı (mg/ml)	Doğrusallık aralığı (mg/ml)	a (Eğim)	b (Kesim noktası)	r (Korrelasyon katsayısı)
Klorfeniramin maleat	0.001	0.08	0.001-0.08	$-2.84 \cdot 10^{-4}$	2.22	0.999
Efedrin hidroklorür	0.005	1.80	0.005-1.80	0.01	0.54	0.999
Kodein fosfat	0.001	0.40	0.001-0.40	$1.25 \cdot 10^{-3}$	0.72	0.999

Tablo 3 : Sentetik üçlü karışımdan klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın analiz bulguları

Maddeler	Konulan (mg/10ml)	Bulunan (mg/10ml)	% Geri kazanırlık
Klorfeniramin maleat	0.50	0.50	101.00
	1.00	1.03	103.00
	1.50	1.50	100.00
	2.00	2.03	101.50
Efedrin hidroklorür	5.00	5.01	100.20
	10.00	10.02	100.20
	15.00	15.02	100.13
	20.00	20.00	100.00
Kodein fosfat	10.00	10.01	100.10
	15.00	15.00	100.00
	20.00	19.99	99.95
	25.00	24.99	99.96



Şekil 34 : Dephedrin[®] şurubun içerdği klorfeniramin maleatın standart ekleme yöntemi ile miktar tayini ; a) 20 ml şurup numunesi b) 4 ml c) 6 ml d) 8 ml (1mg/10 ml)' lik stok çözeltiden eklemeler

Tablo 4 : Antlbeksin® şurup anallz bulguları

Numune No	Bulunan Klorfeniramin maleat (mg/10ml)	
1	29.95	Belirtilen miktar:30.00 mg/10 ml $\bar{x} : 29.97 \pm 0.22$ $S : 0.54$ $V : \%1.81$ Güven sınırları:29.40-30.54
2	30.07	
3	29.97	
4	30.02	
5	29.93	
6	29.90	
Numune No	Bulunan Efedrin hidroklorür (mg/10ml)	
1	10.15	Belirtilen miktar:10.00mg/10ml $\bar{x} : 10.01 \pm 0.20$ $S : 0.48$ $V : \%4.8$ Güven sınırları:9.50-10.52
2	10.10	
3	9.93	
4	9.91	
5	10.02	
6	9.97	

Tablo 5 : Dephadrin® şurup analiz bulguları

Numune No	Bulunan Klorfeniramin maleat (mg/10ml)	
1	2.02	Belirtilen miktar:2.00mg/10ml $\bar{x} : 2.01 \pm 0.01$ $S : 0.02$ $V : \%0.85$ Güven sınırları:1.98-2.04
2	1.99	
3	1.99	
4	2.01	
5	2.02	
6	2.02	
Numune No	Bulunan Efedrin hidroklorür (mg/10ml)	
1	15.20	Belirtilen miktar:15.00mg/10ml $\bar{x} : 15.01 \pm 0.02$ $S : 0.04$ $V : \%0.28$ Güven sınırları:14.96-15.06
2	15.16	
3	14.86	
4	14.90	
5	14.93	
6	15.02	
Numune No	Bulunan Kodein fosfat (mg/10ml)	
1	15.00	Belirtilen miktar:15.00mg/10ml $\bar{x} : 15.01 \pm 0.02$ $S : 1.18$ $V : \%7.9$ Güven sınırları:13.70-16.16
2	14.81	
3	14.88	
4	14.92	
5	15.01	
6	14.97	

Tablo 6 : Codis® şurup analiz bulguları

Numune No	Bulunan Klorfeniramin maleat (mg/10ml)	
1	2.00	Belirtilen miktar:2.00mg/10ml $\bar{x} : 2.00 \pm 0.01$ S : 0.015 V : %0.75 Güven sınırları:1.97-2.03
2	1.99	
3	2.01	
4	2.02	
5	1.98	
6	2.01	
Numune No	Bulunan Efedrin hidroklorür (mg/10ml)	
1	24.10	Belirtilen miktar:24.00mg/10ml $\bar{x} : 24.05 \pm 0.03$ S : 0.06 V : %0.25 Güven sınırları:23.97-24.13
2	24.05	
3	24.12	
4	24.04	
5	23.96	
6	24.00	
Numune No	Bulunan Kodein fosfat (mg/10ml)	
1	19.90	Belirtilen miktar:20.00mg/10ml $\bar{x} : 19.96 \pm 0.03$ S : 0.07 V : %35 Güven sınırları:19.88-20.04
2	20.04	
3	19.86	
4	20.02	
5	19.98	
6	19.98	

Tablo 7 : Corex[®] şurup analiz bulguları

Numune No	Bulunan Klorfeniramin maleat (mg/10ml)	
1	9.90	Belirtilen miktar:10.00mg/10ml $\bar{x} : 10.00 \pm 0.03$ S : 0.07 V : %0.70 Güven sınırları:9.92 - 10.08
2	10.11	
3	10.13	
4	10.01	
5	9.96	
6	10.01	
Numune No	Bulunan Efedrin hidroklorür (mg/10ml)	
1	12.48	Belirtilen miktar:12.50mg/10ml $\bar{x} : 12.50 \pm 0.02$ S : 0.04 V : %0.29 Güven sınırları:12.45 - 12.55
2	12.45	
3	12.51	
4	12.55	
5	12.50	
6	12.53	
Numune No	Bulunan Kodelin fosfat (mg/ml)	
1	24.76	Belirtilen miktar:25.00mg/10ml $\bar{x} : 24.92 \pm 0.04$ S : 0.11 V : %0.44 Güven sınırları:24.82 - 25.02
2	24.94	
3	24.81	
4	25.02	
5	24.98	
6	25.01	

Tablo 8 : Klorfeniramin maleat içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile farmakope yönteminin istatistiksel karşılaştırılması

Klorfeniramin maleat	Türevsel UV yöntemi (mg/10ml)	TF.1974 yöntemi (mg/10ml)
n	6	6
x	2.01	1.97
S	0.02	0.02
S ²	0.0004	0.0004
V(S/x · 100)	0.85	1.01
Güven sınırları	1.98-2.04	1.97-2.00
İki eş arasındaki farkın önemlilik testi: T _H : 1.5 T _T : 0 (α : 0.05, S.D : 6)		

Tablo 9 : Efedrin hidroklorür içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile farmakope yönteminin istatistiksel karşılaştırılması

Efedrin hidroklorür	Türevsel UV yöntemi (mg/10ml)	TF.1974 yöntemi (mg/10ml)
n	6	6
x	15.01	14.58
S	0.04	0.26
S ²	0.0016	0.0676
V(S/x · 100)	0.28	1.78
Güven sınırları	14.96-15.06	14.32-14.84
İki eş arasındaki farkın önemlilik testi: T _H : 1 T _T : 0 (α : 0.05, S.D : 6)		

Tablo 10 : Kodeln fosfat içeren Dephedrin® şurupta geliştirilen yöntem ile farmakope yönteminin istatistiksel karşılaştırılması

Kodelin fosfat	Türevsel UV yöntemi (mg/10ml)	TF.1974 yöntemi (mg/10ml)
n	6	6
$\bar{x}$	14.93	14.54
S	1.18	0.19
S^2	1.3924	0.036
$V(S/\bar{x} \cdot 100)$	7.9	1.30
Güven sınırları	13.70-16.16	14.38-14.80
İki eş arasındaki farkın önemlilik testi:		
$T_H : 21$ $T_T : 0 (\alpha : 0.05, S.D : 6)$		

* İki yöntemin karşılaştırılması ile ilgili istatistiksel hesaplamalar EK : 1'de verilmiştir.

Tablo 11 : Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfat için çalışılan standart eğrilerin korrelasyon ve regresyon katsayıları ile doğrusallıktan ayrılış önem kontrolü için yapılan istatistiksel hesaplamaların sonuçları*

Standart Eğri	n	r	Sr	t_H	t_T	RKT	OAKT	RAKT	RAKO	RKO	F_H	F_T
Klorfeniramin maleat	9	0.999	0.0169	59.11	2.36	1.150	0.032	1.118	0.1597	1.150	7.2	5.59
Efedrin hidroklorür	24	0.999	0.0115	86.87	2.13	2.259	2.333	0.074	0.0034	2.259	664.4	4.30
Kodein fosfat	17	0.999	0.0095	105.16	2.07	0.143	0.358	0.215	0.0143	0.143	10.0	4.54

*Terimler EK 2'de açıklanmaktadır.

V . SONUÇ VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada klorfeniramin maleat içeren farmasötik preparatların, diğer spektroskopik yöntemlere oranla daha geniş bir uygulama alanı bulan UV-VIS türev spektroskopisi yöntemi ile analizi gerçekleştirilmiştir. Türev spektroskopisinin avantajı, UV-VIS spektrumlarında üst üste binen çakışan bantların ayrılabilmesi, maksimum noktanın tam ve doğru olarak belirlenmesi, omuzların ve zayıf sinyallerin geri zeminden ayrılarak analiz edilebilmesidir.

Çalışmamız sırasında kullanılan klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfat etken maddelerinin saflık kontrol analizleri erime noktası tayini ve IR spektrumları alınarak yapılmıştır. Kaynaklarda belirtilen erime noktaları, klorfeniramin maleat için 132-135 °C, efedrin hidroklorür için 187-188 °C, kodein fosfat için 154-156°C'dir , çalışılan etken maddeler için bu değerler sırasıyla 136.8 °C, 187.3 °C, 155.8 °C olarak bulunmuştur. Her üç madde için ; Şekil 10'da gösterilen IR spektrumları alınmış ve IR atlaslarındaki spektrumlar ile karşılaştırıldığında aynı verilerin elde edildiği görülmüştür (87).

Saf klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın 0.1 N HCl, 0.1 N H₂SO₄, 0.1 N NaOH ve pH:7 fosfat tamponu çözeltilerinin UV spektrumları, 1. ve 2. derece türev spektrumları alınmıştır. Asidik ortamda elde edilen spektrumlar arasında fark olmadığı ve bu spektrumların bazik ve nötr ortamlara göre daha ayrıntılı bilgi verdiği gözlenmiştir. Daha sonra bunlardan 0.1 N HCl'li ortam seçilmiştir. Asidik ortamda klorfeniramin maleat için 2.derece türev spektrumunda 288.2 nm'de maksimum pik gözlenirken bu dalga boyu ; efedrin hidroklorür ve kodein fosfat için bir kesim noktası olmaktadır. Bu nedenle 288.2 nm'de efedrin hidroklorür ve kodein fosfat varlığında klorfeniramin maleatın analizi ancak 2.derece türev spektrumu kullanılarak yapılmıştır. Benzer şekilde, efedrin hidroklorür için asidik ortamda 2. derece türev spektrumunda 255.2 nm, kodein fosfat için 292.6 nm analiz dalga boyu olarak seçilmiştir. Bu dalga boyu seçimi Şekil 31,32,33 'de açıkça görülmektedir.

Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın 1. ve 2.derece türev spektrumları yanı sıra 3. ve 4.derece türev spektrumları da alınmıştır. Ancak türev derecesi artışı ile bantların keskinleşmesi ve uç noktaların fazlalaşması, yüksek dereceden türevlerin analizini zorlaştırdığından, elde edilen spektrumların analiz için uygun olmadığı görülmüştür. Bundan dolayı çalışmalarımızda 2.derece türev spektroskopisi ile alınan veriler değerlendirilmiştir. 2. türev derecesinin seçilindeki diğer önemli bir nokta, orijinal spektrumdaki maksimum noktaya yine bir maksimum noktanın karşılık gelmesidir. Bu nedenle pek çok araştırmada nicel analizlerde 2. ve 4.derece türev eğrileri önerilmektedir (30).

Dalga boyu aralığının türev sinyalinin büyüklüğüne, düzgünlüğüne ve ayıricılığına etkisi de araştırılmıştır. Şekil 28' de görüldüğü gibi 200-300 nm dalga boyu aralığında spektrum alındığında pik yükseklikleri küçülmüş ve iyi bir ayırım gerçekleşmemiştir. 200-400 nm dalga boyu arasında alınan spektrumdaki pik sayısı fazla olmakla birlikte, 220-400 nm dalga boyu arasındaki spektrumda 288.2 nm 'de klorfeniramin maleatın analizini yapmak için seçmiş olduğumuz pikin yüksekliği daha fazla olduğundan çalışmamızda 220-400 nm dalga boyu aralığı seçilmiştir. Bu dalga boyu aralığının, efedrin hidroklorür ve kodein fosfat spektrumlarının alınması için de uygun olduğu görülmüştür.

Spektrofotometrede, spektrum tarama hızının hızlı ve yavaş olması UV absorpsiyon spektrumunu değiştirmiş, ancak türevsel spektrumlarda önemli bir değişiklik yapmamıştır. Çalışmalarımız sırasında yarık aralığını değiştirmemiz mümkün olmamıştır. Ayrıca, ölçümlerde 1 cm ve 0.1 cm genişliğinde hücreler denenmiş ve 1 cm'lik hücre ile alınan spektrumlarda elde edilen pikler daha büyük olduğundan çalışılmak üzere bu hücre seçilmiştir.

Türev spektrumlarında, dalga boyunun birim değişimine karşı gelen absorpsiyon değişimleri incelenmektedir. Dalga boyu değişim aralığı, türev spektrumu alınırken seçilen bir alet parametresidir. Örneğin, $N=3$ seçildiğinde ; esas absorpsiyon spektrumunun 10.5 nm aralıkla türevi alınmaktadır. N değerinin artışı ile bu aralığın

değişimli ; $N=4$ için $\Delta\lambda=14.0$ nm ; $N=5$ için $\Delta\lambda=17.5$; $N=6$ için $\Delta\lambda=21.0$ nm ; $N=7$ için $\Delta\lambda=24.5$ nm ; $N=8$ için $\Delta\lambda=28.0$ nm ; $N=9$ için $\Delta\lambda=31.5$ nm olmaktadır. Şekil 29'da klorfeniramin maleat için N değerinin değişimli incelenmiş ve $N=3$ ($\Delta\lambda=10.5$ nm) olduğunda elde edilen spektrumun daha ayrıntılı bilgi vermekte olduğu görülmüştür. Aynı deneyler efedrin hidroklorür ve kodein fosfat için de yapılmış ve sonuçta çalışmalar süresince $N=3$ ($\Delta\lambda=10.5$ nm) değerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Standart klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfattan hazırlanan çözeltilerin zamanla bozunup bozunmadığı araştırılmıştır. Bunun için klorfeniramin maleat çözeltisinin bir ay boyunca belirli aralıklarla türev spektrumları alınmış ve daha sonra stoktan yeni hazırlanan (100 ppm'lik stoktan genel işlem uygulanarak hazırlanan) çözeltiler ile karşılaştırılmış, bir ay sonunda klorfeniramin maleat için zamanla bir bozunmanın olmadığı gözlenmiştir. Aynı işlemler efedrin hidroklorür, kodein fosfat için uygulanmış ve bu maddelerin de zamanla bozunmadığı gözlenmiştir.

Türev spektrumlarının birbirine karşı durumları değerlendirilerek, pikten pike ve pikten sıfıra ölçüm ile türev eğrilerinin yükseklikleri hesaplanmıştır. Pikten pike ölçüm ile yapılan değerlendirmede, pik maksimumu ile minimumu arasındaki uzaklık farkı daha fazla olduğundan, bu ölçüm ile daha duyarlı sonuçlar alınmış ve bu değerlendirme şekli çalışmamızda tercih edilmiştir.

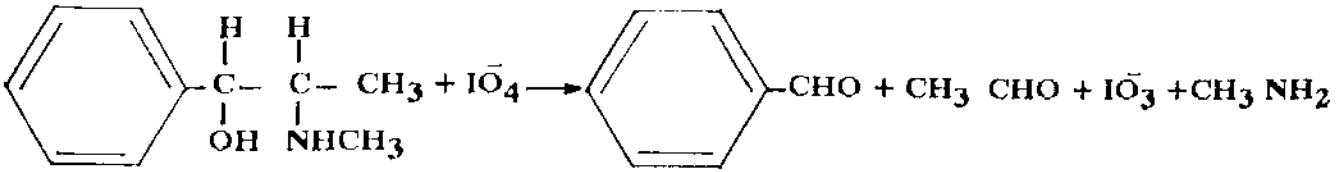
Çalışmamızda her üç madde için standart eğriler oluşturulmuş ve bu eğrilerin doğrusal olduğu aralıklar saptanmıştır. Klorfeniramin maleat için 288.2 nm'de 2.derece türev spektrumu alınarak yapılan tayinler sonunda, alt tayin sınırının 0.001 mg/ml, üst tayin sınırının 0.08 mg/ml ve bu aralıkta derişim ile absorbansın doğrusal olduğu bulunmuştur. Efedrin hidroklorür için 255.2 nm'de 2.derece türev spektroskopisi ile yapılan çalışmada alt tayin sınırı 0.005 mg/ml, üst tayin sınırı 1.80 mg/ml olarak bulunmuş ve derişim ile absorbans arasında doğrusal ilişki olduğu saptanmıştır. Aynı şekildeki çalışma, kodein fosfata da uygulanmış ve 292.6 nm'de alınan türev spektrumu ile

alt tayın sınırı 0.001 mg/ml, üst tayın sınırı 0.4 mg/ml ve bu aralıkta derişim ile absorbens arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlenmiştir.

Şurup farmasötik şekillerinden klorfeniramin maleat ve kodein fosfatın tüketme işleminin birinci kısmında ; öncelikle hekzan, kloroform, aseton ve dietileter organik fazları denenmiş ve Korany, M.A., ve arkadaşları tarafından önerilen (32) absorbens farkları yöntemi de gözönüne alınarak, dietileter organik faz olarak seçilmiştir. Böylece organik faza alınan etken maddeler katkı maddelerinden arındırılmıştır. H_2SO_4 , HNO_3 ve HCl kullanılarak dietileter doyurulmuş ve elde edilen sonuçlardan HCl ile doyurulmanın daha uygun olduğu görülmüştür. Tüketme işleminin ikinci kısmında aynı asitler denenmiş ve HCl'li sonuçların daha iyi olduğu görülmüştür. Böylece HCl, klorfeniramin maleat ve kodein fosfatın daha iyi arıtılması ve bu maddelerin tuzları haline gelmesini sağlamıştır. Daha sonraki aşamada ise, NaOH ile bazlık yapılan etken maddeler için yine aynı organik fazlar denenmiş ve bu aşamada kloroform ile yapılan tüketmenin daha uygun olduğu gözlenmiştir. Spektrofotometrik analizin yapılacağı asidik çözeltinin elde edilmesi için , kloroformlu fazdan HCl' e tüketme işlemi yapılmıştır.

Efedrin hidroklorürün şuruplardan tüketilmesi işleminde, NaOH ilavesi ile NaCl oluşturularak ortam doygun hale getirilmiştir. Doygunluğun artması işlemi için, NaCl ve KCl denenmiş ve çalışmada NaCl tercih edilmiştir. Organik faz olarak yine hekzan, kloroform, aseton ve dietileter denenmiştir ve elde edilen sonuçlardan kloroformun uygun olduğu gözlenmiştir. Organik faza alınan maddenin tüketilmesinde HCl kullanılmıştır. Nedeni ise, HCl'in hem arıtma işlemi yapması hem de etken maddeleri tuzları haline getirmesidir, böylece tüketmeler sonunda her üç madde HCl'li faza alınmıştır.

Efedrin hidroklorür tüketildikten sonra, 2.derece türev spektroskopisi ile analiz edilmeden önce, sodyum metaperiyodat eklenmesi ile efedrin hidroklorürün oksidasyonu sağlanmış ve aşağıdaki tepkimede görüldüğü gibi benzaldehit oluşturulmuştur (88). Böylece hekzan fazına çekilen benzaldehitin maksimum absorpsiyonu sağlanmıştır.



Çalışmamızda, analiz sırasında değişik derişimlerde (0.1M-0.5M) sodyum metaperiyodat eklenerek işlemler yapılmıştır ve 0.2 M derişimdeki sodyum metaperiyodat çalışmamızda kullanılmak üzere seçilmiştir.

Kodein fosfatın spektrofotometrik analizi için, tüketme sonucunda elde edilen asidik çözelti bazık yapılarak kullanılmıştır. Klorfeniramin maleat ve kodein fosfat aynı ortamda ve aynı şartlarda tüketilerek elde edildiğinden, klorfeniramin maleatın etkisini uzaklaştırmak için kodein fosfat bazık yapılarak analiz edilmiştir.

Klorfeniramin maleatın standart çözeltisine tüketme işlemi ve spektrofotometrik analiz yöntemi (III.5.4.1 ve III.5.4.2 'de belirtilen) uygulanarak elde edilen çözeltinin spektrumu ile, tüketme işlemi uygulanmamış çözeltinin spektrumunun karşılaştırılması sonucunda, nicel analizin yapılacağı dalga boyunda (288.2 nm) değışmenin olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, aynı işlemlerden geçirilen efedrin hidroklorür ve kodein fosfat çözeltilerinin de spektrumları alınmış, klorfeniramin maleat için saptanan dalga boyunda pik oluşturmadıkları gözlenmiştir.

Standart efedrin hidroklorür çözeltisine tüketme işlemi ve spektrofotometrik analiz yöntemi (III.5.4.1 ve III.5.4.2 'de belirtilen) uygulanarak elde edilen çözeltinin spektrumu ile, tüketme işlemi uygulanmamış çözeltinin spektrumunun karşılaştırılması sonucunda, nicel analizin yapılacağı dalga boyunda (255.2 nm) değışmenin olmadığı gözlenmiştir. Aynı işlemlerden geçirilen diğeri iki maddenin de, efedrin hidroklorürün nicel analizinin yapıldığı dalga boyuna etkili olmadığı gözlenmiştir.

Kodein fosfat standart çözeltisi için de tüketme işlemi ve spektrofotometrik analiz yöntemi (III.5.4.1 ve III.5.4.2 'de belirtilen) uygulanarak elde edilen çözeltinin spektrumu ile, tüketme işlemi uygulanmamış çözeltinin spektrumunun karşılaştırılması

sonuçunda, nicel analizin yapılacağı dalga boyunda (292.6 nm) değişimin olmadığı ve aynı şekilde çalışılan diğer iki maddenin kodein fosfatın nicel analiz dalga boyunu etkilemediği görülmüştür. Sonuçta, çalışmalarımızda klorfeniramin maleat için 288.2 nm, efedrin hidroklorür için 255.2 nm ve kodein fosfat için 292.6 nm olarak seçilen dalga boylarında duyarlı analizler yapılabilmiştir.

Sentetik ikili (klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür) ve üçlü karışımlar (klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür, kodein fosfat) hazırlanmış ve bu karışımlara tüketme ve spektrofotometrik analiz işlemleri uygulanarak elde edilen sonuçların, karışımdaki madde miktarları ile karşılaştırılması yapılarak yöntemin geri kazanılabilirliği hesaplanmıştır. Her maddenin değişik derişimleri için elde edilen geri kazanılabilirlik değerleri Tablo 2'den de görüleceği gibi, çalışmamızdaki derişim aralığında klorfeniramin maleat için % 100.00, efedrin hidroklorür için % 99.95 ve kodein fosfat için % 99.78'e ulaşmıştır. Leung, C.P., ve Law, C.K., klorfeniramin maleatın 2.derece türev spektrofotometrisi ile tabletlerden analizini yapmışlar ve geliştirdikleri yöntemde geri kazanılabilirliği % 99.80 olarak bulmuşlardır (27). Bu da yapılan çalışmanın güvenilirliğini artırmaktadır.

Çalışmamızda tüketme işlemi, şurup farmasötik şekillerinin yapısında bulunan etken maddeleri yardımcı maddelerden uzaklaştırmak için uygulanmıştır. Ancak yine de oluşabilecek geri zemin etkisini düşünerek, nicel analiz sırasında standart ekleme yöntemi kullanılmıştır.

Ayrıca, her üç etken maddenin şurup farmasötik şekillerinden miktar tayini T.F. 1974 ile de yapılmıştır. Klorfeniramin maleat için geliştirilen yöntem ile T.F. 1974'de belirtilen spektrofotometrik yöntemden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, iki yöntem arasında fark bulunmadığı görülmüştür. Klorfeniramin maleat için, B.P. (8)'de susuz ortam titrasyonu, U.S.P.XX (5)'de spektrofotometrik yöntem verilmiştir, ancak diğer iki etken madde için ilgili yöntem olmadığından, bu iki farmakope yöntemi ile çalışma yapılamamıştır.

Şuruptan efedrin hidroklorür ve kodeln fosfatın analizi T.F. 1974'de verilen titrimetrik yöntemlerle yapılmış ve elde edilen sonuçlar, türev spektroskopisinden alınan veriler ile karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmadığı görülmüştür. Efedrin hidroklorür ve kodeln fosfat için, B.P. (8)'de ve U.S.P (5)'de susuz ortam titrasyonu verildiğinden, bu iki farmakope yöntemi uygulanamamıştır.

Çalışmamızda geliştirilen yöntemin tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, yüksek duyarlık ve doğruluğu yanı sıra hızlı oluşu, farmasötik şekillerin rutin analizi için önerilebilecek bir yöntem olmasını sağlamaktadır.

Ö Z E T

Bu çalışmada, klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfatın 2. derece türevsel UV spektrofotometrisi ile analizleri yapılmıştır.

Çözelti ve pH'nın seçilmesi, türev derecesi, dalga boyu aralığı, N değeri ve hücre kalınlığı temel parametrelerdir. Saptanan şartlarda ; klorfeniramin maleatın 0.001 mg/ml - 0.08 mg/ml, efedrin hidroklorürün 0.05 mg/ml - 1.80 mg/ml, kodein fosfatın 0.01 mg/ml - 0.4 mg/ml derişimleri arasında miktar tayinlerinin doğrusal olarak yapılabileceği bulunmuştur.

Çalışmamızda; 2.dereceden türev ile geliştirdiğimiz üç maddenin bir arada bulunduğu şurup farmasötik şekillerin analizi için ; tüketme işlemi yapılmış ve bulunan şartlarda standart ekleme yöntemi ile analiz sonuçlandırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Türk Farmakopesindeki (1974) kayıtlı yöntemlerden ; klorfeniramin maleat için spektrofotometrik , efedrin hidroklorür ve kodein fosfat için titrimetrik analizler ile karşılaştırılmıştır. Klorfeniramin maleat, efedrin hidroklorür ve kodein fosfat verileri arasında fark bulunmamıştır.

Geliştirilen türevsel UV spektrofotometrik yöntemin duyarlı, doğru, kesin ve tekrarlanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

S U M M A R Y

In this study, chlorpheniramine maleate, ephedrine hydrochloride and codeine phosphate have been analyzed by using second derivative UV spectrophotometry.

The nature of the solutions that the active substances were dissolved, degree of derivatives, the range of wavelength, "N" value, and the thickness of the cell were the basic parameters. After the optimization procedures the linear range of concentrations for the analysis of codeine phosphate, ephedrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate have been found as 0.001-0.4, 0.005-1.8 and 0.001-0.08 mg/ml respectively.

The extraction procedures have been applied for the analysis of group pharmaceutical forms containing the three active substances mentioned above. Then the active ingredients were analyzed by using the methods of second derivative UV spectroscopy and the results were taken by using the standard addition technique.

The results obtained have been compared with the methods registered in the Turkish Pharmacopela (1974), such as spectrophotometric for chlorpheniramine maleate, and analysis for titrimetric ephedrine hydrochloride and codeine phosphate. No difference has been observed between the chlorpheniramine maleate, ephedrine hydrochloride and codeine phosphate data.

It has been concluded that the method developed, namely derivative UV spectrophotometry is sensitivity, accuracy, precision and reproducibility.

KAYNAKLAR

- 1-Talsky, G., Mayring, I., Kreuzer, H., High-Resolution, Higher-order UV/VIS Derivative Spectrophotometry, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **17**(11), 785-799 (1978).
- 2-O'Haver, T.C., Derivative Spectroscopy, Theoretical Aspects, *Anal. Proc.*, **19**, 22-28 (1982).
- 3-Türk Farmakopesi, Millî Eğitim Basımevi, İstanbul (1974).
- 4-Kayaalp, O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbî Farmakoloji, Cilt 3, Feryal Matbaacılık (1989).
- 5-The United States Pharmacopela, Twentieth Revision (USP XX.), The National Formulary, Fifteenth Edition (NF XV), United States Pharmacopelal Convention, Inc., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, Md. 20852, U.S.A. (1980).
- 6-The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Eleventh Edition, Merck and Co, Inc., Rahway, N.J., U.S.A., (1989).
- 7-Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Twentyninth edition, The Pharmaceutical Press, London (1989).
- 8-British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery office, London, 1-2 (1988).
- 9-Al-Kaysi, H.N., Salem, M.S., Simultaneous Quantitative Determination of Codeine Phosphate, Chlorpheniramine Maleate, Phenylephrine Hydrochloride and Acetaminophen in Pharmaceutical Dosage Forms Using Thin Layer Chromatography Densitometry, *Anal. Lett.*, **19**(7-8), 915-24 (1986).

- 10-Madsen, R.E., Magin, D.F., Simultaneous Quantitative GLC Determination of Chlorpheniramine Maleate and Phenylpropanolamine Hydrochloride in a Cold Tablet Preparation, *J. Pharm. Sci.*, 65(6), 924-5 (1976).
- 11-Kinsun, H., Moulin, M.A., Savini, E.C., Simultaneous GLC Determination of Phenylpropanolamine and Chlorpheniramine in Urine Using a Nitrogen Selective Detector, *J. Pharm. Sci.*, 67(1), 118-9 (1978).
- 12-Fabrizio, F., Simultaneous GLC Analysis of Salicylamide, Phenylpropanolamine Hydrochloride, Caffeine, Chlorpheniramine Maleate, Phenylephrine Hydrochloride and Pyrilamine Maleate in Capsule Preparations, *J. Pharm. Sci.*, 69(7), 54-5 (1980).
- 13-Greco, G.T., Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Chlorpheniramine Maleate in Cough-Cold Mixtures, *Drug Dev. Int. Pharm.*, 10(1), 19-30 (1984).
- 14-Kozlowski, T.R., Jacob, J.T., Achari, R.G., Ion-Pair Liquid Chromatographic Assay of Decongestants and Antihistamines, *J. Pharm. Sci.*, 68(9), 1135-8 (1979).
- 15-Gupta, V.D., Heble, A.R., Quantitation of Acetaminophen, Chlorpheniramine Maleate, Dextromethorphan Hydrobromide, and Phenylpropanolamine Hydrochloride in Combination Using High-Performance Liquid Chromatography, *J. Pharm. Sci.*, 73(11), 1553-6 (1984).
- 16-Richardson, H., Biddlingmeyer, B.A., Bare Silica as a Reverse-Phase Stationary Phase: Liquid Chromatographic Separation of Antihistamines with Buffered Aqueous Organic Mobile Phases, *J. Pharm. Sci.*, 73, 1480-2 (1984).
- 17-Alvi, S.U., Castro, F., A Simultaneous Assay of Theophylline, Ephedrine Hydrochloride and Phenobarbital in Suspensions and Tablets Formulations by High Performance Liquid Chromatography, *J. Liq. Chromatogr.*, 9(10), 2269-79 (1986).

- 18-Bedford, K.R., White, P.C., Improved Method for the Simultaneous Determination of Morphine, Codeine and Dihydrocodeine in Blood by High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection, *J. Chromatogr.*, **347**, 398-404 (1985).
- 19-Sprleck, T.L., High-pressure Liquid Chromatographic Determination of Adrenergic and Antihistaminic Compounds in Pharmaceutical Preparations, *J. Pharm. Sci.*, **63**(4), 591-3 (1974).
- 20-Yacobi, A., Look, Z.M., Lai, C.M., Simultaneous Determination of Pseudoephedrine and Chlorpheniramine in Pharmaceutical Dosage Forms, *J. Pharm. Sci.*, **67**(12), 1668-70 (1978).
- 21-Chao, M.K., Holcomb, I.J., Fusari, S.A., Ion-Pair Reversed-Phase High-Pressure Liquid Chromatography of Cough-Cold Syrups I :Pseudoephedrine Hydrochloride, Brompheniramine Maleate and Dextromethorphan Hydrobromide, *J. Pharm. Sci.*, **68**(11), 1463-4 (1979).
- 22-Lai, C.M., Stoll, R.G., Look, Z.M., Yacobi, A., Urinary Excretion of Chlorpheniramine and Pseudoephedrine in Humans, *J. Pharm. Sci.*, **68**(10), 1243-6 (1979).
- 23-Gupta, V.D., Lara, A.J.L., Colorimetric Determinations of Chlorpheniramine Maleate, Ephedrine Hydrochloride, and Gualacolsulfonate Potassium in a Cough Syrup, *J. Pharm. Sci.*, **64**(12), 2001-2 (1975).
- 24-Fattah, S.A., Kelany, K.O., El-Zeany, B.A., El-Tarras, M.F., Analysis of Pheniramine Maleate and Chlorpheniramine Maleate Via Their Fe (III) Complexes, *Anal. Lett.*, **20**(10), 1667-78 (1987).
- 25-Biswas, A., Spectrophotometric Method for Determination of Chlorpheniramine Maleate in Pharmaceutical Preparations in the Presence of Codeine Phosphate and Ephedrine Hydrochloride, *Analyst*, **105**, 353-8 (1980).

- 26-Barary, M.H., Wahbi, A.M., Spectrophotometric Determination of Chlorpheniramine Maleate and Chlorpheniramine Hydrochloride Each in Presence of Caffeine as Binary Mixtures, *Drug Develop. and Ind. Pharm.*, **17**(3), 457-61 (1991).
- 27-Leung, C.P., Law, C.K., Determinatin of Chlorpheniramine Maleate in Tablets by Second-Derivative Absorption Spectrophotometry, *Analyst*, **114**(2), 241-2 (1989).
- 28-Korany, M.A., Wahbi, A.M., Mandour, S., Elsayed, M.A., Determination of Certain Drugs in Multicomponent Formulations by First Derivative Ultraviolet Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, **18**(B1), 21-34 (1985).
- 29-Onur, F., Acar, N., Efedrin Hidroklorürün Farmasötik Preparatlarda Dördüncü Türev UV Spektrofotometrisi ile Miktar Tayını, *Ankara Ecz. Fak. Der.*, **18**(1), 92-9 (1988).
- 30-Davidson, A.G., Elsheikh, H., Assay of Ephedrine or Pseudoephedrine in Pharmaceutical Preparations by Second and Fourth Derivative Ultraviolet Spectrophotometry, *Analyst*, **107**, 879-84 (1982).
- 31-Hoover, J.M., Soltero, R.A., Bansal, P.C., Analysis of Multicomponent Formulations Containing Pseudoephedrine Hydrochloride and Chlorpheniramine Maleate Using First-Derivative Spectroscopy on a Diode-Array Spectrophotometer, *J. Pharm. Sci.*, **76**(3), 242-4 (1987).
- 32-Korany, M.A., Bedair, M.M., El-Gindy, A., Determination of Chlorpheniramine Maleate, Dihydrocodeine Bitartrate and Ephedrine Hydrochloride in Cough Mixture by Derivative and Differential Spectrometry, *J. Pharm. Belg.*, **45**(4), 252-8 (1990).
- 33-El-Yazbi, F.A., Korany, M.A., Abdel-Razak, O., Elsayed, M.A., Derivative Spectrophotometric Determination of Some Corticosteroids in Combinations with Other Drugs, *J. Assoc. off. Anal. Chem.*, **69**(4), 614-8 (1986).

- 34-Murtha, J.L., Julian, T.N., Radebaugh, G.W., Simultaneous Determination of Pseudoephedrine Hydrochloride, Chlorpheniramine Maleate, and Dextromethorphan Hydrobromide by Second-Derivative Photodiode Array Spectroscopy, *J. Pharm. Sci.*, **77**(8), 715-18 (1988).
- 35-Tan, H.S.I., Salvador, G.C., Assay of Mixtures of Chlorpheniramine Maleate, Pyrillamine Maleate and Phenylpropanolamine Hydrochloride in Cold-Allergy Tablets by Difference Spectrophotometry, *Anal. Chim. Acta*, **188**, 295-300 (1986).
- 36-Jacobsen, E., Hogberg, K., Polarographic Determination of Chlorpheniramine Maleate in Pharmaceuticals, *Anal. Chim. Acta.*, **71**, 157-63 (1974).
- 37-Fell, A.F., Derivative and Multichannel Detectors in High-Performance Liquid Chromatography, *Anal. Proc.*, **17** , 512-19 (1980).
- 38-Traveset, J., Such, V., Gonzalo, R., Gelpi, E., Derivative and Graphical Procedures for Correction of Irrelevant UV Spectrophotometric Absorption in Changeable Matrixes, *J. Pharm. Sci.*, **69**(6), 629-33 (1980).
- 39-Fell, A.F., Smith, G., Higher Derivative Methods in Ultraviolet-Visible and Infrared Spectrophotometry, *Anal. Proc.*, **12**, 28-33 (1982).
- 40-O'Haver, T.C., Green, G.L., Numerical Error Analysis of Derivative Spectrometry for the Quantitative Analysis of Mixtures, *Anal. Chem.*, **48**(2), 312-8 (1976).
- 41-Ueda, H., Perelra-Rosario, R., Riley, C.M., Perrin, J.H., Some Pharmaceutical Applications of Diode Array Spectrophotometers, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **11**(4), 833-43 (1985).
- 42-Wahbl, A.M., Ebel, S., The Use of the First-Derivative Curves of Absorption Spectra in Quantitative Analysis, *Anal. Chim. Acta.*, **70**, 57-63 (1974).

- 43-Kimbrel, S. M., Booksh, K. and Stolzberg, R. J., Multiple Interacting Factors Determine Precision in Derivative Ultraviolet Spectrometry, *App. Spect.*, **46**, 704-706 (1992).
- 44-Elsayed, M.A.H., Belal, S.F., Elwailly, A.F.M., Abdine, H., Spectrophotometric Determination of Tolbutamide, Thiamine Hydrochloride, and Pyridoxine Hydrochloride in Combination Products, *J. Pharm. Sci.*, **68**(6), 739-41 (1979).
- 45-Jones, K.G., Sweeney, G.D., Quantitation of Urinary Porphyrins by Use of Second-Derivative Spectroscopy, *Clin. Chem.*, **25**(1), 71-4 (1979).
- 46-Balestrieri, C., Colonna, G., Giovane, A., Irace, G., Servillo, L., Second-Derivative Spectroscopy of Proteins: Studies on Tyrosyl Residues, *Anal. Biochem.*, **106**, 49-54 (1980).
- 47-Fell, A.F., Allan, J.G., Analysis of Colouring Agents in Pharmaceuticals by Derivative Ultraviolet-Visible Spectroscopy, *Anal. Proc.*, **18**, 291-6 (1981).
- 48-Fell, A.F., Jarvie, D.R., Stewart, M.J., Analysis of Paraquat by Second- and Fourth-Derivative Spectroscopy, *Clin. Chem.*, **27**(2), 286-92 (1981).
- 49-Davidson, A.G., Effects of Temperature Variation on the Zero, Second and Fourth Derivative Ultraviolet Absorption Spectra of Benzenoid Drugs, *Analyst*, **108**, 728-32 (1983).
- 50-Meal, L., Identification of Ketones by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry, *Anal. Chem.*, **55**, 2448-50 (1983).
- 51-Self El-Din, A.A.S., Korany, M.A., Abdel-Salam, N.A., Application of Second Derivative Ultraviolet Spectrometer; Part :II : Determination of Cinnamic Aldehyde and Carvone in Volatile Oils, *Anal. Lett.*, **16**(B 12), 891-901 (1983).

- 52-Davidson, A.G., Hassan, S.M., Assay of Benzenoid Drugs in Tablet and Capsule Formulations by Second-Derivative Ultraviolet Spectrophotometry, *J. Pharm. Sci.*, **73**(3), 413-6 (1984).
- 53-Abdel-Hamid, M.E., Barary, M.H., Hassan, E.M., Elsayed, M.A., Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid and Thiamine Hydrochloride in Pharmaceutical Products Using Derivative Spectrophotometry, *Analyst*, **110**, 831-5 (1985).
- 54-Korany, M.A., El-Yazbi, F.A., Abdel-Razak, O., Elsayed, M.A., Determination of Ethinyloestradiol in the Presence of Norethisterone by Derivative-Difference Spectrophotometry, *Pharm. Weekbl.*, **7**, 163-6 (1985).
- 55-Bermejo, A., Lopez-Rivadulla, M., Fernandez, P., Concheiro, L., Application of Derivative Spectroscopy to the Determination of Plasma Theophylline in the Presence of Phenobarbital, *J. Anal. Toxicol.*, **9**, 76-80 (1985).
- 56-Parks, J., Worth, H.G.J., Carboxyhemoglobin Determination by Second-Derivative Spectroscopy, *Clin. Chem.*, **31**(2), 279-81 (1985).
- 57-El-Yazbi, F.A., Barary, M.H., Determination of some Cephalosporins Using Derivative Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, **18**(B 5), 629-40 (1985).
- 58-Abdel-Khalek, M.M., Abdel-Hamid, M.E., Mahrous, M.S., Abdel-Salam, M.A., Second Derivative Spectrophotometric Determination of some Benzenoid Drugs, *Anal. Lett.*, **18**(B 7), 781-92 (1985).
- 59-Poulou, M., Macheras, P., Determination of Nitrofurantoin in Urine by Derivative Spectroscopy, *Int. J. Pharm.*, **3**, 29-34 (1986).
- 60-Meal, L., Arson Analysis by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry, *Anal. Chem.*, **58**, 834-6 (1986).

61-Mura, P., Santoni, G., Pinzauti, S., Determination of Phenytoin in Tablets by Second-order Derivative Ultraviolet Spectroscopy, *Pharm. Acta Helv.*, **62**(8), 226-8 (1987).

62-Mori, S., Derivative Ultraviolet and Visible Spectrophotometry : Applications to Polymer Analysis, *J. App. Pol. Sci.*, **33**, 1923-31 (1987).

63-Fernandez, P., Bermejo, A.M., Lopez, Rivadulla, M., Application of Derivative Spectroscopy to the Simultaneous Identification and Determination of Plasma Amitriptyline and Perphenazine., *Anal. Lett.*, **21**(6), 1045-54 (1988).

64-Morelli, B., Second-Derivative Spectrophotometric Assay on Mixtures of Dicloxacillin Sodium and Ampicillin Sodium in Pharmaceuticals, *J. Pharm. Sci.*, **77**(12), 1042-5 (1988).

65-Martinez, M.I.A., Palanco, J.L.R., Lucas, J.G., Rojas, M.A.V., The Application of Derivative Spectrophotometry for the Simultaneous Determination of Cocaine and Other Local Anesthetics, *J. Anal. Toxicol.*, **13**, 337-341 (1989).

66-Wahbi, A.A.M., Bedair, M.M., El-Omar, S.S., Determination of Potassium Gualacolsulphonate in a Cough Syrup Using Second Derivative Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, **22**(4), 885-96 (1989).

67-Abdel-Hay, M.H., Barary, M.H., Hassan, E.M., Elsayed, M.A., Use of Differential Derivative Spectrophotometry and Complexation with Palladium for the Assay of three Phenothiazine Drugs in Tablets, *Spec. Lett.*, **22**(8), 1025-44 (1989).

68-Morelli, B., Simultaneous Derivative Spectrophotometric Determination of Aztreonam and L-Arginine in Injections, *J. Pharm. Sci.*, **79**(3), 261-5 (1990).

69-Montelongo, F., Sanchez, M.J., Castro, J.C., Hardisson, A., 2nd and 3rd order Derivative Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Soft Drinks, *Anal. Lett.*, **24**(10), 1875-83 (1991).

- 70-Bermejo, A.M., Lopez-Rivadulla, M., Fernandez, P., Cruz, A., Application of Second-Derivate Spectroscopy to the Simultaneous Identification and Determination of Plasma Salicylate and Paracetamol, *Anal. Lett.*, **24**(7), 1147-57 (1991).
- 71-Nevado, J.J., Salinas, F., Paya, I., Valluey, L.F., Simultaneous Determination of Sulphathiazole and Sulphanilamide in Pharmaceuticals by Derivative Spectrophotometry, *J.Pharm. Biomed. Anal.*, **9**(2), 117-22 (1991).
- 72-Leung, C.P., Wong, K.C.C., Determination of Homatropine Hydrobromide in Eye Drops by Second-order Derivative Spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **9**(2), 195-8 (1991).
- 73-Abdel-Moety, E.M., Spectrophotometric Determination of Amoxycillin and Dicloxacillin in Binary Mixtures and in Capsules, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **9**(2), 187-90 (1991).
- 74-Yeşilada, A., Ertan, M., Second Derivative Spectrophotometric Determination of Amoxycillin in Oral Suspensions, *Anal. Lett.*, **24**(11), 2033-41 (1991).
- 75-Fraga, J.M., Ablzanda, A.I., Moreno, F., Leon, J.J., Simultaneous Determination of Imipramine and Amitryptiline by Derivative Spectrophotometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **9**(2), 109-115 (1991).
- 76-Kır, S., Şafak, C., Türeli, A., Temizer, A., Determination of Paracetamol and Methacarbamol in a Pharmaceutical Preparation Using Second Derivative Spectrophotometry, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **339**, 264 (1991).
- 77-Yeşilada, A., Erdoğan, H., Ertan, M., Second Derivative Spectrophotometric Determination of p-Aminophenol in the Presence of Paracetamol, *Anal. Lett.*, **24**(1), 129-38 (1991).

78-Murillo, J.A., Lemus, J.M., Garcia, L.F., Simultaneous Determination of 7-Aminodesacetoxycephalosporanic Acid by Second Derivative Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, **24**(4), 683-99 (1991).

79-El-Yazbl, F.A., Korany, M.A., Abdine, H.H., Elsayed, M.A., Derivative Spectrophotometric Determination of Some Tranquillizer-Antidepressant Mixtures, *Anal. Lett.*, **24**(3), 437-49 (1991).

80-El-Wally, A.F.M., Elsayed, M.A., Barary, M.H., Sabry, S.M., Determination of the Chromonar Hydrochloride Metabolite in Urine Using Derivative Spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **9**(5), 417-20 (1991).

81-Abuirjele, M., Abdel-Hay, M.H., El-Din, M.S., Zero-Crossing Third-Derivative Spectrophotometry for the Simultaneous Determination of Allethrin and Piperonyl Butoxide in Aerosol and Shampoo, *Spect. Lett.*, **24**(6), 883-93 (1991).

82-Shoukrallah, I., The Use of First-order UV Spectroscopy to Determine Binary Mixtures of Pharmaceuticals (A) Pheh and Cbom and (B) DPHH and NPZH, *Anal. Lett.*, **24**(11), 2043-2058 (1991).

83-Salem, H., El-Maamli, M., El-Sadek, M., Kheir, A.A., U.V. and U.V. Derivative Spectrophotometric Determination of Two-Component Mixtures, *Spect. Lett.*, **24**(3), 451-70 (1991).

84-Mahrous, M.S., Abdel-Khalek, M.M., Beltagy, Y.A., Simultaneous Quantitation of Minoxidil and Tretinoin in Magistral and Pharmaceutical Preparations by First Derivative Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, **25**(9), 1673-86 (1992).

85-Lau, O.W., Luk, S.F., Cheng, O.M., Chiu, T.P.Y., Background-correction Methods for the Determination of Caffeine in Beverages, Coffee and Tea by Using Second-derivative Ultraviolet Spectrophotometry, *Analyst*, **117**, 777-83 (1992).

86-Sümbüloğlu, K., Biyoistatistik Hafıboğlu Yayınevi, Ankara (1989).

87-Moffat, A.C., Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids, and Post-mortem Material, The Pharmaceutical Press, London (1986).

88-Chafetz, L., Specificity of Spectrophotometric Determination of Ephedrine and Other Phenalkanolamine Drugs as Benzaldehydes after Periodate Oxidation, J. Pharm. Sci., 60, 291-94 (1971).

E K 1

Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi :

Yöntemlerin karşılaştırılmasında, iki yöntemle elde edilen sonuçlar arasında fark bulunup bulunmadığını kontrol etmek için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulanır. Şurup farmasötik preparatlarında, iki yöntemle bulunan sonuçların karşılaştırılmasında ise, her bir etken madde için test uygulanmıştır.

Her grup için " iki yöntem arasında fark yoktur " şeklinde kurulan H_0 hipotezini denemek için, ilk önce iki yöntemle bulunan sonuçlar arasındaki farklar alınır ve farklar küçükten büyüğe sıralanır. Fark işareti sıra numarasının önüne konur. Sonuçta artı ve eksi işaretlerin hangisi daha az ise onların sıra numaraları toplanarak T_H değeri hesaplanır. 0.05 yanılma düzeyinde 6 serbestlik derecesinde bulunan (Tablo T değeri) $T_T=0$ 'dır. $T_H > T_T$ olduğundan H_0 hipotezi kabul edilerek iki yöntem arasında fark bulunmadığı gösterilmiştir.

EK 2

Standart Eğrilerin Çizilmesinde Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar :

Korrelasyon katsayısı (r) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

x=Derişim (mg/ml)

y=Absorbans

$$r = \frac{\Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}}{\sqrt{(\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n})(\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n})}}$$

" Korrelasyon Katsayısı rastlantısal bir değerdir " şeklinde kurulan H_0 hipotezini denemek amacıyla korrelasyon katsayısı standart hatası (S_r) bulunarak t_H değeri hesaplanmıştır.

$$S_r = \sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}}, \quad t_H = \frac{r}{S_r}$$

Daha sonra t tablosundan 0.05 yanılma olasılığında, (n-2) serbestlik derecesinde t_T değeri bulunmuştur. $t_T < t_H$ olduğundan H_0 hipotezi reddedilerek korrelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir.

"Doğrusallıktan ayrılış önemsizdir" şeklinde kurulan hipotezi denemek için varyans analiz tablosu düzenlenmiştir.

Tablo 12 : Varyans Analiz Tablosu

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalama (KO)	F_H
R	1	b x XYÇT	RKO	$\frac{RKO}{RAKO}$
RA	n-2	RAKT	RAKO	
OA	n-1	OAKT		

Tablo 12'de, regresyon R, regresyondan ayrılış RA, ortalamadan ayrılış OA, ölçüm sayısı n, regresyon katsayısı r, x ve y'nin çarpımlar toplamı XYÇT olarak kısaltılmıştır.

Bu tablodan yararlanılarak hesaplanan F_H değeri, F tablosundan 0.05 yanılma olasılığında, (n-2) serbestlik derecesinde bulunan F_T değeri ile karşılaştırılmıştır. $F_H < F_T$ olduğundan hipotez kabul edilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğuna karar verilmiştir. Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünde kullanılan çeşitli terimler aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

$$b = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$RKT = b \times XYÇT$$

$$OAKT = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$$

$$XYQT = \Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}$$

$$RAKT = OAKT - RKT$$

$$RKO = \frac{RKT}{RSD}$$

$$RAKO = \frac{RAKT}{RASD}$$

$$F_H = \frac{RKO}{RAKO}$$

ÖZGEÇMİŞ

1962 yılında Elbistan'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi tamamladıktan sonra 1981 yılında başladığım Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'nden 1985 yılı Haziran ayında mezun oldum. 1990 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Ana Bilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım, halen aynı bölümde çalışmalarımı sürdürmekteyim.