

T.C.
Marmara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

BAZI ANALJEZİK İLAÇ MADDELERİNİN

ANALİZLERİ

(Doktora Tezi)

Kim. Müh. H.Neşe DOĞAN

Danışman: Prof.Dr. Ünal YARS
M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya
Anabilim Dalı

İstanbul-1994



***Saygının ve sevginin en
yücesine layık olanlara.....***

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. GENEL BÖLÜM	3
2.1. ASETAMİNOFEN HAKKINDA GENEL BİLGİLER	3
2.1.1. Asetaminofenin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	3
2.1.2. Asetaminofenin Kantitatif Analiz Yöntemleri	7
2.2. ASİRİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER	11
2.2.1. Aspirinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	11
2.2.2. Aspirinin Kantitatif Analiz Yöntemleri.	16
2.3. DİPİRON HAKKINDA GENEL BİLGİLER	18
2.3.1. Dipironun Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	18
2.3.2. Dipironun Kantitatif Analiz Yöntemleri.	22
2.4. KAFEİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER	26
2.4.1. Kafeinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri	26
2.4.2. Kafeinin Kantitatif Analiz Yöntemleri..	29

	Sayfa No
2.5. KARIŞIMLARDA KANTİTATİF ANALİZ YÖNTEMLERİ	31
2.5.1. Spektrometrik Analiz Yöntemleri	31
2.5.2. Kromatografik Analiz Yöntemleri	39
2.5.3. Titrimetrik Analiz Yöntemleri	46
2.6. KARIŞIMLARDA KALİTATİF ANALİZ YÖNTEMLERİ	49
2.7. ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNLERİ VE İSTATİSTİKİ BİLGİLER	52
2.7.1. İkili Karışımların Analizi	52
2.7.2. Üçlü Karışımların Analizi	59
2.7.3. İstatistikî Bilgiler	64
3. DENEYSEL BÖLÜM	69
3.1. KULLANILAN MATERYAL	69
3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler	69
3.1.2. Araç ve Gereçler	69
3.2. ASİRİN-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	70
3.2.1. Deney Koşullarınının Saptanması	70
3.2.1.1. Dalga Boyu Seçimi	70
3.2.1.2. Konsantrasyon Tayini	72
3.2.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	74
3.2.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	76
3.2.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması	84

3.2.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür	
Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması.	87
3.3. ASETAMİNOFEN-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS	
ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	93
3.3.1. Deney Koşullarının Saptanması	93
3.3.1.1. Dalga Boyu Seçimi	93
3.3.1.2. Konsantrasyon Tayini	95
3.3.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	97
3.3.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	101
3.3.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması	110
3.3.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür	
Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması .	113
3.4. DİPİRON-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI	
YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	114
3.4.1. Deney Koşullarının Saptanması	114
3.4.1.1. Dalga Boyu Seçimi	114
3.4.1.2. Konsantrasyon Tayini	116
3.4.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	118
3.4.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	121
3.4.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması	129
3.5. ASETAMİNOFEN-DİPİRON KARIŞIMININ ABSORBANS	
ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	135

3.5.1. Deney Koşullarının Saptanması	135
3.5.1.1. Dalga Boyu Seçimi	135
3.5.1.2. Konsantrasyon Tayini	137
3.5.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	139
3.5.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	142
3.5.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması	150
3.6. ASETAMİNOFEN-ASİRİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	153
3.6.1. Deney Koşullarının Saptanması	153
3.6.1.1. Dalga Boyu Seçimi	153
3.6.1.2. Konsantrasyon Tayini	155
3.6.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	156
3.6.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	158
3.6.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması	163
3.6.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması .	165
3.7. ASİRİN-DİPİRON KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	166
3.7.1. Deney Koşullarının Saptanması	166
3.7.1.1. Dalga Boyu Seçimi	166
3.7.1.2. Konsantrasyon Tayini	167
3.7.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	169

3.7.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	171
3.7.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması	177
3.8. ASETAMİNOFEN-DİPİRON-KAFEİN KARIŞIMININ	
ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	179
3.8.1. Deney Koşullarının Saptanması	179
3.8.1.1. Dalga Boyu Seçimi	179
3.8.1.2. Konsantrasyon Tayini	181
3.8.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	183
3.8.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	185
3.8.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması	194
3.9. ASETAMİNOFEN-ASPİRİN-KAFEİN KARIŞIMININ	
ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	198
3.9.1 Deney Koşullarının Saptanması	198
3.9.1.1. Dalga Boyu Seçimi	198
3.9.1.2. Konsantrasyon Tayini	200
3.9.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	202
3.9.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	204
3.9.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması	211
3.9.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması .	213
3.10. ASETAMİNOFEN-ASPİRİN-DİPİRON KARIŞIMININ	
ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	215

	Sayfa No
3.10.1. Deney Koşullarının Saptanması	215
3.10.1.1. Dalga Boyu Seçimi	215
3.10.1.2. Konsantrasyon Tayini	217
3.10.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	219
3.10.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	221
3.10.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması	228
3.11. ASPIRİN-DİPİRON-KAFEİN KARIŞIMININ	
ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ	230
3.11.1. Deney Koşullarının Saptanması	230
3.11.1.1. Dalga Boyu Seçimi	230
3.11.1.2. Konsantrasyon Tayini	232
3.11.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	234
3.11.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü	236
3.11.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması	243
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	245
5. ÖZET	259
6. SUMMARY	262
7. KAYNAKLAR	265

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Günümüzde en fazla kullanılan ilaç gurupları arasında analjezikler önemli bir yer teşkil etmektedir. Bu nedenle de yıllardan beri araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiş bir konudur. Literatürlerde analjeziklerin tek tek miktar tayinine sıklıkla rastlanmaktadır. Karışımlardaki analizi ise son yıllarda daha yoğun olarak çalışılmaktadır ve bunların büyük çoğunluğu kromatografik yöntemlerle yapılmıştır.

Bu çalışmada, her laboratuarda bulunabilen ultraviyole spektrofotometre kullanılarak, absorbens oranı yöntemi ile analjezik karışımların miktar tayinlerinin yapılması amaçlanmıştır. Analjezik karışımlar olarak asetaminofen-kafein, aspirin-kafein, dipiron-kafein, asetaminofen-dipiron ikili karışımları ve asetaminofen-dipiron-kafein üçlü karışımı seçilerek, ülkemizde kullanılmakta olan tabletlere de uygulanmıştır. Yöntem ayrıca asetaminofen-aspirin, aspirin-dipiron ikili ve asetaminofen-aspirin-dipiron, asetaminofen-aspirin-kafein, aspirin-dipiron-kafein üçlü karışımlarına da tatbik edilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirilerek yöntemin uygulanabilirliği ve farmakope sınırlarına uygun olup olmadığı belirlenmiştir.

Bu yöntemin esası, maddelerin maksimum absorbens gösterdiği dalga boyundaki ve isoabsorptif dalga boyundaki absorbens oranları ile relatif konsantrasyonlar arasında çizilen grafiğin en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilerek, elde edilen katsayıların ilgili formülde yerine konmasıyla mutlak konsantrasyonların hesaplanmasıdır.

Yöntem, karışımdaki maddelere herhangi bir ayırma işlemi uygulanmadan yanyana tayinine imkan vermekte, maddelerin ekstraksiyon, kromatografi, çöktürme gibi metodlarla birbirlerinden ayrılması işlemini gerektirmemekte, dolayısıyla analizdeki hata payını azaltmakta ve zaman kaybına da neden olmamaktadır.

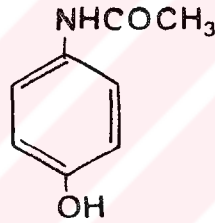
Sonuç olarak bu çalışmada geliştirilen yöntem basit ve ekonomik olup, sonuçlar kısa bir sürede elde edilmektedir.



2. GENEL BÖLÜM

2.1. ASETAMİNOFEN HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.1.1. Asetaminofenin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



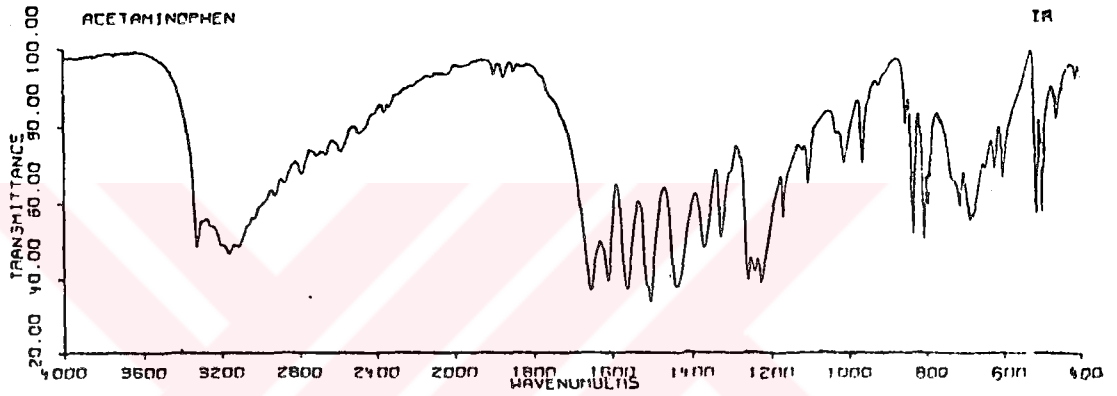
Kimyasal adı p-hidroksiasetanilid olan asetaminofen koksuz, beyaz renkli, billuri bir tozdur. Molekül ağırlığı 151.16, erime derecesi 169-170.5°C'dir(1).

Asetaminofen metanol, etanol, dimetilformamid, aseton ve etilasetatta çözünür; eterde ve suda az çözünür; petrol eteri ve benzende çözünmez. Asetaminofen zayıf asidik özellik gösterir ve doymuş çözeltisinin pH'sı 25°C'de 5.3-6.5'dir(2). pK_a Değeri 9.0-10.15 arasındadır(3).

Asetaminofenin ultraviyole spektrumu metanolde 248-249 nm (ε 13600), etanolde 249-250 nm (ε 13090-14000) ve 290 nm (ε 2000-2120) dalga boylarında maksimum absorbanans değerleri gösterir(4,5).

Asetaminofenin KBr disk içinde alınan infrared spektrumunda gözlenen ana bandlar (6):

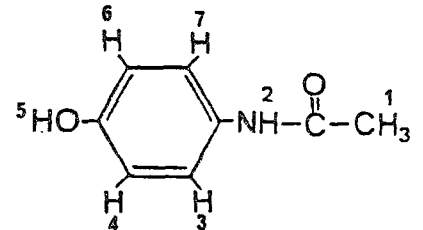
<u>Frekans (cm⁻¹)</u>	<u>Gurup</u>
1659	C=O
3326	O-H
3162	N-H

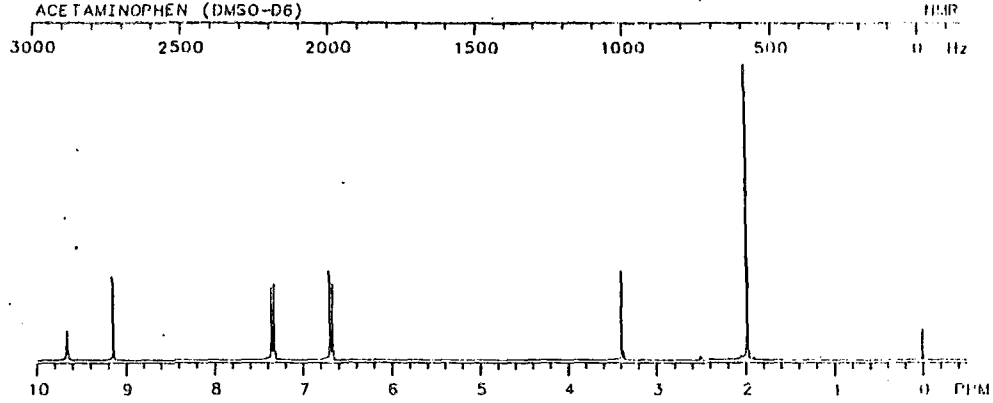


Şekil-1: Asetaminofenin infrared spektrumu.

Asetaminofenin dimetilsülfoksit-d₆ da alınan H¹-NMR spektrumunda gözlenen kimyasal kaymalar(ppm) (6,7):

<u>δ</u>	<u>Gurup</u>
2.00	H ₁
9.62	H ₂
9.17	H ₅
6.70	H ₄ , H ₆
7.35	H ₃ , H ₇





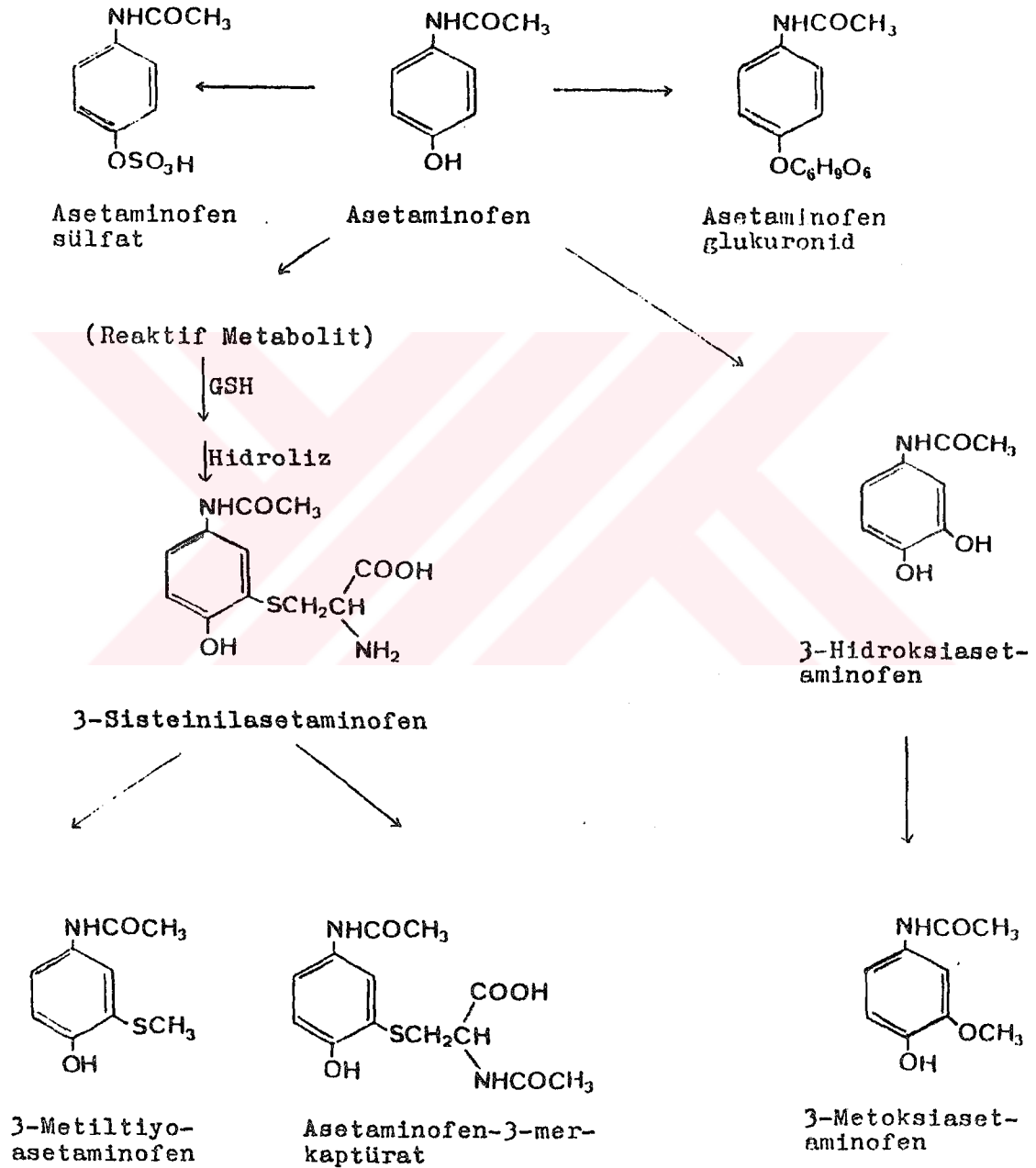
Şekil-2: Asetaminofenin NMR spektrumu.

Asetaminofen ferriklorür çözeltisi ile mavi-mor renk(4,8), kuvvetli asidik ortamda potasyumbikromat çözeltisi ile mor renk verir; etanoldeki çözeltisi Tollens belirtecinden metalik gümüş açığa çıkarır ve sodyumhidroksitteki çözeltisi diazosülfanilik asit ile kırmızı renk meydana getirir(9).

Asetaminofen yaklaşık olarak aspirininkine eşit derecede analjezik ve antipiretik etki gösterir, ancak antiinflamatuvar etkisi aspirininkinden daha düşüktür ve bu tür etkinlik gereken durumlarda kullanılmaz. Asetaminofen antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini artırmak için onlarla birlikte kullanılabilir ve antitrombotik etkisi zayıf olduğu için kanama süresini değiştirmez. Ağız yolundan alındığında çabuk absorbe edilir ve etkisi erken başlar. 30-60 Dakika içinde plazma düzeyi maksimuma erişir ve bir dozdan sonra analjezik etkisi yaklaşık 3-4 saat sürer. Mutad dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2.4 saattir (10).

Asetaminofenin büyük kısmı karaciğerde glukuronik asitle ve sülfatla konjuge olur, böbreklerden itrah edilir. Asetaminofenin metabolitleri asetaminofen glukuronid (majör metabolit), asetaminofen sülfat, 3-hidroksiasetaminofen, o-metilasetaminofen,

3-hidroksiasetaminofen-3-sülfat, 3-metoksiasetaminofen glukuronid, 3-metoksiasetaminofen sülfat, merkaptürik asit ve sistein konjugatları (minör metabolitler), 3-metiltiyo-4-hidroksiasetanilidtir(2,10,11,12,13,14).



2.1.2. Asetaminofenin Kantitatif Analiz Yöntemleri

Asetaminofenin ilk miktar tayinlerinden birisi E.R.Brown ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Asetaminofenin sodyumhidroksit çözeltisindeki absorbensı 257 nm'de tayin edilerek, ekstinksiyon katsayısı ve konsantrasyonu hesaplanmıştır(15).

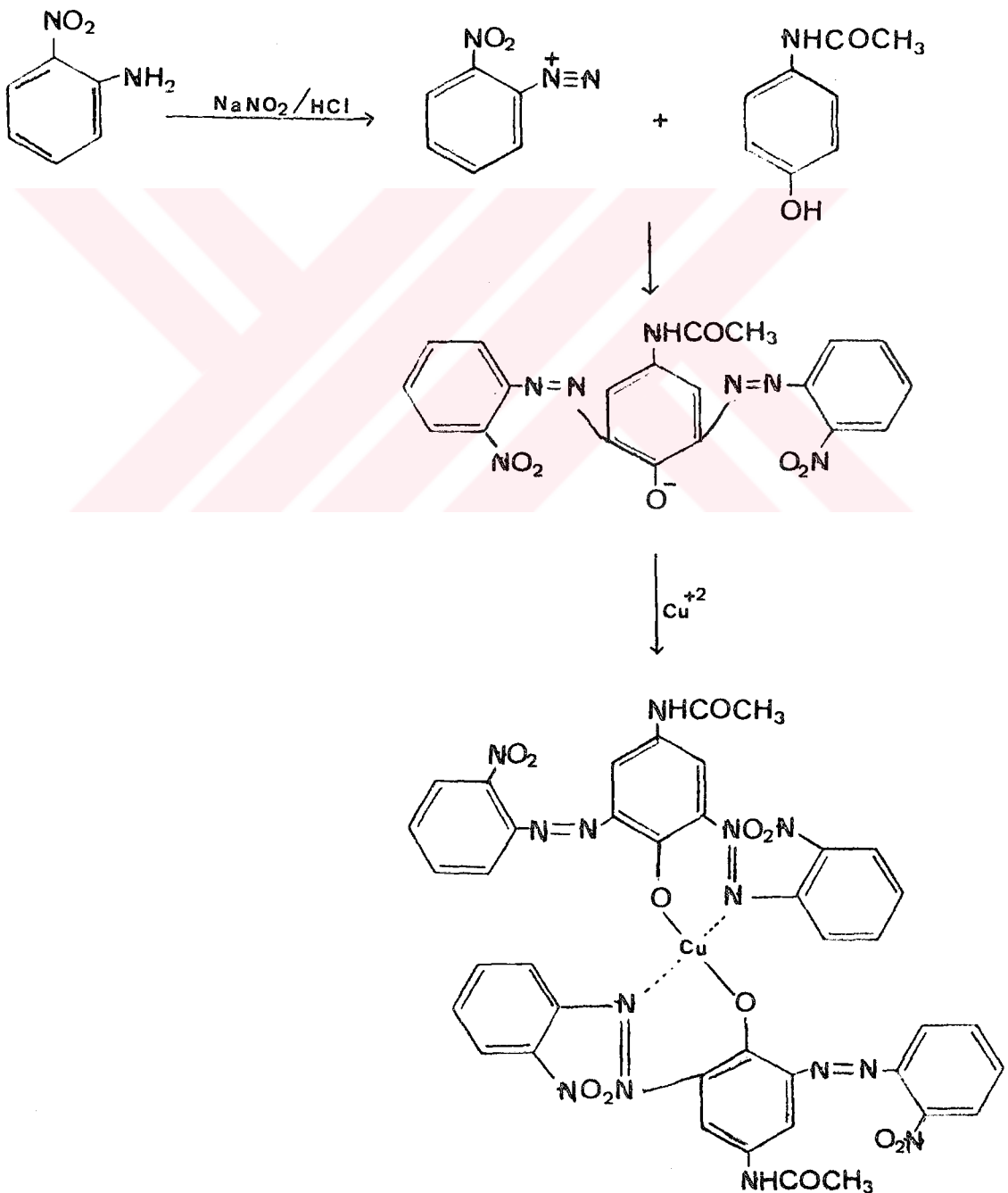
Asetaminofenin asidik ortamda hidroliziyle elde edilen p-aminofenolün vanilin ile verdiği sarı renkli bileşiğın(16) ve diazolandıktan sonra alkali ortamda β -naftol ile verdiği açık sarı renkli kenetlenme ürününün 395 nm'deki(17), sodyum-nitroprusiyat ile oluşturduğu renkli bileşiğın 725 nm'deki(18), p-dimetilaminobenzaldehit ile verdiği Schiff bazının 444 nm'deki(19,20) absorbensları tayin edilmiştir.

R.D.Deodhar ve arkadaşları asetaminofeni hidroksilamin hidroklorür ile reaksiyona sokarak, bu bileşiğın ferriklorür çözeltisiyle verdiği kırmızımsı mor rengin absorbensını 520 nm'de ölçmüşlerdir(21).

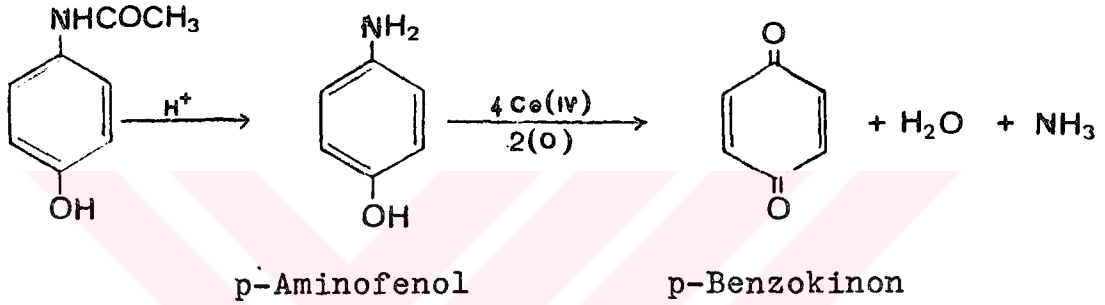
Başka bir çalışmada ise asetaminofenin asidik ortamda sodyumnitrit ile meydana getirdiğı sarımsı renkli nitroso bileşiğının 395 nm'deki absorbensı tayin edilerek, yöntem tablet ve şuruplara uygulanmıştır(22). A.A.El Kheir ve arkadaşları ise bu şekilde asetaminofenin nitroso türevini oluşturduktan sonra metanol (370 nm) ve sodyumhidroksit (430 nm) çözeltilerindeki absorbens farklarına (ΔA) karşı konsantrasyon grafiğı oluşturarak tabletlerde miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir(23).

S.Belal ve arkadaşları tablet, şurup ve damlalardaki asetaminofen tayini için üç kolorimetrik yol önermişlerdir. İlk olarak o-nitroanilini diazolayarak asetaminofen ile reaksiyona sokmuşlar ve oluşan sarı renkli azoboyar maddenin absorbensını 426

nm'de tayin etmişlerdir. İkinci olarak bu ürünün bakır(II) iyonu ile oluşturduğu kelatın kloroform içindeki absorpsiyonunu 400 nm'de okumuşlardır. Son olarak ta ikinci metodla elde ettikleri bakır(II) kelatının dietilditiyokarbamat ilavesiyle verdiği bakır(II) dietilditiyokarbamat kompleksinin 442 nm'deki absorpsiyonunu ölçmüşlerdir(24).



Asetaminofenin önce seryum(IV)sülfat ile derişik sülfürik asitli ortamda reaksiyona sokularak p-benzokinona okside edildiği, sonra benzokinonun maksimum absorpsiyon gösterdiği 410 nm'de spektrofotometrik tayinlerin gerçekteştirildiği bir çalışmada, yöntem tek ve karışım halindeki farmasötik şekillere uygulanmıştır(25).



G.S.Yoo ve I.B.Koh tabletlerdeki asetaminofen tayini için ikinci türev ultraviole spektrometrisinden yararlanmışlar ve konsantrasyonlara karşı elde edilen değerleri grafiğe geçirmışlerdir(26).

F.Onur ile N.Acar tablet ve şuruplardaki asetaminofeni tayin etmek için rodamin B ile iyon çifti oluşturduktan sonra kloroform ile ekstre etmişler ve 542.4 nm'de ölçülen absorbanslara karşı konsantrasyon grafiği çizerek kantitatif tayini gerçekteştirmışlerdir(27).

Tablet ve kapsüllerdeki asetaminofenin 0.1 N sodyumhidroksit varlığında potasyumferrisiyanür ile oluşturduğu oksidasyon ürünününün 480 nm'deki absorbansının ölçüldüğu bir kantitatif analiz yöntemi S.D.Prasad tarafından geliştirilmiştir(28).

A.Öztunç asetaminofenin dansil türevini oluşturduktan sonra

silikajel plakta kloroform-metanol solvent sistemi ile karanlıkta ince tabaka kromatografisi uygulamıştır. Lekelerin floresans özelliğini trietanolamin çözeltisi püskürtmek suretiyle artırmış ve 530 nm'de florimetrik ölçümler yapmış, pik alanlarını kesip tartarak pik ağırlığına karşı her bir lekedeki asetaminofen içeriğini grafiğe geçirmiştir(29).

Asetaminofen tablet ve kapsüllerinde kantitatif analiz için R.K.Gilpin ve M.H.Gaudet tarafından uygulanan yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yönteminde internal standart olarak metil-p-hidroksibenzoat, mobil faz olarak su kullanılmıştır(30).

M.A.Elsayed asetaminofenin metiloranj indikatörlüğünde bromlanma reaksiyonunun kinetiğini incelemiş ve zamana karşı asetaminofen konsantrasyonlarını grafiğe geçirerek, kinetik metotla miktar tayinini tabletlere uygulamıştır(31).

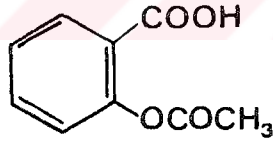
Asetaminofenin susuz ortamda titrimetrik yöntemle tayin edildiği bir çalışmada, önce amine hidroliz edilmiş, daha sonra perklorik asitle titre edilmiş, titrasyonun bitiş noktası potansiyometrik olarak septanmıştır(32). P.N.Vyas ve R.B.Kharat'ın uyguladığı susuz ortamda titrimetrik yöntemde ise asetaminofen asetonda çözüldükten sonra isopropanoldeki 0.1 N potasyumhidroksit çözeltisi ile titre edilmiş ve yine bitiş noktası potansiyometrik olarak belirlenmiştir(33).

M.C.Inamdar ve arkadaşları tek ve karışım halindeki farmasötik preparatlardan asetaminofeni tayin etmek için uyguladıkları titrimetrik metotta asetaminofeni asidik ortamda hidroliz ettikten sonra 0.1 M sodyumnitrit çözeltisi ile titre etmişlerdir(34). U.Elste ve H.Duda tablet ve supozituarlardaki asetaminofeni, asidik ortamda 0.1 N sodyumnitrit çözeltisi ile metilen mavisi ve tropeolin-00 indikatörlüğünde titre ederek tayin etmişlerdir(35).

H.M.El-Fataty ve arkadaşları etken madde ve tabletlerinde asetaminofeni tayin etmek için %20'lik etanoldeki çözeltisini 1 M sodyumhidroksit çözeltisi ile titre etmişler ve titrasyonun bitiş noktasını kondüktimetrik olarak saptamışlardır. Okunan kondüktivite değerlerine karşı titrasyon çözeltisinin hacmini koyarak çizilen titrasyon grafiğindeki iki doğrunun ekstrapolasyonu ile bitiş noktasına tekabül eden titrant hacminden kantitatif hesaplamalara geçmişlerdir(36).

2.2. ASPIRİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.2.1. Aspirinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



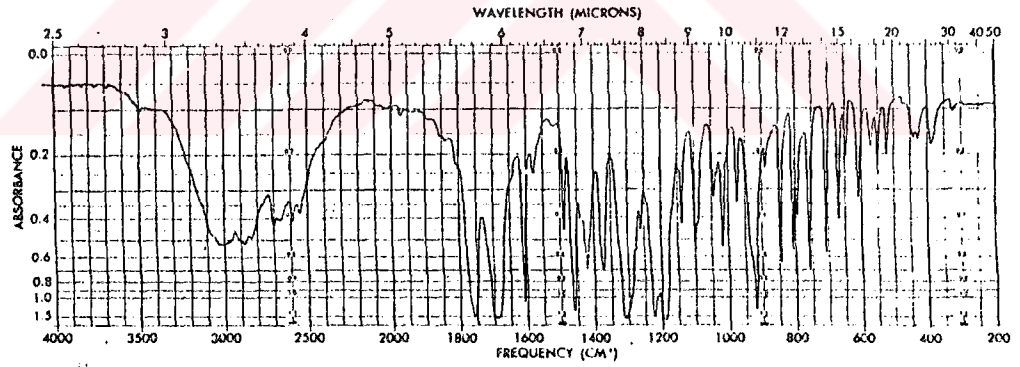
Kimyasal adı 2-(asetiloksi)benzoik asit olan aspirin beyaz renkli, kokusuz, billuri bir tozdur. Nemli ortamda zamanla hidroliz olarak salisilik asit ve asetik asit verir(1). Molekül ağırlığı 180.16, erime derecesi 135-137°C'dir(37).

1 g Aspirin 25°C'de 300 ml suda, 37°C'de 100 ml suda, 5 ml etanolde, 17 ml kloroformda, 10-15 ml eterde çözünür; alkali hidroksit ve karbonat çözeltilerinde çözündürüldüğü veya suyla kaynatıldığı zaman dekompoze olur(1). pK_a Değeri 3.55 olan aspirinin sudaki çözeltisi asidik özellik gösterir(38).

Aspirinin ultraviyole spektrumu 0.1 N sülfürik asitte 229 nm ($E_1^{1.484}$), dilüe triklorasetik asitte 276 nm ($E_1^{1.65.5}$) ve kloroformda 277 nm ($E_1^{1.68}$) dalga boylarında maksimum absorbanans değerleri gösterir(4,38).

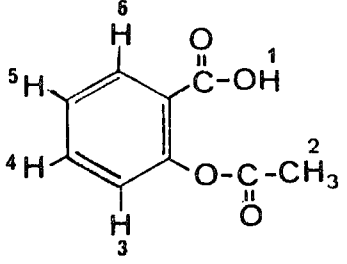
Aspirinin KBr disk içinde alınan infrared spektrumunda gözlenen ana bandlar(38):

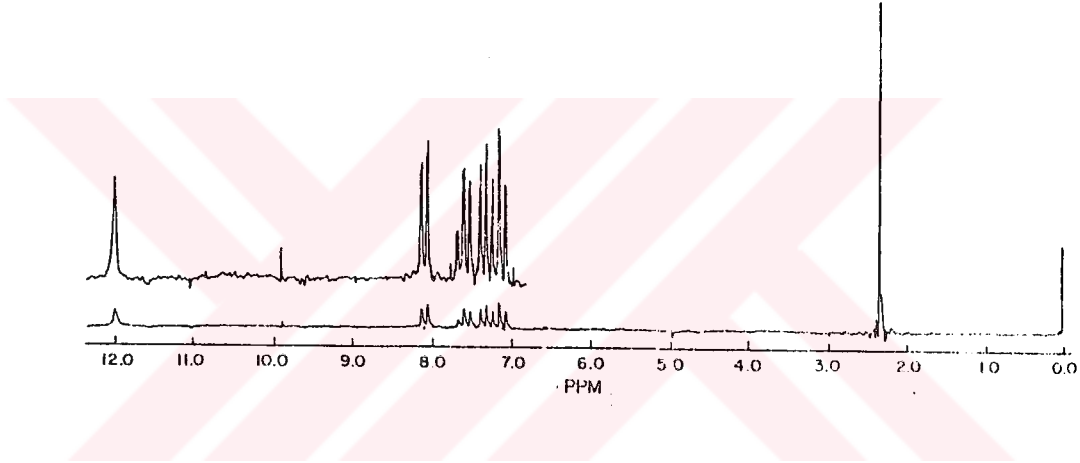
<u>Frekans(cm^{-1})</u>	<u>Gurup</u>
3300-2500	O-H
1760	C=O (ester)
1690	C=O (asit)
1220	C-O (ester)
1190	C-O (asit)



Şekil-3: Aspirinin infrared spektrumu.

Aspirinin döterokloroformda alınan H^1 -NMR spektrumunda gözlenen kimyasal kaymalar(ppm)(38):

<u>δ</u>	<u>Gurup</u>	
12.04	H ₁	
2.34	H ₂	
7.13	H ₃	
7.61	H ₄	
7.33	H ₅	
8.11	H ₆	



Şekil-4: Aspirinin NMR spektrumu.

Aspirin Mandelin's reaktifi ile hafif mavi-yeşil renk verir ve zamanla kırmızı-mora döner(39); Vitali Morin testi ile turuncu-kırmızı renk(40), hidrolizden sonra ferriklorür çözeltisi ile kırmızı-mor bir renk(9) verir.

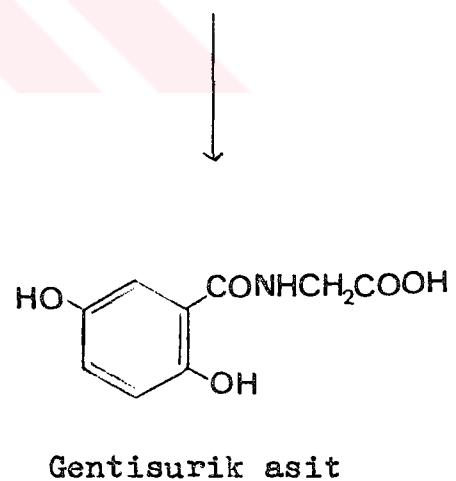
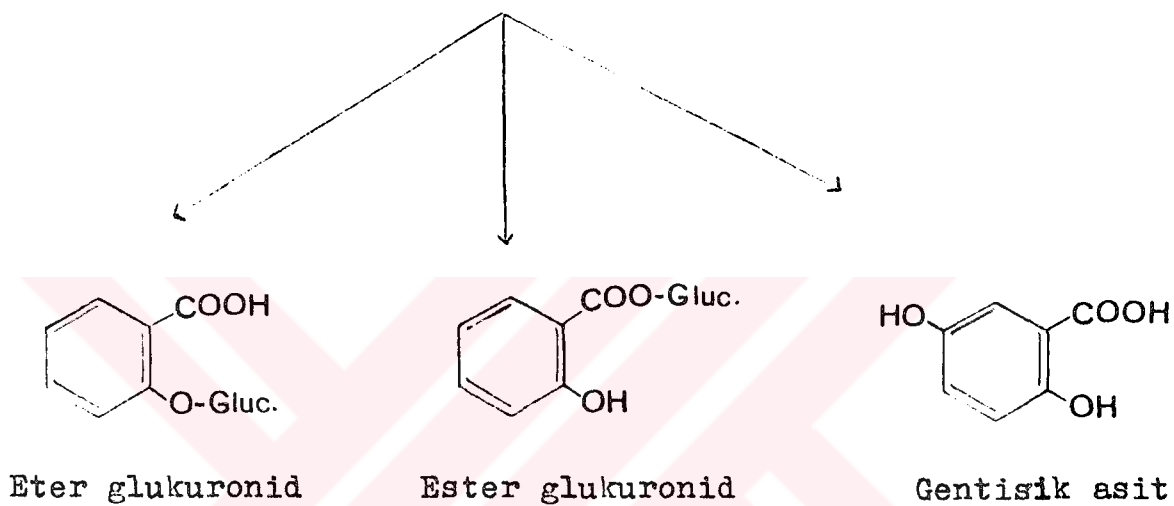
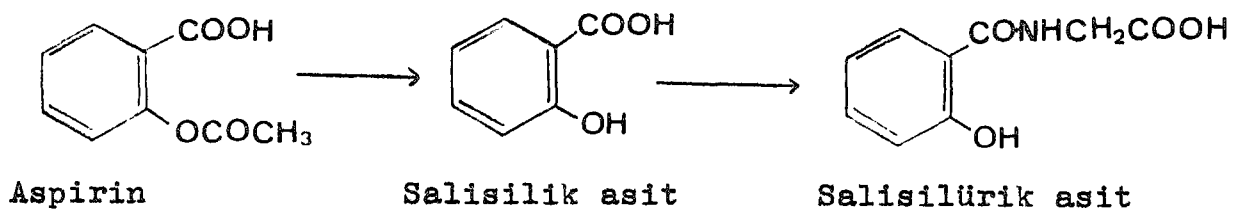
Aspirin analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar ilaçlar içinde en fazla kullanılanı ve en ucuz olanıdır. Diğer antiinflamatuvar analjeziklerden farklı olarak trombosit siklooksijenazı irreversibl olarak inhibe eder ve mide suyunun asit ortamında noniyonize halde bulunduğu için, mideden absorpsiyonu iyidir. Bu nedenle aspirin alındıktan kısa süre sonra kandaki düzeyi minimum etkin düzeyin üstüne çıkar ve analjezik etki baş-

lar. Absorpsiyon ince barsakta da devam eder(10).

Aspirinin serum esteraz aktivitesi cinsiyete ve yaşa bağılı olarak farklılıklar gösterir(41).

Aspirin normal dozda vücuda alındıktan 22 dakika sonra salisilik asit olarak idrarda tespit edilebilir ve 12 saat sonra artık salisilik aside rastlanmaz(38). Aspirin vücutta hızla salisilik aside dönüşür ve in vivo hidrolizinin büyük kısmı karaciğerde olurken sadece %20'si kanda meydana gelir(42,43,44,45). Aspirinin salisilik aside hidrolizini takiben diğer metabolik yollar gerçekleşir ve salisilik asit beş yolla renal olarak itrah edilebilir:

- 1) Çok az bir kısmı değişmeden salisilik asit olarak kalır,
- 2) Glisin ile konjuge olarak salisilürik aside dönüşür (majör metabolit),
- 3) Karboksil gurubunun konjugasyonu ile salisilglukuronik aside dönüşür,
- 4) Fenolik hidroksil gurubunun konjugasyonu ile salisilik asit fenol glukuronide dönüşür,
- 5) Hidroksilasyon ile gentisik aside dönüşür, gentisik asit de glisin ile konjuge olarak gentisurik aside dönüşür(46, 47,48,49).



2.2.2. Aspirinin Kantitatif Analiz Yöntemleri

Aspirinin ilk tayinlerinden birisi 1917 yılında R.Miller tarafından yapılmıştır. Miller aspirini eterle ekstre ettikten sonra, eteri uçurarak gravimetrik tayine geçmiştir(50).

M.I.Walash ve M.Rizk aspirin tabletlerinde miktar tayini yaparken 0.1 N sodyummetoksit çözeltisi ile titre etmişler ve titrasyonun bitiş noktasını potansiyometrik olarak belirlemişlerdir(51).

Tabletlerdeki aspirin tayini için W.H.Chan ve arkadaşları tarafından uygulanan iyon seçici elektrot analizinde aspirinin alkali ile hidrolizinden sonra çözeltinin emk değeri ölçülerek konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilmiştir(52).

R.B.Tinker ve A.J.McBay aspirin içeren tablet ve kapsülleri spektrofotometrik olarak analiz ederken, kloroform çözeltisindeki absorbanları iki dalga boyunda okuyup, elde edilen değerleri formülde yerine koyarak hesaplamalara geçmişlerdir(53).

Diferansiyel spektrofotometresiyle aspirinin kantitatif tayininde, diferansiyel absorpsiyon maksimumu ve 298 nm'de salisilik asidin gösterdiği isoabsorptif nokta arasındaki korelasyonun önemi vurgulanmıştır(54).

W.E.Juhl ve R.D.Kirchhoefer tabletlerde aspirin tayinini yarı otomatik bir yöntemle gerçekleştirmişlerdir. Otomatik olarak gerçekleşen bir dizi ayırma işleminden sonra çözeltinin absorbanını 280 nm'de okumuşlardır(55).

Aspirin tabletlerinde miktar tayini için geliştirilen kolo-rimetrik bir yöntemde aspirinin 3,3'-dimetoksibenzidin dihidro-

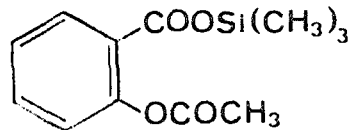
klorür ile verdiği rengin absorbandsı 455 nm'de kaydedilmiştir (56). Başka bir çalışmada bazik fuksin ile verdiği kompleksin gösterdiği absorbands 555 nm'de tayin edilmiştir(57). Aynı tip bir araştırma da aspirin hidroliz edildikten sonra Trinder's reaktifi ile oluşturduğu rengin 540 nm'deki absorbandsını ölçerek yapılmıştır(58).

J.R.Luber ve arkadaşları tek veya tamponlanmış olan tabletlerde tayin için, aspirini kloroforma alarak bir kolondan geçirdikten sonra eluatın absorbandsını 278 nm'de okumuşlardır(59).

S.Ebel ve G.Herold aspirini ince tabaka kromatografisi ile ayırdıktan sonra florimetrik olarak tayin etmişlerdir(60).

Kandaki aspirin ve salisilik asit tayini için maddeler kağıt kromatografisiyle %0.75 nitrik asit ile ayrıldıktan sonra oluşan alkali salisilat iyonuna florimetrik tayin uygulanmıştır(61). Etken maddede ve kandaki metabolit tayininde ise, aspirinin hidroliz edilmesiyle oluşan salisilik asit florimetrik olarak belirlenmiştir(62,63). Plazmada aspirin tayini için geliştirilen bir yöntem de salisilik asidin Folin-Ciocalteu reaktifiyle verdiği mavi rengin absorpsiyonunun 670 nm'de tayinini içermektedir(64).

Plazmada aspirin tayininde gaz sıvı kromatografisi yönteminin tercih edildiği çalışmalarda alev iyonizasyon dedektör kullanılarak, trimetilsilil türevi şeklinde tayin gerçekleştirilmiştir(65,66).



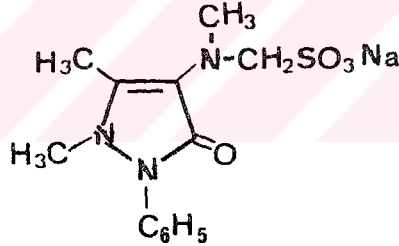
Trimetilsilil 2-asetoksibenzoat

Benzer bir çalışma aspirin içeren tablet ve kapsüller için de yapılmıştır(67).

R.H.Rumble ve arkadaşları plazmadaki metabolitleri ile birlikte aspirini de tayin etmek için geliştirdikleri ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yönteminde internal standart olarak p-toluik asit, mobil faz olarak asetonitril-%0.03 fosforik asit çözeltisini kullanmışlardır. Dedektör cevabını 237 nm'-de kaydetmişlerdir(46).

2.3. DİPİRON HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.3.1. Dipironun Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



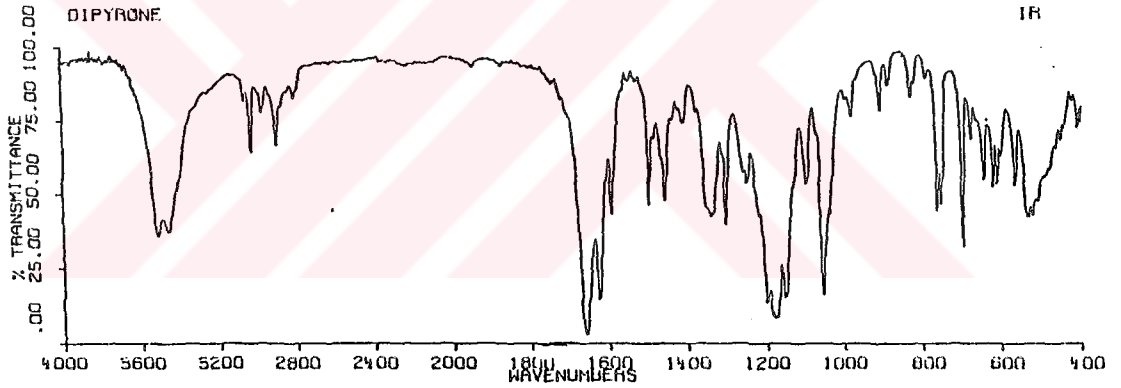
Kimyasal adı [(2,3-dihidro-1,5-dimetil-3-okso-2-fenil-1H-pirazol-4-il)metilamino]metansülfonik asit sodyum tuzu olan dipiron kokusuz, beyaz renkli bir tozdur. Molekül ağırlığı 333.334, erime derecesi 172°C'dir(4).

Dipiron suda ve metanolde kolay çözünür; etanolde az çözünür; eter,aseton, benzen ve kloroformda pratik olarak çözünmez (1). Dipironun sudaki çözeltisi nötral özellik gösterir.

Dipironun ultraviyole spektrumunda %0.001'lik çözeltisinin omuz şeklindeki maksimum absorpsiyonları 242 ve 271 nm'lerde-dir(9).

Dipironun KBr disk içinde alınan infrared spektrumunda gözlenen ana bandlar(6):

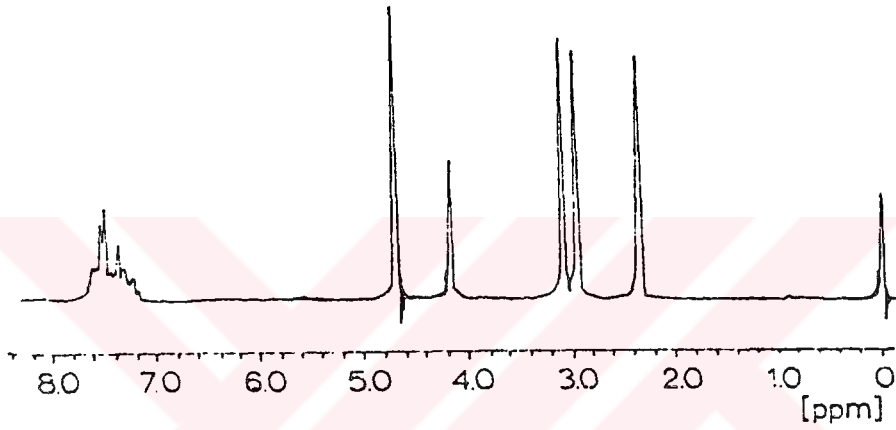
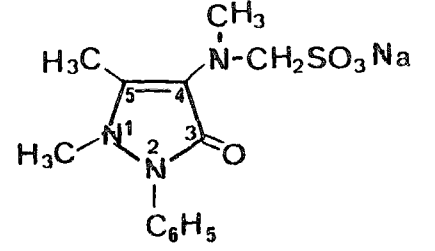
<u>Frekans(cm^{-1})</u>	<u>Gurup</u>
1660	C=O
1498	C=C
1174	C-N
1054	S-O



Şekil-5: Dipironun infrared spektrumu.

Dipironun, internal standart olarak 3-(trimetilsilil)propionik asit sodyum tuzunun (TPS) kullanıldığı ve D_2O içinde alınan H^1 -NMR spektrumunda gözlenen kimyasal kaymalar(ppm)(68):

<u>δ</u>	<u>Gurup</u>
2.33	$C_5 - CH_3$
2.96	$C_4 - N - CH_3$
3.10	$N_1 - CH_3$
4.16	$C_4 - N - CH_2$
7.10-7.80	$N - C_6H_5$

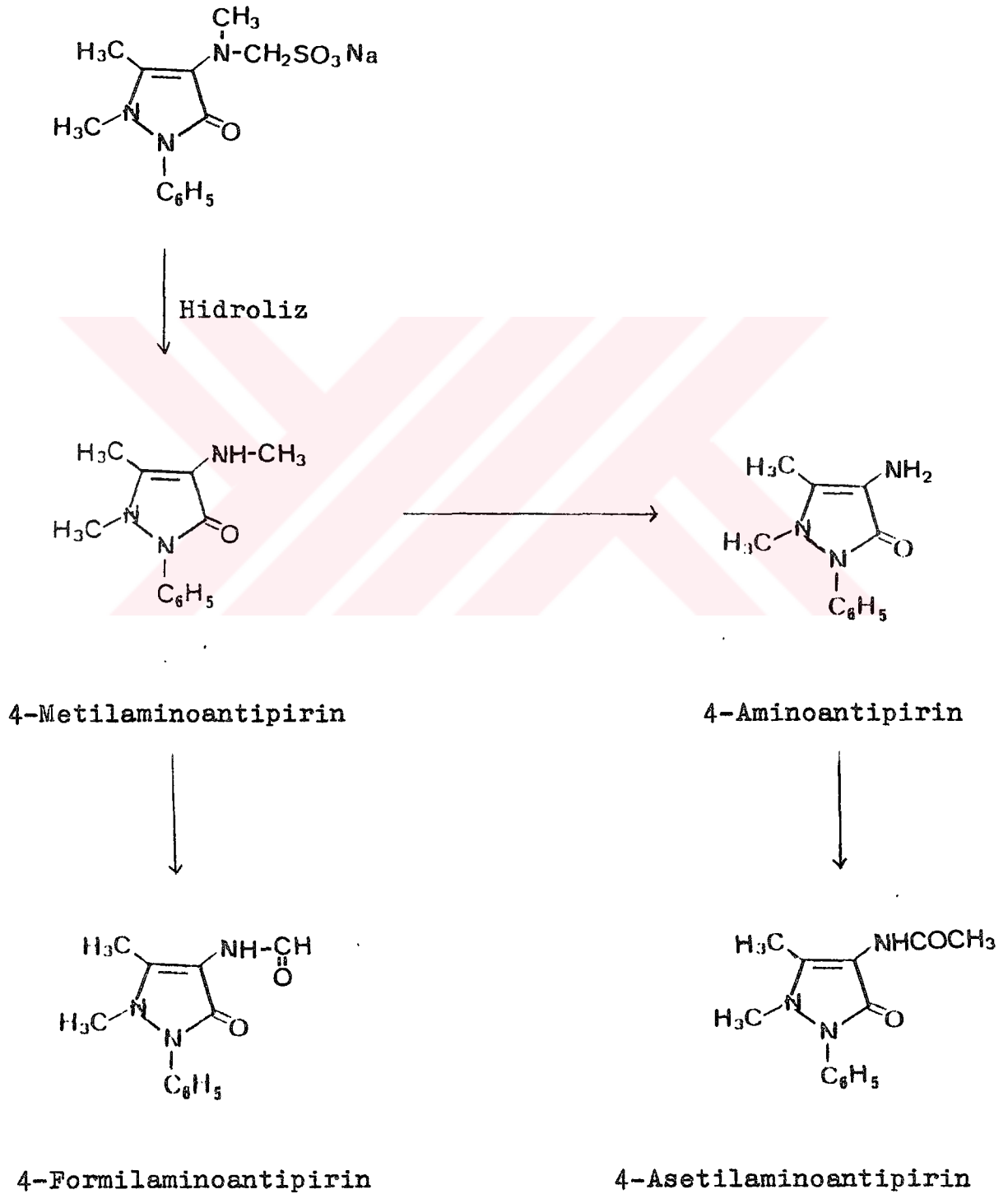


Şekil-6: Dipironun NMR spektrumu.

Dipiron ferriklorür çözeltisi ile mor renk, nitroz asit ile geçici mavi renk, Millon belirteci ile koyu mavi renk verir. Dipironun dilüe hidroklorik asitteki çözeltisine kalsiyumhipoklorit çözeltisi ilave edilirse koyu mavi renk meydana gelir ve bir süre sonra koyu kırmızıya döner(4,9). p-Dimetilaminobenzaldehyt ile verdiği açık sarı renk ısı ile turuncuya döner(69,70).

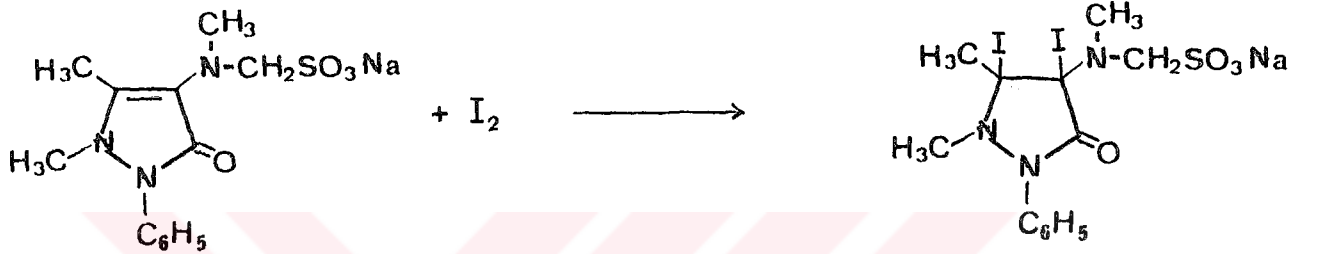
Dipironun analjezik ve antipiretik etkinlikleri kuvvetli, fakat antiinflamatuvar etkinliği nispeten zayıftır. 4-Metilaminoantipirine dönüşerek mide-barsak kanalında absorbe edilir. 4-Metilaminoantipirin karaciğerde önce demetilasyonla 4-aminoantipirine, sonra N-asetilasyonla 4-asetilaminoantipirine dönüşerek metabolize edilir. Diğer metaboliti 4-formilaminoantipirindir(4,

10,71). Dipironun eliminasyon yarılanma ömrü 4-7 saattir ve metabolitleri özellikle böbrekten itrah edilir.



2.3.2. Dipironun Kantitatif Analiz Yöntemleri

Dipiron ile ilgili ilk çalışmalar 1932 yılında H.J.Van Giffen tarafından yapılmıştır(72). Sonraki yıllarda farmasötik preparatlardan kantitatif olarak analiz edilmesi için çeşitli titrimetrik yöntemler geliştirilmiştir(73,74).

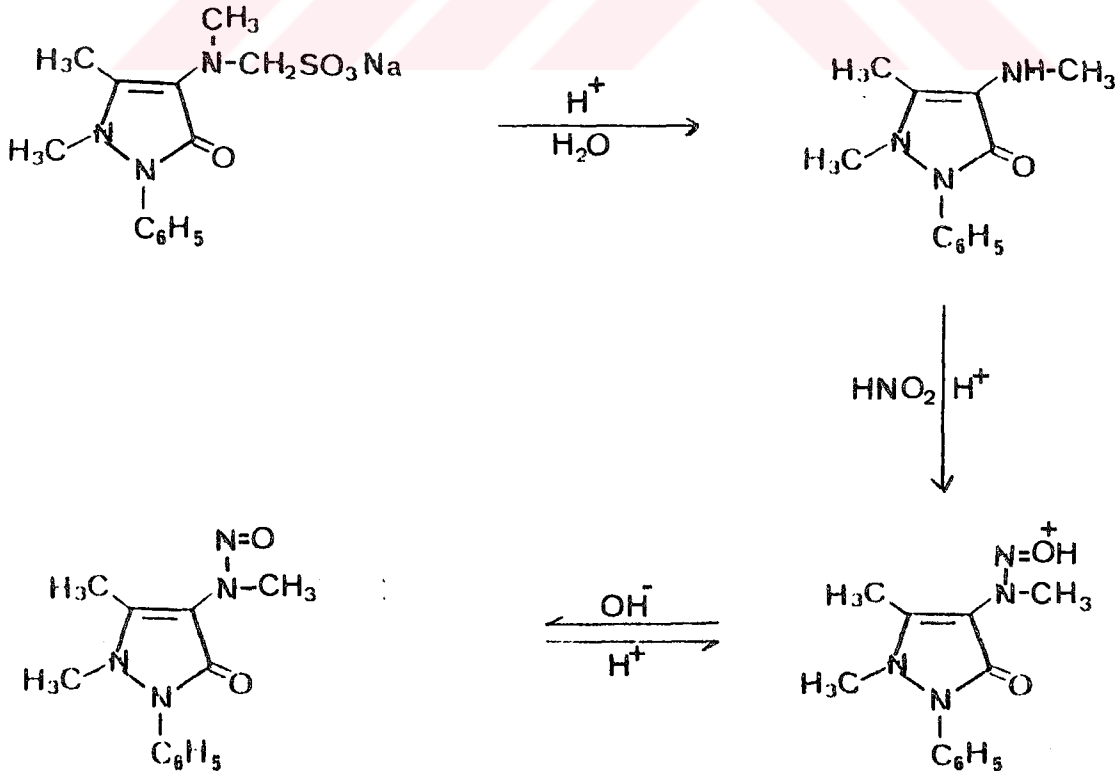


M.A.Elsayed ile arkadaşları tablet ve ampullerdeki dipironu tayin etmek için diferans spektrofotometrik yöntemi kullanmışlardır. Dipironun asit ve alkali ortamda çeşitli dalga boylarındaki absorbans farkı (ΔP) ile normal ve brom çözeltisiyle okside olmuş halde maksimum dalga boyundaki absorbans farklarını (ΔA) kullanarak iki ayrı tayin gerçekleştirmişlerdir. Farklara karşı konsantrasyon grafiği çizerek dipironun miktarını tayin etmişlerdir(75).

Dipironun iyodik asit ile reaksiyonu neticesinde açığa çıkan iyotun petrol eteri ile ekstre edilerek ayrıldıktan sonra, 523 nm'de tayin yapılarak kantitatif bir analiz gerçekleştirilmiştir(76). Benzer bir çalışma da S.Z.Qureshi ve arkadaşları tarafından yapılmış, dipiron asidik ortamda potasyumiyodat ile okside edildikten sonra elde edilen bileşiğin 460 nm'deki absorbansı tayin edilmiştir(77).

A.Vegh ve arkadaşları dipironu p-dimetilaminobenzaldehit ile reaksiyona soktuktan sonra 250 nm'de spektrofotometrik olarak tayin etmişler ve yöntemi tabletlere uygulamışlardır(78). M.V.Devi ve arkadaşları ise asetaldehit ile verdiği sarı rengin 400 nm'deki absorbandsını ölçerek tayin yapmışlardır(79).

B.N.Sarkar dipironu Grote's reaktifi ile bir süre ısıttıktan sonra oluşan kırmızı rengin absorbandsını 500 nm'de okuyarak, yöntemi tek ve karışım halindeki tablet ve ampullere uygulamıştır(80). Aynı tip kolorimetrik çalışmalar bromtimol maviyi sarı, Dragendorff's reaktifiyle kırmızı, kromotropik asitle mor, fenol ile hidrolizden sonra potasyumferrisiyanür ile turuncu renkler elde edilerek, ilgili dalga boylarında absorbandsları tayin edilmek suretiyle gerçekleştirilmiştir(81,82, 83,84). H.Abdine ve arkadaşları ise asidik ortamda nitroz asitle verdiği sarımsı rengin absorbandsını 403 nm'de okuyarak kantitatif analiz yapmışlardır(85).



Tablet, ampul ve supozituarlarda tayin için A.M.Diab tarafından uygulanan bir yöntemde ise derişik sülfürük asitle muamele neticesinde ayrılan formaldehit ile 3-sülfonik-5-amino- α -naftolün oluşturdıkları bileşigin sarı rengi su ile seyreltildikten sonra maviye dönmüş ve 405 nm'de tayin edilmiştir(86).

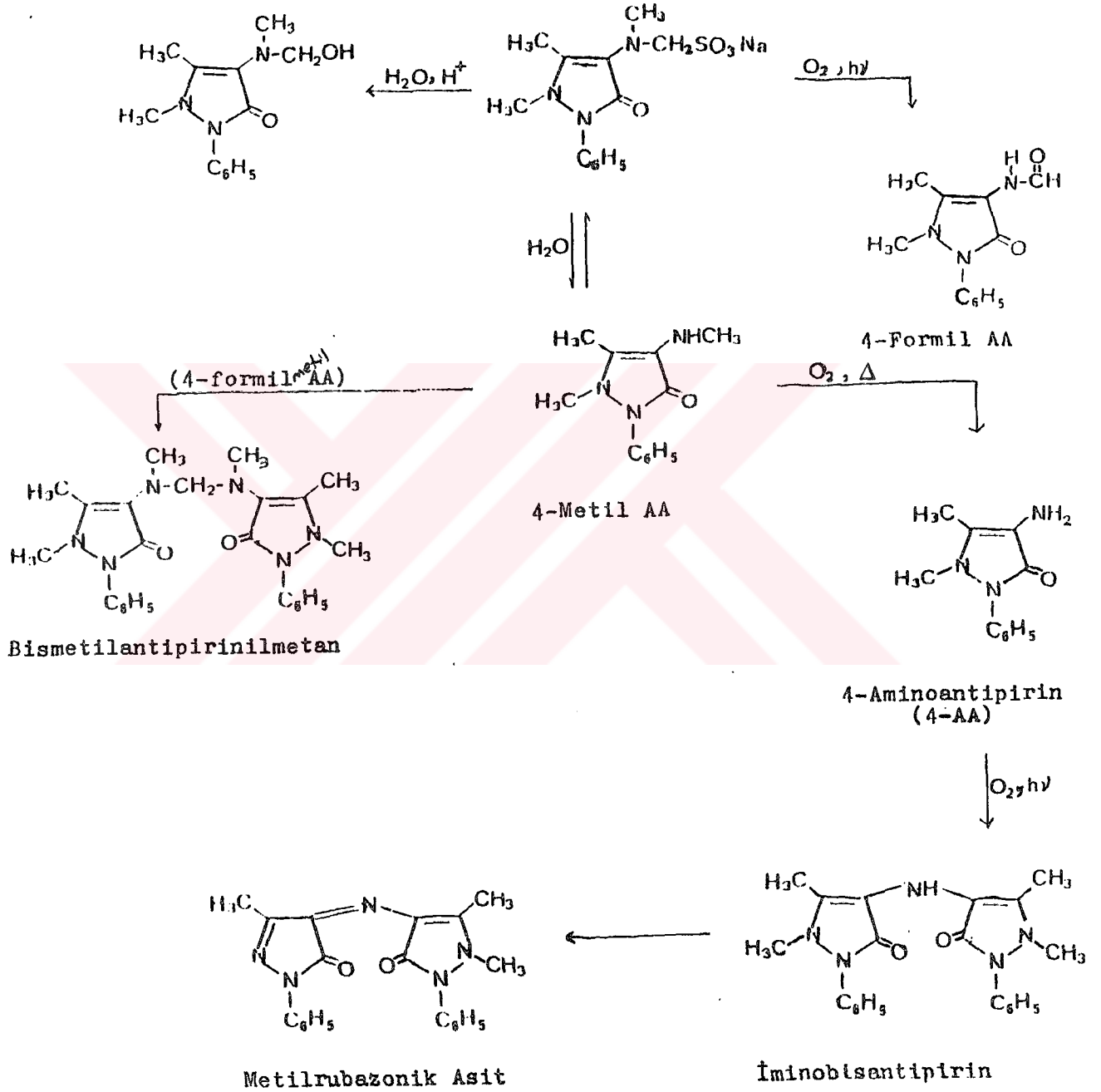
N.Ergenç ve S.Rollas NMR spektroskopisi ile dipiron ampullerinde yaptıkları kantitatif tayinde eksternal standart olarak tetrametilsilan, internal referans olarak 3,5-dimetilpirazol, çözücü olarak ta glasiyel asetik asit kullanmışlar ve tayin için 4.29 ppm'deki $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$ 'ya ait singletten yararlanarak hesaplamalara geçmişlerdir(87). Dipiron ampulleri için benzer bir NMR yöntemi H.M.El-Fatary tarafından geliştirilmiştir. Eksternal standart olarak 3-(trimetilsilil)propiyonik asit sodyum tuzu, internal standart olarak maleik asit, çözücü olarak ta suyun kullanıldığı bu araştırmada sonuçlara geçmek için 6.40 ppm'deki singletten yararlanılmıştır(68).

H.Fabre ve arkadaşları preparatlardaki dipiron ve bozulma ürünlerinin tayini için ince tabaka kromatografisini kullanarak yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. İnternal standart olarak teofilin, mobil faz olarak etanol-kloroform-benzen-%10 amonyak çözeltisi (50:30:18:2) kullanmışlar ve oluşan lekeleri 254 nm'de ultraviöle ışık altında tespit ettikten sonra 273 nm'deki bir kromatogram spektrofotometresi kullanarak direkt spektrometrik ölçümlerle kantitatif tayine geçmişlerdir(88).

Aynı araştırmacılar aynı çalışmayı bir de ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle yapmışlardır. İnternal standart olarak fenasetin, mobil faz olarak metanol-su-trietilamin çözeltisi (50:50:0.025) kullanarak kromatogramları 254 nm'de kaydetmişlerdir(89).

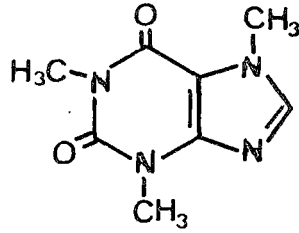
Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile biyolojik sıvılarda dipiron tayini de yapılmıştır(90).

Dipironun bozulma şekilleri(88):



2.4. KAFEİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.4.1. Kafeinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri



Kimyasal adı 1,3,7-trimetil-2,6-diokso-1,2,3,6-tetrahidropurin olan kafein kokusuz, beyaz renkli bir tozdur. Molekül ağırlığı 194.19, erime derecesi 235-237.5°C'dir(91).

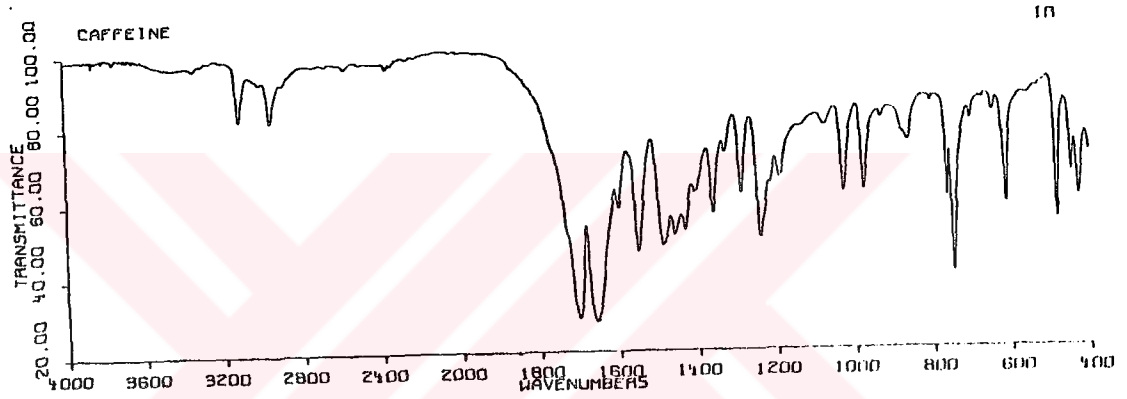
1 g Kafein 50 ml suda, 75 ml etanolde, 6 ml kloroformda, 600 ml eterde, 50 ml asetonunda, 100 ml benzende çözünür. Kafeinin sudaki ve etanoldeki çözünürlüğü ısı ile artar(1), ayrıca kuvvetli alkali çözeltilerde derhal dekompoze olur(4).

Kafein zayıf bir bazdır (pK_a 14.0) ve stabil tuzlar oluşturamaz; hidroklorür gibi kuvvetli asit tuzları bile suyla kolayca hidroliz olur.

Kafeinin ultraviyole spektrumu metanolde 272 nm, etanolde 273 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 519), 0.1 N HCl çözeltisinde 272 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 470)-275 nm ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 490) dalga boylarında maksimum absorbanans değerleri gösterir(4, 91,92).

Kafeinin KBr disk içinde alınan infrared spektrumunda gözlenen ana bandlar(6,91):

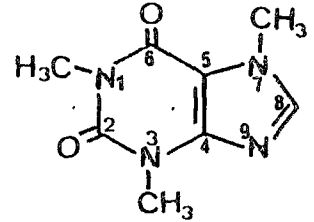
<u>Frekans(cm^{-1})</u>	<u>Gurup</u>
3110, 2950	CH_3 ve CH
1700	C=O
1650	C=N

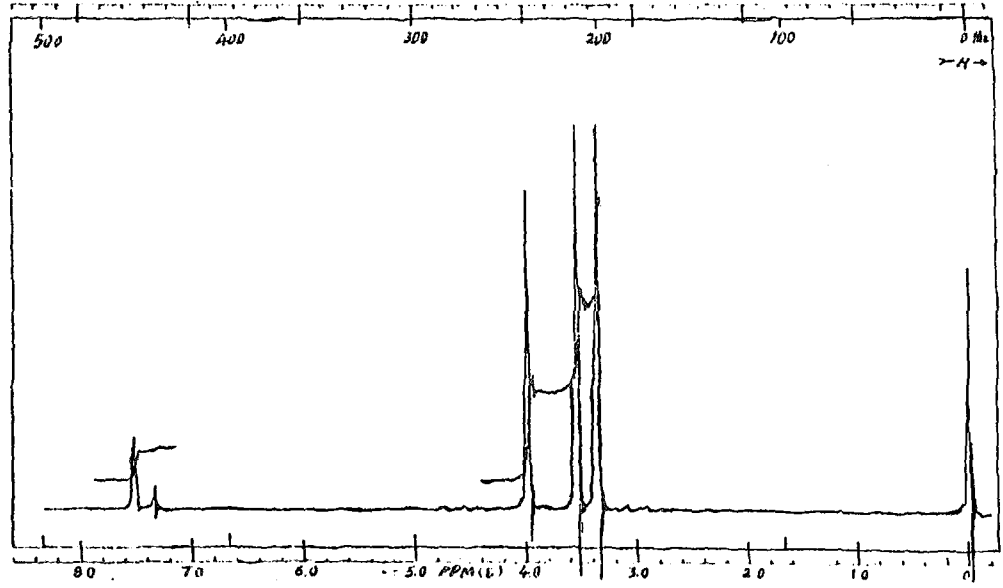


Şekil-7: Kafeinin infrared spektrumu.

Kafeinin dötörokloroformda alınan H^1 -NMR spektrumunda gözlenen kimyasal kaymalar(ppm)(91):

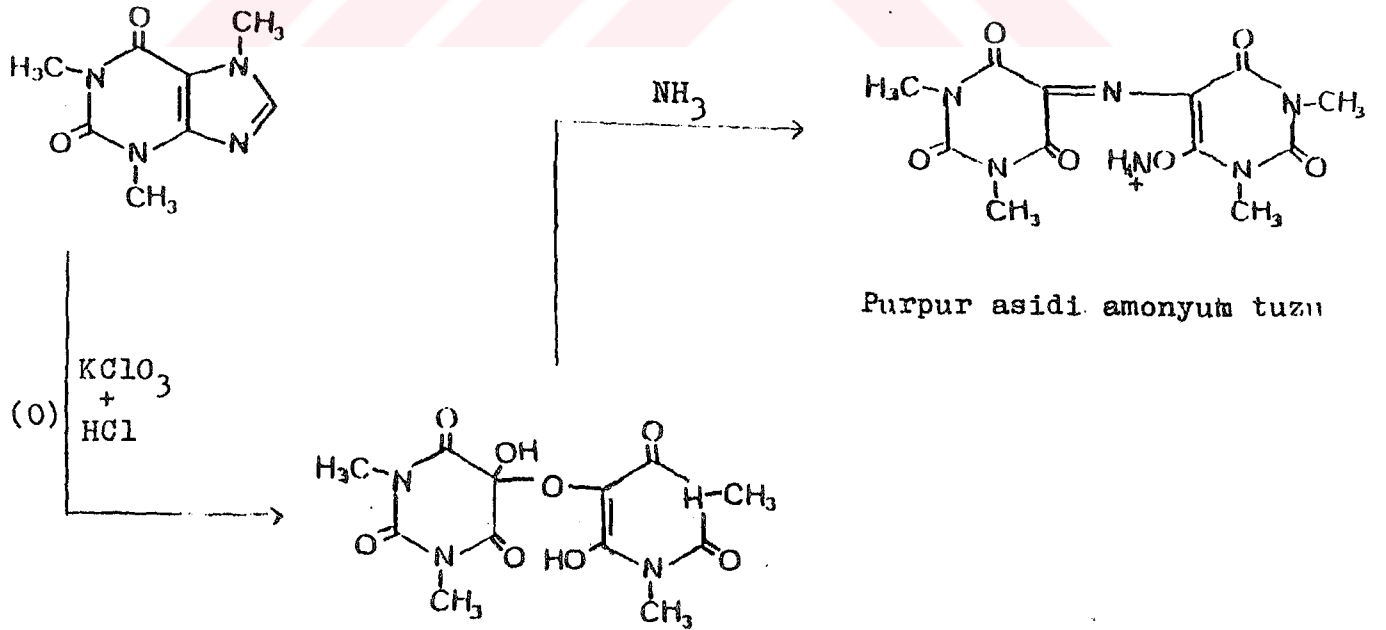
<u>δ</u>	<u>Gurup</u>
3.53	$^1\text{N-CH}_3$
3.33	$^3\text{N-CH}_3$
3.98	$^7\text{N-CH}_3$
7.54	^8H





Şekil-8: Kafeinin NMR spektrumu.

Kafein çözeltisine hidroklorik asit ve iyot çözeltisi ilave edilirse kahverengi çökelti oluşur. Kafein tannik asit çözeltisiyle reaktifin fazlasında çözünen bir çökelti verir. Hidroklorik asit ve potasyumklorat ile reaksiyonu neticesinde meydana gelen kırmızımsı renkli artık amonyak buharlarına tutulursa er-guvani renkli purpur asidi amonyum tuzunu (müreksit) verir ve sodyumhidroksit çözeltisi ilavesiyle renk kaybolur(9,93).



Metilksantin türevi bir alkaloid olan kafein santral sinir sistemini stimüle eder. Ağızdan 200-400 mg dozunda alındığında psikostimulan etkinlik göstererek dikkati artırır, yorgunluğu azaltır. Kafeinin bellek fonksiyonları üzerine bir etkisi yoktur ve genellikle bağımlılık oluşturmaz(10).

Kafein bazı analjezik müstahzarlara katılır. Ancak kendisinin analjezik etkisi yoktur ve analjezik ilaçların etkisini artırmaz. İntravenöz veya ağızdan 250 mg dozunda verilen kafeinin beyin kan akımını azalttığı bulunmuştur; bazı baş ağrısı tiplerinde beyin damarlarının vazodilatasyonunun katkısı olduğundan, baş ağrısına karşı kullanılan analjezik müstahzarlar içindeki kafeinin analjeziye bu şekilde bir katkısı olabilir(10).

Kafeinin gastrointestinal bölgeden absorpsiyonu hızlı fakat düzensizdir. Kafeinin absorpsiyonu pH'ya bağlıdır ve pH'nın yükselmesiyle artar. Plazma yarı ömrü 4-10 saat olan kafein dokuda hızla metabolitlerine dönüşür ve idrarla itrah edilir. 48 Saat içinde verilen dozun %45'i 1-metilksantin ve 1-metilürik asit olarak, az bir kısmı ise değişmeyen kafein halinde idrardan atılır. Diğer metabolitleri 3,7-dimetilksantin; 1,3-dimetilksantin; 1,7-dimetilksantin; 7-metilksantin; 3-metilksantin; 1,3,7-trimetilürik asit; 1,3-dimetilürik asit ve 1,7-dimetilürik asittir(91,94,95).

2.4.2. Kafeinin Kantitatif Analiz Yöntemleri

Kafeinin ilk tayinlerinden birisi W.O.Emery tarafından gravimetrik olarak yapılmıştır(96).

O.Atay ve P.Bulut aspirinle kombinasyon halindeki kafeini tayin etmek için 0.1 N sodyumhidroksitteki çözeltisinin 265 ve 323 nm'lerdeki absorbans değerlerinin farkını hesaplayarak kon-

santrasyona karşı grafiğe geçirmişlerdir. Bu çalışmalarında 0.1 N sodyumhidroksitteki aspirini boş çözelti olarak kullanmışlardır(97).

R.A.Daoust kafein içeren tabletlerde kantitatif tayin için kolorimetrik bir yöntem geliştirmiştir. Kafeini fosfomolibdik asit ile kafeinfosfamolibdat şekline dönüştürerek, bu sarı renkli bileşiğin 440 nm'deki absorpsiyonunu aseton çözeltisi içinde tayin etmiştir(98).

Benzer bir çalışma N.M.Sanghavi ve A.V.Katdare tarafından yapılmıştır. Kafeinin silikotungstik asit ile oluşturduğu kompleksin 265 nm'deki absorpsiyonu distile su içinde tayin edilmiştir. Yöntem tek ve karışım halindeki tabletlere uygulanmıştır (99).

W.Lau ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada çeşitli içeceklerdeki kafeinin kantitatif analizi ikinci türev ultraviyole spektrofotometrisi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (100).

A.Anastasi ve arkadaşları kafeini tek ve aspirin ile birlikte olan tabletlerinden ayırmak için susuz ortamda potansiyometrik titrasyon yöntemi önermişlerdir. Kafeini asetik asit ve asetik anhidrit karışımı içinde çözerek perklorik asitle titre etmişler ve titrasyonun bitiş noktasını potansiyometrik olarak tayin etmişlerdir(101). Bu çalışmaya benzer bir araştırma da M. Rink tarafından yapılmıştır(102).

S.M.Mayanna ve B.Jayaram kafeinin asidik ortamda kloramin T ile reaksiyonundan sonra 2N sülfürik asit ve %10 potasyumiyodür çözeltisi ilavesiyle açığa çıkan iyodu, 0.04 N tiyosülfat çözeltisiyle geri titre etmişlerdir(103). H.Raber ve R.Ott ise kafeini bromometrik metodla tayin etmişlerdir(104).

Kafein içeren çeşitli farmasötik şekillerde ve biyolojik sıvılarda kantitatif analiz için sıvı kromatografisi yöntemiyle de çalışılmıştır(105). R.Hartley ve arkadaşları ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle internal standart olarak β -hidroksietilteofilini, mobil faz olarak 0.01 M sodyumasetat tamponu-metanol-tetrahidrofuran (95:4:1) karışımını kullanarak kafein ve metabolitlerini plazmada tayin etmişlerdir (106).

S.E.O'Connell ve F.J.Zurzola oral alınıştan sonra plazmadaki kafein seviyelerini tayin etmek için ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle çalışmışlardır. Herhangi bir internal standardın kullanılmasına gerek görülmeyen çalışmada mobil faz olarak metanol-su (30:70) karışımı tercih edilerek, dedektör cevabı 273 nm'de alınmıştır(107).

Plazmadaki kafein konsantrasyonunu tayin etmek için gaz kromatografisi yönteminin kullanıldığı başka bir çalışmada internal standart olarak hegzobarbital seçilmiştir(108).

2.5. KARISIMLARDA KANTİTATİF ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.5.1. Spektrometrik Analiz Yöntemleri

Absorbans oranı yöntemi üzerinde birçok çalışmalar yaparak çeşitli bağıntılar geliştiren M.Pernarowski ve arkadaşları kafein-fenasetin karışımlarının kantitatif tayini için bu tekniği uygulamışlardır. Kloroform içinde alınan spektrumlardan maksimum ve isoabsorptif dalga boylarını tespit etmişlerdir(109,110, 111).

M.J.Cho ve M.Pernarowski ise absorbans oranları tekniğinde modifikasyonlar yaparak, kafein ve sodyumbenzoat karışımının

analizini isoabsorptif dalga boyunu kullanmadan iki maddenin maksimum absorbands gösterdiği dalga boyunda gerçekleştirmişlerdir(112). Aynı karışımın injeksiyon preparatları için L. Zhang ve arkadaşları tarafından absorbands oranları yöntemiyle kantitatif tayinler yapılmıştır(113). Bu yöntemin kullanıldığı kafein-salisilamid(114), dipiron-oksifenbutazon(115), aspirin-kafein(116), izopropilfenazon-kafein(117), asetaminofen-klorzoksazon(118), kafein-piramidon(119) ve metokarbamol-asetaminofen(120) içeren karışımlarda ve farmasötik preparatlardaki miktar tayinleri çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır.

Ultraviöle spektrofotometrik tayinlerde kantitatif analiz için Vierordt's metodu ile yapılan araştırmalar da mevcuttur. Karışımdaki iki maddenin maksimum absorbands gösterdiği dalga boylarında ölçümler yapılarak, çeşitli bağıntılar yardımıyla konsantrasyonların hesaplandığı bu yöntem kullanılarak(121), metokarbamol-asetaminofen(120), mafenemik asit-asetaminofen(122), mafenoksalon-asetaminofen(123) ve klorzoksazon-asetaminofen(124) karışımlarında tayinler yapılmıştır.

G.Machek ve F.Lorenz karışımdaki maddelerin ekstinksiyon katsayılarından yararlanarak geliştirilen formüllerin kullanıldığı bir ultraviöle spektrofotometrik yöntemle aspirin-kafein-fenasetin(125), kafein-prokain hidroklorür(126) ve fenasetin-sodyumbenzoat-kafein-piramidon içeren farmasötik preparatlarda(127) kantitatif analiz yapmışlardır. Aynı tip bir çalışma H. Raber tarafından kafein içeren purin türevleri karışımındaki komponentlerin miktar tayini için renklendirmeden sonra kolorimetrik olarak gerçekleştirilmiştir(128).

Karışımdaki maddelerin kantitatif analizi için spektrofotometrik yöntemler üzerinde çok çalışılmıştır.Çeşitli spektral

parametrelerin kullanıldığı bağıntılar geliştirilmiş veya spektrofotometre cihazında çeşitli avantajlar sağladığı düşünülen modifikasyonlar yapılmıştır. Fenasetin-kafein(129), aspirin-kafein (130), aspirin-fenasetin-kafein(131), asetaminofen-fenilpropanolamin hidroklorür (132), asetaminofen-aspirin-kafein(133,134), asetaminofen-kafein-salisilamid-salisilik asit(135) ve aspirin-salisilik asit-salisilamid-kafein-fenasetin(136) karışımlarında bu tip tayinler gerçekleştirilmiştir.

M.A.Elsayed ve arkadaşları tabletlerdeki asetaminofen-salisilamid-kodeinfosfat'ın miktar tayinini herhangi bir ayırma işlemi uygulamaksızın spektrofotometrik olarak yapmışlardır. Asetaminofen ve salisilamidin moleküler formunu içeren nötral çözeltisine karşı, iyonik formunu içeren alkali çözeltisinin 262.5 ve 329 nm'deki absorbanlarını ölçerek, absorban farkı (ΔA) metodu ile asetaminofen ve salisilamid konsantrasyonlarını tayin etmişlerdir. Kodein fosfatı da metiloranj ile iyon çifti oluşturduktan sonra 418 nm'de kloroform içinde tayin etmişlerdir(137). Benzer bir diferansiyel ultraviyole spektrofotometrik tayin H. Sattler tarafından fenasetin-kafein-propifenazon içeren tabletler için gerçekleştirilmiştir(138).

A.G.Fogg ve arkadaşları tabletlerdeki asetaminofen ve aspirin tayini için ikisi ultraviyole spektrofotometrik, birisi sulu ortamda titrimetrik olmak üzere üç yöntem önermişlerdir. Direkt spektrofotometrik yöntemde karışımı 0.1 N sodyumhidroksit çözeltisinde çözerek fenolat ve salisilat iyonu şeklinde 258 ve 297 nm'deki absorbanları ölçmüşlerdir. Diğer spektrofotometrik yöntemde ise n-butanol ve sodyumbikarbonat çözeltisi ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra organik fazda 250 nm'de çalışarak asetaminofeni, sulu fazı asitlendirdikten sonra n-butanol ile seyreltip, 277 nm'de çalışarak aspirini tayin etmişlerdir(139).

N.Shane ve M.Kowblansky aspirin-salisilamid-asetaminofen-kafein içeren analjezik tabletlerdeki komponentleri bağımsız metodlarla tayin etmişlerdir. Asetaminofen ve salisilamid tayini için sodyumhidroksit çözeltisindeki absorbansı 330 ve 263.5 nm'de, kafein tayini için de kloroformla ekstraksiyondan sonra 276 nm'de okumuşlardır. Aspirin tayinini de karışımın metanollü çözeltisini alkollü potasyumhidroksit çözeltisiyle potansiyometrik olarak titre etmek suretiyle yapmışlardır(3).

A.F.Halım tabletlerdeki kafein ve ergotamin tayinini, karışımı %1'lik tartarik asit çözeltisinde çözdükten sonra ergotamin için 300 nm'de, kafein için 280 nm'de çalışarak gerçekleştirmişlerdir(140).

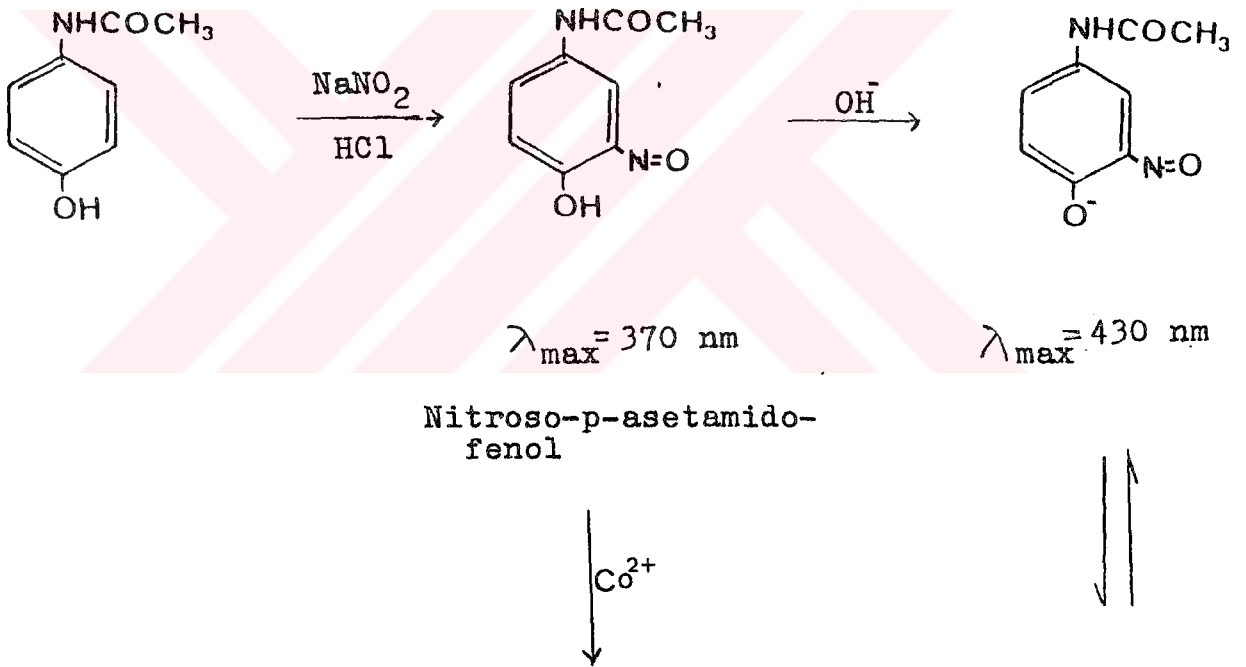
O.Tatrai ve H.Mühlemann supozituarlardaki aspirin-fenasetin-kodeinfosfatı kantitatif olarak analiz etmek için önce %80'lik alkol ile ekstraksiyon işlemi uygulayarak ayrılan kodeinfosfatı 0.01 N hidroklorik asitle titre etmek suretiyle, aspirin ve fenasetini ise spektrofotometrik yöntemlerle tayin etmişlerdir (141).

Aspirin-fenasetin-kafein içeren tabletlerden kafeinin tayininde bikarbonat çözeltisi içindeki karışım kloroformla ekstre edilerek kafein ve fenasetin ayrılmış, kafein dilüe sülfürik asitle yeniden ekstre edilerek 266 nm'deki absorbansı tespit edilmiştir(142). Aynı karışımı içeren tabletlerdeki komponentlerin bu şekilde klasik metodlarla ayrılmasından sonra ultraviyole spektroskopisiyle tayin edildiği birçok araştırma mevcuttur(143, 144, 145,146).

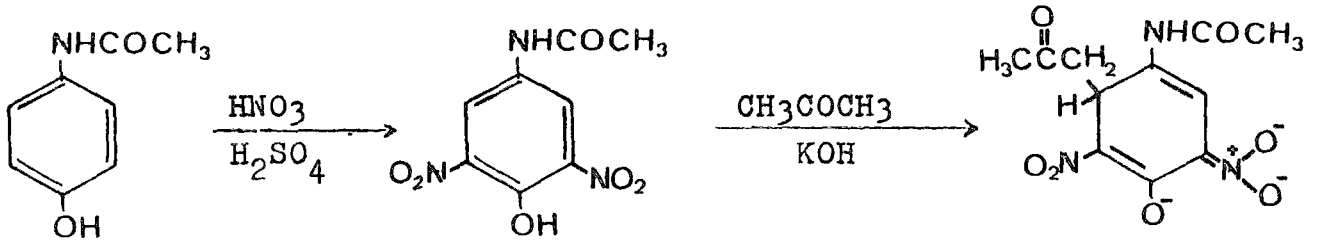
H.L.Gurtoo ve B.M.Phillips ise aspirin-fenasetin-kafein tabletlerinde kantitatif analiz için maddeleri ekstre ettikten son-

ra kloroform fazında kalan kafeinin absorbansını 275 nm'de tayin ederken, aspirini hidrolizleyerek Folin-Ciocalteu reaktifi ile renklendirip 540 nm'deki absorbansını ölçmüşlerdir(147).

S.F.Belal ve arkadaşları asetaminofen ve salisilamid içeren şurup, damla ve tabletlerde kantitatif analiz yaparken iki maddenin nitroso türevini oluşturarak alkali ve asidik ortamdaki absorbanslarını tayin etmişlerdir. Ayrıca nitroso türevlerinin bakır(II) ve kobalt(II) iyonları ile verdiği kelatların absorbansını da sulu ve organik çözeltide okumuşlardır. Her iki işlemin de Lambert-Beer kanununa uyduğunu göstermişlerdir(148).

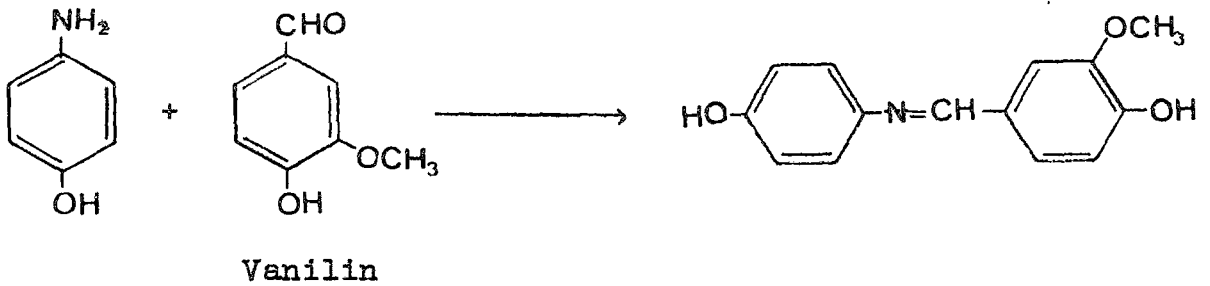


Asetaminofen-oksifenbutazon-salisilamid tabletlerindeki komponentlerin tayininin yapıldığı spektrofotometrik yöntemde, nitrolama reaksiyonunu takiben aseton ve potasyumhidroksit ile oluşturulan renkli kompleks bileşiklerin absorbansı tayin edilmiştir(149).



D.Heise ve J.C.Pflüger fenasetin-fenazon-aminofenazon-salisilamid-kafein içeren analjezik ve antipiretiklerin spektrofotometrik analizinde kafein tayini için etilasetatla ısıttıktan sonra p-dimetilaminobenzaldehit ile asidik ortamda verdiği mavi rengi 610 nm'de okumuşlardır(150).

F.M.Plakogiannis ve A.M.Saad asetaminofen-dikloralantipirin kapsüllerinde asetaminofeni tayin etmek için p-aminofenole hidroliz ettikten sonra vanilin ile verdiği sarı renkli Schiff bazını spektrofotometrik olarak ölçmüşlerdir(151).



Fenasetin-dipiron-piramidon içeren karışımlarda dipironun tayini için sudaki çözeltisi alkali ortamda diazobenzensülfonik asit ile reaksiyona sokulduktan sonra kolorimetrik olarak belirlenmiştir(152).

Antipirin-kafein içeren çeşitli kombinasyonlarda kafeinin kantitatif analizi, maddeler bir kolonda ayrıldıktan sonra kloroformlu eluatı 276 nm'de okuyarak gerçekleştirilmiştir(153).

J.Levine aspirin-fenasetin-kafein içeren tabletlerde partiyon kromatografisini uygulayıp, kolondan kloroform-eter çözeltisi geçirerek kafeini, kloroform-glasiyel asetik asit çözeltisi geçirerek aspirini ayırmış ve spektrofotometrik olarak kantitatif analize geçmiştir(154). Aynı karışımı kodein, barbitüratlar veya antihistaminiklerle kombine halde içeren tabletlerde de komponentler kromatografik metodla ayrıldıktan sonra yine spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir(155).

Bu şekilde kromatografik yöntemlerle komponentlerin ayrıldığı ve daha sonra ultraviole spektrofotometrisiyle tayin edildiği araştırmalar aspirin-kafein-asetaminofen(156,157), aspirin-fenasetin-kafein-itobarbital(158), kafein-fenasetin-salisilamid(159), salisilik asit-dimetilaminofenazon-antipirin-kafein-fenasetin(160), antipirin-fenasetin-kafein(161,162), aspirin-salisilik asit(163), asetaminofen-fenilefrin hidroklorür-kodeinfosfat-prilaminmaleat(164) ve asetaminofen-fenilefrin hidroklorür-difenhidramin hidroklorür-askorbik asit(165) karışımları için mevcuttur.

K.Kitamura ve arkadaşları aspirin tabletlerindeki salisilik asit ile aspirinin tayini için ikinci türev ultraviole spektrometrisiyle çalışarak, %1 sitrik asit ihtiva eden etanolde iki

maddeyi yanyana tayin etmişlerdir(166). D.G.Konstantianos ve arkadaşları ise ikinci türev spektroskopisini tabletlerdeki ve insan serumundaki aspirin ile salisilik asit tayinine uygulamışlardır(167).

F.Onur ve N.Acar propilfenazon-kafein içeren tabletlerdeki komponentlerin kantitatif analizini birinci türev ultraviole spektrofotometrisiyle kloroform içinde, 308.2 ve 263.8 nm'de gerçekleştirmişlerdir(168). Aynı araştırmacılar bu yöntemi asetaminofen-fenprobamat tabletlerine kloroform içinde ve 260.0-249.2 nm'de, aspirin-kafein tabletlerine etanol içinde ve 244.2-258.2 nm'de uygulamışlardır(169,170).

M.F.Metwally ve arkadaşları ise kafein varlığında aspirin tayini için yine birinci türev ultraviole spektroskopisini kullanarak, kafeinin absorbans göstermediği 280-310 nm'lerde çalışmışlardır(171).

Kafein-asetaminofen tabletlerinde birinci türev ultraviole spektrofotometrisiyle yapılan kantitatif bir analiz çalışmasında etanol içindeki türev absorbans değerleri 218.6-244.2 nm'de okunmuştur(172); başka bir çalışmada ise su içindeki değerler 205.4-216.2 nm'de tayin edilmiştir(173). A.Cruz ve arkadaşları asetaminofen-kafein karışımının kantitatif analizi için ikinci türev ultraviole spektroskopisini önermişlerdir(174).

M.Açikkol asetaminofen-mefenoksalon tabletlerinde üçüncü türev ultraviole spektroskopisiyle etanol içinde 239.4-249.8 nm'lerde çalışarak komponentleri tayin etmiştir(175).

M.Üstün ve S.Sungur effervesan tabletlerden aspirini ve askorbik asidi 0.05 M sülfürik asitle ekstre ettikten sonra, bi-

rinci türev ultraviole spektrofotometrisiyle 258.2 ve 243.4 nm'lerde tayin etmişlerdir(176).

R.G.Lu aspirin-asetaminofen içeren tabletlerde aspirini türev spektrometrisiyle, asetaminofeni ise türev almadan tayin etmiştir(177).

Farmasötik preparatlar içindeki aspirin-kafein-salisilik asidin miktar tayininin infrared spektroskopisiyle gerçekleştirildiği bir araştırma G.Kister ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Aspirin için 1765 cm^{-1} deki, kafein için 1705 cm^{-1} deki bandların şiddeti çalışmaya esas alınmıştır(178).

Fenasetin-antipirin-kafein-aminopirin ve aspirin-fenasetin-kafein içeren tabletlerde komponentlerin kantitatif analizinin nükleer magnetik rezonans spektroskopisiyle gerçekleştirildiği araştırmalar da mevcuttur(179,180).

2.5.2. Kromatografik Analiz Yöntemleri

H.Gänshirt kafein ve mandelik asit benzil esteri içeren tabletlerde ince tabaka kromatografisi ile kantitatif tayin yapmış, solvent olarak siklohegzan-aseton (40:50) karışımını kullanarak lekelerin yerini ultraviole ışık altında tespit ettikten sonra metanolle ekstre etmiş ve kafeinin 273 nm 'deki absorpsiyonunu tayin etmiştir(181).

A.Pfandl fenasetin-kafein-aminofenazon-fenazon karışımı içeren tabletler üzerinde yaptığı çalışmada ince tabaka kromatografisi ile maddeleri ayırdıktan sonra lekelerin yerini ultraviole ışık altında belirleyerek kantitatif analize geçmiştir(182).

W.Schlemmer ve E.Kammerl kafein-fenilefrin hidroklorür karışımında ince tabaka kromatografisi ile kantitatif analiz yapmışlardır. Fenilefrin hidroklorürü alkali bir solvent olan n-propanol-%25'lik amonyak çözeltisi (88:12) ile, kafeini asidik bir solvent olan benzen-dietileter-glasiyel asetik asit-metanol çözeltisi (60:30:9:1) ile ayrı ayrı e-valüe ettikten sonra spektrofotometrik olarak tayin etmişlerdir(183).

Bu şekilde ince tabaka kromatografisi ile maddelerin kantitatif olarak ayrıldıktan sonra spektroskopik olarak tayin edildiği çalışmalar aspirin-fenasetin-kodeinfosfat-kafein-fenobarbital(184), fenasetin-kafein-karisoprodol (185), aminofenazon-fenazon-fenasetin-kafein-etoksibenzamid-asetaminofen-metakualon(186), propilfenazon-asetaminofen-gayakolgliseroleter-kafein-aspirin(187), fenilefrin-asetaminofen-askorbik asit-kafein ve fenazon-fenasetin-kafein(188) karışımları için mevcuttur.

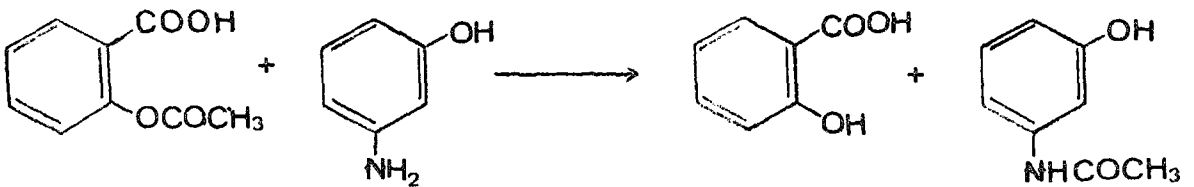
Analjezik karışımların kantitatif analizi en fazla yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle yapılmıştır. D.Rosenbaum aspirin-fenasetin-kafein-butobarbital içeren tablet ve kapsüllerde ters faz yüksek hızlı sıvı kromatografisiyle komponentlerin kantitatif analizini yaparken mobil faz olarak asetonitril-%0.01 amonyumkarbonat çözeltisini(40:60), internal standart olarak p-klorasetanilid kullanmıştır(189).

P.P.Ascione ve G.P.Chrekian aspirin-fenasetin-kafein ihtiva eden kapsüllerde miktar tayinini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirmişlerdir. Mobil faz olarak asetik asit-kloroform (8:92) çözeltisini kullanarak dedektör cevabını 280 nm'de kaydetmişlerdir. Aspirin-salisilamid-fenasetin-kafein-asetaminofen karışımı için de mobil faz olarak metilenklo-

rür-kloroform-asetik asit (50:42:8) özeltisi kullanarak dedektör cevabını 254 nm'de almışlardır(190).

Asetaminofen-aspirin-kodeinfosfat içeren tablet ve supozituarlarda ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle yapılan bir çalışmada mobil faz olarak metanol-su (36:64) karışımı kullanılmış ve dedektör cevabı 240 nm'de kaydedilmiştir(191).

Asetaminofen-aspirin-kafein içeren tabletlerde ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile mobil faz olarak metanol-1 M fosforik asit-%20 tetrametilamonyumhidroksit-su karışımı, internal standart olarak N-(4-isopropoksifenil)asetamid kullanılmış ve dedektör cevabı 225 nm'de kaydedilmiştir (192). Aynı karışım K.K.Verma ve arkadaşları tarafından çalışılmış, aspirin 3-aminofenol ile reaksiyona sokularak 3-hidroksiasetanilid türevi halinde ayrıldıktan sonra mobil faz olarak potasyumdihidrojenfosfat ile pH'sı 3.60'a ayarlanmış metanol özeltisi kullanılarak tayin edilmiştir(193).



A.El-Shanawany ve arkadaşları ise internal standart olarak salisilamid, mobil faz olarak %30'luk metanol içindeki 0.01 M potasyum dihidrojenfosfat özeltisinin (pH 2.7) kullanıldığı bir yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodu ile aspirin, kafein ve asetaminofeni tayin etmişlerdir(194).

K.J.Williams ve çalışma arkadaşları asetaminofen-salisilik asit-aspirin-kafein-fenasetinin çeşitli oranlardaki karışımlarını ters faz yüksek basıncılı sıvı kromatografisi ile çalışarak, örnek ozeltisindeki küçük hacim değişikliklerinin ve mobil fazla karışmasının, pik yükseklik oranını ve dolayısıyla kantitatif analizi etkilediğini göstermişlerdir(195).

Aspirin-kafein-salisilamid-asetaminofen içeren tabletlerdeki komponentlerin kantitatif tayini için uygulanan yüksek basıncılı sıvı kromatografisi yönteminde mobil faz olarak su ve amonyumnitrat karışımı(pH'sı 9.2), internal standart olarak benzoik asit kullanılarak, her bir komponentin pik alanından konsantrasyon tayinine geçilmiştir(196).

Aspirin-kafein-salisilamid-asetaminofen-kodeinfosfat-fenasetin karışımının analizi ters faz yüksek basıncılı sıvı kromatografisi ile nonpolar kolonda, pH'sı fosfat tamponu ile 2.3'e ayarlanmış mobil faz kullanılarak, değişken dalga boylu ultraviole dedektörde tayin edilmiştir(197).

J.Fogel ve arkadaşları tabletlerdeki aspirin ve salisilik asidi oktadesilsilan kolonda ters faz yüksek basıncılı sıvı kromatografisi metodu ile su-asetonitril-fosforik asit (76:24:0.5) mobil fazını kullanarak analiz etmişlerdir(198).

Aynı yöntemle aspirin-asetaminofen-askorbik asit içeren effervesan tabletlerdeki miktar tayini için yapılan bir çalışmada mobil faz metanol-0.2 M fosfat tamponu-su (20:10:70), internal standart p-hidroksibenzoik asit seçilmiştir(199).

Asetaminofen-kafein-propilfenazon tabletlerinin kantitatif tayini için ters faz yüksek basıncılı sıvı kromatografisi ynte-

miyle, mobil faz olarak metanol-su karışımı, internal standart olarak fenasetin kullanılmış ve dedektör cevabı 270 nm'de alınmıştır. Pik alanı oranından konsantrasyon tayinine geçilmiştir(200).

Aspirin-kodeinfosfat-propilfenazon tabletlerinin aynı yöntemle tayininde ise asetaminofen internal standart olarak tercih edilmiş, dedektör cevabı 284 nm'de alınmıştır(201).

H.L.Rau ve arkadaşları dipiron-diazepam ve dipiron-ibuprofen içeren dozaj şekillerinde ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile kantitatif analiz yaparken mobil faz olarak asetonitril-su-metanol (50:25:25) karışımını kullanmışlardır (202,203).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile dipiron-asetaminofen-kafein-kodeinfosfat(204), kafein-potasyumsorbat (205), asetaminofen-guaifenesin-dekstrometorfan hidrobromür (206), folkodin-asetaminofen-psödoefedrin-guaifenesin-paraben türevleri(207), asetaminofen-klorfeniraminmaleat-dekstrometorfan hidrobromür(208,209) ve asetaminofen-fenilefrin klorhidrat-karbinoksaminmaleat-noskapin(210) karışımlarının kantitatif analizleri yapılmıştır.

Fenasetin-salisilamid-kafein içeren analjezik karışımlarda sıvı kromatografisi ile yapılan bir çalışmada internal standart olarak fluoren kullanılmıştır(211).

Fenasetin-salisilamid-kafein-asetaminofen-aspirin içeren tabletlerdeki komponentlerin kantitatif analizi sıvı kromatografisi ile birçok araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. R.G. Baum ve F.F.Cantwell noniyonik poliakrilat reçine içeren bir kolonda, mobil faz olarak kloroform, etanol, eter, hegzan ile de-

gişik oranlarda hazırlanan ikili ve üçlü karışımları kullanmışlardır(212). Bu şekilde sıvı kromatografisi ile mobil faz veya kolonda değişiklikler yaparak, aynı tablet karışımlarında kantitatif analizler gerçekleştirilmiştir(213,214,215).

I.L.Honigberg ve arkadaşları fenasetin-kafein-karisoprodol içeren tabletlerde normal faz sıvı kromatografisi ile geçitli solvent sistemlerini ve kolonları deneyerek miktar tayini yapmışlardır(216).

A.T.Melin ve Y.Askemarm aspirin-fenazon-kafein-dekstropoksifen içeren tabletlerde ve asetaminofen-aspirin-hidroksizin-kodein-pentobarbital içeren tabletlerde komponentlerin kantitatif analizini ters faz iyon çifti kromatografisi ile yapmışlar, ^M bondopak C₁₈ kolonda çalışarak tetrabutylamon-yumdihidrojenfosfat-asetonitril karışımını mobil faz olarak kullanmışlardır(217).

M.R.Stevens farmasötik preparatlardaki kafeini gaz sıvı kromatografisi yöntemiyle ve internal standart olarak nor-triptilin hidroklorür kullanarak yapmıştır(218).

Asetaminofen-dikloralantipirin-isometheptenmukat içeren kapsüllerde gaz sıvı kromatografisiyle yapılan bir çalışmada internal standart olarak tuaminoheptansülfat kullanılarak, pik alanları oranı ile komponent konsantrasyonları grafiğe geçirilmiştir(219).

Gaz sıvı kromatografisiyle iki ayrı supozituar karışımı için A.Cometti ve arkadaşları tarafından bir çalışma yapılmıştır. Lidokain-klorfeniramınmaleat- d- propoksifen hidroklorür-kafein içeren supozituarlarda internal standart olarak

difenilamin, fenasetin-kafein-aminofenazon-fenalamid-klorfeniraminmaleat içeren supozituarlarda ise internal standart olarak 6,2-klorotiyoksantin kullanılmıştır(220).

Salisilamid-fenilpropanolamin hidroklorür-kafein-klorfeniraminmaleat-fenilefrin hidroklorür-prilaminmaleat ihtiva eden kapsüllerde gaz sıvı kromatografisi ile yapılan bir kantitatif analiz çalışmasında karışım,piridin-asetik anhidrit içindeki 4-(dimetilamino)piridin ile muamele edilerek komponentlerin daha iyi ayrılması sağlanmıştır(221).

S.L.Ali aspirin ve salisilik asit karışımını gaz sıvı kromatografisi ile analiz etmeden önce potasyumkarbonat ve metiliodür varlığında N,N-bis-trimetilsilil-trifluoroasetamid ve N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroasetamid ile türevlendirilmiştir(222).

Biyolojik sıvılarda aspirin, salisilik asit, salisilamid tayini de gaz sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda internal standart olarak p- ve m-toluik asit kullanılmıştır(223,224).

Aspirin-fenasetin-kafein(225), fenasetin-kafein-antipirin-dimetilaminoantipirin(226,227) içeren farmasötik preparatlar da gaz kromatografisi yöntemi ile kantitatif analizler yapılmıştır.

J.R.Watson ve arkadaşları aspirin tabletlerindeki salisilik asit ve aspirinin miktar tayinini gaz kromatografisiyle yaparken önce maddeleri tetrahidrofuran içinde diazometan ile reaksiyona sokarak metil esterlerini oluşturmuşlardır. Bu çalışmada internal standart olarak metil o-metoksibenzoat kullanılmıştır(228).

S.Markovic ve Z.Kusec gaz kromatografisiyle asetaminofen-
-kafein-propoksifenazon tabletlerinin kantitatif analizinde
internal standart olarak etamfilini, butalbital-kafein-propil-
fenazon tabletlerinin kantitatif analizinde internal standart
olarak fenasetini kullanmışlardır(229,230).

2.5.3. Titrimetrik Analiz Yöntemleri

G.W.Brownlee fenasetin-aspirin-kodeinfosfat içeren tablet
lerde üç komponenti ekstraksiyonla ayırarak fenasetini gravi-
metrik yöntemle, aspirini hidrolize uğrattırıp oluşan salisilik
asidi brom ile reaksiyona soktuktan sonra sodyumiyodür çözel-
tisi ile açığa çıkan iyodu 0.1 N tiyosülfat çözeltisiyle tit-
re ederek, kodeinfosfatı 0.01 N sodyumhidroksit çözeltisiyle
titre ederek tayin etmiştir(231).

Aspirin-fenasetin-kafein tabletlerindeki aspirin 0.25 N
sodyumhidroksit çözeltisiyle fenolftalein indikatörlüğünde
titre edilerek, kafein ise asidik ortamda iyot ilavesinden
sonra iyodun fazlası nişasta indikatörlüğünde tiyosülfat çö-
zeltisi ile titre edilerek tayin edilmiştir(232).

C.Stainier ve Ch.Lapière çeşitli analjezik karışımlardaki
kafeini birtakım ekstraksiyon ve evoparasyon işlemleriyle a-
yırıp hem gravimetrik, hem de iyodometrik titrasyon yöntemi-
le analiz etmişlerdir(233).

H.Feltkamp kafein-sodyumbenzoatı titrasyonla ayırmıştır.
Aseton içinde ve bromtimol mavisi indikatörlüğünde 0.1 N per-
klorik asitle pembe renge kadar titre ederek sodyumbenzoatı

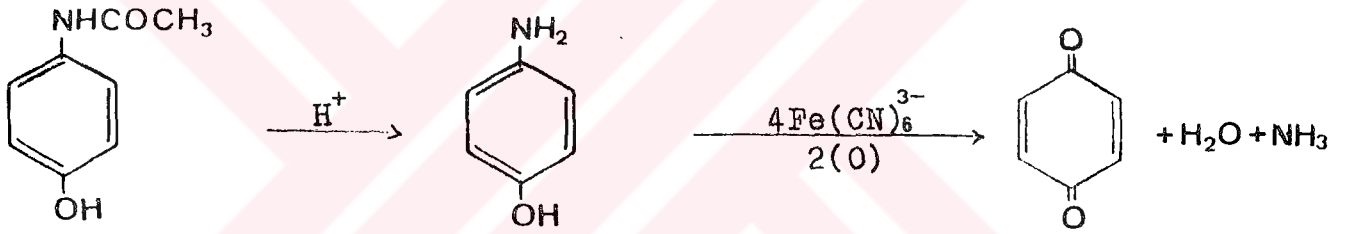
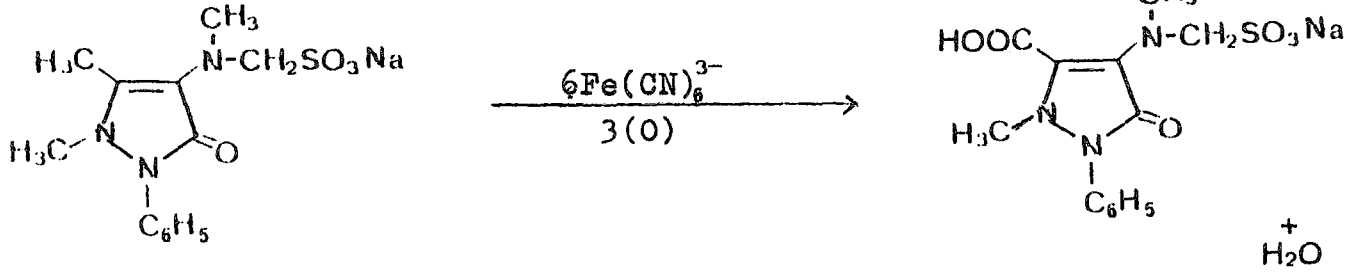
tain ettikten sonra, malahit yeşili ile nötrelize edilmiş asetik anhidrit katarak, yine 0.1 N perklorik asitle, bu kez turuncu renge kadar titre etmek suretiyle kafeini tain etmiştir(234).

M.Gachon ve arkadaşları dipiron-sodyummetadisülfid karışımının kantitatif analizini titrimetrik yöntemle yapmışlar ve dipironu iyot çözeltisiyle titre etmişlerdir(235).

S.N.Rao ve arkadaşları tabletlerdeki dipiron ve askorbik asidin kantitatif analizini yaptıkları çalışmada dipironu hidrojenperoksit ile asidik ortamda okside etmek suretiyle oluşan inorganik sülfatın gravimetrik ölçümüyle, askorbik asidi de iyodometrik titrasyonla tain etmişlerdir(236).

Kafein-amidopirin-dipiron içeren karışımların miktar tainini kloroform ile ekstraksiyondan sonra, kafein için organik fazın 0.1 N perklorik asitle titre edilmesiyle, dipiron için sulu fazın iyodometrik titrasyonu ile gerçekleştirilmiştir(237).

Dipiron-asetaminofen içeren farmasötik preparatlar da titrimetrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Karışım suda çözümlenerek dipiron çözeltiye alınmış ve asidik ortamda potasyumhegzasiyanoferrat(III) ile reaksiyona sokulmuştur. Kalan asetaminofen ise dilüe hidroklorik asitte çözüldükten sonra potasyumhegzasiyanoferrat(III) ile reaksiyona sokulmuştur. Her iki reaksiyondan arta kalan potasyumhegzasiyanoferrat(III) 0.1 N tiyosülfat çözeltisiyle nişasta indikatörlüğünde ayrı ayrı titre edilerek dipiron ve asetaminofen miktarları hesaplanmıştır(238).



S.Lin ve M.I.Blake aspirin ve barbitürat kombinasyonlarını içeren dozaj şekillerinde ekstraksiyon işlemi gerektirmeyen susuz ortamda titrimetrik metodla miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. Titrasyon çözücüsü olarak benzen-metanol karışımını içindeki 0.1 N sodyummetoksit kullanarak titrasyonun bitiş noktasını potansiyometrik olarak tayin etmişlerdir(239, 240).

A.G.Fogg ve arkadaşları asetaminofen-aspirin tabletlerindeki miktar tayinini susuz ortamda 0.1 M tetra-n-butilamonyumhidroksit çözeltisiyle potansiyometrik titrasyon yaparak gerçekleştirmişlerdir(139).

Asetaminofen-salisilamid içeren dozaj şekillerinde susuz ortamda potansiyometrik titrasyon 0.1 N lityummetoksit çözeltisiyle yapılmıştır. Salisilamid daha düşük pK_a değerine sahip olduğu için titrasyon grafiğinin ilk eğrisine karşılık gelen miktardan, asetaminofen ise ikincisine karşılık gelen miktardan saptanmıştır(241).

H.J.Rhodes ve arkadaşları aspirin, asetaminofen, salisilamid içeren ikili ve üçlü karışımlarda susuz ortamda potansiyometrik titrasyon ile miktar tayinleri yapmışlardır. Dimetilformamidli ortamda çalışmışlar ve titrasyon çözeltisi olarak tetrabutilamonyumhidroksit çözeltisini kullanmışlardır(242). Aynı çalışma asetaminofen ve barbitürat kombinasyonları için maddeleri kromatografik yolla bir kolonda ayırdıktan sonra gerçekleştirilmiştir(243).

2.6.KARISIMLARDA KALİTATİF ANALİZ YÖNTEMLERİ

I.L.Honigberg ve arkadaşları çeşitli grup ilaçlar üzerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile yaptıkları kalitatif tayinde aspirin-asetaminofen karışımını da incelemişlerdir. Oktadesil ve fenil kolonlardaki retensiyon zamanlarını, mobil faz olarak çeşitli oranlardaki amonyumkarbonat ile asetronitril karışımı kullanarak tayin etmişlerdir(244).

P.J.Twitchett ve A.C.Moffat'ın yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle oktadesilsilan stasyonier fazını kullanarak otuz ilaç maddesinin retensiyon hacimlerini belirledikleri çalışmada, kolon etkinliğinin asidik ve nötral maddeler için iyi, bazik maddeler için zayıf olduğu bildirilerek aspirin, asetaminofen ve kafeinin farklı pH'lardaki metanol çözeltilerinde retensiyon hacimleri verilmiştir(245,246). Aspirin-asetaminofen-kafein karışımlarının ayrılması için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile değişik mobil faz kombinasyonları için yapılan çeşitli çalışmalarda maddelerin retensiyon zamanları tayin edilmiştir(247,248).

Asetaminofen-fenasetin-kafein karışımının yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile ayrıldığı bir çalışmada mobil faz olarak asetonitril-su-ortofosfat (18:81.9:0.1) karışımı ve 225 nm'deki ultraviöle dedektör kullanılmıştır(249).

Y.Matsushima ve arkadaşları çeşitli antipiretiklerle birlikte dipiron, kafein, asetaminofen ve aspirini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle farklı mobil faz bileşimleri kullanarak ayırmış ve retensiyon zamanlarını tayin etmişlerdir(250).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle çalışan I. Jane ve arkadaşları 462 bileşik ile birlikte kafeinin de retensiyon zamanını tayin etmişlerdir(251).

R.Gimet ve A.Filloux bir alkaloid karışımındaki diğer maddelerle birlikte kafeini de ayırmak için dietilamin-su-eter mobil fazını ve 254 nm'deki ultraviöle dedektörü kullanmışlardır(252).

Benzer şekilde fenobarbital-amidopirin-kafein-nikotinamid karışımı için de, farklı mobil faz içeriğinin kullanıldığı bir çalışmada maddelerin ayrılması sağlanmıştır(253).

Aspirin-fenasetin-kafein tabletlerinde ince tabaka kromatografisiyle kalitatif analizin gerçekleştirildiği iki çalışmada tablet içeriği metanol ile ekstre edilmiştir. Metanol-asetik asit-eter-benzen(1:18:60:120) ve kloroform-%90 formik asit (20:0.1) solvent sistemleri kullanılarak, lekelerin yeri ultraviole ışık altında tespit edilmiştir(254,255).

W.J.Serfontein ve arkadaşları serum, idrar ve doku homojenatlarından 2-propanol ile ekstraksiyon yaparak bazik, asidik, nötral ilaçları ayırmışlar ve iki boyutlu ince tabaka kromatografisi uygulayarak lekelerin yerini ultraviole ışık ile ya da renklendirerek tespit etmişlerdir. Bu çalışmada aspirin, asetaminofen ve kafein için kloroform-aseton (9:1) ve metanol-amonyak (100:1.5) solvent sistemindeki R_f değerleri verilerek, lekelerin yeri ultraviole ışıkta belirlenmiştir(256).

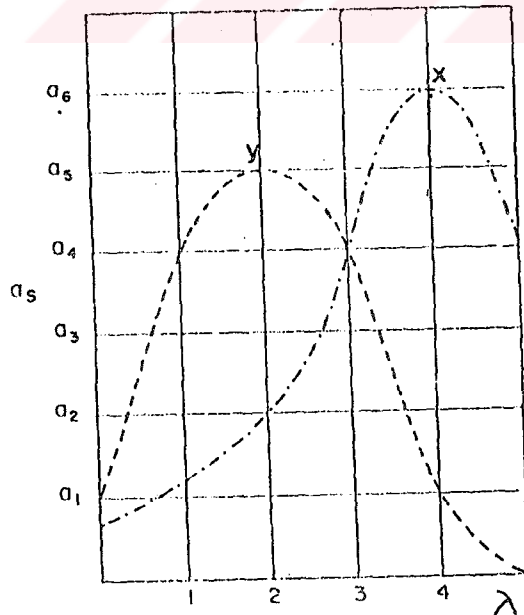
Bu şekilde ince tabaka kromatografisiyle karışımlardaki aspirin, kafein, dipiron için değişik solventlerde çalışılarak R_f değerleri verilmiş ve lekelerin yerleri tespit edilmiştir(257,258,259,260,261).

2.7. ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNLERİ VE
İSTATİSTİKİ BİLGİLER

2.7.1. İkili Karışımların Analizi

Q-Analizi de denilen bu yöntem ilk defa Almanya'da Hüfner tarafından kullanılmıştır. Daha sonra çeşitli araştırmacılar ikili karışımların analizi için absorbands oranı tekniğini kullanırken çeşitli modifikasyonlar yaparak metodun fonksiyonlarını artırmışlardır(109,129,262,263,264,265).

İki maddenin spektrofotometrik eğrilerinden yararlanarak, spektral karakteristiklerinin çeşitli matematiksel eşitlikler yardımıyla relatif ve mutlak konsantrasyonlar ile ilişkisini veren formüller türetilmiştir. Bu amaçla, karışımdaki X ve Y maddelerinin varsayılan spektrumu Şekil-9'da verilmiştir.



Şekil-9: X ve Y Maddelerinin varsayılan spektrofotometrik eğrileri.

Şekil-9'da iki eğrinin kesiştiği dalga boyu, isoabsorptif dalga boyudur (şekilde $\lambda_1 = \lambda_3$). Bu dalga boyunda karışımdaki iki madde de aynı absorptivite değerine sahiptir.

Bu analizde karşılaşılabilecek parametreler:

a=Absorptivite katsayısı

A=Absorbans

c_x =X Maddesinin mutlak konsantrasyonu(g/l)

c_y =Y Maddesinin mutlak konsantrasyonu(g/l)

b=Tabaka kalınlığı (genellikle 1 cm'dir)

λ =Dalga boyu(nm)

F_x =X Maddesinin relatif konsantrasyonu

F_y =Y Maddesinin relatif konsantrasyonu

Relatif Konsantrasyon Tayini

Grafikte X maddesi için matematiksel bağıntılar aşağıdaki şekilde çıkarılır:

X Maddesinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu λ_4 , isoabsorptif dalga boyu λ_3 'dür.

Karışımın λ_4 'deki absorbansı:

$$A_4 = a_6 \cdot b \cdot c_x + a_1 \cdot b \cdot c_y$$

Karışımın λ_3 'deki absorbansı:

$$A_3 = a_4 \cdot b \cdot c_x + a_4 \cdot b \cdot c_y$$

Bu iki absorbansın oranı alınır ve ölçümlerde aynı kuvvetler kullanıldığı için b değerleri kaldırılır:

$$\frac{A_4}{A_3} = \frac{a_6 \cdot c_x + a_1 \cdot c_y}{a_4(c_x + c_y)} \dots\dots\dots(1)$$

Karışımındaki maddelerin relatif konsantrasyonlarının toplamı 1'e eşittir:

$$F_x = \frac{c_x}{c_x + c_y} \dots\dots\dots(2)$$

$$F_y = \frac{c_y}{c_x + c_y} \dots\dots\dots(3)$$

$$F_x + F_y = 1$$

$$F_y = 1 - F_x \dots\dots\dots(4)$$

(1) Nolu eşitliğin pay ve paydası $c_x + c_y$ ile bölünerek (2), (3) ve (4) nolu bağıntılar kullanılır.

$$\frac{A_4}{A_3} = \frac{a_6 \cdot F_x + a_1 \cdot (1 - F_x)}{a_4}$$

$$\frac{A_4}{A_3} = \frac{F_x(a_6 - a_1) + a_1}{a_4}$$

Absorbans oranını Q_0 ile veya örneğin A_4/A_3 için $Q_0:4:3$ şeklinde gösterebiliriz.

$$Q_0 = \frac{A_4}{A_3} = F_x \left(\frac{a_6}{a_4} - \frac{a_1}{a_4} \right) + \frac{a_1}{a_4} \dots\dots\dots(5)$$

Saf X ve Y maddeleri için aynı dalga boylarındaki absorbans oranları yazılırsa:

X Maddesi için:

$$Q_x = \frac{(A_4)_x}{(A_3)_x} = \frac{a_6 \cdot b \cdot c_x}{a_4 \cdot b \cdot c_x}$$

$$Q_x = \frac{a_6}{a_4} \dots\dots\dots(6)$$

Y Maddesi için:

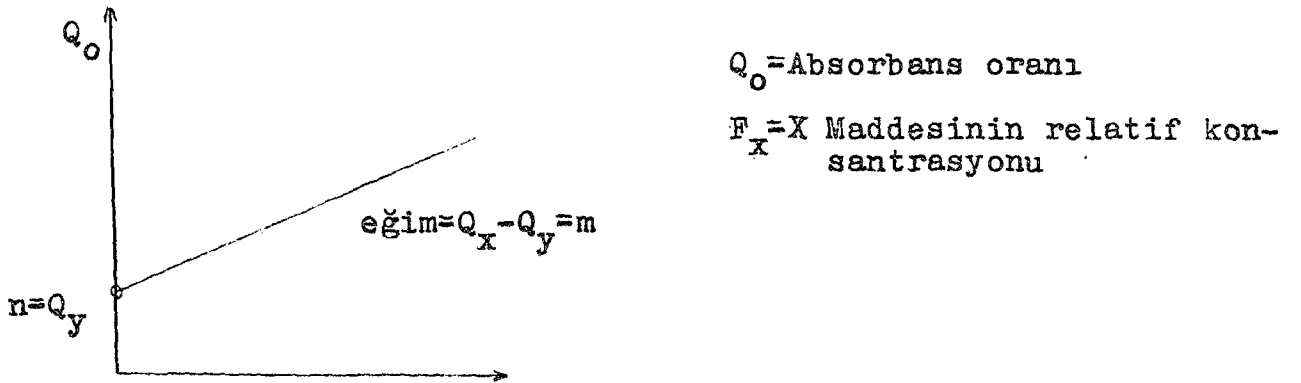
$$Q_y = \frac{(A_4)_y}{(A_3)_y} = \frac{a_1 \cdot b \cdot c_y}{a_4 \cdot b \cdot c_y}$$

$$Q_y = \frac{a_1}{a_4} \dots\dots\dots(7)$$

(6) ve (7) Nolu eşitlikler (5)'de yerleştirilir:

$$Q_o = F_x(Q_x - Q_y) + Q_y \dots\dots\dots(8)$$

Bu eşitlik absorbans oranları ile relatif konsantrasyonlar arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Spektrofotometrik tayinden elde edilen absorbans değerlerinin oranı (Q_o) ordinata, hazırlanan standart çözeltideki X maddesinin relatif konsantrasyonları absise gelecek şekilde grafiğe geçirilirse (8) nolu eşitlikte ($Q_x - Q_y$) eğimi, Q_y ise kayımı verir.



Şekil-10: $Q_o = F_x(Q_x - Q_y) + Q_y$ eşitliğinin grafiği.

Buradaki doğru $y=mx+n$ tipindedir ve en küçük kareler yöntemine göre katsayıları hesaplanarak (8) nolu eşitlikte yerleştirilip, relatif konsantrasyonlar bulunur.

Mutlak Konsantrasyon Tayini

İsoabsorptif dalga boyunda karışımın absorbansı:

$$A_3 = a_4 \cdot b \cdot c_x + a_4 \cdot b \cdot c_y$$

$$A_3 = a_4 (c_x + c_y)$$

$$\boxed{c_x + c_y = \frac{A_3}{a_4}} \dots\dots\dots(9)$$

X'in Relatif konsantrasyonu

$$\boxed{c_x + c_y = \frac{c_x}{F_x}} \dots\dots\dots(10)$$

(10) Nolu eşitlik (9) nolu eşitlikte yerine konarak:

$$\frac{c_x}{F_x} = \frac{A_3}{a_4}$$

$$\boxed{c_x = F_x \cdot \frac{A_3}{a_4}} \dots\dots\dots(11)$$

(8) Nolu eşitlik yeniden düzenlenir ve (11) nolu eşitlikte yerine konur:

$$F_x = \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y}$$

$$c_x = \frac{Q_o - Q_y}{Q_x - Q_y} \cdot \frac{A_3}{a_4}$$

Grafikte eğim= $Q_x - Q_y = m$ ve kayım= $Q_y = n$ olduğu dikkate alınır:

$$c_x = \frac{Q_o - n}{m} \cdot \frac{A_3}{a_4} \dots\dots\dots(12)$$

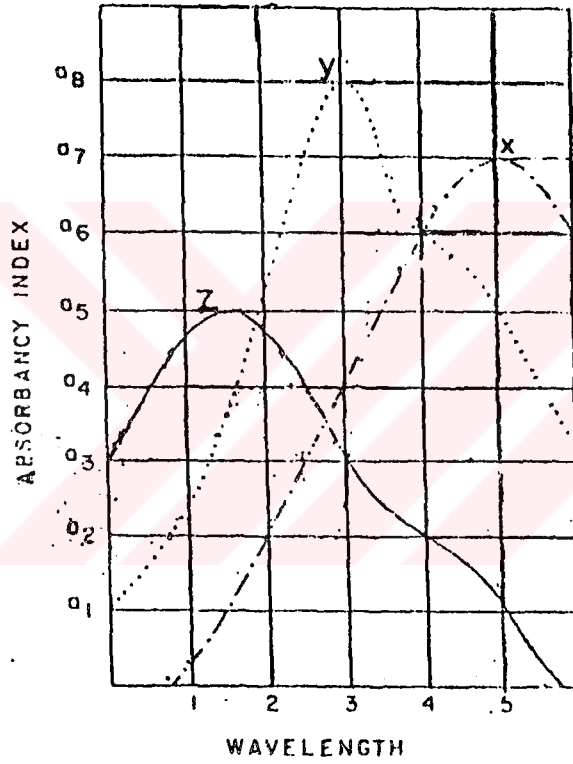
Karışımındaki Y maddesinin mutlak konsantrasyonu ya aynı işlemler Y'nin maksimum absorptans gösterdiği dalga boyu ile isoabsorptif dalga boyu kullanılarak, ya da (9) nolu formül-den aşağıdaki şekilde hesaplanır:

$$c_x + c_y = \frac{A_3}{a_4}$$

$$c_y = \frac{A_3}{a_4} - c_x \dots\dots\dots(13)$$

2.7.2. Üçlü Karışımların Analizi

Karışımdaki maddelerin varsayılan spektrumları üst üste çizildiği zaman, üç komponentten iki tanesi için karakteristik isoabsorptif dalga boyu tespit edilebilir (266).



Şekil-11: X, Y, Z Maddelerinin varsayılan spektrofotometrik eğrileri.

Kantitatif tayine geçmek için gerekli olan matematiksel eşitlikler aşağıdaki şekilde hesaplanır.

X Maddesinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu λ_5 , X ve Y komponentlerinin isoabsorptif dalga boyu λ_4 'tür. Karışımın λ_5 ve λ_4 'deki absorbansları yazılıp, birbirine oranlarsa:

$$\frac{A_5}{A_4} = \frac{a_7 \cdot b \cdot c_x + a_5 \cdot b \cdot c_y + a_1 \cdot b \cdot c_z}{a_6 \cdot b \cdot c_x + a_6 \cdot b \cdot c_y + a_2 \cdot b \cdot c_z} \dots\dots\dots(14)$$

$$F_x = \frac{c_x}{c_x + c_y + c_z}, \quad F_y = \frac{c_y}{c_x + c_y + c_z}, \quad F_z = \frac{c_z}{c_x + c_y + c_z}$$

$$F_x + F_y + F_z = 1$$

$$F_y = 1 - F_z - F_x$$

Yukarıdaki relatif konsantrasyonlar (14) eşitliğinde yerine konulup, denklem F_x ve F_z 'ye bağlı hale getirildikten sonra her iki tarafı a_6 ile bölünür:

$$\frac{A_5}{A_4} = \frac{\frac{a_7 \cdot F_x}{a_6} + \frac{a_5(1 - F_z - F_x)}{a_6} + \frac{a_1 \cdot F_z}{a_6}}{\frac{a_6(1 - F_z)}{a_6} + \frac{a_2 \cdot F_z}{a_6}} \dots\dots\dots(15)$$

Saf X ve Y maddeleri için aynı dalga boylarındaki oran:

$$\frac{(A_5)_x}{(A_4)_x} = \frac{a_7 \cdot b \cdot c_x}{a_6 \cdot b \cdot c_x}$$

$$\frac{(A_5)_y}{(A_4)_y} = \frac{a_5 \cdot b \cdot c_y}{a_6 \cdot b \cdot c_y}$$

$$Q_x = \frac{a_7}{a_6} \dots\dots(16)$$

$$Q_y = \frac{a_5}{a_6} \dots\dots(17)$$

(16) ve (17) nolu eşitlikler (15)'de yerleştirilirse:

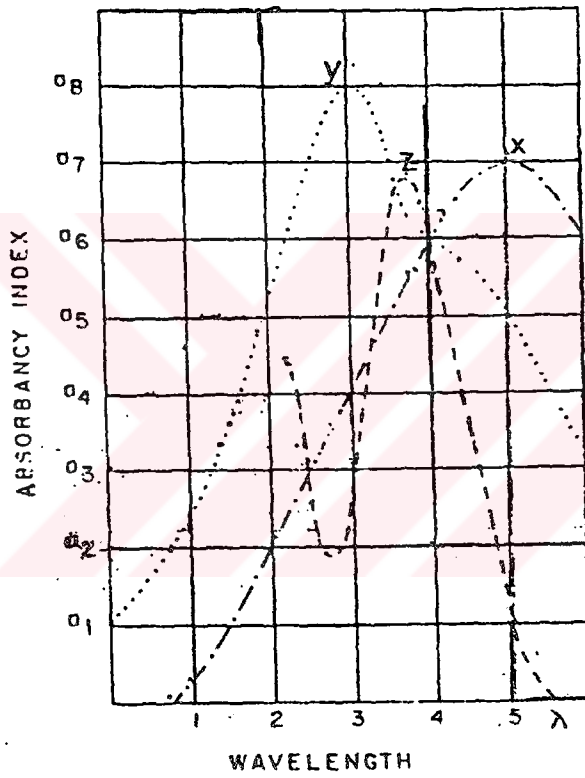
$$Q_o = \frac{F_x(Q_x - Q_y) + F_z\left(\frac{a_1}{a_6} - Q_y\right) + Q_y}{1 + F_z\left(\frac{a_2}{a_6} - 1\right)} \dots\dots\dots(18)$$

Bu eşitlik iki bilinmeyenlidir ve karışımındaki komponentlerin analizinde kullanılabilmesi için iki bilinmeyenli bir eşitlik daha türetmemiz gerekir. Bu amaçla yine X ve Y komponentleri için, λ_3 ve λ_4 dalga boyundaki absorbands oranları benzer şekilde çıkarılarak aşağıdaki bağıntı elde edilir:

$$Q_{o_1} = \frac{F_x(Q_{x_1} - Q_{y_1}) + F_z\left(\frac{a_3}{a_6} - Q_{y_1}\right) + Q_{y_1}}{1 + F_z\left(\frac{a_2}{a_6} - 1\right)} \dots\dots\dots(19)$$

(18) ve (19) Eşitlikleriyle bir karışımdaki üç komponentten iki tanesinin fraksiyonu hesaplanabilir.

Eğer karışımdaki üç komponent ortak bir isoabsorptif dalga boyuna sahipse (şekil-12), bu takdirde yukarıdaki eşitlikler daha basitleşir.



Şekil-12: Ortak isoabsorptif özellik gösteren X,Y,Z maddelerinin varsayılan spektrofotometrik eğrileri.

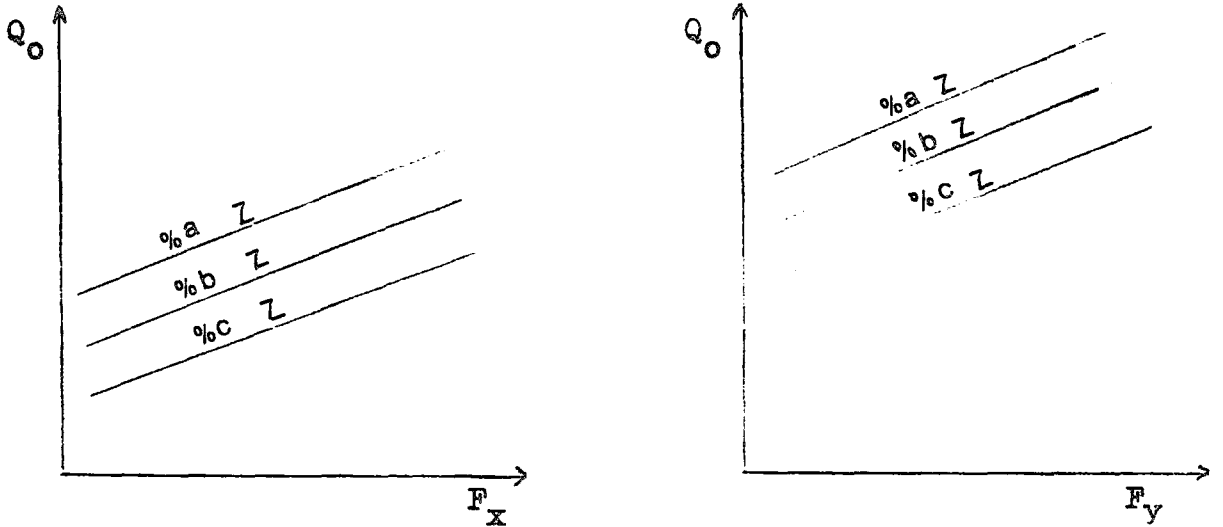
Kantitatif analiz için gereken formüller yukarıda verilenlere benzer şekilde, fakat bu kez saf X ve Y maddeleri ile birlikte saf Z maddesinin de $(A_5)_Z/(A_4)_Z$ ve $(A_3)_Z/(A_4)_Z$ oranları dahil edilerek hesaplanır ve aşağıdaki eşitlikler elde edilir:

$$Q_0 = F_x(Q_x - Q_y) + F_z(Q_z - Q_y) + Q_y \dots\dots\dots(20)$$

$$Q_{0_1} = F_x(Q_{x_1} - Q_{y_1}) + F_z(Q_{z_1} - Q_{y_1}) + Q_{y_1} \dots\dots\dots(21)$$

Bu iki eşitlikten karışımdaki X ve Z komponentlerinin fraksiyonları hesaplanabilir.

Üçlü karışımdaki komponentlerden birisinin fraksiyonu sabit tutulur ve diğer iki komponentten birinin fraksiyonuna karşı absorpsiyon oranları grafiğe geçirilirse, $y=mx+n$ tipinde bir doğru elde edilir -ki bu durumda analiz işlemi daha da basitleşir. Bu doğrunun eğim ve kayım değerleri Z'nin fraksiyonuna bağlıdır. Eğer Z'nin fraksiyonu değiştirilirse, çizilen doğru öncekine paralel olacaktır. Bu şekilde, sabit Z fraksiyonlarına bağlı olarak çizilen paralel doğrular aynı eğime, fakat farklı kayım değerine sahiptir (şekil-13).



Şekil-13: Z'nin Sabit tutulduğu grafikler.

Bu şekilde sabit Z fraksiyonunda F_x ve F_y için çizilen doğrunun m ve n değerleri (12) nolu eşitlikte yerine konarak X ve Y'nin mutlak konsantrasyonları tayin edilir. Z'nin Mutlak konsantrasyonunu hesaplamak için, karışımın isoabsorptif dalga boyundaki absorbansından hareketle aşağıdaki eşitlik türetilir:

$$A_4 = a_6 \cdot b \cdot c_x + a_6 \cdot b \cdot c_y + a_6 \cdot b \cdot c_z$$

$$A_4 = a_6 (c_x + c_y + c_z)$$

$$\frac{A_4}{a_6} = c_x + c_y + c_z$$

$$c_z = \frac{A_4}{a_6} - c_x - c_y \dots\dots\dots(22)$$

2.7.3. İstatistikî Bilgiler

En Küçük Kareler Yöntemi:

Absorbans oranları ve relatif konsantrasyonlar arasında çizilen doğru lineerdir ve doğru denklemi $y=mx+n$ ile ifade edilir. m ve n Değerleri aşağıdaki şekilde hesaplanır(267):

$$m = \frac{\sum x_i \cdot \sum y_i - N \sum x_i \cdot y_i}{(\sum x_i)^2 - N \sum x_i^2} \dots\dots\dots(23)$$

$$n = \frac{\sum x_i \cdot y_i \cdot \sum x_i - \sum y_i \cdot \sum x_i^2}{(\sum x_i)^2 - N \sum x_i^2} \dots\dots\dots(24)$$

N = Deney sayısı

Regresyon Analizi:

Çizilen doğrunun lineer olup olmadığını göstermek için kullanılan bir yöntemdir. Eğer noktalar tam doğru üzerinde ise r değeri 1'e eşittir. 0 nedenle r değerinin 1'e yakın olması istenir. Aşağıdaki formülle hesaplanır(267):

$$r = \frac{N \sum x_i \cdot y_i - \sum x_i \cdot \sum y_i}{\sqrt{[N \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2] [N \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}} \dots\dots\dots(25)$$

Standart Sapma:

Yukarıda anlatılan bir dizi işlem sonunda kurulan yöntemin duyarlılığını belirlemek için standart sapması aşağıdaki formülle göre hesaplanır(267):

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \dots\dots\dots(26)$$

Güven Aralığı:

Gerçek değer ile ortalama değer arasındaki ilişkinin belirli bir güvenilirlik derecesinde belirlenmesidir(267).

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t.S}{\sqrt{N}} \dots\dots\dots(27)$$

t Değeri istatistiksel bir faktör olup, deney sayısına bağlı olarak belirli güvenilirlik düzeyleri için tablo halinde verilmiştir.

İki Ortalama Değerin Karşılaştırılması:

Elde edilen sonuçların, aynı maddelerin tayin edildiği başka bir yöntemle karşılaştırılması amacıyla uygulanır.

$$\left| \bar{x}_a - \bar{x}_b \right| < t \cdot S_p \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} \dots\dots\dots(28)$$

Eşitlikteki durum sağlanıyorsa iki yöntem arasındaki fark önemsizdir.

$$S_p = \sqrt{\frac{(N_a - 1)S_a^2 + (N_b - 1)S_b^2}{N_a + N_b - 2}} \dots\dots\dots(29)$$

\bar{x}_a = a Yöntemi ile bulduğumuz sonuçların ortalaması

\bar{x}_b = b Yöntemi ile bulduğumuz sonuçların ortalaması

N_a = a Yöntemindeki ölçüm sayısı

N_b = b Yöntemindeki ölçüm sayısı

S_a = a Yönteminin standart sapması

S_b = b Yönteminin standart sapması

t Değeri ($N_a - N_b$) için çeşitli güvenilirlik düzeylerinde tablolar halinde verilmiştir.

F-Testi:

İki yöntemin standart sapmasını karşılaştırmak için uygulanır.

$$F = \frac{S_a^2}{S_b^2} \dots\dots\dots(30)$$

F>1 olması istenir. F'nin 1'den büyük olması için daima büyüğün küçüğe oranı alınmalıdır. Bu şekilde hesaplanan F değeri, N_a ve N_b deney sayıları için belirli güvenilirlik düzeyinde tablodan okunan F_T değeri ile karşılaştırılır. Eğer F>F_T ise iki yöntemin duyarlılığı arasında önemli bir fark vardır(267).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. KULLANILAN MATERYAL

3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler

Bu çalışmada asetaminofen¹, aspirin², dipiron³ ve kafein⁴ standart olarak kullanıldı.

Çözücü olarak %95'lik etanol, distile su ve 0.1 N hidroklorik asit kullanıldı. Distile su cam kaplarda saklandı ve 24 saat içinde tüketildi.

0.1 N Hidroklorik asit hazırlamak için 8.3 ml derişik hidroklorik asit (d=1.19, %37, Merck) distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı ve 24 saat içinde tüketildi.

3.1.2. Araç ve Gereçler

Ultravirole Spektrofotometre	Shimadzu UV-2100 S
Terazi	Sartorius A.200.S
Santrifüj	Hettich EBA 3S
Ultrasonik Banyo	Branson Model B 104879
Etüv	Nüve F 400
Kuvartz Küvetler	

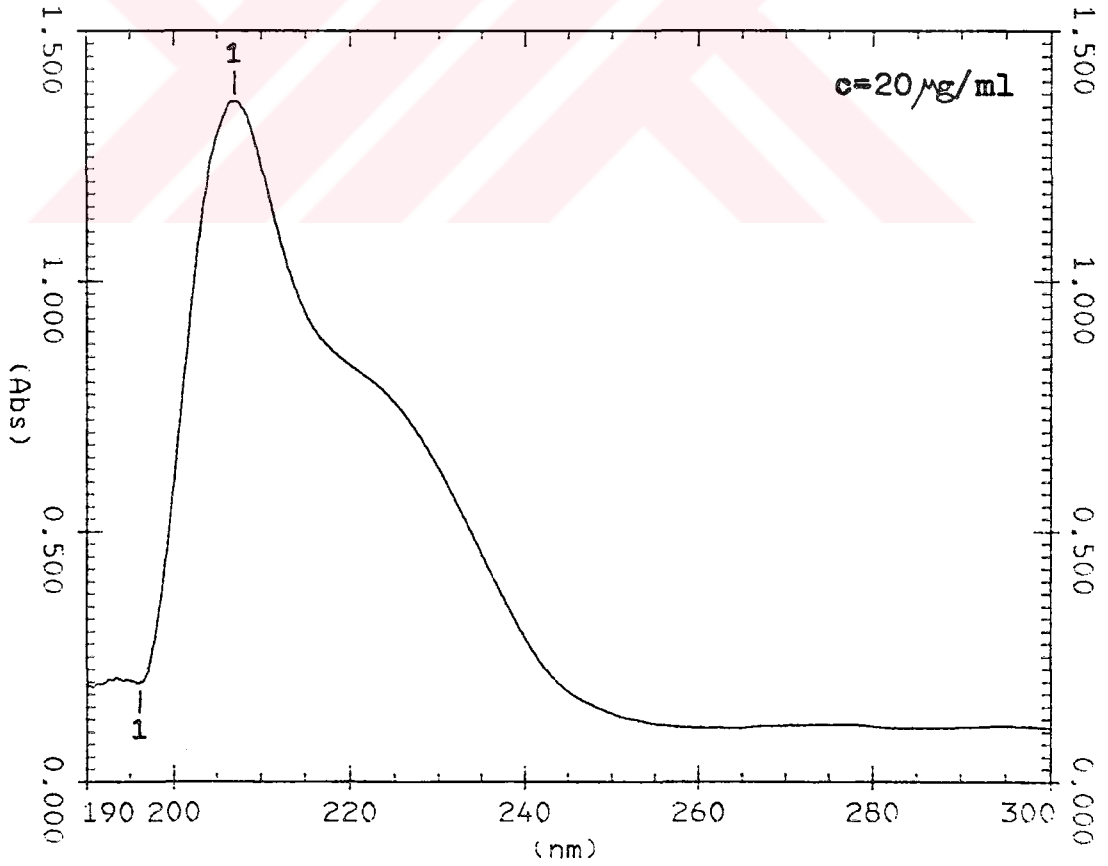
1)Sanovel, 2)Atabay, 3)Hoesct, 4)İbrahim Ethem İlaç Firmalarından temin edilmiştir.

3.2. ASPIRİN-KAFEİN KARİŞİMİNİN ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

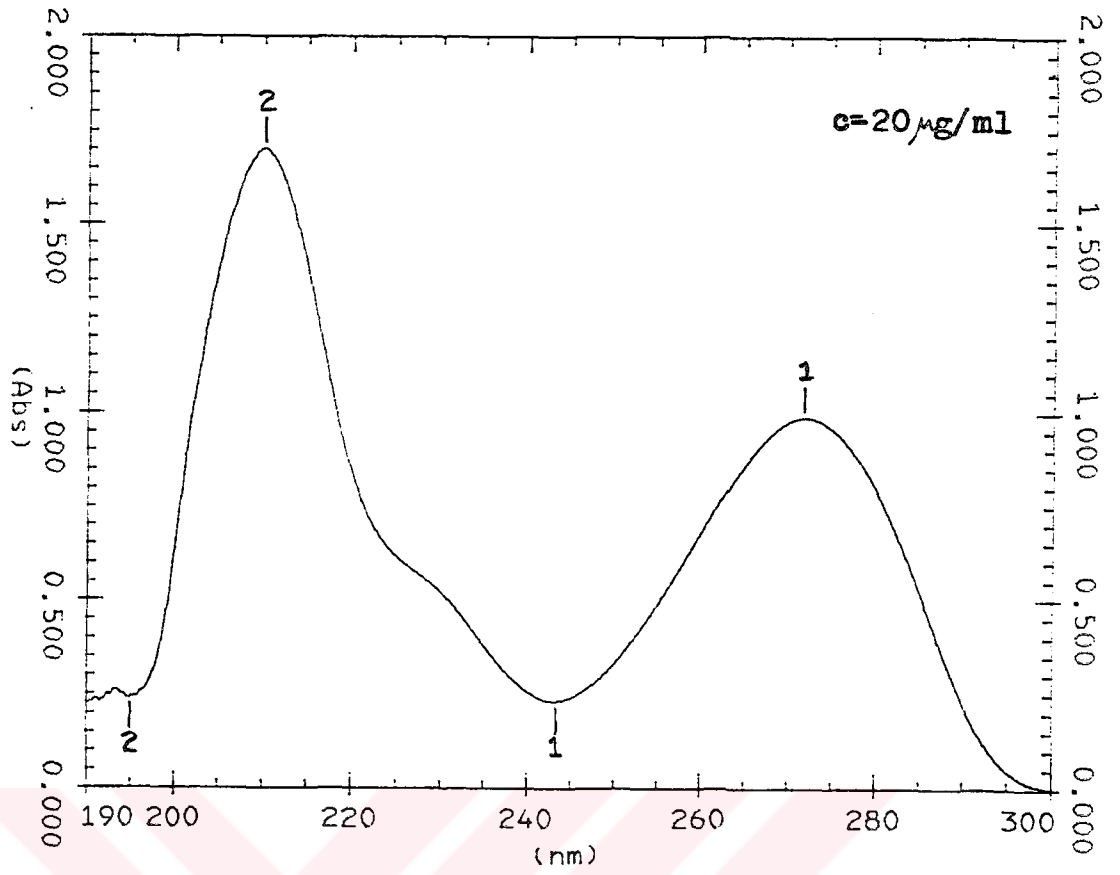
3.2.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.2.1.1. Dalga Boyu Seçimi

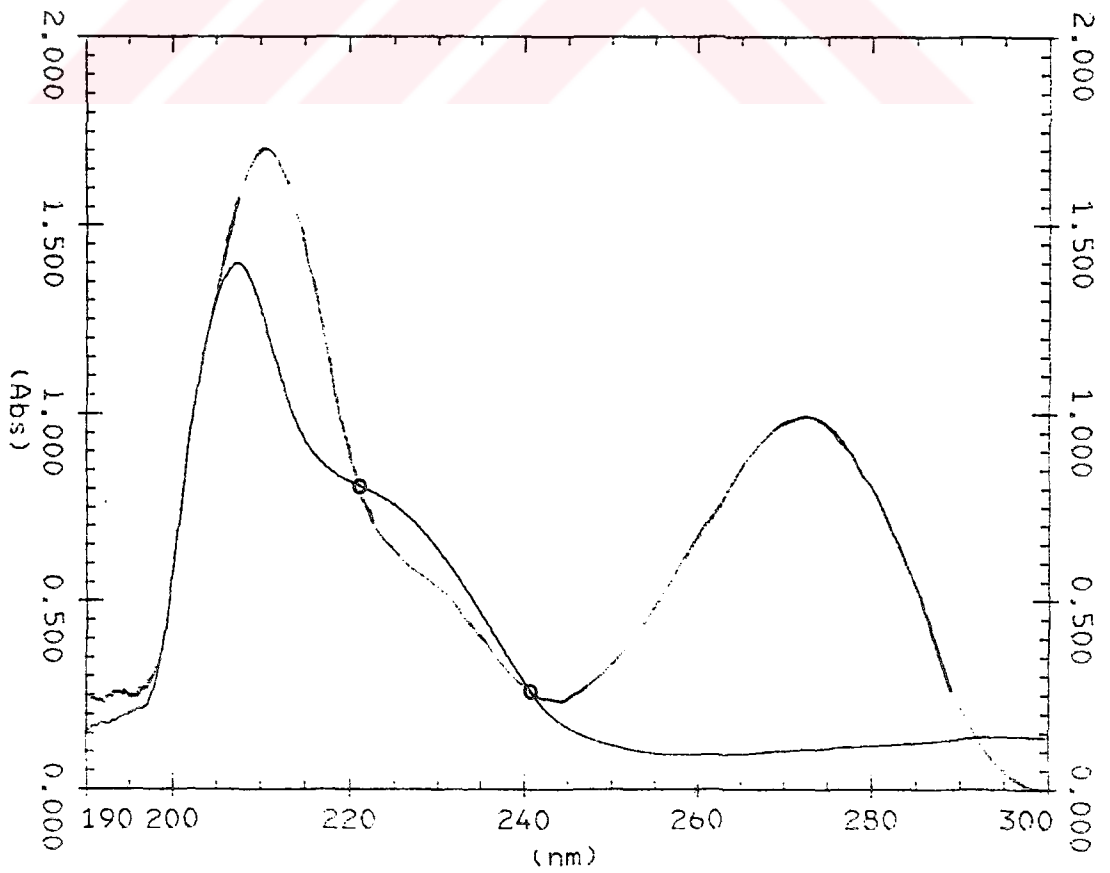
Eşit konsantrasyonda hazırlanan aspirin ve kafein çözeltilerinin 190-300 nm arasında %95'lik etanol içinde alınan spektrumunda aspirin 207 nm'de , kafein ise 271.7 ve 210 nm'de maksimum absorbands gösterdi (şekil-14 ve şekil-15). Çalışma dalga boyu olarak 271.7 nm seçildi.



Şekil-14: Aspirinin ultraviyole spektrumu (%95'lik etanolde).



Şekil-15: Kafeinin ultraviyole spektruma (%95'lik etanolde)



Şekil-16: İsoabsorptif Balga boyu .

İki spektrumun üst üste çizdirilmesiyle kesişim noktaları yani aspirin ve kafeinin aynı absorbans gösterdiği dalga boyları 220.4 ve 241.4 nm olarak tespit edildi (isoabsorptif dalga boyu, şekil-16).

3.2.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok aspirin çözeltisi:

100 mg Aspirin 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok aspirin çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltisi:

100 mg Kafein 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. On dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok kafein çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltilerden, 50 ml'lik balon jojelerde %95'lik etanolle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 220.4, 241.4 ve 271.7 nm'lerdeki absorbansları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerlerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-1 ve tablo-2'de görülmektedir.

Tablo-1: Stok aspirin ve kafein çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

No	v_k (ml)	v_{as} (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{c_k}{c_k+c_{as}}$	$\frac{c_{as}}{c_k+c_{as}}$
1	5.00	5.00	10.0	10.0	0.5000	0.5000
2	5.00	6.00	10.0	12.0	0.4545	0.5455
3	5.00	7.00	10.0	14.0	0.4167	0.5833
4	5.00	8.00	10.0	16.0	0.3846	0.6154
5	3.50	8.50	7.0	17.0	0.2917	0.7083
6	2.50	9.00	5.0	18.0	0.2174	0.7826
7	1.50	10.00	3.0	20.0	0.1304	0.8696
8	1.00	10.00	2.0	20.0	0.0909	0.9091
9	0.75	10.00	1.5	20.0	0.0698	0.9302

c_{as} = aspirin konsantrasyonu, c_k = kafein konsantrasyonu

Tablo-2: 220.4, 241.4 ve 271.7 nm'de alınan absorbanlar.

No	$(A_i)_1$ (220.4 nm)	$(A_i)_2$ (241.4 nm)	A_k (271.7 nm)
1	0.7583	0.2157	0.5120
2	0.8353	0.2360	0.5240
3	0.9087	0.2577	0.5383
4	0.9833	0.2767	0.5380
5	0.9040	0.2517	0.3993
6	0.8747	0.2430	0.3143
7	0.8670	0.2347	0.2297
8	0.8347	0.2277	0.1850
9	0.8157	0.2200	0.1607

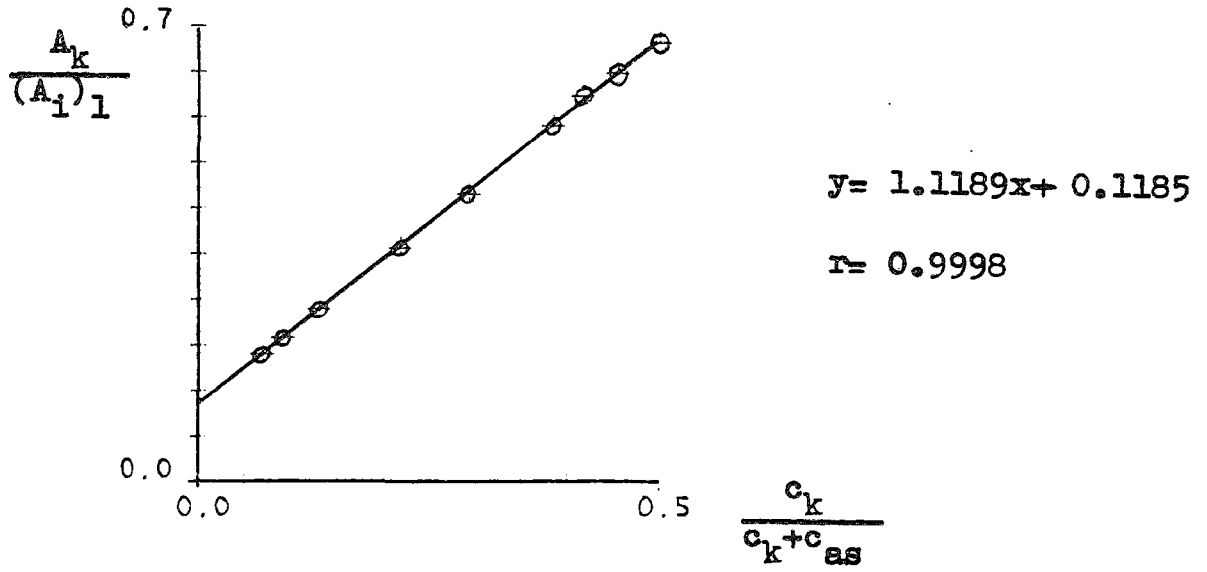
3.2.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar önceki bölümde verilen absorbanans oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi ve en küçük kareler yöntemine göre doğru denklemi hesaplandı. Grafik değerleri tablo-3'de görülmektedir.

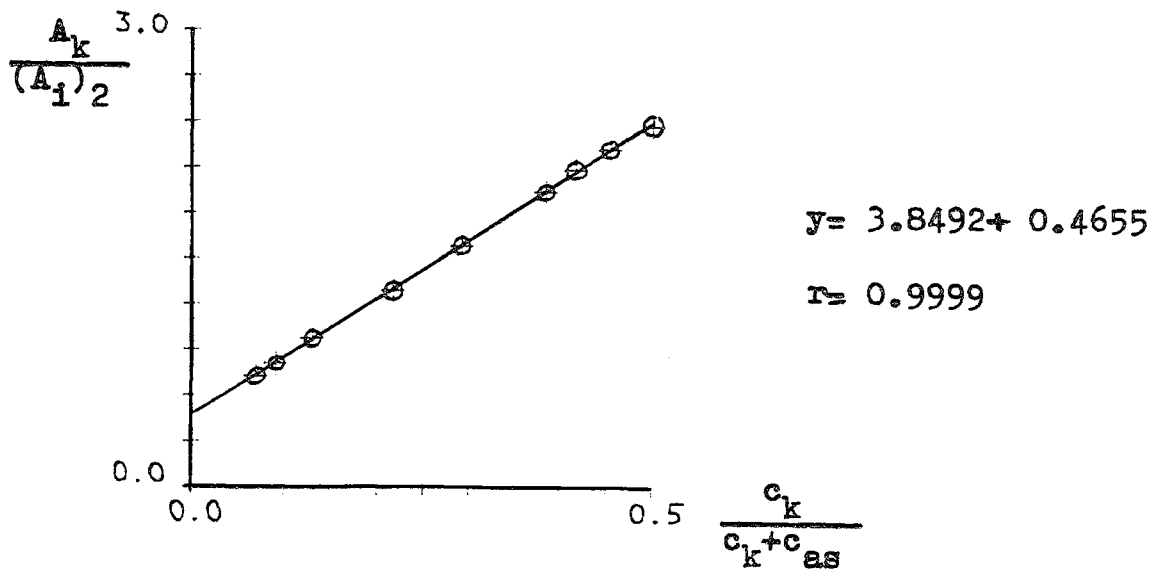
Tablo-3: Elde edilen absorbanans değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_k}{c_k + c_{as}}$	$\frac{A_k}{(A_i)_1}$	$\frac{A_k}{(A_i)_2}$
1	0.5000	0.6752	2.3737
2	0.4545	0.6273	2.2203
3	0.4167	0.5924	2.0889
4	0.3846	0.5471	1.9443
5	0.2917	0.4417	1.5864
6	0.2174	0.3593	1.2934
7	0.1304	0.2649	0.9787
8	0.0909	0.2216	0.8125
9	0.0698	0.1970	0.7304

Kafeinin relatif konsantrasyonları absise, absorbanans oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafik şekil-17 ve şekil-18'de görülmektedir.



Şekil-17: $A_k / (A_i)_1$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-18: $A_k / (A_i)_2$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.2.3. Standart Cözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları $a=(A_1/c_T).1000$ formülüne göre (c_T , ölçülen karışımın toplam konsantrasyonu) hesaplandı ve tablo-4'de verildi.

Tablo-4: Isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları.

No	c_T ($\mu\text{g/ml}$)	a_1	a_2
1	20.0	37.915	10.785
2	22.0	37.968	10.727
3	24.0	37.862	10.737
4	26.0	37.819	10.642
5	24.0	37.666	10.487
6	23.0	38.030	10.565
7	23.0	37.695	10.204
8	22.0	37.941	10.350
9	21.5	37.939	10.232
		$\bar{a}_1=37.871$	$\bar{a}_2=10.525$

Önceki bölümlerde verilen (12,13,26,27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-5 ve tablo-6'da verilmiştir.

Tablo-5: $A_k/(A_i)_1$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	% Asp.
10	9.9624	99.62	10	10.0609	100.61
10	10.0298	100.30	12	12.0267	100.22
10	10.1627	101.63	14	13.8320	98.80
10	9.9458	99.46	16	16.0187	100.12
7	6.8951	98.50	17	16.9755	99.86
5	4.9707	99.41	18	18.1262	100.70
3	2.9954	99.85	20	19.8982	99.49
2	2.0309	101.54	20	20.0098	100.05
1.5	1.5111	100.74	20	20.0279	100.14
		$\bar{x}_k = 100.12$			$\bar{x}_{as} = 100.00$
		$S_k = 1.0368$			$S_{as} = 0.5773$

Bölüm 2.7.3.'de verilen (27)nolu formülden yararlanarak güven aralığı hesaplandı. Tablodan %95 güvenilirlik düzeyi için t değeri 2.31 olarak bulundu.

Kafein için $\hat{\mu}_k = 100.12 \pm 0.80$

Aspirin için $\hat{\mu}_{as} = 100.00 \pm 0.44$

Tablo-6: $A_k/(A_i)_2$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	% Asp.
10	10.1590	101.59	10	10.3337	103.34
10	10.2216	102.21	12	12.1997	101.66
10	10.3257	103.26	14	14.1572	101.12
10	10.0994	100.99	16	16.1886	101.18
7	6.9635	99.48	17	16.9494	99.70
5	4.9655	99.31	18	18.1208	100.67
3	2.9729	99.10	20	19.3249	96.62
2	1.9502	97.51	20	19.6826	98.41
1.5	1.4384	95.89	20	19.4628	97.31
		$\bar{x}_k = 99.93$			$\bar{x}_{as} = 100.00$
		$S_k = 2.3351$			$S_{as} = 2.1876$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.31$

Kafein için $\mu_k = 99.93 \pm 1.80$

Aspirin için $\mu_{as} = 100.00 \pm 1.68$

Görüldüğü gibi bu yöntem %6.98-50 oranında kafein ve %50-93.02 oranında aspirin içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı kafein için 1.5-10 $\mu\text{g/ml}$, aspirin için 10-20 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_k = c_{as} = 10 \mu\text{g/ml}$ olan 1 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbensleri tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-7).

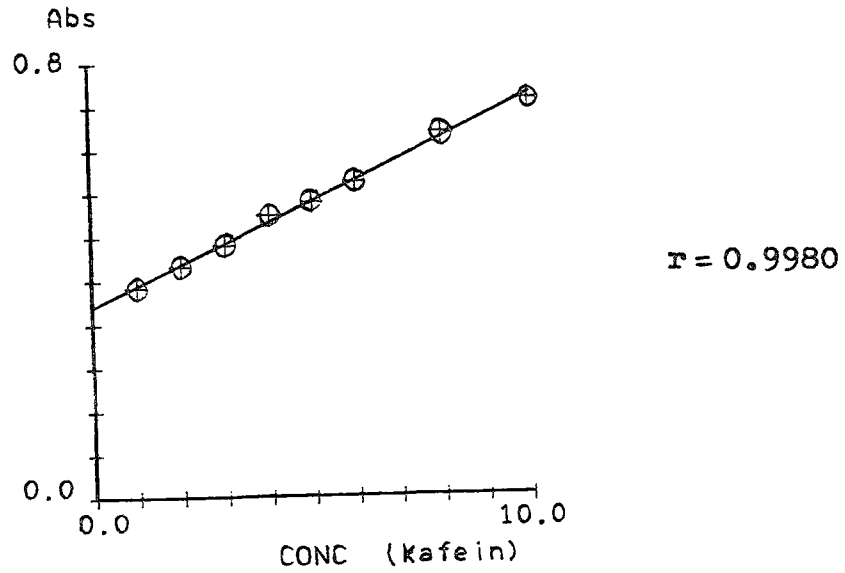
Tablo-7: $10 \mu\text{g/ml}$ Kafein ve $10 \mu\text{g/ml}$ aspirin içeren karışımın absorbensinin on kez tayini.

$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
0.767	0.223	0.523
0.761	0.201	0.522
0.756	0.202	0.513
0.746	0.220	0.507
0.758	0.215	0.510
0.765	0.209	0.504
0.758	0.217	0.511
0.751	0.215	0.515
0.765	0.229	0.509
0.756	0.226	0.506
$(\bar{A}_i)_1 = 0.7583$ $S = 0.0066$	$(\bar{A}_i)_2 = 0.2157$ $S = 0.0095$	$\bar{A}_k = 0.5120$ $S = 0.0064$

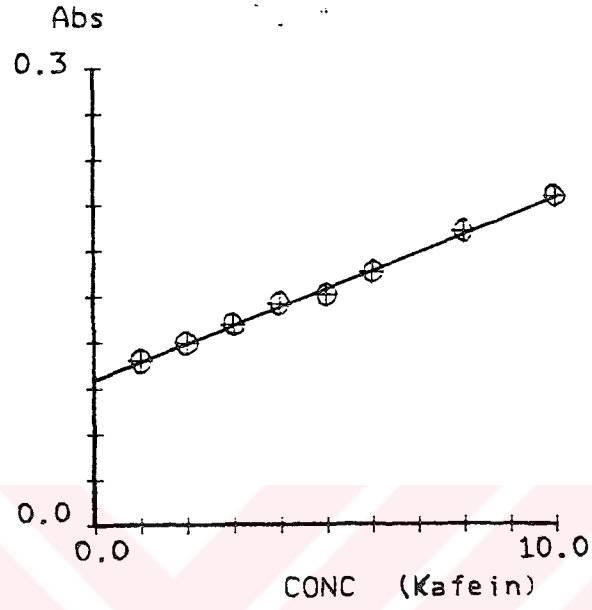
Yöntemimizin Beer Kanununa uygunluğu karışımdaki kafein ve aspirin miktarları sırayla sabit tutularak absorbens ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok aspirin ve stok kafein çözeltileri ile bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Aspirin konsantrasyonun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-8'de, buna göre çizilen grafikler şekil-19, şekil-20, şekil-21'de verilmiştir.

Tablo-8: $c_{as}=10 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

v_k (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
5.0	10	0.728	0.215	0.513
4.0	8	0.670	0.192	0.416
3.0	6	0.581	0.166	0.312
2.5	5	0.543	0.151	0.275
2.0	4	0.519	0.145	0.220
1.5	3	0.464	0.132	0.181
1.0	2	0.426	0.120	0.125
0.5	1	0.387	0.108	0.087

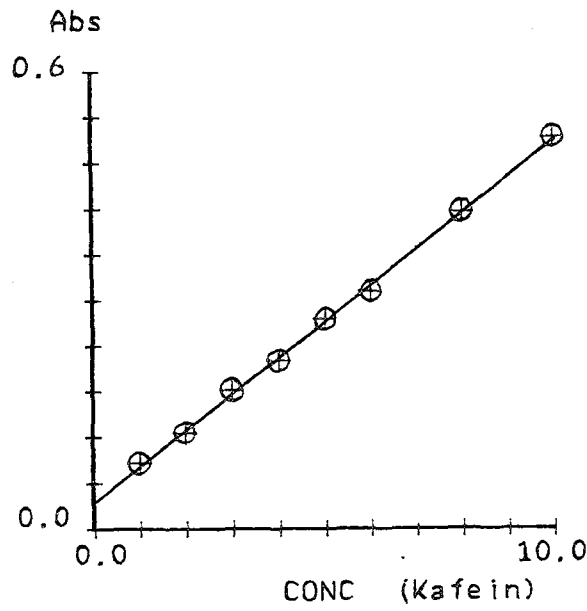


Şekil-19: 220.4 nm'da c_{as} sabit iken grafik.



$r = 0.9987$

Şekil-20: 241.4 nm'de c_{as} sabit iken grafik.



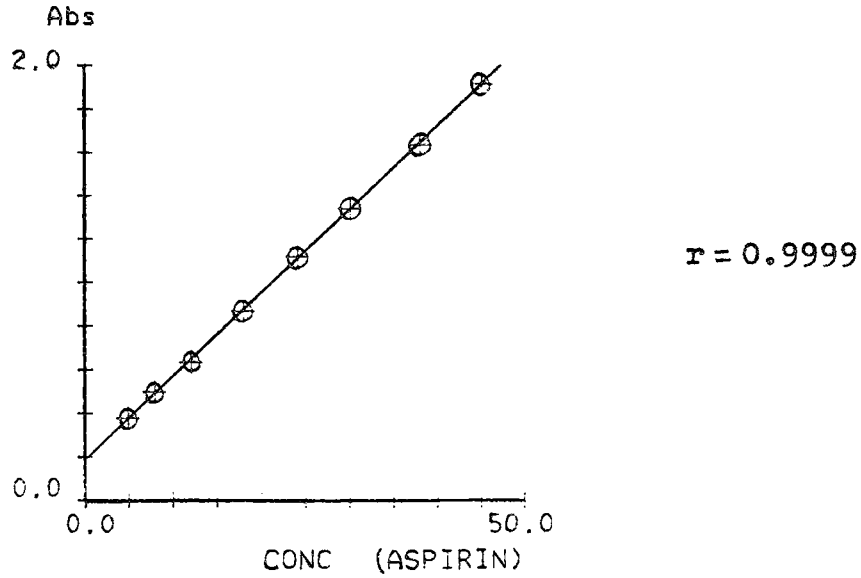
$r = 0.9994$

Şekil-21: 271.7 nm'de c_{as} sabit iken grafik.

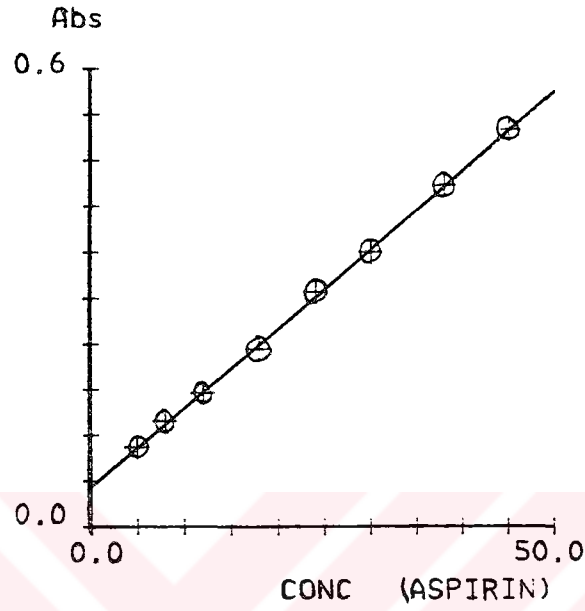
Kafein konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-9'da, buna göre çizilen grafikler şekil-22, şekil-23, şekil-24'de verilmiştir.

Tablo-9: $c_k=5 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

v_{as} (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
22.5	45	1.914	0.519	0.458
19.0	38	1.634	0.447	0.425
15.0	30	1.342	0.360	0.378
12.0	24	1.119	0.308	0.352
9.0	18	0.870	0.233	0.316
6.0	12	0.634	0.175	0.290
4.0	8	0.497	0.138	0.268
2.5	5	0.377	0.104	0.258

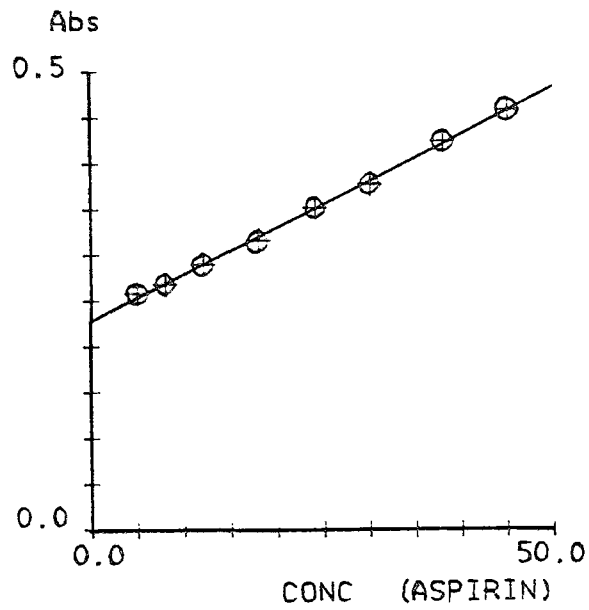


Şekil-22: 220.4 nm'de c_k sabit iken grafik.



$r = 0.9997$

Şekil-23: 241.4 nm'de c_k sabit iken grafik.



$r = 0.9992$

Şekil-24: 271.7 nm'de c_k sabit iken grafik.

3.2.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması

Ülkemizde kullanılmakta olan ve her bir tabletinde 500 mg aspirin ve 50 mg kafein ihtiva eden formülasyon şekli kullanıldı. Geliştirilen yöntem izlenerek miktar tayinleri gerçekleştirildi.

20 Tablet tartılarak (13.11 g) havanda iyice toz edildi. Bundan 110 mg tartılarak 40 ml %95'lik etanolle ultrasonik banyoda 15 dakika tutuldu ve çözünen kısım süzüldü. Çözünmeden kalan kısma aynı işlem 35 ml etanolle bir kez daha tekrarlandı. Çökelti etanolle yıkanarak 100 ml hacme tamamlandı. Bu çözültiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözültideki aspirin konsantrasyonu 83.9 $\mu\text{g/ml}$, kafein konsantrasyonu 8.3905 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Stok çözültisinden 50 ml'lik balon jojede etanolle seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözültülerin absorbansları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-10'da görülmektedir.

Tablo-10: 500 mg Aspirin ve 50 mg kafein içeren tabletlerden hazırlanan seyreltmeler ve absorbans değerleri.

v (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
9.0	15.1020	1.5103	0.6300	0.1690	0.1393
9.5	15.9410	1.5942	0.6617	0.1780	0.1460
10.0	16.7800	1.6781	0.6960	0.1890	0.1540
10.5	17.6190	1.7620	0.7370	0.1980	0.1613
11.0	18.4580	1.8459	0.7740	0.2107	0.1710
11.5	19.2970	1.9298	0.8020	0.2170	0.1780

Bu değerlerin (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-11 ve tablo-12'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-11: $A_k/(A_i)_1$ 'e göre 500 mg aspirin ve 50 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki kafein (mg)	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab.de asp. (mg)
1.5103	1.5256	50.51	15.1020	15.1099	500.26
1.5942	1.5951	50.03	15.9410	15.8774	498.00
1.6781	1.6879	50.29	16.7800	16.6903	497.33
1.7620	1.7455	49.53	17.6190	17.7153	502.73
1.8459	1.8710	50.68	18.4580	18.5668	502.95
1.9298	1.9579	50.73	19.2970	19.2193	497.99
		$\bar{x}_k = 50.29$ $S_k = 0.4559$			$\bar{x}_{as} = 499.89$ $S_{as} = 2.5020$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 50.29 \pm 0.48$

Aspirin için $\mu_{as} = 499.89 \pm 2.62$

Tablo-12: $A_k/(A_i)_2$ 'ye göre 500 mg aspirin ve 50 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki kafein (mg)	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki aspirin (mg)
1.5103	1.4965	49.54	15.1020	14.5594	482.03
1.5942	1.5584	48.88	15.9410	15.3586	481.54
1.6781	1.6295	48.55	16.7800	16.3265	486.49
1.7620	1.7063	48.42	17.6190	17.1048	485.41
1.8459	1.7998	48.75	18.4580	18.2179	493.49
1.9298	1.9002	49.23	19.2970	18.7160	484.95
		$\bar{x}_k = 48.90$ $S_k = 0.4229$			$\bar{x}_{as} = 485.65$ $S_{as} = 4.3062$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 48.90 \pm 0.44$

Aspirin için $\mu_{as} = 485.65 \pm 4.52$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman $A_k/(A_i)_1$ için %100.58 kafein ve %99.98 aspirin, $A_k/(A_i)_2$ için %97.8 kafein ve %97.13 aspirin bulunur.

Her iki isoabsorptif dalga boyu kullanılarak elde edilen sonuçlar aspirin ve kafein için farmakopede verilen sınırlara uymaktadır. Farmakopede aspirin için %95-105 , kafein için %95-105 verilmektedir(268).

3.2.5. Gelistirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Standart Karışımlarda Mukayese:

OAtay ve Bulut absorpsiyon oranları tekniği ile çalışmışlar ve 0.1 N hidroklorik asit içinde spektrum almışlardır. Aspirin için 228 nm, kafein için 272 nm'de çalışmışlar ve isoabsorptif dalga boyunu 243.8 nm olarak belirlemişlerdir. Çalışmalarında 10 konsantrasyon için ortalama aspirin yüzdesi %99.9 (S=2.4), kafein yüzdesi %101.5 (S=1.6) bulunmuştur(116). Bu yöntem "iki ortalamanın karşılaştırılması" ve "F testi"ne göre, geliştirdiğimiz yöntemle mukayese edildi.

"İki ortalamanın karşılaştırılması yöntemi"ne göre:

(A₁)₁'de Aspirin için:

N _a =10	S _a =2.4	$\bar{x}_a=99.9$
N _b =9	S _b =0.5773	$\bar{x}_b=100.00$

(Literatür yöntemi "a" ile, geliştirdiğimiz yöntem "b" ile belirtildi.)

%95 Güvenilirlik düzeyi için t=2.11

Bölüm (2.7.3.)'de verilen (28) ve (29) nolu bağıntılar kullanılarak aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

$$S_p=1.7906 \quad , \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.7359 \quad , \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 0.1$$

0.1 < 1.7359 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında aspirin tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

(A_i)₁'de Kafein için:

N _a =10	S _a =1.6	$\bar{x}_a=101.5$	t=2.11
N _b =9	S _b =1.0368	$\bar{x}_b=100.12$	

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=1.3642 \quad , \quad t.S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.3226 \quad , \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 1.38$$

1.38 \approx 1.3226 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında kafein tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

(A_i)₂'de Aspirin için:

N _a =10	S _a =2.4	$\bar{x}_a=99.9$	t=2.11
N _b =9	S _b =2.1876	$\bar{x}_b=100.00$	

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=2.3025 \quad , \quad t.S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 2.2322 \quad , \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 0.1$$

0.1 < 2.2322 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında aspirin tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

(A_i)₂'de Kafein için:

N_a=10 S_a=1.6 $\bar{x}_a=101.5$ t=2.11
N_b=9 S_b=2.3351 $\bar{x}_b=99.93$

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=1.9802 \quad , \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.9197 \quad , \quad \bar{x}_a - \bar{x}_b = 1.57$$

1.57 < 1.9197 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında kafein tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

"F Testi"ne göre:

(30) Nolu formüle göre hesaplanan F değeri, N_a ve N_b deney sayıları için çeşitli güvenilirlik düzeylerinde tablolarda verilen F_t değeri ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Sonuçlar tablo-13'de verildi.

Tablo-13: F Testi sonuçları.

	(λ _i) ₁ 'in kullanıldığı		(λ _i) ₂ 'nin kullanıldığı	
	Aspirin	Kafein	Aspirin	Kafein
N _a	10	10	10	10
N _b	9	9	9	9
S _a	2.4	1.6	2.4	1.6
S _b	0.5773	1.0368	2.1876	2.3351
F	17.283	2.3815	1.2036	2.1299
F _t	3.39	3.39	3.39	3.23

$(\lambda_1)_1$ 'in kullanıldığı çalışmada aspirin için mukayesede $F > F_t$ olduğundan %95 olasılıkla iki yöntemin duyarlılığı arasında önemsenecek fark vardır. Diğer çalışmalarda $F < F_t$ olduğu için % 95 olasılıkla iki yöntemin duyarlılığı arasında önemsenecek bir fark yoktur.

Tabletlerde Mukayese:

F.Onur ve N.Acar aspirin ve kafeini karışım halinde birinci türev ultraviole spektrofotometrisiyle tayin etmişler ve yöntemlerini tabletlere uygulamışlardır(170). Bu yöntem "iki ortalamanın karşılaştırılması" ve "F testi"ne göre, geliştirdiğimiz yöntemle mukayese edildi.

"İki ortalamanın karşılaştırılması yöntemi"ne göre:

$(A_1)_1$ 'de Aspirin için:

$N_a=10$	$S_a=0.7$	$\bar{x}_a=500.6$	$t=2.14$
$N_b=6$	$S_b=2.5020$	$\bar{x}_b=499.89$	

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=1.5971 \quad , \quad t.S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.7649 \quad , \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 0.71$$

$0.71 < 1.7649$ olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında tabletlerde aspirin tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

(A_i)₁'de Kafein için:

N _a =10	S _a =1.1	$\bar{x}_a=50.1$	t=2.14
N _b =6	S _b =0.4559	$\bar{x}_b=50.29$	

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=0.9231, \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.0201, \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 0.19$$

0.19 < 1.0201 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında tabletlerde kafein tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

(A_i)₂'de Aspirin için:

N _a =10	S _a =0.7	$\bar{x}_a=500.6$	t=2.14
N _b =6	S _b =4.3062	$\bar{x}_b=485.65$	

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=2.6339, \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 2.9107, \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 14.95$$

14.95 > 2.9107 olduğu için tabletlerde aspirin tayini bakımından iki yöntem arasında %95 olasılıkla önemsenecek bir fark vardır.

(A_i)₂'de Kafein için:

$$\begin{array}{llll} N_a=10 & S_a=1.1 & \bar{x}_a=50.1 & t=2.14 \\ N_b=6 & S_b=0.4229 & \bar{x}_b=48.9 & \end{array}$$

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=0.9174, \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.0138, \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 1.2$$

1.2 > 1.0138 olduğu için tabletlerde kafein tayini bakımından iki yöntem arasında %95 olasılıkla önemsenecek bir fark vardır.

"F Testi"ne göre:

(30) Nolu formüle göre hesaplanan F değeri, N_a ve N_b deney sayıları için çeşitli güvenilirlik düzeylerinde tablolarda verilen F_t değeri ile karşılaştırıldı (tablo-14).

Table-14: Tabletler için F testi sonuçları.

	(λ _i) ₁ 'in kullanıldığı		(λ _i) ₂ 'nin kullanıldığı	
	Aspirin	Kafein	Aspirin	Kafein
N _a	10	10	10	10
N _b	6	6	6	6
S _a	0.7	1.1	0.7	1.1
S _b	2.5020	0.4559	4.3062	0.4229
F	12.7755	5.8216	37.8436	6.7656
F _t	3.48	4.77	3.48	4.77

Her iki isoabsorptif dalga boyunun kullanıldığı hesaplamalarda $F > F_t$ olduğu için tabletlerde aspirin ve kafein tayini bakımından iki yöntemin duyarlılığı arasında %95 olasılıkla önemsenecek bir fark vardır.

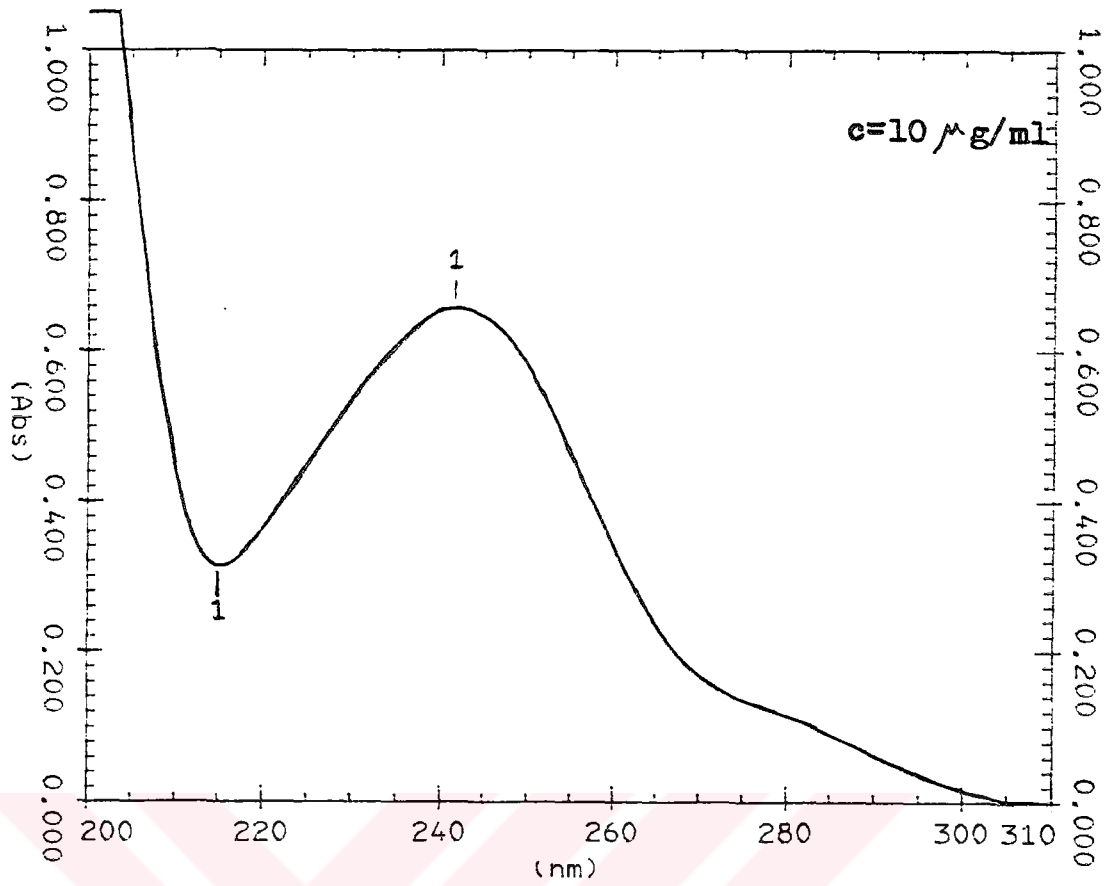
3.3. ASETAMİNOFEN-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.3.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

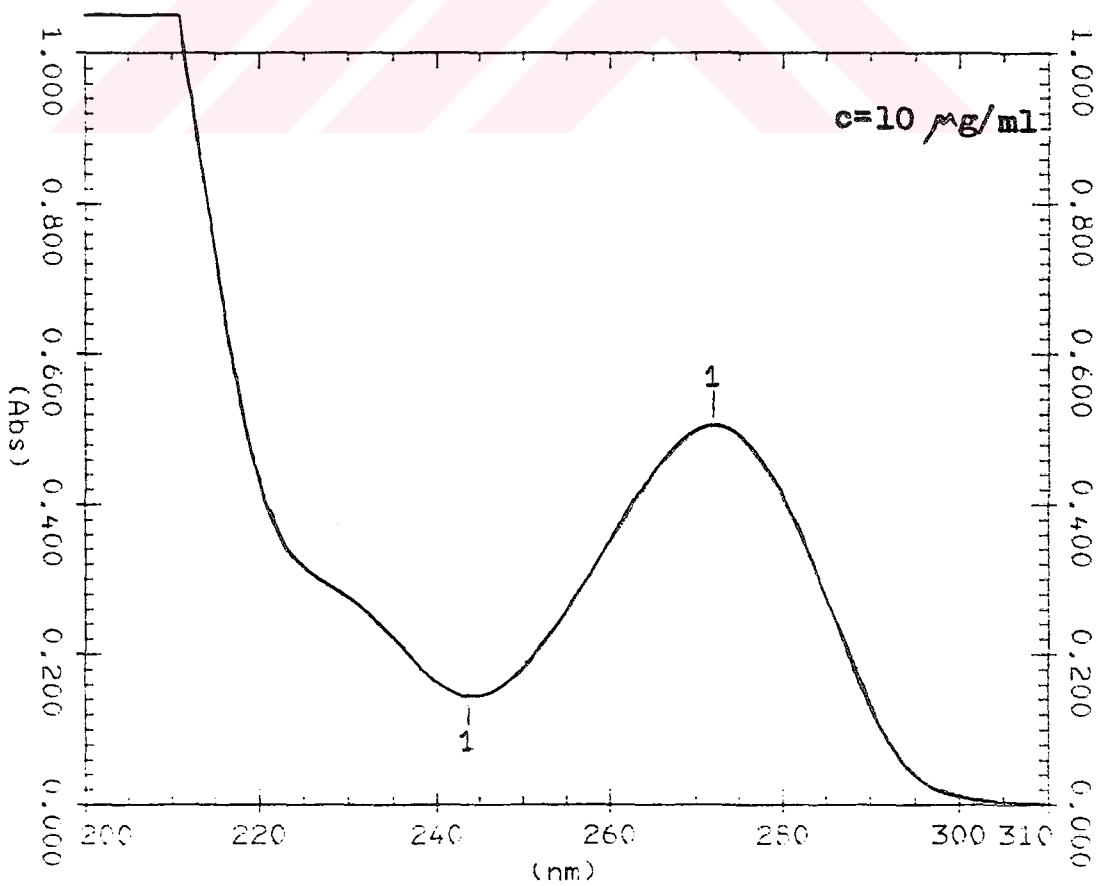
3.3.1.1. Dalga Boyu Seçimi

Eşit konsantrasyonda hazırlanan asetaminofen ve kafein çözeltilerinin 200-310 nm arasında distile su içinde alınan spektrumunda asetaminofen 241.6 nm'de, kafein 272 nm'de maksimum absorbans gösterdi (şekil-25 ve şekil-26).

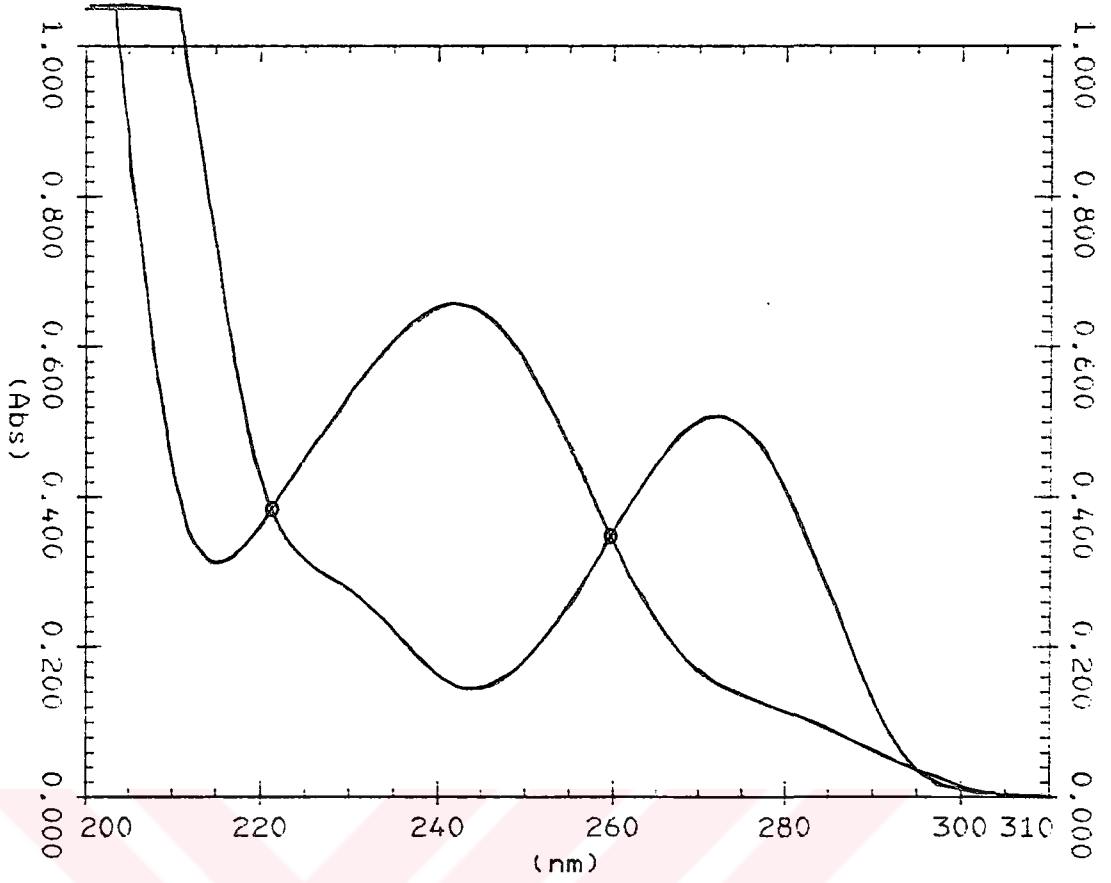
İki spektrumun üst üste çizdirilmesiyle kesişim noktaları yani asetaminofen ve kafeinin aynı absorbansı gösterdiği dalga boyları 221.2 ve 259.7 nm olarak tespit edildi(şekil-27).



Şekil-25: Asetaminofenin ultraviyole spektrumu (suda).



Şekil-26: Kafeinin ultraviyole spektrumu (suda).



Şekil-27: İsoabsorptif dalga boyu.

3.3.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltisi:

100 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jojede distle suyla hacmine tamamlandı. On dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede distle suyla hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltisi:

100 mg Kafein 100 ml'lik balon jojede distle suyla hacmine tamamlandı. On dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede distle su ile hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok kafein çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Bu şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 50 ml'lik balon jöjelerde distile suyla bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 221.2, 241.6, 259.7 ve 272 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-15 ve tablo-16'da görülmektedir.

Tablo-15: Stok asetaminofen ve kafein çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

No	v_a (ml)	v_k (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{c_a}{c_a+c_k}$	$\frac{c_k}{c_a+c_k}$
1	9.0	0.5	18	1	0.9474	0.0526
2	6.5	1.0	13	2	0.8667	0.1333
3	6.0	1.5	12	3	0.8000	0.2000
4	6.0	2.0	12	4	0.7500	0.2500
5	6.0	2.5	12	5	0.7059	0.2941
6	5.0	3.0	10	6	0.6250	0.3750
7	5.0	4.0	10	8	0.5556	0.4444
8	4.0	4.0	8	8	0.5000	0.5000
9	3.0	4.0	6	8	0.4286	0.5714
10	3.0	5.0	6	10	0.3750	0.6250
11	3.0	6.0	6	12	0.3333	0.6667
12	2.0	8.0	4	16	0.2000	0.8000
13	1.5	8.0	3	16	0.1579	0.8421
14	1.0	8.0	2	16	0.1111	0.8889
15	0.5	8.5	1	17	0.0556	0.9444

c_a = asetaminofen konsantrasyonu, c_k = kafein konsantrasyonu

Tablo-16: 221.2, 241.6, 259.7 ve 272 nm'lerdeki absorpsiyonlar.

No	$(A_i)_1$ (221.2 nm)	A_a (241.6 nm)	$(A_i)_2$ (259.7 nm)	A_k (272 nm)
1	0.6990	1.1790	0.6440	0.3150
2	0.5507	0.8667	0.5100	0.2930
3	0.5563	0.8247	0.5097	0.3307
4	0.5900	0.8277	0.5440	0.3820
5	0.6233	0.8537	0.5790	0.4280
6	0.5850	0.7297	0.5440	0.4480
7	0.6573	0.7553	0.6100	0.5513
8	0.5925	0.6329	0.5450	0.5251
9	0.5107	0.4997	0.4767	0.4910
10	0.5833	0.5237	0.5417	0.5887
11	0.6630	0.5540	0.6120	0.6923
12	0.7350	0.4830	0.6843	0.8693
13	0.6987	0.4197	0.6520	0.8613
14	0.6590	0.3503	0.6097	0.8383
15	0.6603	0.3020	0.6177	0.8783

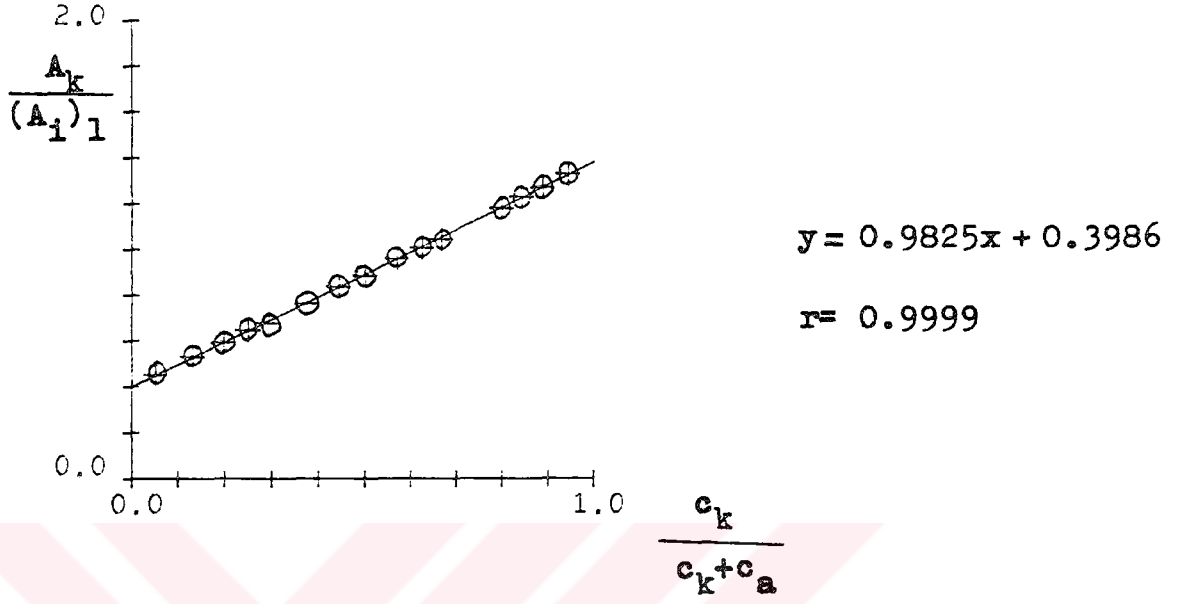
3.3.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorpsiyon oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi ve en küçük kareler yöntemine göre doğru denklemi hesaplandı. Grafik değerleri tablo-17'de görülmektedir.

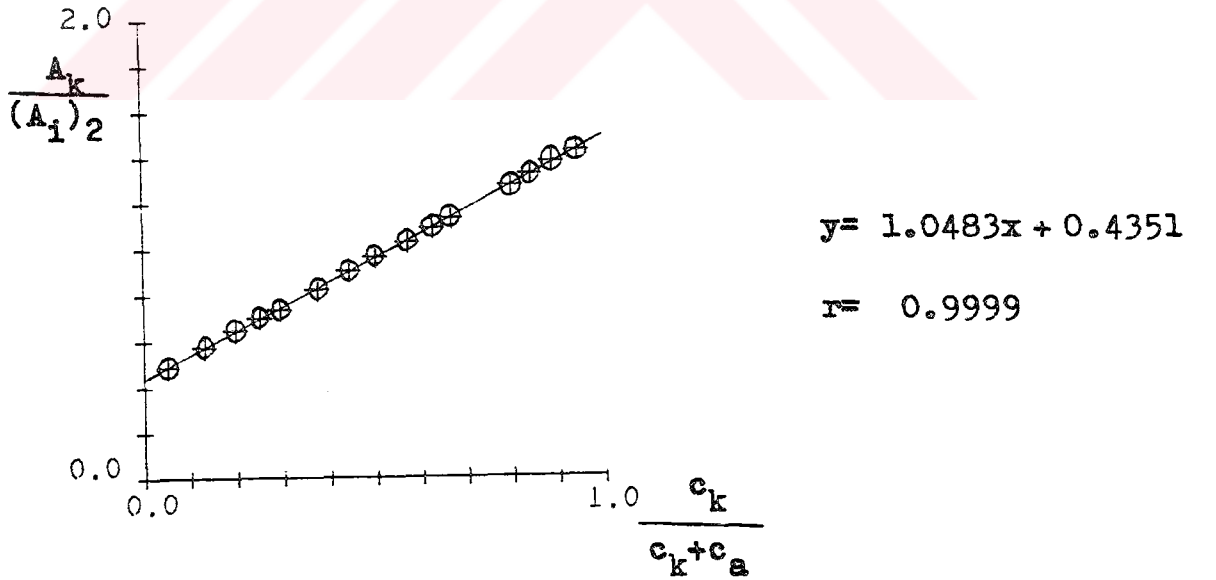
Tablo-17: Elde edilen absorbands değerleri ile yapılan hesaplamalar.

$\frac{c_k}{c_k+c_a}$	$\frac{A_k}{(A_i)_1}$	$\frac{A_k}{(A_i)_2}$	$\frac{c_a}{c_k+c_a}$	$\frac{A_a}{(A_i)_1}$	$\frac{A_a}{(A_i)_2}$
0.0526	0.4506	0.4891	0.9474	1.6867	1.8307
0.1333	0.5321	0.5745	0.8667	1.5738	1.6994
0.2000	0.5945	0.6488	0.8000	1.4825	1.6180
0.2500	0.6475	0.7022	0.7500	1.4029	1.5215
0.2941	0.6867	0.7392	0.7059	1.3696	1.4744
0.3750	0.7658	0.8235	0.6250	1.2474	1.3414
0.4444	0.8387	0.9038	0.5556	1.1491	1.2382
0.5000	0.8862	0.9635	0.5000	1.0682	1.1613
0.5714	0.9614	1.0300	0.4286	0.9785	1.0482
0.6250	1.0093	1.0868	0.3750	0.8978	0.9668
0.6667	1.0442	1.1312	0.3333	0.8356	0.9052
0.8000	1.1827	1.2703	0.2000	0.6571	0.7058
0.8421	1.2327	1.3210	0.1579	0.6007	0.6437
0.8889	1.2721	1.3749	0.1111	0.5316	0.5745
0.9444	1.3302	1.4219	0.0556	0.4574	0.4889

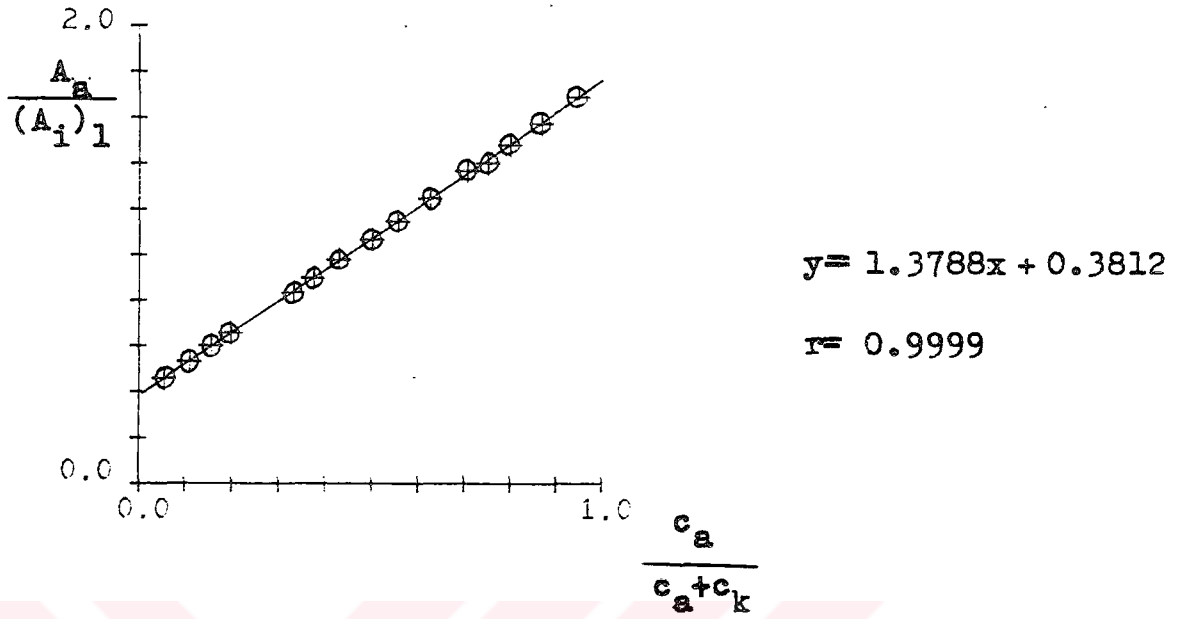
Şekil-28 ve şekil-29'da kafeinin relatif konsantrasyonları absise, absorbands oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir. Asetaminofen için çizilen grafikler ise şekil-30 ve şekil-31'de mevcuttur.



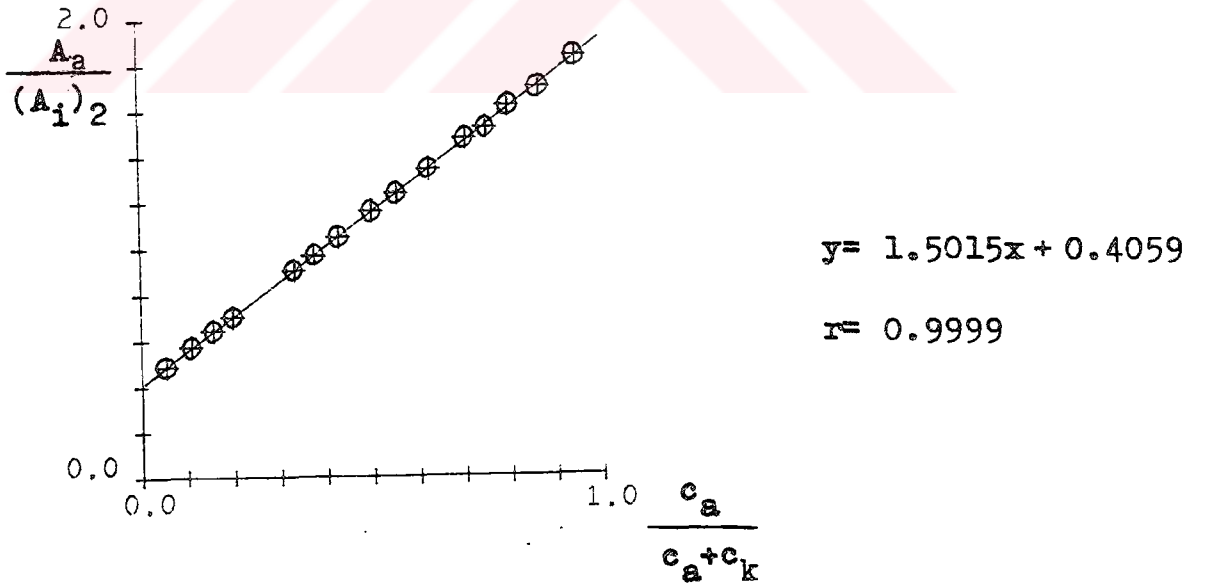
Şekil-28: $A_k / (A_i)_1$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-29: $A_k / (A_i)_2$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-30: $A_a / (A_i)_1$ Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-31: $A_a / (A_i)_2$ Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.3.3. Standart Cözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-18'de verildi.

Tablo-18: Isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları.

No	c_T ($\mu\text{g/ml}$)	a_1	a_2
1	19	36.789	33.895
2	15	36.713	34.000
3	15	37.087	33.980
4	16	36.875	34.000
5	17	36.665	34.059
6	16	36.562	34.000
7	18	36.517	33.889
8	16	37.031	34.062
9	14	36.478	34.050
10	16	36.456	33.856
11	18	36.833	34.000
12	20	36.750	34.215
13	19	36.774	34.316
14	18	36.611	33.872
15	18	36.683	34.317

Önceki bölümlerde verilen (12,26,27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-19 ve tablo-20'de verilmiştir.

Tablo-19: $A_k/(A_i)_1$ ve $A_a/(A_i)_1$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Asetami.
1	1.0075	100.75	18	18.0232	100.13
2	2.0377	101.88	13	12.9714	99.78
3	3.0206	100.68	12	12.1002	100.83
4	4.0703	101.75	12	11.9056	99.21
5	4.9772	99.54	12	12.1676	101.39
6	5.9539	99.23	10	10.0080	100.80
8	8.0179	100.22	10	9.9688	99.69
8	8.0075	100.09	8	8.0394	100.49
8	7.9664	99.58	6	6.0247	100.41
10	9.8733	98.73	6	5.9514	99.19
12	11.8637	98.86	6	5.9501	99.17
16	15.9736	99.83	4	4.0051	100.13
16	16.1530	100.95	3	3.0290	100.97
16	15.9549	99.72	2	1.9575	97.88
17	17.0497	100.29	1	0.9937	99.37
		$\bar{x}_k = 100.14$			$\bar{x}_a = 99.96$
		$S_k = 0.9400$			$S_a = 0.9113$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Kafein için $\mu_k = 100.14 \pm 0.52$

Asetaminofen için $\mu_a = 99.96 \pm 0.50$

Tablo-20: $A_k/(A_i)_2$ ve $A_a/(A_i)_2$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Asetami.
1	0.9747	97.47	18	17.9556	99.75
2	1.9927	99.63	13	12.9092	99.30
3	3.0530	101.76	12	12.0897	100.75
4	4.0726	101.81	12	11.8760	98.97
5	4.9351	98.70	12	12.1063	100.89
6	5.9221	98.70	10	9.9587	99.59
8	8.0135	100.17	10	9.9351	99.35
8	8.0716	100.89	8	8.0563	100.70
8	7.9486	99.35	6	5.9916	99.86
10	9.8948	98.95	6	5.9457	99.09
12	11.9405	99.50	6	5.9796	99.66
16	16.0191	100.12	4	4.0159	100.39
16	16.1895	101.18	3	3.0340	101.13
16	16.0602	100.37	2	2.0116	100.58
17	17.0846	100.50	1	1.0033	100.33
		$\bar{x}_k = 99.94$			$\bar{x}_a = 100.02$
		$S_k = 1.2138$			$S_a = 0.7009$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Kafein için $\mu_k = 99.94 \pm 0.67$

Asetaminofen için $\mu_a = 100.02 \pm 0.39$

Görüldüğü gibi bu yöntem %5.56-94.74 oranında asetaminofen ve %5.26-94.44 oranında kafein içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı asetaminofen için 1-18 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 1-17 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_k=c_a=8\mu\text{g/ml}$ olan 8 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbensleri tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-21).

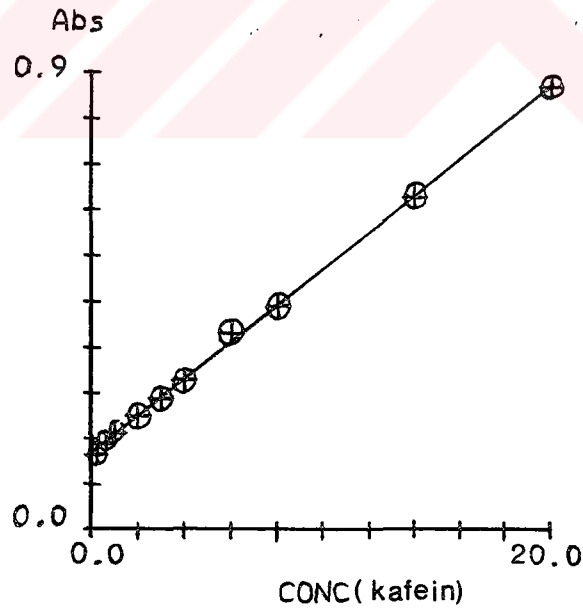
Tablo-21: 8 $\mu\text{g/ml}$ kafein ve 8 $\mu\text{g/ml}$ asetaminofen içeren karışımın absorbensinin on kez tayini.

$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$	A_k
0.592	0.639	0.555	0.523
0.590	0.643	0.550	0.528
0.589	0.630	0.538	0.517
0.593	0.627	0.550	0.528
0.583	0.640	0.542	0.523
0.597	0.631	0.541	0.518
0.600	0.628	0.536	0.531
0.603	0.637	0.550	0.530
0.581	0.625	0.535	0.521
0.597	0.629	0.553	0.532
$(\bar{A}_i)_1=0.5925$ $S=0.0071$	$\bar{A}_a=0.6329$ $S=0.0063$	$(\bar{A}_i)_2=0.5450$ $S=0.0074$	$\bar{A}_k=0.5251$ $S=0.0054$

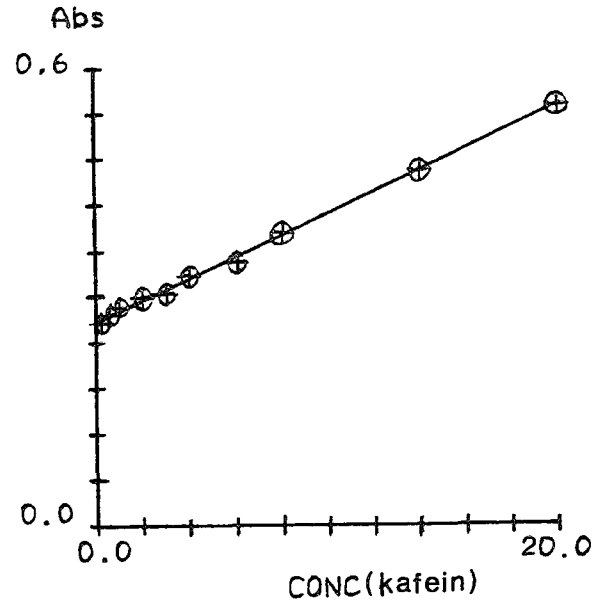
Yöntemimizin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki asetaminofen ve kafein miktarları sırayla sabit tutularak absorbens ve konsantrasyon arasında grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok asetaminofen ve stok kafein çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Asetaminofen konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-22'de, buna göre çizilen grafikler şekil-32, şekil-33, şekil-34 ve şekil-35'de verilmiştir.

Tablo-22: $c_a = 4 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

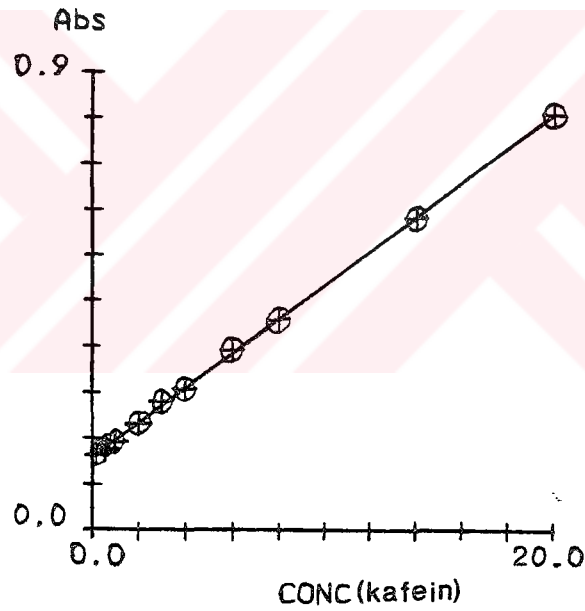
v_k (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$	A_k
0.1	0.2	0.148	0.265	0.146	0.066
0.3	0.6	0.173	0.277	0.158	0.093
0.5	1.0	0.190	0.286	0.174	0.115
1.0	2.0	0.225	0.299	0.208	0.174
1.5	3.0	0.260	0.305	0.253	0.215
2.0	4.0	0.297	0.327	0.277	0.267
3.0	6.0	0.388	0.345	0.353	0.361
4.0	8.0	0.440	0.383	0.413	0.464
7.0	14.0	0.655	0.465	0.615	0.765
10.0	20.0	0.872	0.550	0.818	1.065



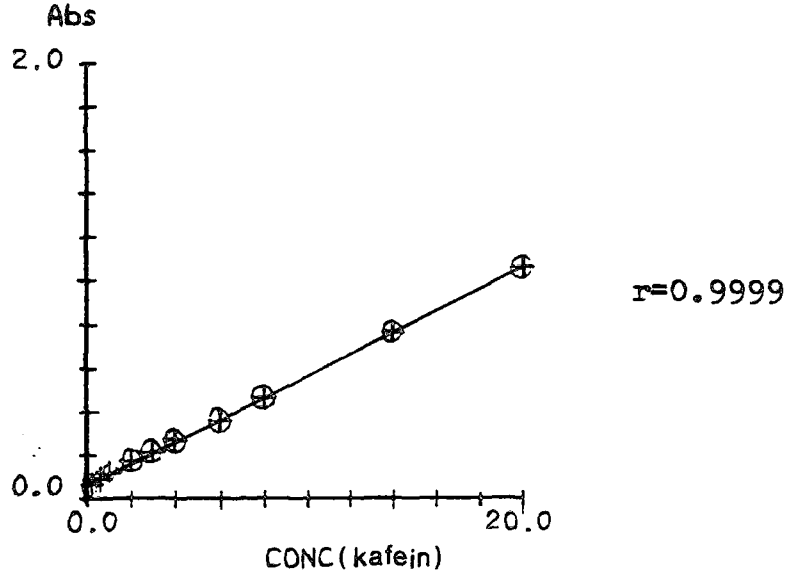
Şekil-32: 221.2 nm'de c_a sabit iken grafik.



Şekil-33: 241.6 nm'de c_a sabit iken grafik.



Şekil-34: 259.7 nm'de c_a sabit iken grafik.

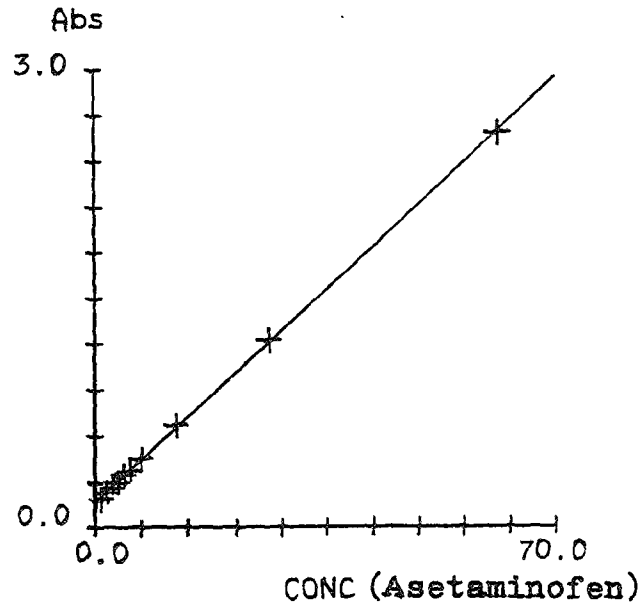


Şekil-35: 272 nm'de c_a sabit iken grafik.

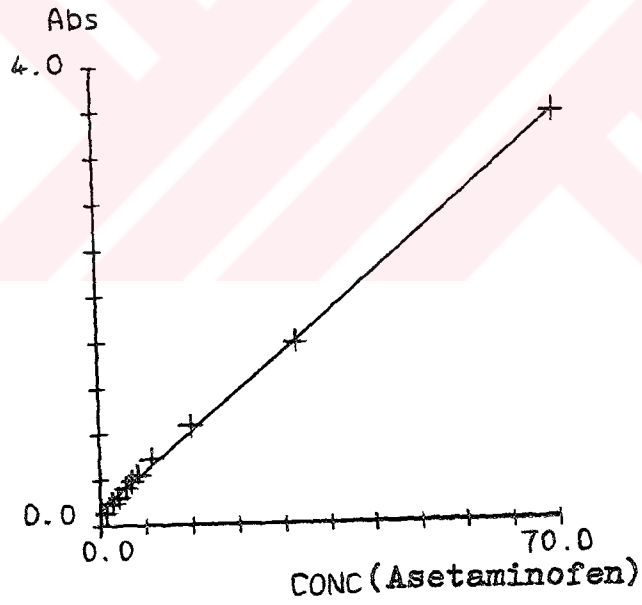
Kafein konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-23'de, buna göre çizilen grafikler şekil-36, şekil-37, şekil-38 ve şekil-39'da verilmiştir.

Tablo-23: $c_k=4 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

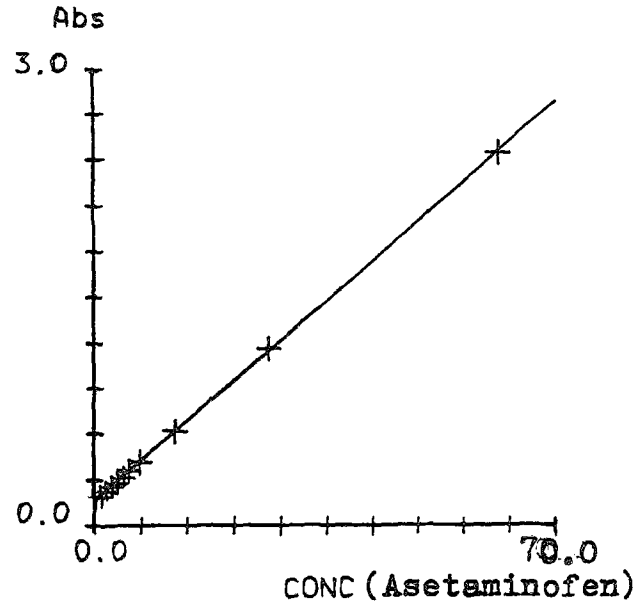
v_a (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$	A_k
35.0	70	2.584	3.555	2.445	1.225
15.0	30	1.229	1.590	1.166	0.640
7.0	14	0.669	0.866	0.623	0.414
4.0	8	0.453	0.585	0.416	0.326
3.0	6	0.369	0.445	0.356	0.302
2.5	5	0.345	0.390	0.313	0.282
2.0	4	0.297	0.327	0.277	0.267
1.5	3	0.261	0.252	0.255	0.260
1.0	2	0.235	0.199	0.218	0.246
0.5	1	0.188	0.121	0.187	0.230



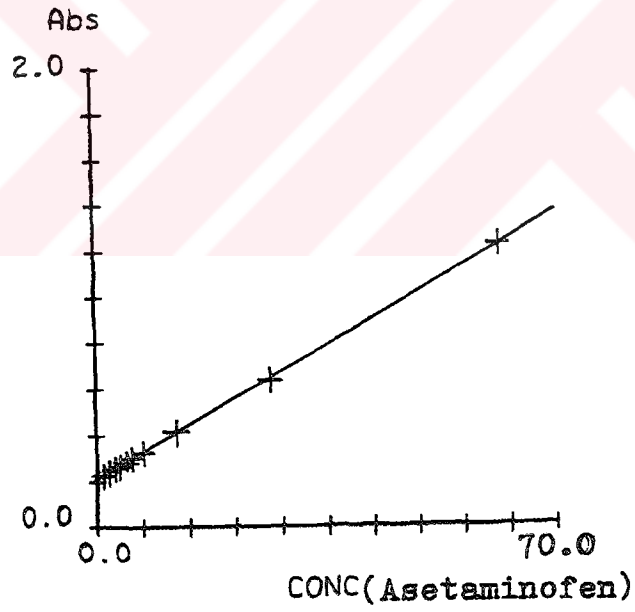
Şekil-36: 221.2 nm'de c_k sabit iken grafik.



Şekil-37: 241.6 nm'de c_k sabit iken grafik.



Şekil-38: 259.7 nm'de c_k sabit iken grafik.



Şekil-39: 272 nm'de c_k sabit iken grafik.

3.3.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması:

Ülkemizde kullanılmakta olan ve her bir tabletinde 500 mg asetaminofen ve 30 mg kafein ihtiva eden formülasyon şekli kullanıldı. Geliştirilen yöntem izlenerek miktar tayinleri gerçekleştirildi.

20 Tablet tartılarak (14.23 g) havanda iyice toz edildi. Bundan 134 mg tartılarak 40 ml distle su ile ultrasonik banyoda 20 dakika tutuldu ve çözünen kısım süzüldü. Çözünmeden kalan kısma aynı işlem 35 ml distle suyla bir kez daha tekrarlandı. Çökelti diskle su ile yıkanarak 100 ml hacme tamamlandı. Bu çözeltilerden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jofede distle su ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltilerdeki asetaminofen konsantrasyonu $94.17 \mu\text{g/ml}$, kafein konsantrasyonu $5.6500 \mu\text{g/ml}$ dir.

Stok çözeltilerinden 50 ml'lik balon jofede distle su ile seyrelterek hazırlanan iki farklı konsantrasyondaki çözeltilerden üçer kez hazırlanarak, belirlenen dalga boylarında absorbanları okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-24'de görülmektedir.

Tablo-24: 500 mg Asetaminofen ve 30 mg kafein içeren tabletlerden hazırlanan seyreltmeler ve absorban değerleri.

v (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$	A_k
9.0	16.9510	1.0170	0.6620	1.1133	0.6110	0.3017
9.0	16.9510	1.0170	0.6630	1.1147	0.6113	0.3020
9.0	16.9510	1.0170	0.6630	1.1150	0.6120	0.3023
9.5	17.8928	1.0736	0.6997	1.1767	0.6450	0.3180
9.5	17.8928	1.0736	0.7000	1.1780	0.6460	0.3190
9.5	17.8928	1.0736	0.7010	1.1790	0.6470	0.3190

Bu değerlerin (12), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-25 ve tablo-26'da verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-25: $A_k/(A_i)_1$ ve $A_a/(A_i)_1$ 'e göre 500 mg asetaminofen ve 30 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan $c_k(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_k(\mu\text{g/ml})$	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan $c_a(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_a(\mu\text{g/ml})$	Bir tab.de aset. (mg)
1.0170	1.0484	30.93	16.9510	17.0040	501.56
1.0170	1.0457	30.85	16.9510	17.0241	502.36
1.0170	1.0540	31.09	16.9510	17.0301	502.33
1.0736	1.0837	30.28	17.8928	17.9723	502.22
1.0736	1.1081	30.96	17.8928	17.9958	502.88
1.0736	1.0971	30.66	17.8928	18.0080	503.22
		$\bar{x}_k = 30.79$ $S_k = 0.2895$			$\bar{x}_a = 502.39$ $S_a = 0.5836$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 30.79 \pm 0.30$

Asetaminofen için $\mu_a = 502.39 \pm 0.61$

Tablo-26: $A_k/(A_i)_2$ ve $A_a/(A_i)_2$ 'ye göre 500 mg asetaminofen ve 30 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab.de aset. (mg)
1.0170	1.0049	29.64	16.9510	16.9326	499.46
1.0170	1.0097	29.78	16.9510	16.9576	500.19
1.0170	1.0095	29.78	16.9510	16.9580	500.21
1.0736	1.0471	29.26	17.8928	17.9032	500.29
1.0736	1.0630	29.70	17.8928	17.9207	500.78
1.0736	1.0508	29.36	17.8928	17.9323	501.10
		$\bar{x}_k = 29.59$ $S_k = 0.2229$			$\bar{x}_a = 500.34$ $S_a = 0.5635$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 29.59 \pm 0.23$

Asetaminofen için $\mu_a = 500.34 \pm 0.59$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman $A_k/(A_i)_1$ için %102.63 kafein ve $A_a/(A_i)_1$ için %100.48 asetaminofen, $A_k/(A_i)_2$ için %98.63 kafein ve $A_a/(A_i)_2$ için %100.07 asetaminofen bulunur.

Her iki isoabsorptif dalga boyu kullanılarak elde edilen sonuçlar asetaminofen ve kafein için farmakopede verilen sınırlara uymaktadır. Farmakopede asetaminofen için %90-110, kafein için %90-110 verilmektedir(269).

3.3.5. Gelistirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

F.Onur ve N.Acar birinci türev ultraviyole spektrofotometriyle 325 mg asetaminofen ve 25 mg kafein içeren tabletlerde yaptıkları bir çalışmada, 10 tayin yaparak asetaminofen için 324.6 (S=0.7), kafein için de 24.9 (S=0.2) geri kazanım değerlerini bulmuşlardır(172). Bu çalışmada kullanılan tabletlerin terkibi bizim çalışmamızda kullandığımız tabletlerden farklı olduğu için, sadece F testi ile yöntemlerin duyarlılığı mukayese edildi(tablo-27).

Tablo-27: F Testi sonuçları.

	$(\lambda_i)_1$ 'in kullanıldığı		$(\lambda_i)_2$ 'nin kullanıldığı	
	Asetaminofen	Kafein	Asetaminofen	Kafein
N_a	10	10	10	10
N_b	6	6	6	6
S_a	0.7	0.2	0.7	0.2
S_b	0.5836	0.2895	0.5635	0.2229
F	1.4387	2.0952	1.5431	1.2421
F_t	4.77	3.48	4.77	3.48

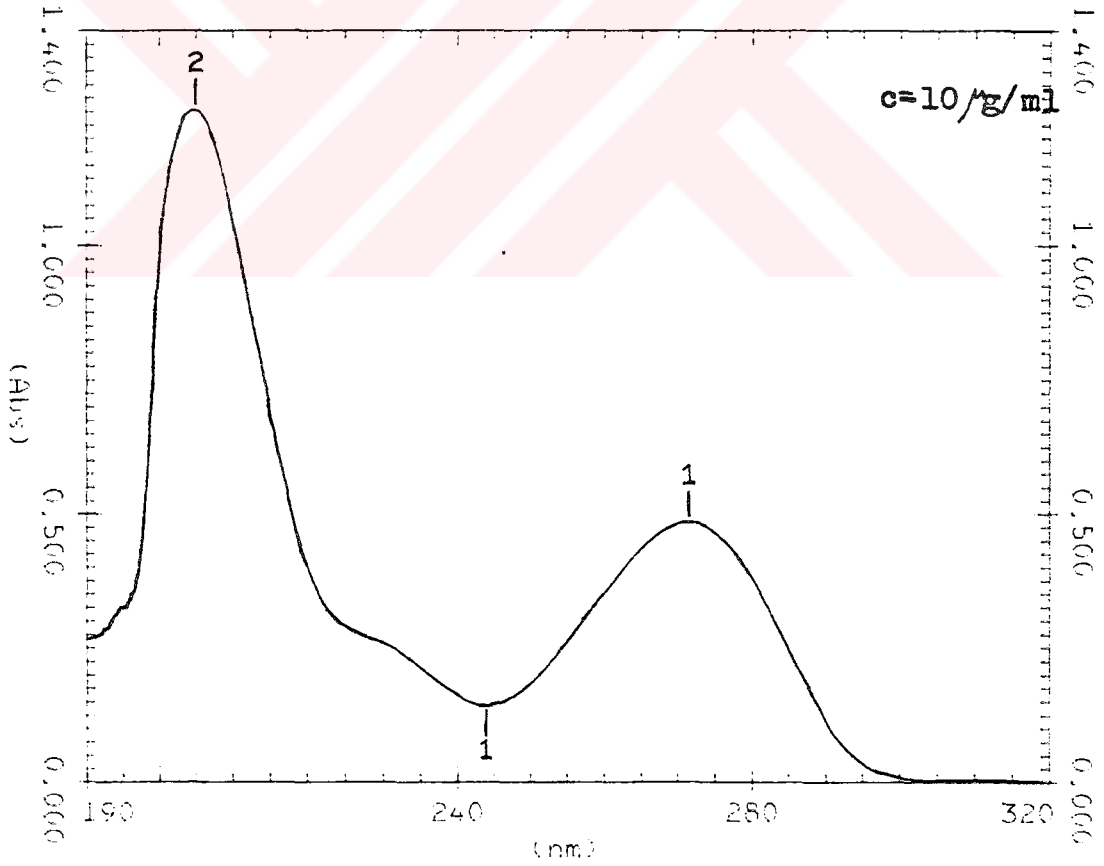
Her iki isoabsorptif dalga boyunun kullanıldığı hesaplamalarda $F < F_t$ olduğu için tabletlerde asetaminofen ve kafein tayini bakımından iki yöntemin duyarlılığı arasında %95 olasılıkla önemsenecek bir fark yoktur.

3.4. DİPİRON-KAFEİN KARİŞİMİNİN ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

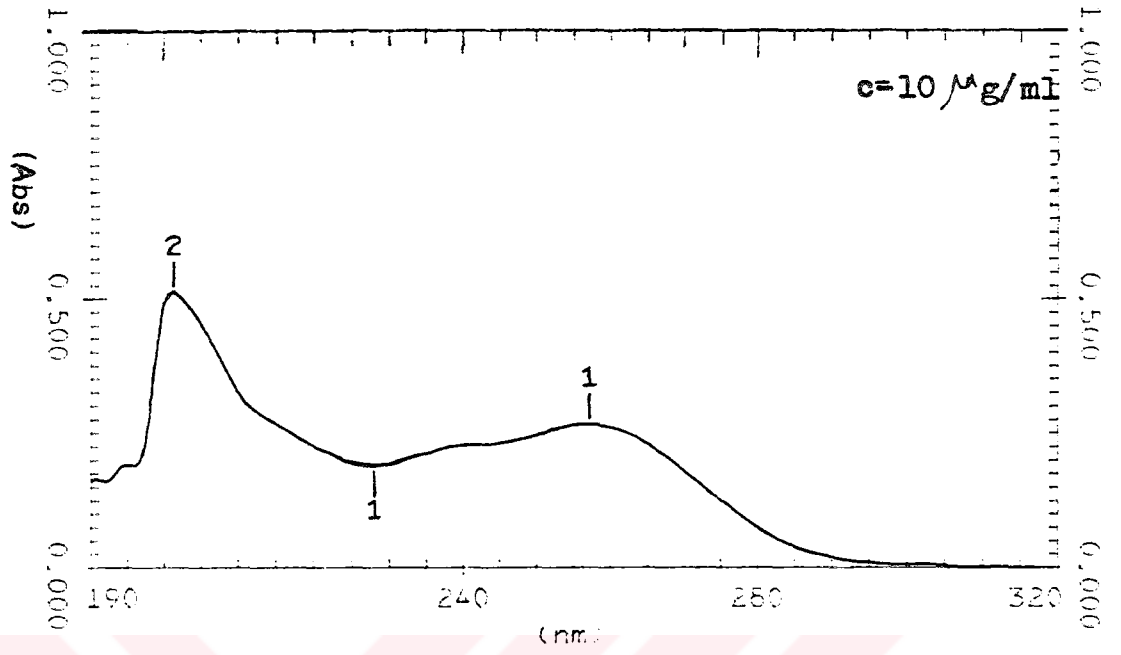
3.4.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.4.1.1. Dalga Boyu Seçimi

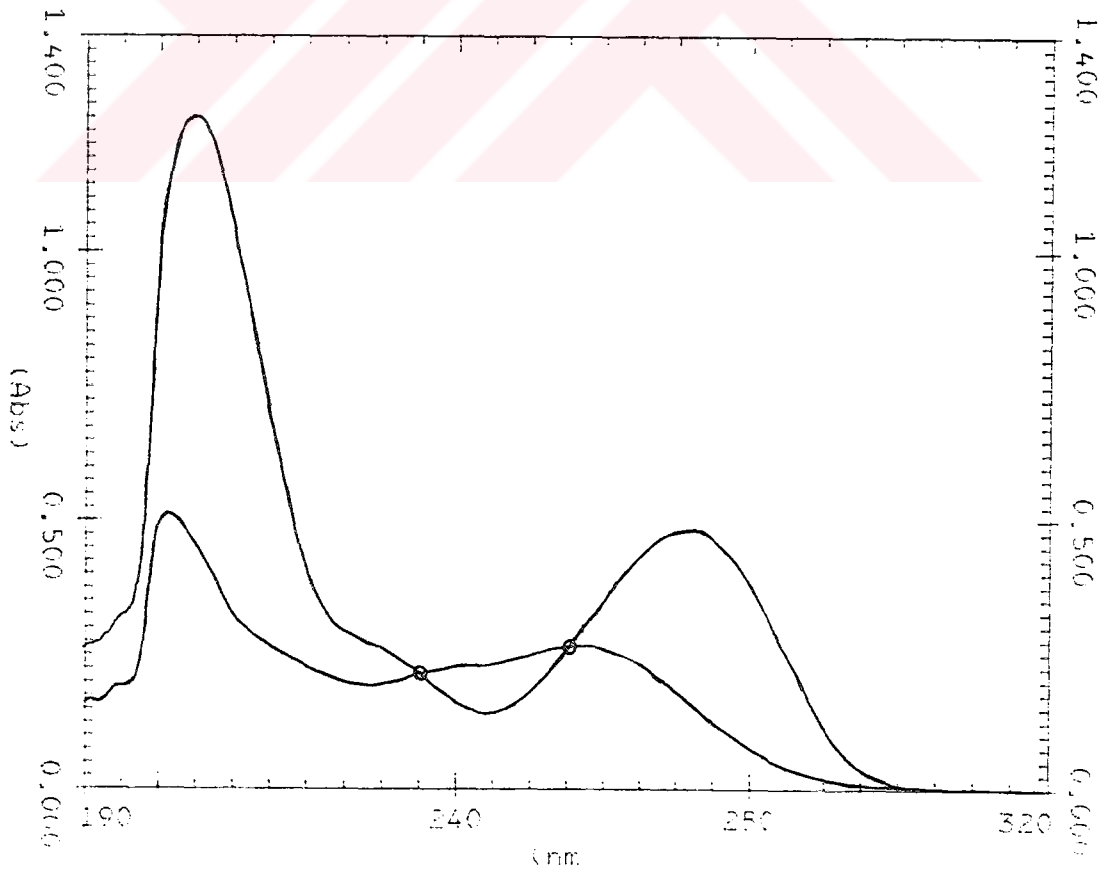
Eşit konsantrasyonda hazırlanan dipiron ve kafein çözeltilerinin 190-320 nm arasında 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumunda kafein 271.4 ve 204.9 nm'de, dipiron ise 256.8 ve 201 nm'de maksimum absorptans gösterdi. (şekil-40 ve şekil-41). Çalışma dalga boyu olarak 271.4 nm seçildi.



Şekil-40: Kafeinin ultraviyole spektrumu (0.1 N hidroklorik asitte).



Şekil-41: Dipironun ultraviyole spektrumu (0.1 N hidroklorik asitte)



Şekil-42: İsoabsorptif dalga boyu.

İki spektrumun üst üste çizdirilmesiyle kesişim noktaları yani dipiron ve kafeinin aynı absorbensı gösterdiği dalga boyları 235.1 ve 255.2 nm olarak tespit edildi (şekil-42).

3.4.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok dipiron çözeltisi:

100 mg Dipiron 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok dipiron çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltisi:

100 mg Kafein 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. On dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok kafein çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 50 ml'lik balon jojelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 235.1, 255.2 ve 271.4 nm'lerdeki absorbensları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-28 ve tablo-29'da görülmektedir.

Dipironun maksimum absorbands gösterdiği 256.8 nm kullanılarak yapılan tayinlerde elde edilen sonuçlar gerçek değerlere göre kabul edilebilir sınırları geçtiği için bu dalga boyundaki çalışmalar değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Tablo-28: Stok dipiron ve kafein çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

No	v_d (ml)	v_k (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{c_d}{c_d+c_k}$	$\frac{c_k}{c_d+c_k}$
1	12.0	0.5	24	1	0.9600	0.0400
2	12.0	1.0	24	2	0.9231	0.0769
3	10.0	1.0	20	2	0.9091	0.0909
4	10.0	2.0	20	4	0.8333	0.1667
5	7.0	2.0	14	4	0.7778	0.2222
6	7.0	3.0	14	6	0.7000	0.3000
7	7.0	4.0	14	8	0.6364	0.3636
8	5.0	4.0	10	8	0.5556	0.4444
9	5.0	5.0	10	10	0.5000	0.5000
10	4.0	5.0	8	10	0.4444	0.5556
11	4.0	7.0	8	14	0.3636	0.6364
12	3.0	8.0	6	16	0.2727	0.7273
13	2.0	8.0	4	16	0.2000	0.8000
14	1.5	8.0	3	16	0.1579	0.8421
15	1.0	9.0	2	18	0.1000	0.9000

c_d =dipiron konsantrasyonu ,

c_k =kafein konsantrasyonu

Tablo-29: 235.1, 255.2 ve 271.4 nm'de alınan absorbanlar.

No	$(A_i)_1$ (235.1 nm)	$(A_i)_2$ (255.2 nm)	A_k (271.4 nm)
1	0.5387	0.6700	0.4577
2	0.5587	0.6910	0.5037
3	0.4770	0.5930	0.4420
4	0.5150	0.6423	0.5337
5	0.3917	0.4840	0.4367
6	0.4330	0.5343	0.5337
7	0.4760	0.5873	0.6297
8	0.3890	0.4813	0.5620
9	0.4300	0.5330	0.6610
10	0.3880	0.4793	0.6240
11	0.4767	0.5867	0.8253
12	0.4747	0.5853	0.8867
13	0.4327	0.5337	0.8503
14	0.4150	0.5110	0.8430
15	0.4347	0.5360	0.9200

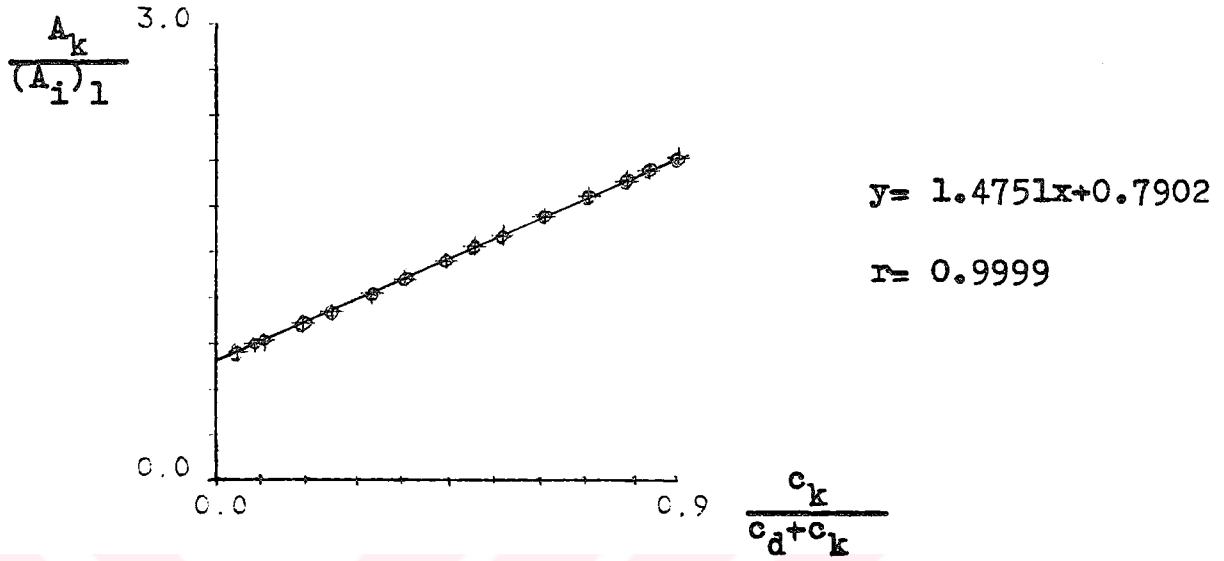
3.4.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorban oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi ve en küçük kareler yöntemine göre doğru denklemi hesaplandı. Grafik değerleri tablo-30'da görülmektedir.

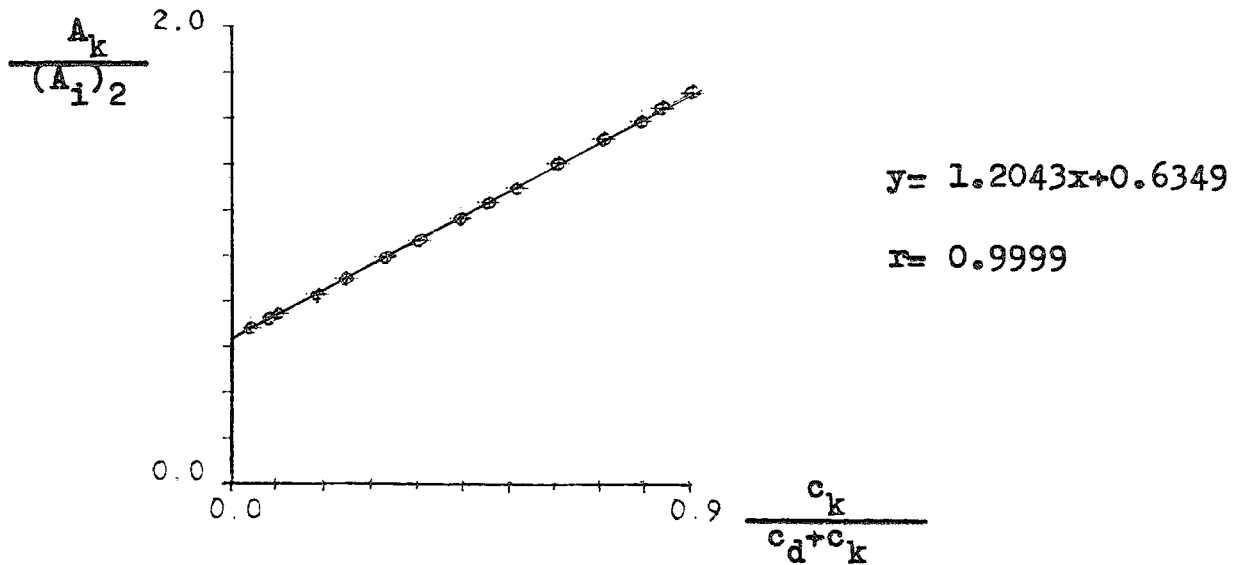
Tablo-30: Elde edilen absorbans değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_k}{c_d+c_k}$	$\frac{A_k}{(A_i)_1}$	$\frac{A_k}{(A_i)_2}$
1	0.0400	0.8496	0.6831
2	0.0769	0.9016	0.7289
3	0.0909	0.9266	0.7454
4	0.1667	1.0363	0.8309
5	0.2222	1.1149	0.9008
6	0.3000	1.2326	0.9989
7	0.3636	1.3229	1.0722
8	0.4444	1.4447	1.1677
9	0.5000	1.5372	1.2401
10	0.5556	1.6082	1.3019
11	0.6364	1.7313	1.4067
12	0.7273	1.8679	1.5149
13	0.8000	1.9651	1.5932
14	0.8421	2.0313	1.6497
15	0.9000	2.1164	1.7164

Şekil-43 ve Şekil-44'de kafeinin relatif konsantrasyonları absise, absorbans oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir.



Şekil-43: $A_k / (A_i)_1$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-44: $A_k / (A_i)_2$ Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.4.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-31'de verildi.

Tablo-31: İsoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları.

No	c_T ($\mu\text{g/ml}$)	a_1	a_2
1	25	21.548	26.800
2	26	21.488	26.577
3	22	21.682	26.954
4	24	21.458	26.762
5	18	21.761	26.889
6	20	21.650	26.715
7	22	21.636	26.695
8	18	21.611	26.739
9	20	21.500	26.650
10	18	21.555	26.628
11	22	21.668	26.668
12	22	21.577	26.604
13	20	21.635	26.685
14	19	21.842	26.895
15	20	21.735	26.800
		$\bar{a}_1 = 21.623$	$\bar{a}_2 = 26.737$

Önceki bölümlerde verilen (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-32 ve tablo-33'de verildi.

Tablo-32: $A_k/(A_i)_1$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
1	1.0032	100.32	24	23.9098	99.62
2	1.9513	97.56	24	23.8867	99.53
2	2.0398	101.99	20	20.0198	100.10
4	3.9735	99.34	20	19.8435	99.22
4	3.9874	99.69	14	14.1274	100.91
6	6.0057	100.09	14	14.0191	100.14
8	7.9496	99.37	14	14.0638	100.46
8	7.9821	99.78	10	10.0078	100.08
10	10.0704	100.70	10	9.8156	98.16
10	9.9505	99.50	8	7.9932	99.91
14	14.0650	100.46	8	7.9808	99.76
16	16.0389	100.24	6	5.9144	98.57
16	15.9385	99.61	4	4.0724	101.81
16	16.1478	100.92	3	3.0445	101.48
18	18.0741	100.41	2	2.0293	101.46
		$\bar{x}_k = 100.00$ $S_k = 0.9702$			$\bar{x}_d = 100.08$ $S_d = 1.0367$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Kafein için $\mu_k = 100.00 \pm 0.54$

Dipiron için $\mu_d = 100.08 \pm 0.57$

Tablo-33: $A_k/(A_i)_2$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
1	1.0029	100.29	24	24.0555	100.23
2	2.0172	100.86	24	23.8266	99.28
2	2.0350	101.75	20	20.1436	100.72
4	3.9096	97.74	20	20.1128	100.56
4	3.9968	99.92	14	14.1051	100.75
6	6.0399	100.66	14	13.9433	99.59
8	7.9760	99.70	14	13.9894	99.92
8	7.9639	99.55	10	10.0370	100.37
10	10.0178	100.18	10	9.9167	99.17
10	9.9284	99.28	8	7.9977	99.97
14	14.0626	100.45	8	7.8804	98.50
16	15.9958	99.97	6	5.8948	98.25
16	15.8834	99.27	4	4.0773	101.93
16	16.1044	100.65	3	3.0073	100.24
18	18.0026	100.01	2	2.0441	102.20

$\bar{x}_k = 100.02$ $S_k = 0.9037$	$\bar{x}_d = 100.11$ $S_d = 1.0926$
--	--

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Kafein için $\mu_k = 100.02 \pm 0.50$

Dipiron için $\mu_d = 100.11 \pm 0.60$

Görüldüğü gibi bu yöntem %10-96 oranında dipiron ve %4-90 oranında kafein içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı dipiron için 2-24 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 1-18 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltilerden ($c_k=c_d=10 \mu\text{g/ml}$ olan 9 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-34).

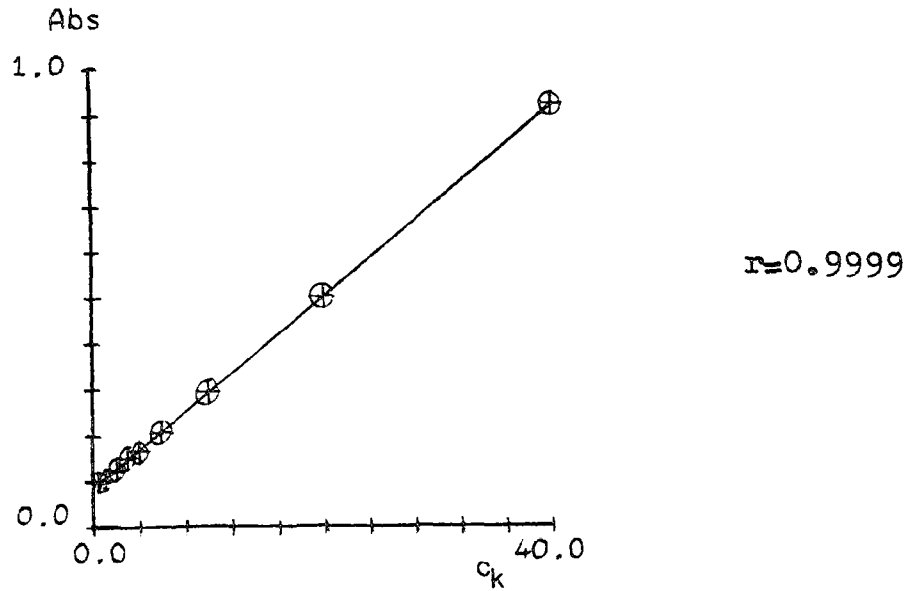
Tablo-34: $10 \mu\text{g/ml}$ Dipiron ve $10 \mu\text{g/ml}$ kafein içeren karışımın absorbanlarının on kez tayini.

$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
0.436	0.537	0.663
0.425	0.539	0.670
0.434	0.532	0.670
0.438	0.534	0.663
0.425	0.526	0.652
0.427	0.527	0.649
0.429	0.534	0.658
0.429	0.534	0.657
0.428	0.539	0.665
0.429	0.528	0.663
$(\bar{A}_i)_1=0.4300$ $S=0.0045$	$(\bar{A}_i)_2=0.5330$ $S=0.0047$	$\bar{A}_k=0.6610$ $S=0.0070$

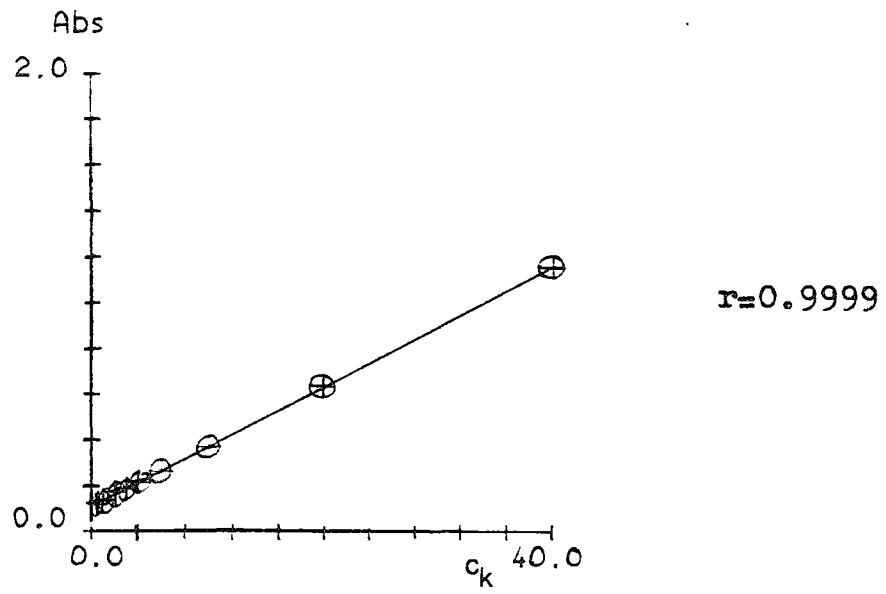
Yöntemimizin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki dipiron ve kafein miktarları sırayla sabit tutularak absorban ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok dipiron ve stok kafein çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Dipiron konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-35'de, buna göre çizilen grafikler şekil-45, şekil-46 ve şekil-47'de verilmiştir.

Tablo-35: $c_d=4 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

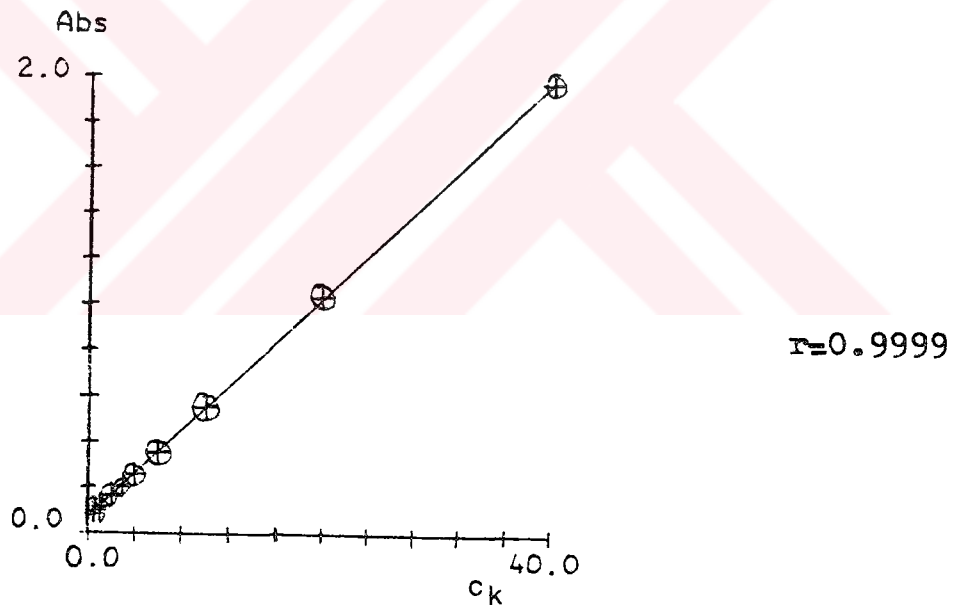
v_k (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
0.2	0.4	0.099	0.119	0.086
0.3	0.6	0.100	0.125	0.098
0.5	1.0	0.105	0.136	0.114
1.0	2.0	0.127	0.173	0.172
1.5	3.0	0.154	0.187	0.209
2.0	4.0	0.170	0.214	0.262
3.0	6.0	0.211	0.266	0.355
5.0	10.0	0.297	0.372	0.555
10.0	20.0	0.505	0.637	1.034
20.0	40.0	0.924	1.159	1.980



Şekil-45: 235.1 nm'de c_d sabit iken grafik



Şekil-46: 255.2 nm'de c_d sabit iken grafik.

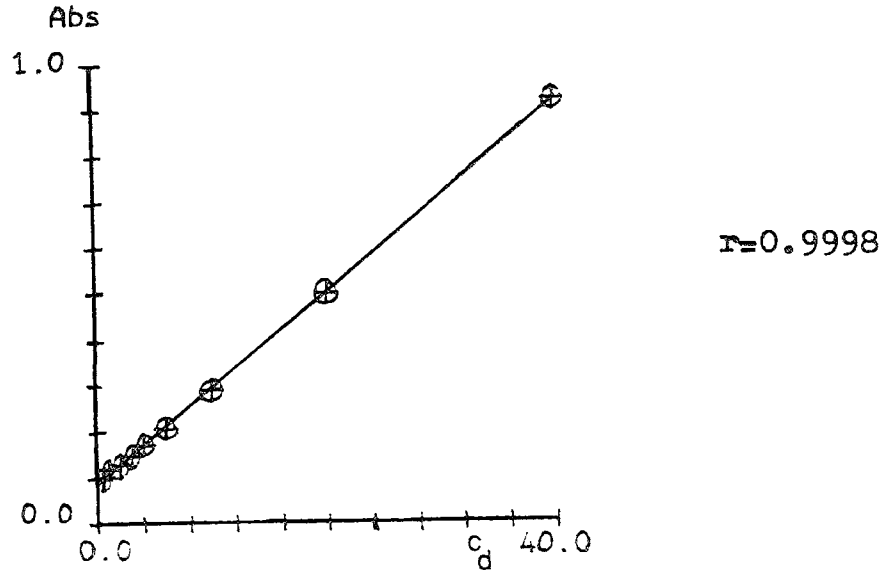


Şekil-47: 271.4 nm'de c_d sabit iken grafik.

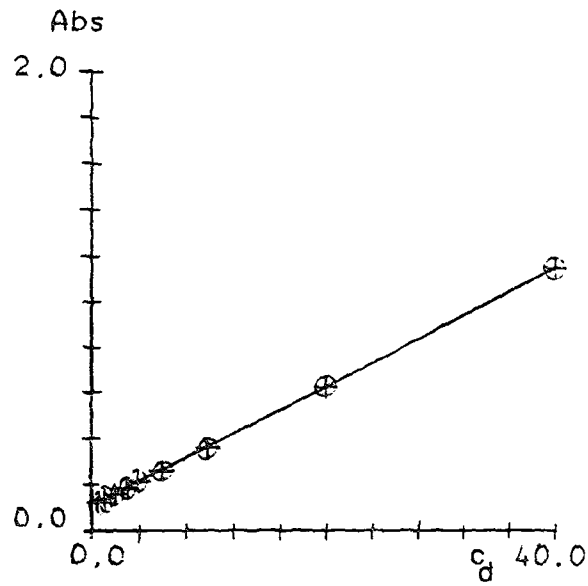
Kafein konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-36'da, buna göre çizilen grafikler şekil-48, şekil-49 ve şekil-50'de verilmiştir.

Tablo-36: $c_k=4 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

v_d (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
0.2	0.4	0.099	0.121	0.205
0.3	0.6	0.102	0.126	0.207
0.5	1.0	0.120	0.138	0.214
1.0	2.0	0.131	0.160	0.228
1.5	3.0	0.150	0.184	0.242
2.0	4.0	0.173	0.213	0.261
3.0	6.0	0.208	0.258	0.288
5.0	10.0	0.291	0.362	0.350
10.0	20.0	0.504	0.629	0.518
20.0	40.0	0.921	1.152	0.837

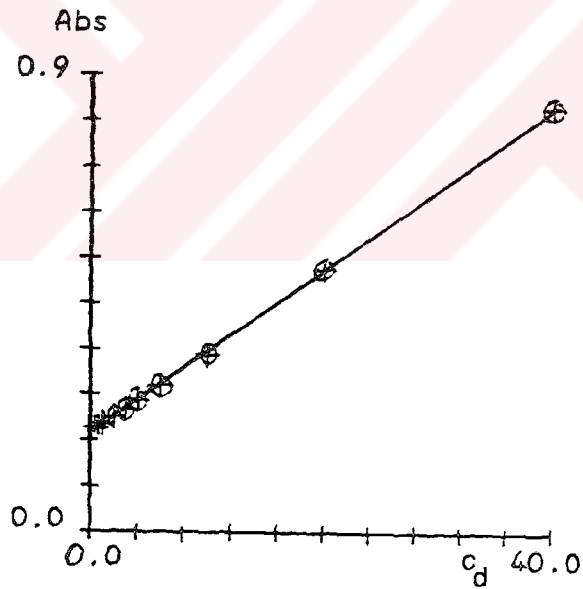


Şekil-48: 235.1 nm'de c_k sabit iken grafik.



$r = 0.9999$

Şekil-49: 255.2 nm'de c_k sabit iken grafik.



$r = 0.9999$

Şekil-50: 271.4 nm'de c_k sabit iken grafik.

3.4.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması

Ülkemizde kullanılmakta olan ve her bir tabletinde 450 mg dipiron ve 50 mg kafein ihtiva eden formülasyon şekli kullanıldı. Geliştirilen yöntem izlenerek miktar tayinleri gerçekleştirildi.

20 Tablet tartılarak (11.743 g) havanda iyice toz edildi. Bundan 130 mg tartılarak 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda 20 dakika tutulduktan sonra bir santrifüj tüpüne alınarak 4000 rpm de 20 dakika santrifüjlendi. Berrak çözeltiden bir pipetle alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisindeki dipiron konsantrasyonu 99.634 μ g/ml, kafein konsantrasyonu 11.07 μ g/ml'dir.

Stok çözeltisinden 50 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbanları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-37'de görülmektedir.

Tablo-37: 450 mg Dipiron ve 50 mg kafein içeren tabletlerden hazırlanan seyreltmeler ve absorban değerleri.

v (ml)	c_d (μ g/ml)	c_k (μ g/ml)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
11	21.9194	2.4355	0.5040	0.6180	0.4640
10	19.9268	2.2141	0.4540	0.5580	0.4193
9	17.9341	1.9927	0.4060	0.5013	0.3750
8	15.9414	1.7713	0.3630	0.4490	0.3350
7	13.9487	1.5499	0.3170	0.3923	0.2930
6	11.9561	1.3284	0.2750	0.3370	0.2530

Bu değerlerin (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-38 ve tablo-39'da verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-38: $A_k/(A_i)_1$ 'e göre 450 mg dipiron ve 50 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan $c_k(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_k(\mu\text{g/ml})$	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan $c_d(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_d(\mu\text{g/ml})$	Bir tab.de dipiron (mg)
2.4355	2.0605	42.30	21.9194	21.2478	436.21
2.2141	1.8988	42.88	19.9268	19.0972	431.26
1.9927	1.6980	42.60	17.9341	17.0781	428.52
1.7713	1.5091	42.60	15.9414	15.2784	431.28
1.5499	1.3327	42.99	13.9487	13.3275	429.96
1.3284	1.1191	42.12	11.9561	11.5987	436.55
		$\bar{x}_k = 42.58$ $S_k = 0.3313$			$\bar{x}_d = 432.30$ $S_d = 3.3237$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 42.58 \pm 0.35$

Dipiron için $\mu_d = 432.30 \pm 3.49$

Tablo-39: $A_k/(A_i)_2$ 'ye göre 450 mg dipiron ve 50 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab.de dipiron (mg)
2.4355	2.2244	45.67	21.9194	20.8892	428.85
2.2141	2.0188	45.59	19.9268	18.8508	425.70
1.9927	1.7608	44.18	17.9341	16.9881	426.26
1.7713	1.5506	43.77	15.9414	15.2423	430.26
1.5499	1.3645	44.02	13.9487	13.3078	429.32
1.3284	1.2119	45.61	11.9561	11.3921	428.77
$\bar{x}_k = 44.81$ $S_k = 0.9045$			$\bar{x}_d = 428.19$ $S_d = 1.8033$		

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 44.81 \pm 0.95$

Dipiron için $\mu_d = 428.19 \pm 1.89$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman $A_k/(A_i)_1$ için %85.16 kafein ve %96.07 dipiron, $A_k/(A_i)_2$ için %89.62 kafein ve %95.15 dipiron bulunur.

Elde edilen sonuçlar özellikle kafein için çok düşük olduğundan, bu durumun yöntemimizden mi, yoksa tabletlerden mi kaynaklandığını araştırmak amacıyla aynı tablet terkiibini içeren karışım hazırlanarak tekrar tayin edildi.

Bir tablet içeriği olan 450 mg dipiron, 50 mg kafein, 77.8 mg nişasta, 26.7 mg talk, 6 mg jelatin, 5 mg magnezyum stearat ihtiva eden karışım hazırlandı. 100 ml'lik Balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda 20 dakika tutulduktan sonra bir santrifüj tüpüne alınarak 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Berrak çözeltilerden bir pipetle alınan 2 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisindeki dipiron konsantrasyonu $90 \mu\text{g/ml}$, kafein konsantrasyonu $10 \mu\text{g/ml}$ 'dir.

Stok çözeltisinden 50 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbanları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-40'da görülmektedir.

Tablo-40: 450 mg Dipiron ve 50 mg kafein içeren tablet karışımından hazırlanan seyreltmeler ve absorban değerleri.

v (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	$(A_i)_2$	A_k
6	10.8	1.2	0.268	0.332	0.250
7	12.6	1.4	0.311	0.385	0.290
8	14.4	1.6	0.357	0.443	0.333
9	16.2	1.8	0.399	0.495	0.373
10	18.0	2.0	0.446	0.552	0.416
11	19.8	2.2	0.490	0.607	0.457

Bu değerlerin (12), (13), (26),(27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-41 ve tablo-42'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-41: $A_k/(A_i)_1$ 'e göre 450 mg dipiron ve 50 mg kafein içeren tablet karışımında sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab.de dipiron (mg)
1.2	1.1981	49.92	10.8	11.1960	466.50
1.4	1.3875	49.55	12.6	12.9952	464.10
1.6	1.5960	49.87	14.4	14.9140	466.06
1.8	1.8088	50.24	16.2	16.6436	462.32
2.0	1.9925	49.81	18.0	18.6335	465.84
2.2	2.1876	49.72	19.8	20.4732	465.30
		$\bar{x}_k = 49.85$ $S_k = 0.2306$			$\bar{x}_d = 465.02$ $S_d = 1.5594$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 49.85 \pm 0.24$

Dipiron için $\mu_d = 465.02 \pm 1.64$

Tablo-42: $A_k/(A_i)_2$ 'ye göre 450 mg dipiron ve 50 mg kafein içeren tablet karışımında sonuçlar.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki kafein (mg)	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab.de dipiron (mg)
1.2	1.2178	50.74	10.8	11.1992	466.63
1.4	1.4144	50.51	12.6	12.9848	463.74
1.6	1.6069	50.21	14.4	14.9616	467.55
1.8	1.8232	50.64	16.2	16.6901	463.61
2.0	2.0348	50.87	18.0	18.6104	465.26
2.2	2.2244	50.55	19.8	20.4778	465.40

$\bar{x}_k = 50.59$ $S_k = 0.2261$	$\bar{x}_d = 465.36$ $S_d = 1.5561$
---------------------------------------	--

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Kafein için $\mu_k = 50.59 \pm 0.24$

Dipiron için $\mu_d = 465.36 \pm 1.63$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman $A_k/(A_i)_1$ için %99.7 kafein ve %103.34 dipiron, $A_k/(A_i)_2$ için %101.18 kafein ve %103.41 dipiron bulunur.

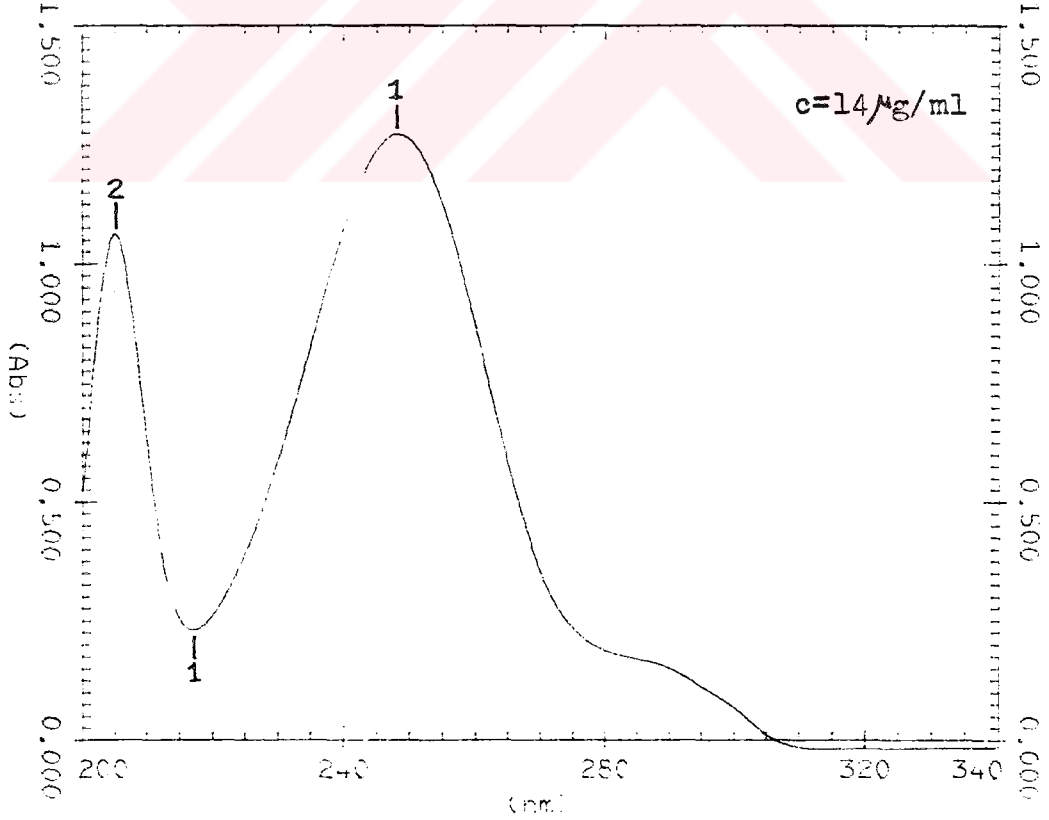
Her iki isoabsorptif dalga boyu kullanılarak elde edilen sonuçlar dipiron ve kafein için farmakopede verilen sınırlara uymaktadır. Farmakopede dipiron için % 95-105, kafein için %90-110 verilmektedir(269,270).

3.5. ASETAMİNOFEN-DİPİRON KARİŞİMİNİN ABSORBANS ORANI
YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

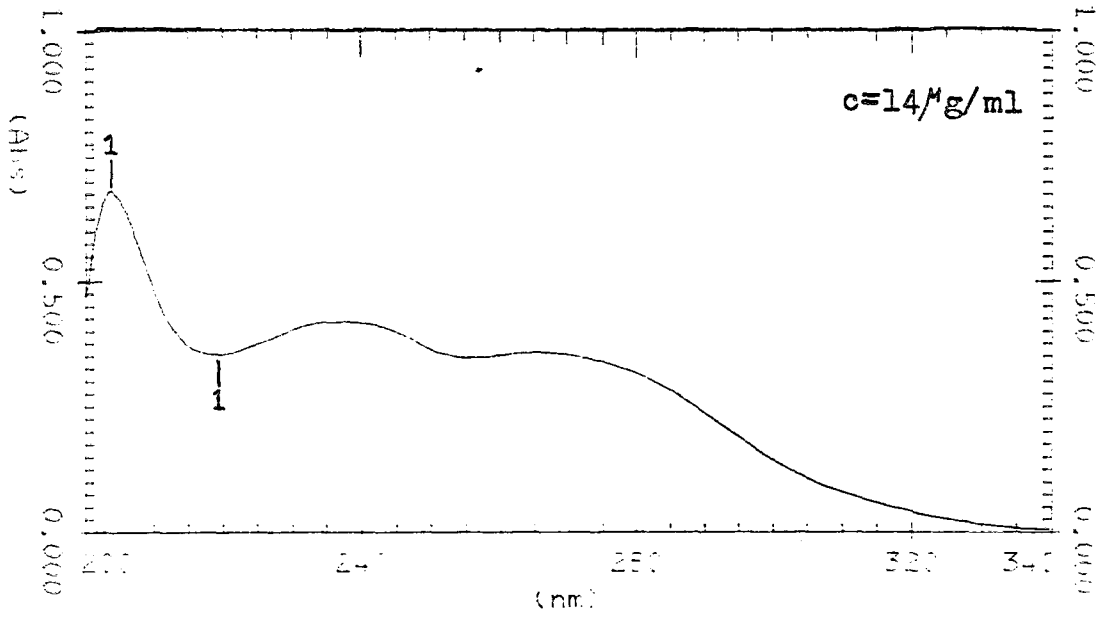
3.5.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.5.1.1. Dalga Boyu Seçimi

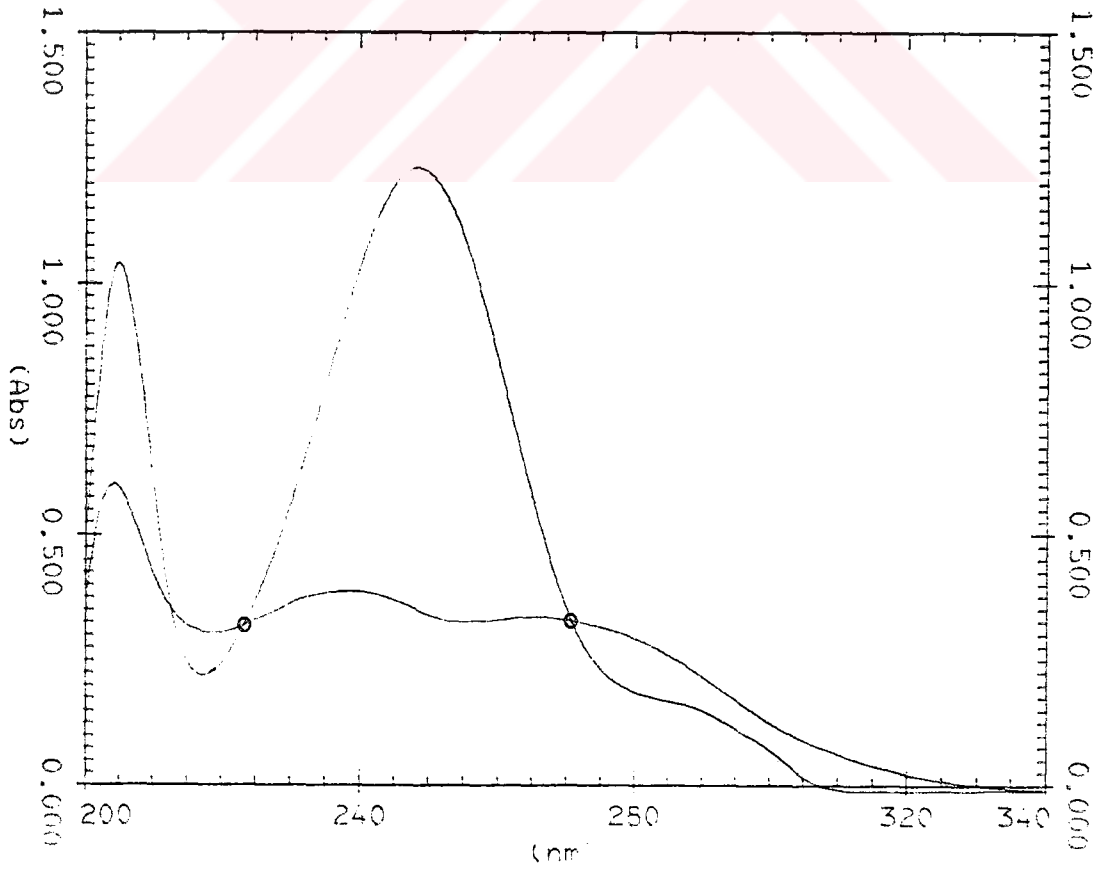
Eşit konsantrasyonda hazırlanan asetaminofen ve dipiron çözeltilerinin 200-340 nm arasında %95'lik etanol içinde alınan spektrumunda asetaminofen 248.1 ve 205.2 nm'de, dipiron 203.7 nm'de maksimum absorbans gösterdi (şekil-51 ve şekil-52). Çalışma dalga boyu olarak 248.1 nm seçildi.



Şekil-51: Asetaminofenin ultraviyole spektrumu (95'lik etanolde)



Şekil-52: Dipironun ultraviyole spektrumu (%95'lik etanolde)



Şekil-53: İsoabsorptif dalga boyu.

İki spektrumun üst üste çizdirilmesiyle kesişim noktaları yani asetaminofen ve dipironun aynı absorbansı gösterdiği dalga boyları 212.4, 223.5 ve 270.5 nm olarak tespit edildi. Çalışmalarımızda 212.4 nm'deki isoabsorptif dalga boyu, enerjisi yüksek alana yakın olduğu için kullanılmadı.(Şekil-53).

3.5.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltisi:

100 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Stok dipiron çözeltisi:

100 mg Dipiron 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Onbeş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok dipiron çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 50 ml'lik balon jojelerde etanolle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 223.5, 248.1 ve 270.5 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerlerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-43 ve tablo-44'de görülmektedir.

Tablo-43: Stok asetaminofen ve dipiron çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

No	v_a (ml)	v_d (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{c_a}{c_a+c_d}$	$\frac{c_d}{c_a+c_d}$
1	4.0	1.0	8	2	0.8000	0.2000
2	4.0	1.5	8	3	0.7273	0.2727
3	4.0	2.0	8	4	0.6667	0.3333
4	3.5	2.0	7	4	0.6364	0.3636
5	3.5	2.5	7	5	0.5833	0.4167
6	3.0	2.5	6	5	0.5455	0.4545
7	3.0	3.0	6	6	0.5000	0.5000
8	2.5	3.0	5	6	0.4545	0.5455
9	2.5	3.5	5	7	0.4167	0.5833
10	2.0	3.5	4	7	0.3636	0.6364
11	2.0	4.0	4	8	0.3333	0.6667
12	2.0	5.0	4	10	0.2857	0.7143
13	1.5	6.5	3	13	0.1875	0.8125
14	1.5	8.0	3	16	0.1579	0.8421
15	1.0	8.0	2	16	0.1111	0.8889

c_a =asetaminofen konsantrasyonu , c_d =dipiron konsantrasyonu

Tablo-44: 223.5, 248.1 ve 270.5 nm'lerdeki absorpsanslar.

No	$(A_i)_1$ (223.5 nm)	A_a (248.1 nm)	$(A_i)_2$ (270.5 nm)
1	0.2607	0.7693	0.2537
2	0.2917	0.8030	0.2813
3	0.3150	0.8280	0.3057
4	0.2900	0.7397	0.2817
5	0.3160	0.7663	0.3063
6	0.2912	0.6784	0.2810
7	0.3200	0.7040	0.3033
8	0.2913	0.6123	0.2783
9	0.3187	0.6373	0.3033
10	0.2853	0.5367	0.2733
11	0.3117	0.5643	0.2973
12	0.3637	0.6137	0.3433
13	0.4150	0.6047	0.3933
14	0.4900	0.6770	0.4617
15	0.4687	0.5920	0.4387

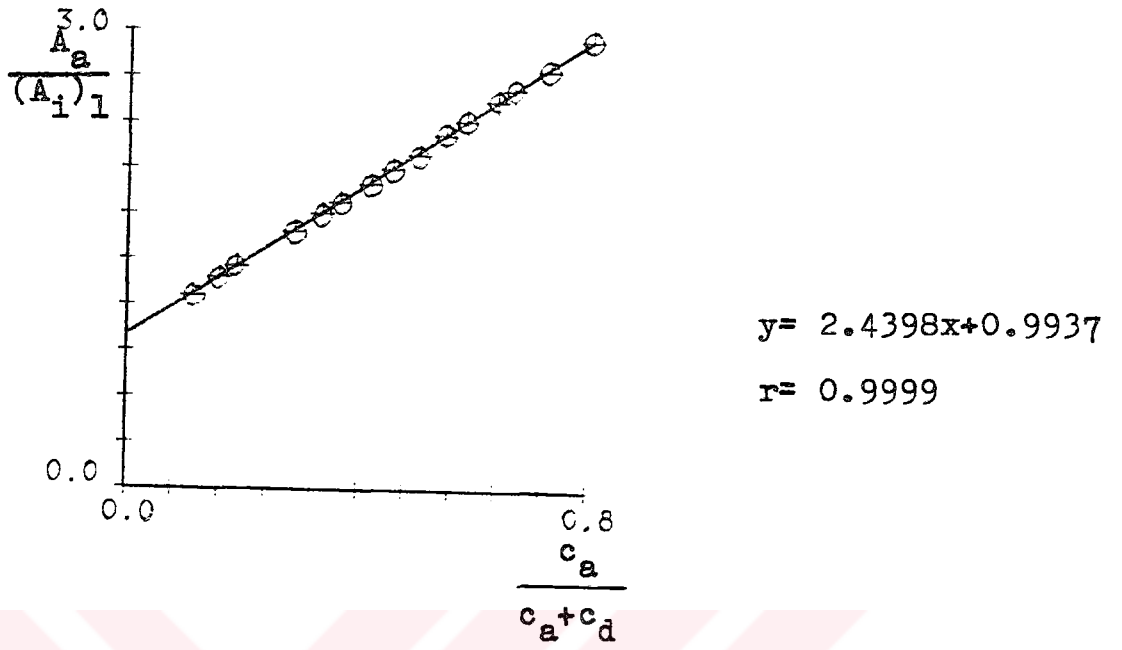
3.5.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorpsans oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi ve en küçük kareler yöntemine göre doğru denklemi hesaplandı. Grafik değerleri tablo-45'de görülmektedir.

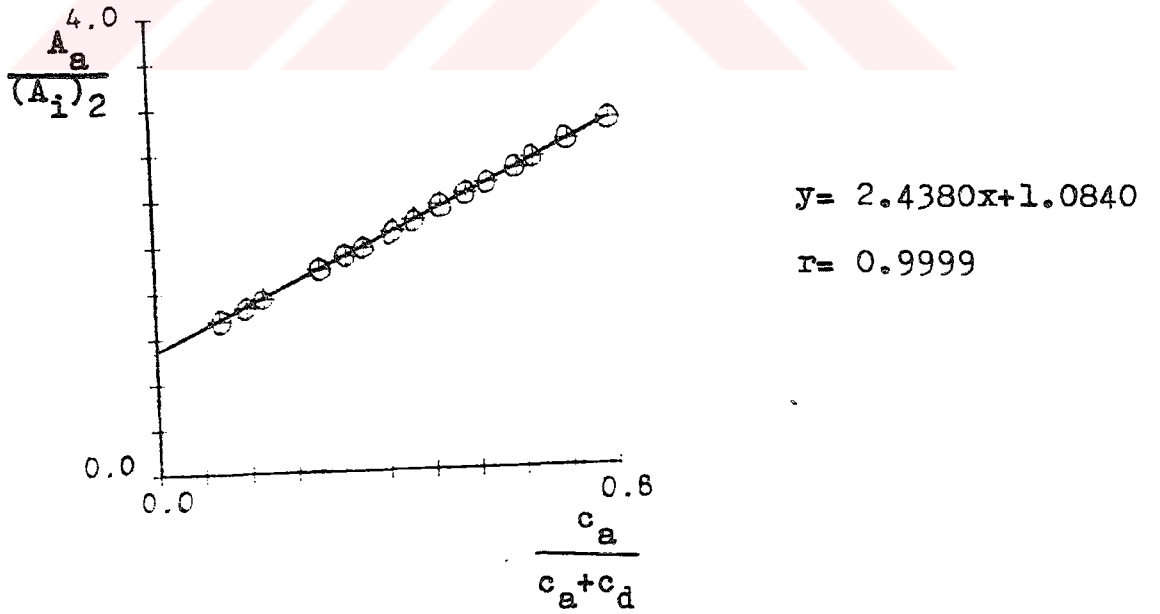
Tablo-45: Elde edilen absorbands değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_a}{c_a+c_d}$	$\frac{A_a}{(A_i)_1}$	$\frac{A_a}{(A_i)_2}$
1	0.8000	2.9509	3.0323
2	0.7273	2.7528	2.8546
3	0.6667	2.6286	2.7085
4	0.6364	2.5507	2.6258
5	0.5833	2.4250	2.5018
6	0.5455	2.3298	2.4153
7	0.5000	2.2000	2.3211
8	0.4545	2.1020	2.2001
9	0.4167	1.9997	2.1012
10	0.3636	1.8812	1.9638
11	0.3333	1.8104	1.8981
12	0.2857	1.6874	1.7876
13	0.1875	1.4571	1.5375
14	0.1579	1.3816	1.4663
15	0.1111	1.2631	1.3494

Şekil-54 ve şekil-55'de asetaminofenin relatif konsant-rasyonları absise, absorbands oranları ordinata yerleştiri-
rek hazırlanan grafikler görölmektedir.



Şekil-54: $A_a / (A_i)_1$ Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-55: $A_a / (A_i)_2$ Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.5.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-46'da verildi.

Tablo-46: İsoabsorptif dalga boylarındaki absorptivite katsayıları.

No	c_T ($\mu\text{g/ml}$)	a_1	a_2
1	10	26.070	26.370
2	11	26.518	25.573
3	12	26.250	25.475
4	11	26.363	25.609
5	12	26.333	25.525
6	11	26.482	25.545
7	12	26.667	25.275
8	11	26.482	25.300
9	12	26.558	25.275
10	11	25.936	24.845
11	12	25.975	24.775
12	14	25.978	24.521
13	16	25.937	24.581
14	19	25.789	24.300
15	18	26.039	24.372
		$\bar{a}_1 = 26.225$	$\bar{a}_2 = 25.089$

Önceki bölümlerde verilen (12), (13), (26), (27) nolu for-
müllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-47 ve tablo-48'de verilmiştir.

Tablo-47: $A_a/(A_i)_1$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Asetaminofen	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
8	7.9745	99.68	2	1.9663	98.31
8	8.0196	100.24	3	3.1032	103.44
8	8.0487	100.61	4	3.9626	99.06
7	7.0569	100.81	4	4.0011	100.03
7	7.0688	100.98	5	4.9806	99.61
6	6.0833	101.39	5	5.0243	100.48
6	6.0330	100.55	6	6.1690	102.82
5	5.0457	100.91	6	6.0619	101.03
5	5.0108	100.21	7	7.1416	102.02
4	3.9573	98.93	7	6.9215	98.88
4	3.9785	99.46	8	7.9070	98.84
4	3.9431	98.58	10	9.9252	99.25
3	3.0056	100.19	13	12.8188	98.61
3	2.9706	99.02	16	15.7136	98.21
2	1.9734	98.67	16	15.8987	99.37
		$\bar{x}_a = 100.01$ $S_a = 0.9051$			$\bar{x}_d = 100.00$ $S_d = 1.6420$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Asetaminofen için $\mu_a = 100.01 \pm 0.50$

Dipiron için $\mu_d = 100.00 \pm 0.91$

Tablo-48: $A_a/(A_i)_2$ ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Asetaminofen	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
8	8.0807	101.01	2	2.0311	101.55
8	8.1426	101.78	3	3.0693	102.31
8	8.1188	101.48	4	4.0656	101.64
7	7.1005	101.43	4	4.1273	103.18
7	7.0996	101.42	5	5.1087	102.17
6	6.1158	101.93	5	5.0841	101.68
6	6.1341	102.23	6	5.9546	99.24
5	5.0780	101.56	6	6.0143	100.24
5	5.0437	100.87	7	7.0450	100.64
4	3.9310	98.27	7	6.9620	99.46
4	3.9568	98.92	8	7.8928	98.66
4	3.9489	98.72	10	9.7341	97.34
3	2.9159	97.20	13	12.7600	98.15
3	2.8856	96.19	16	15.5165	96.98
2	1.9035	95.17	16	15.5819	97.39
		$\bar{x}_a = 99.88$ $S_a = 2.2927$			$\bar{x}_d = 100.04$ $S_d = 2.0285$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.145$

Asetaminofen için $\mu_a = 99.88 \pm 1.27$

Dipiron için $\mu_d = 100.04 \pm 1.12$

Görüldüğü gibi bu yöntem %11-80 oranında asetaminofen ve %20-89 oranında dipiron içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı asetaminofen için 2-8 $\mu\text{g/ml}$, dipiron için 2-16 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_a=6 \mu\text{g/ml}$, $c_d=5 \mu\text{g/ml}$ olan 6 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı. (tablo-49).

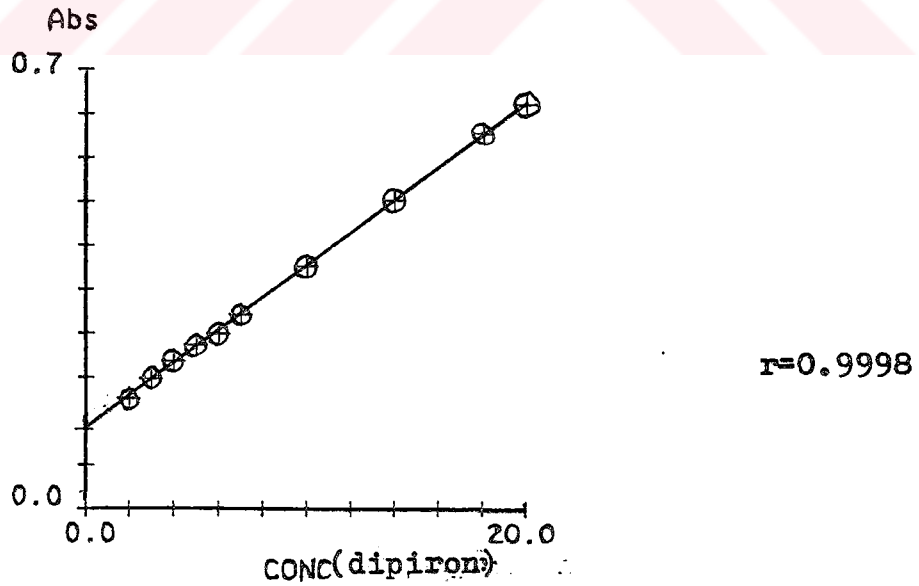
Tablo-49: $6 \mu\text{g/ml}$ Asetaminofen ve $5 \mu\text{g/ml}$ dipiron içeren karışımın absorbanlarının on kez tayini.

$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$
0.287	0.668	0.268
0.294	0.670	0.281
0.285	0.684	0.285
0.285	0.674	0.289
0.297	0.678	0.280
0.293	0.678	0.282
0.295	0.670	0.280
0.291	0.696	0.287
0.290	0.696	0.278
0.295	0.670	0.280
$(\bar{A}_i)_1=0.2912$ $S=0.0043$	$\bar{A}_a=0.6784$ $S=0.0105$	$(\bar{A}_i)_2=0.2810$ $S=0.0057$

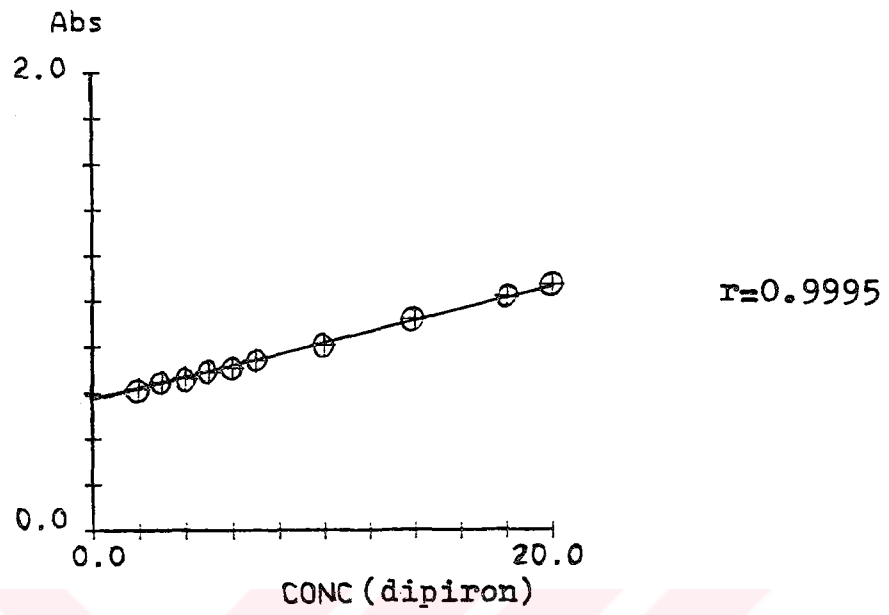
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki asetaminofen ve dipiron miktarları sırayla sabit tutularak absorban ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok asetaminofen ve stok aspirin çözeltileri ile bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Asetaminofen konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-50'de, buna göre çizilen grafikler şekil-56, şekil-57 ve şekil-58'de verilmiştir.

Tablo-50: $c_a = 6 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

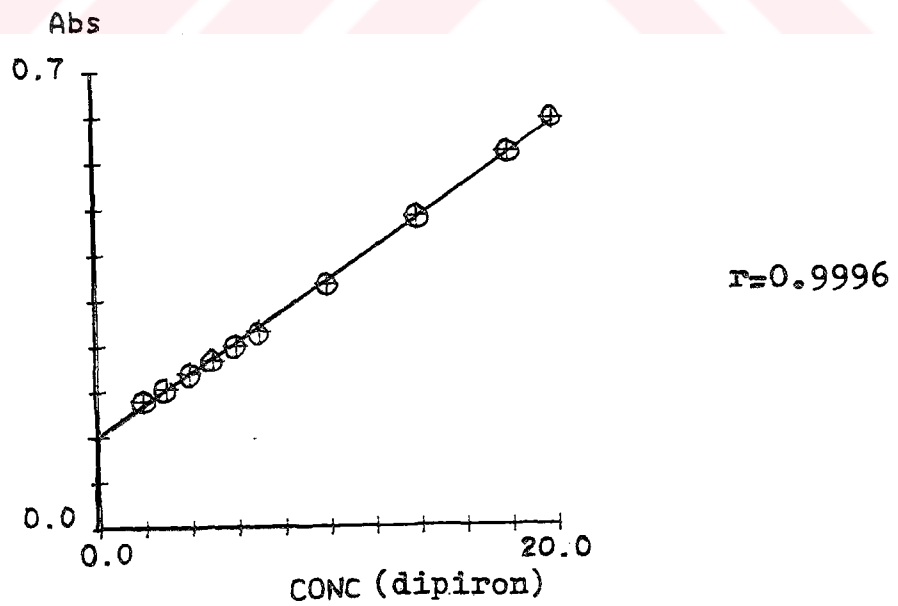
V_d (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$
1.0	2	0.177	0.619	0.195
1.5	3	0.208	0.647	0.214
2.0	4	0.236	0.665	0.237
2.5	5	0.262	0.692	0.257
3.0	6	0.279	0.707	0.280
3.5	7	0.310	0.740	0.301
5.0	10	0.387	0.808	0.373
7.0	14	0.492	0.920	0.476
9.0	18	0.600	1.018	0.571
10.0	20	0.646	1.073	0.620



Şekil-56: 223.5 nm'de c_a sabit iken grafik.



Şekil-57: 248.1 nm'de c_a sabit iken grafik.

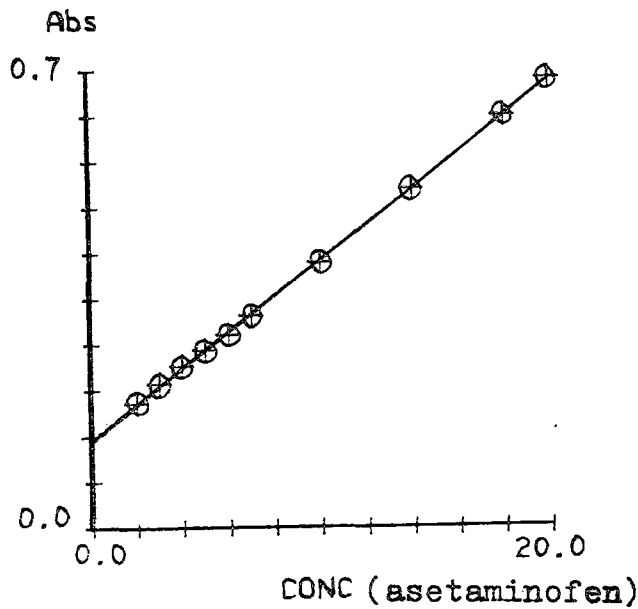


Şekil-58: 270.5 nm'de c_a sabit iken grafik.

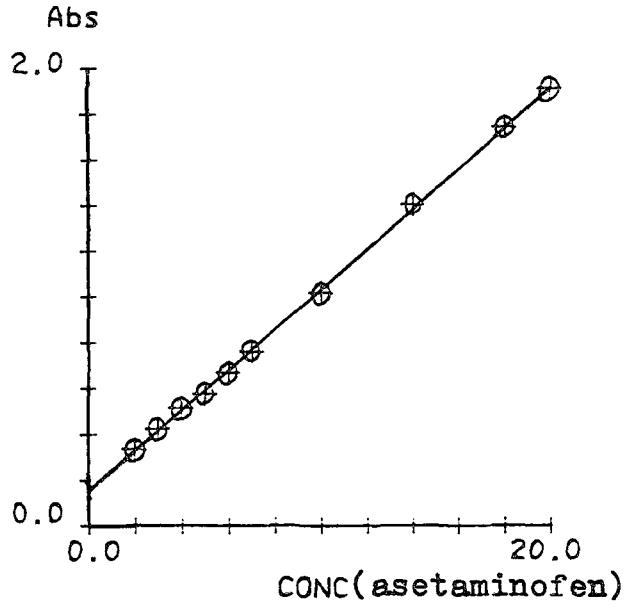
Dipiron konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-51'de, buna göre çizilen grafikler şekil-59, şekil-60 ve şekil-61'de verilmiştir.

Tablo-51: $c_d = 6 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

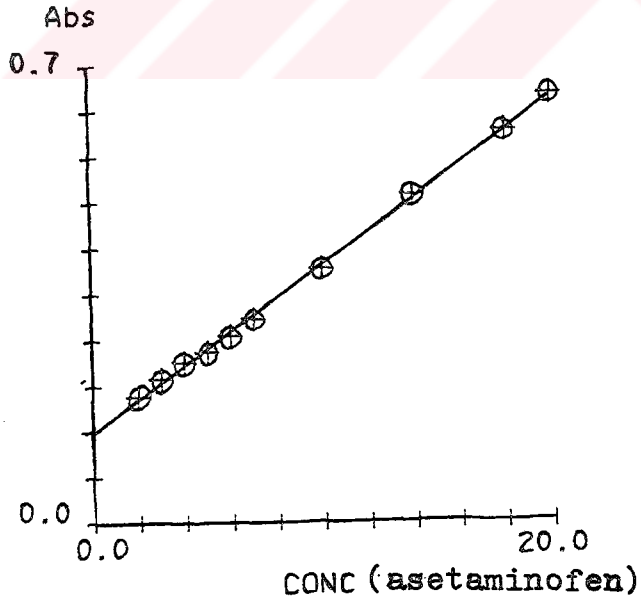
v_a (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$
1.0	2	0.190	0.337	0.194
1.5	3	0.220	0.427	0.221
2.0	4	0.246	0.520	0.247
2.5	5	0.272	0.579	0.262
3.0	6	0.295	0.671	0.286
3.5	7	0.324	0.761	0.312
5.0	10	0.405	1.019	0.388
7.0	14	0.519	1.404	0.501
9.0	18	0.628	1.745	0.599
10.0	20	0.684	1.912	0.653



Şekil-59: 223.5 nm'de c_d sabit iken grafik.



Şekil-60: 248.1 nm'de c_d sabit iken grafik.



Şekil-61: 270.5 nm'de c_d sabit iken grafik.

3.5.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması

Ülkemizde kullanılmakta olan ve her bir tabletinde 200 mg asetaminofen ve 300 mg dipiron ihtiva eden formülasyon şekli kullanıldı. Geliştirilen yöntem izlenerek miktar tayinleri gerçekleştirildi.

20 Tablet tartılarak (12.951 g) havanda iyice toz edildi. bundan 325 mg tartılarak 40 ml %95'lik etanolle ultrasonik banyoda 20 dakika tutuldu, çözünen kısım süzüldü. Çözünmeden kalan kısma aynı işlem 35 ml etanolle bir kez daha tekrarlandı. Çökelti etanolle yıkanarak 100 ml hacme tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisindeki asetaminofen konsantrasyonu 100.38 $\mu\text{g/ml}$, dipiron konsantrasyonu 150.57 $\mu\text{g/ml}$ dir.

Stok çözeltisinden 50 ml'lik balon jojede etanolle seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbanları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-52'de görülmektedir.

Tablo-52: 200 mg Asetaminofen ve 300 mg dipiron içeren tabletlerden hazırlanan seyreltmeler ve absorban değerleri.

v (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	$(A_i)_1$	A_a	$(A_i)_2$
1.5	3.0114	4.5171	0.2010	0.3970	0.1917
1.7	3.4129	5.1194	0.2257	0.4460	0.2150
2.0	4.0152	6.0228	0.2680	0.5290	0.2553
2.5	5.0190	7.5285	0.3310	0.6547	0.3157
3.0	6.0228	9.0342	0.3960	0.7820	0.3770
3.5	7.0266	10.5399	0.4630	0.9130	0.4410

Bu değerlerin (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-53 ve tablo-54'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-53: $A_a/(A_1)_1$ 'e göre 200 mg asetaminofen ve 300 mg dipiron içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki aset. (mg)	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki dipiron (mg)
3.0114	3.0830	204.75	4.5171	4.5814	304.27
3.4129	3.4664	203.13	5.1194	5.1398	301.19
4.0152	4.1056	204.50	6.0228	6.1135	304.52
5.0190	5.0914	202.88	7.5285	7.5300	300.06
6.0228	6.0714	201.61	9.0342	9.0285	299.81
7.0266	7.0784	201.47	10.5399	10.5763	301.04
		$\bar{x}_a = 203.06$ $S_a = 1.3854$			$\bar{x}_d = 301.81$ $S_d = 2.0705$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 203.06 \pm 1.45$

Dipiron için $\mu_d = 301.81 \pm 2.17$

Tablo-54: $A_g/(A_i)_2$ 'ye göre 200 mg asetaminofen ve 300 mg dipiron içeren tabletlerde sonuçlar.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki aset. (mg)	Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki dipiron (mg)
3.0114	3.0929	205.41	4.5171	4.5477	302.03
3.4129	3.4812	204.00	5.1194	5.0881	298.16
4.0152	4.1241	205.42	6.0228	6.0515	301.43
5.0190	5.1085	203.57	7.5285	7.4745	297.85
6.0228	6.1035	202.68	9.0342	8.9227	296.30
7.0266	7.1109	202.40	10.5399	10.4662	297.90
		$\bar{x}_a = 203.91$ $S_a = 1.2997$			$\bar{x}_d = 298.94$ $S_d = 2.2625$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 203.91 \pm 1.36$

Dipiron için $\mu_d = 298.94 \pm 2.37$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman $A_g/(A_i)_1$ için %101.53 asetaminofen ve %100.60 dipiron, $A_g/(A_i)_2$ için %101.95 asetaminofen ve %99.65 dipiron bulunur.

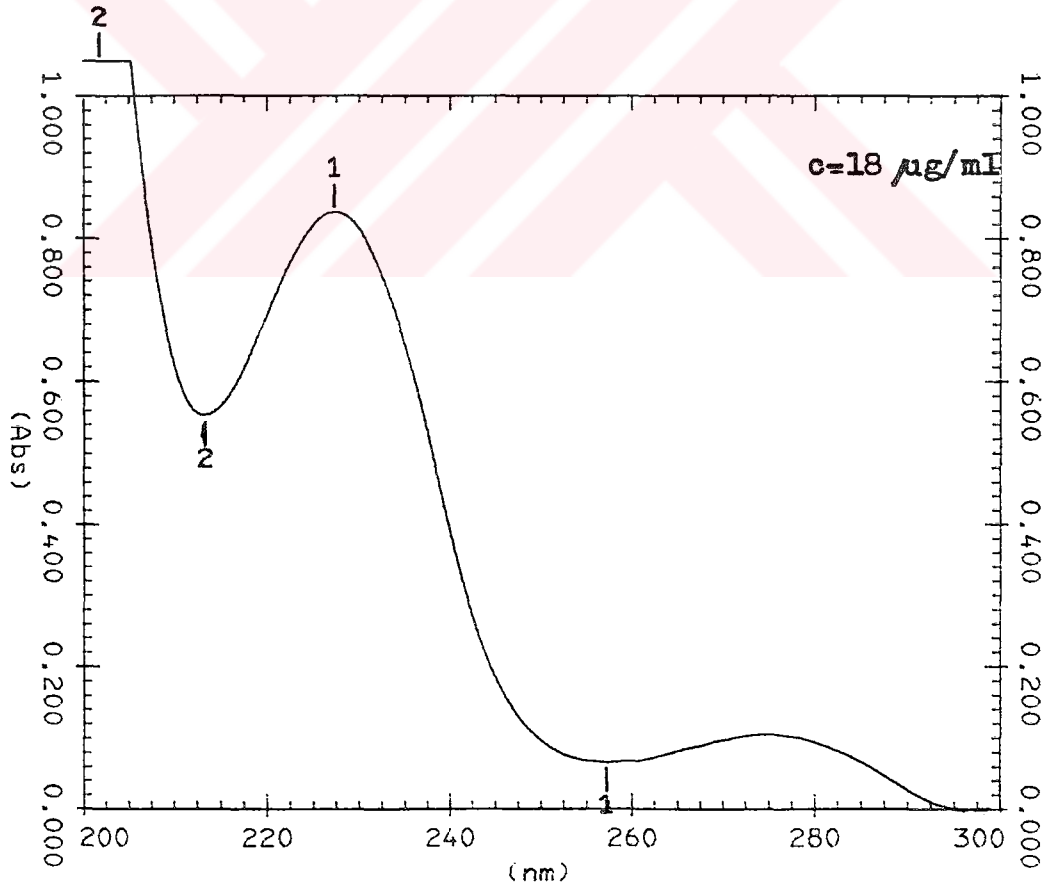
Her iki isoabsorptif dalga bđyu kullanılarak elde edilen sonuçlar asetaminofen ve dipiron için farmakopede verilen sınırlara uymaktadır. Farmakopede asetaminofen için %90-110, dipiron için % 95-105 verilmektedir(269,270).

3.6. ASETAMİNOFEN-ASİRİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI
YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

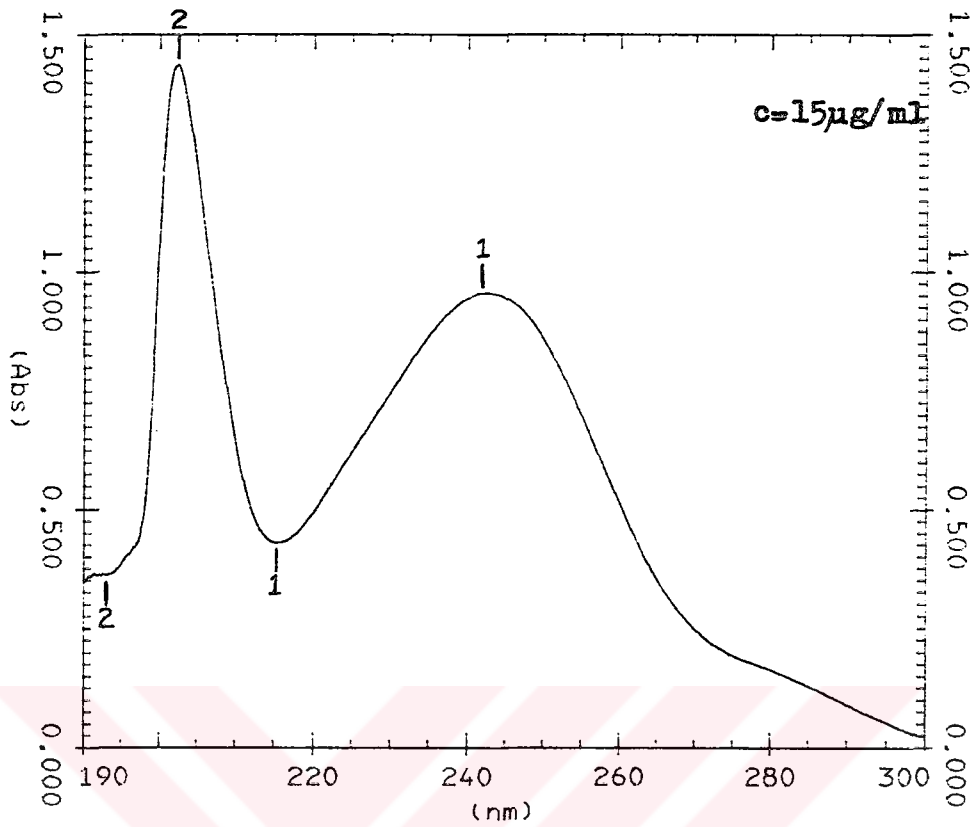
3.6.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.6.1.1. Dalga Boyu Seçimi

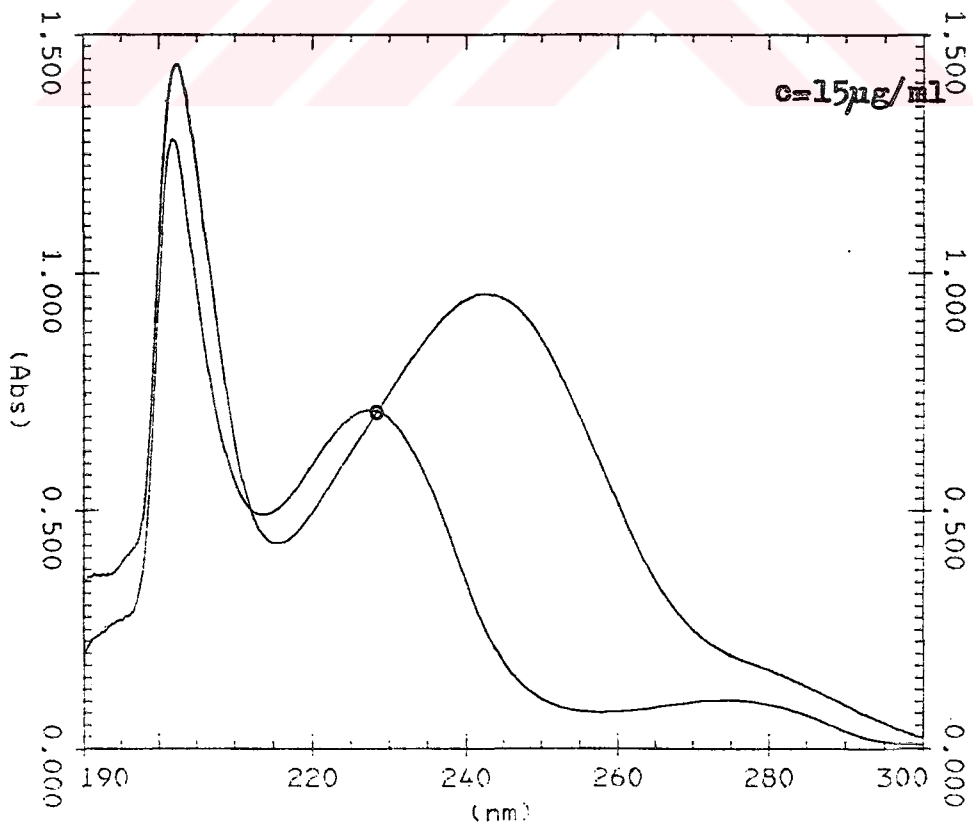
Eşit konsantrasyonda hazırlanan asetaminofen ve aspirin çözeltilerinin 200-300 nm arasında 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumunda aspirin 227.3 nm'de, asetaminofen 241.9 nm'de maksimum absorbands gösterdi (şekil-62 ve şekil-63).



Şekil-62: Aspirinin ultraviyole spektrumu (0.1 N HCl'de).



Şekil-63: Asetaminofenin ultraviyole spektrumu (0.1 N HCl'de).



Şekil-64: Isoabsorptif dalga boyu.

İki spektrumun üst üste çizdirilmesiyle kesişim noktaları yani asetaminofen ve aspirinin aynı absorbansı gösterdiği dalga boyları 212 ve 228.4 nm olarak tespit edildi. Çalışmalarımızda 228.4 nm'deki isoabsorptif dalga boyu kullanıldı. İsoabsorptif dalga boyu ile aspirinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu çok yakın olduğu için, aspirinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda yapılan çalışmalar iyi netice vermedi ve değerlendirme dışı bırakıldı.(şekil-64).

3.6.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltisi:

75 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jofede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jofede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltisinin konsantrasyonu 75 µg/ml'dir.

Stok aspirin çözeltisi:

75 mg Aspirin 100 ml'lik balon jofede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jofede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok aspirin çözeltisinin konsantrasyonu 75 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 50 ml'lik balon jofelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 228.4 ve 241.9 nm'lerdeki absorbansları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değer ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-55 ve tablo-56'da görülmektedir.

Tablo-55: Stok asetaminofen ve aspirin çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

No	v_{as} (ml)	v_a (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	$\frac{c_{as}}{c_{as}+c_a}$	$\frac{c_a}{c_{as}+c_a}$
1	5	2	7.5	3.0	0.7143	0.2857
2	5	3	7.5	4.5	0.6250	0.3750
3	4	4	6.0	6.0	0.5000	0.5000
4	3	4	4.5	6.0	0.4286	0.5714
5	3	5	4.5	7.5	0.3750	0.6250
6	2	5	3.0	7.5	0.2857	0.7143

c_a =asetaminofen konsantrasyonu, c_{as} =aspirin konsantrasyonu

Tablo-56: 228.4 ve 241.9 nm'lerdeki absorbanlar.

No	1	2	3	4	5	6
A_2 (241.9 nm)	0.3230	0.4217	0.4930	0.4623	0.5613	0.5353
A_1 (228.4 nm)	0.4877	0.5610	0.5620	0.4907	0.5657	0.4947

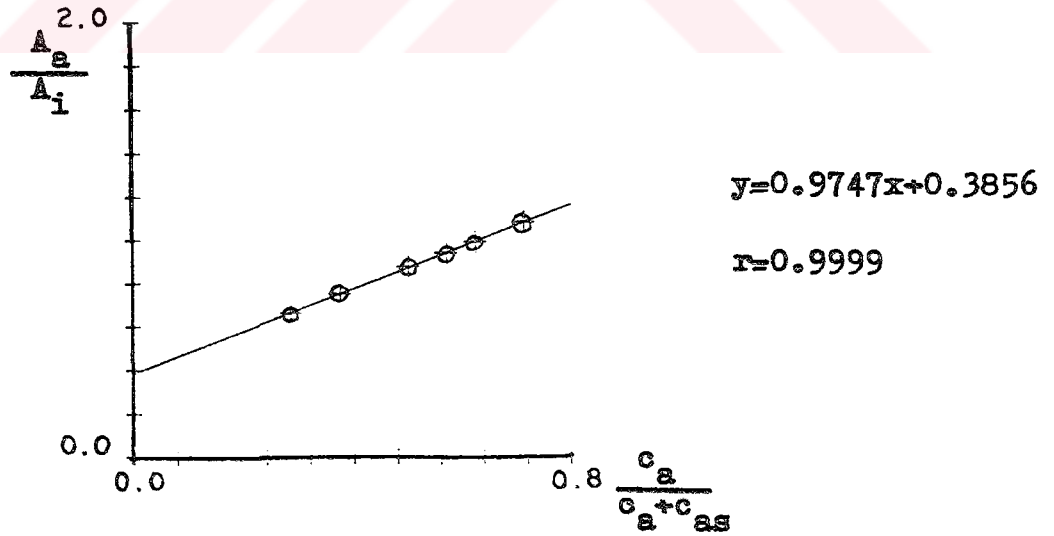
3.6.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorban oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi ve en küçük kareler yöntemine göre doğru denklemi hesaplandı. Grafik değerleri tablo-57'de görülmektedir.

Tablo-57: Elde edilen absorbands değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	1	2	3	4	5	6
$\frac{c_a}{c_{as}+c_a}$	0.2857	0.3750	0.5000	0.5714	0.6250	0.7143
A_a/A_i	0.6623	0.7517	0.8772	0.9421	0.9922	1.0821

Şekil-65'te asetaminofenin relatif konsantrasyonları absise, absorbands oranları ordinata yerleştürilerek hazırlanan grafik görölmektedir.



Şekil-65: A_a/A_i Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.6.3. Standart Cözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_1/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-58'de verildi.

Tablo-58: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	1	2	3	4	5	6
c_T ($\mu\text{g/ml}$)	10.5	12.0	12.0	10.5	12.0	10.5
a	46.447	46.750	46.833	46.733	47.141	47.114
\bar{a}	46.836					

Önceki bölümlerde verilen (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-59'da verilmiştir.

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a=99.99\pm 0.87$

Aspirin için $\mu_{as}=100.00\pm 0.85$

Görüldüğü gibi bu yöntem %71-28 oranında aspirin ve %71-28 oranında asetaminofen içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı aspirin ve asetaminofen için 3-7.5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Tablo-59: A_a/A_i ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Aset.	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	% Asp.
3.0	2.9560	98.53	7.5	7.4569	99.43
4.5	4.4990	99.98	7.5	7.4790	99.72
6.0	6.0520	100.87	6.0	5.9473	99.12
6.0	5.9818	99.70	4.5	4.4952	99.89
7.5	7.5169	100.22	4.5	4.5614	101.36
7.5	7.5477	100.64	3.0	3.0147	100.49
$\bar{x}_a = 99.99$ $S_a = 0.8325$			$\bar{x}_{as} = 100.00$ $S_{as} = 0.8099$		

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_a = c_{as} = 6\mu\text{g/ml}$ olan 3 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-60).

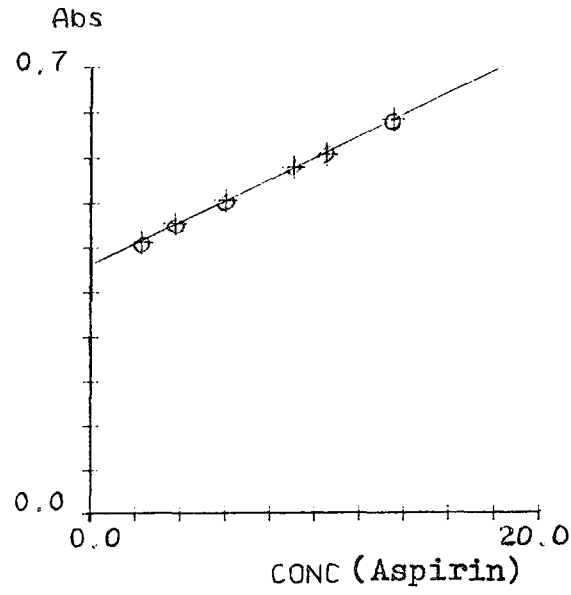
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımındaki asetaminofen ve aspirin miktarları sırayla sabit tutularak absorban ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok asetaminofen ve stok aspirin çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Asetaminofen konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-61'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-66 ve şekil-67'de verilmiştir.

Tablo-60: 6 µg/ml Asetaminofen ve 6 µg/ml aspirin içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

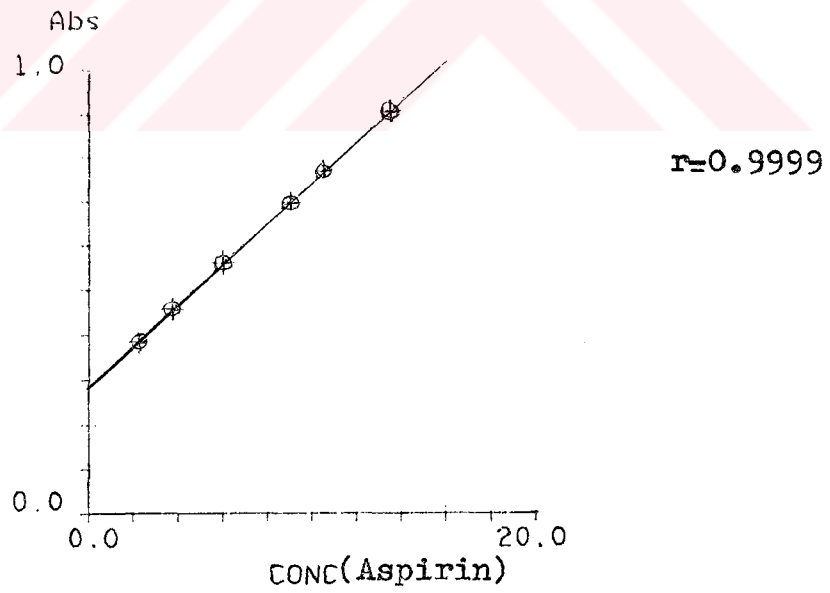
A_a	A_i
0.498	0.558
0.490	0.565
0.491	0.563
0.485	0.572
0.498	0.560
0.500	0.559
0.497	0.560
0.498	0.566
0.485	0.558
0.488	0.559
$\bar{A}_a=0.493$ $S=0.0058$	$\bar{A}_i=0.562$ $S=0.0045$

Tablo-61: $c_a=6$ µg/ml (sabit) iken sonuçlar.

V_{as} (ml)	c_{as} (µg/ml)	A_a	A_i
1.5	2.25	0.429	0.386
2.5	3.75	0.458	0.458
4.0	6.00	0.493	0.562
6.0	9.00	0.545	0.698
7.0	10.50	0.565	0.769
9.0	13.50	0.619	0.910



Şekil-66: 241.9 nm'de c_a sabit iken grafik.

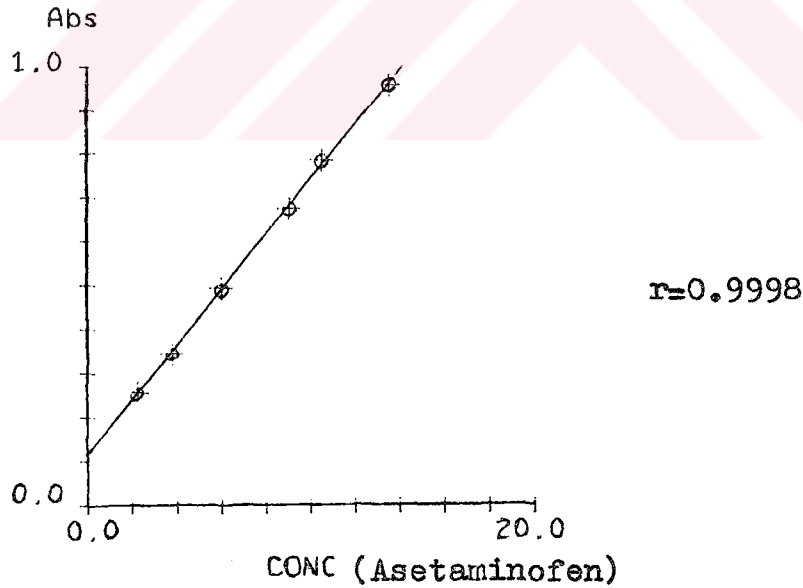


Şekil-67: 228.4 nm'de c_a sabit iken grafik.

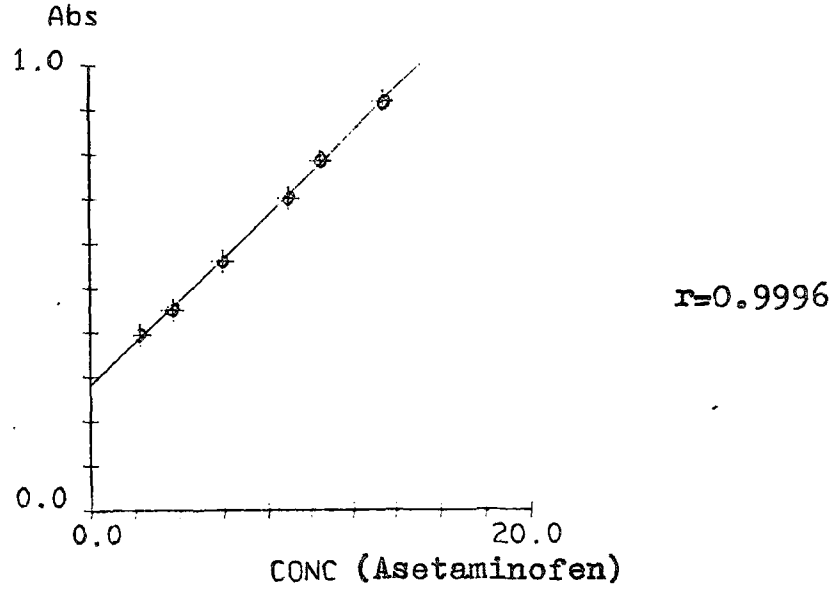
Aspirin konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-62'de, buna göre çizilen grafikler şekil-68 ve şekil-69'da verilmiştir.

Tablo-62: $c_{as}=6 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

v_a (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_1
1.5	2.25	0.256	0.394
2.5	3.75	0.345	0.451
4.0	6.00	0.493	0.562
6.0	9.00	0.674	0.701
7.0	10.50	0.782	0.784
9.0	13.50	0.957	0.918



Şekil-68: 241.9 nm'de c_{as} sabit iken grafik.



Şekil-69: 228.4 nm'de c_{as} sabit iken grafik.

3.6.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması

75 mg Aspirin ve 75 mg asetaminofen tartılarak 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda beş dakika tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltilerden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltilerindeki aspirin ile asetaminofen konsantrasyonu eşittir ve 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'dir.

Stok çözeltilerinden 50 ml'lik balon jojelerde 0.1 N hidroklorik asit ile seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbanları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-63'de görülmektedir.

Tablo-63: 75 mg Aspirin ve 75 mg asetaminofen içeren karışım ile hazırlanan seyreltmeler ve absorbands değerleri.

v (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_i
2.5	3.75	3.75	0.3077	0.3507
3.0	4.50	4.50	0.3680	0.4200
3.5	5.25	5.25	0.4293	0.4890
4.0	6.00	6.00	0.4880	0.5597
4.5	6.75	6.75	0.5500	0.6293
5.0	7.50	7.50	0.6160	0.7037

Bu değerlerin (12), (13), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-64'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-64: 75 mg Aspirin ve 75 mg asetaminofen içeren sentetik karışımlarda sonuçlar.

Hazırlanan $c_{as} = c_a$ ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aset. (mg)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aspirin (mg)
3.75	3.7780	75.56	3.7098	74.20
4.50	4.5135	75.22	4.4540	74.23
5.25	5.2735	75.34	5.1672	73.82
6.00	5.9622	74.53	5.9880	74.85
6.75	6.7324	74.80	6.7038	74.49
7.50	7.5497	75.50	7.4751	74.75
		$\bar{x}_a = 75.16$ $S_a = 0.4094$	$\bar{x}_{as} = 74.39$ $S_{as} = 0.3841$	

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a=75.16\pm0.43$

Aspirin için $\mu_{as}=74.39\pm0.40$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman %100.21 asetaminofen, %99.19 aspirin bulunur. Elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır (269).

3.6.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

A.G.Fogg ve arkadaşları asetaminofen-aspirin tabletlerindeki miktar tayinini susuz ortamda 0.1 M tetra-n-butilamonyumhidroksit çözeltisiyle potansiyometrik titrasyon yaparak gerçekleştirmişlerdir(139). Bilinen çözeltilerle olan çalışmalarında 5 konsantrasyon için ortalama aspirin yüzdesi %97.82 (S=1.9348), asetaminofen yüzdesi %102.16 (S=1.7824) bulunmuştur. Bu yöntem ile geliştirdiğimiz yöntemin duyarlılığı "F testi"ne göre mukayese edildi(tablo-65).

Tablo-65: F Testi sonuçları.

	Aspirin	Asetaminofen
N_a	5	5
N_b	6	6
S_a	1.9348	1.7824
S_b	0.8099	0.8325
F	5.7070	4.5840
F_t	5.1900	5.1900

F ve F_t değerleri karşılaştırıldığı zaman asetaminofen tayini bakımından iki yöntemin duyarlılığı arasında %95 olasılıkla önemsenecek bir fark ($F < F_t$) olmadığı halde, aspirin tayini bakımından ($F > F_t$) fark vardır.

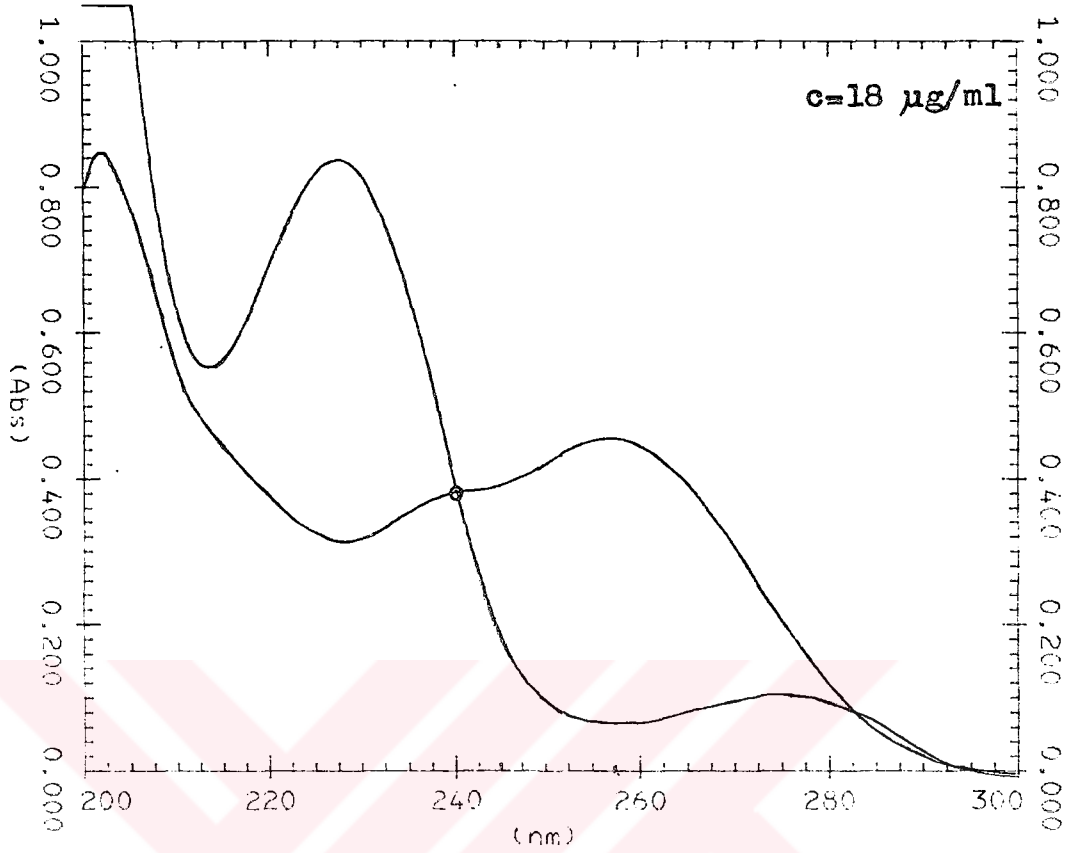
3.7. ASPİRİN-DİPİRON KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.7.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.7.1.1. Dalga Boyu Seçimi

Aspirin ve dipiron çözeltilerinin 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumunda aspirin 227.3 nm'de, dipiron 256.8 nm'de maksimum absorbands gösterdi (şekil-62 ve şekil-41).

Eşit konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerin spektrumlarının üst üste çizdirilmesiyle isoabsorptif dalga boyu 240 nm olarak tespit edildi (şekil-70).



Şekil-70: İsoabsorptif dalga boyu (0.1 N HCl'de).

3.7.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok aspirin çözeltisi:

100 mg Aspirin 100 ml'lik balon jofede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jofede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok aspirin çözeltisinin konsantrasyonu $100 \mu\text{g/ml}$ 'dir.

Stok dipiron çözeltisi:

100 mg Dipiron 100 ml'lik balon jodede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jodede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok dipiron çözeltisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltilerden 50 ml'lik balon jodelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değer ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-66 ve tablo-67'de görülmektedir.

Tablo-66: Stok aspirin ve dipiron çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler.

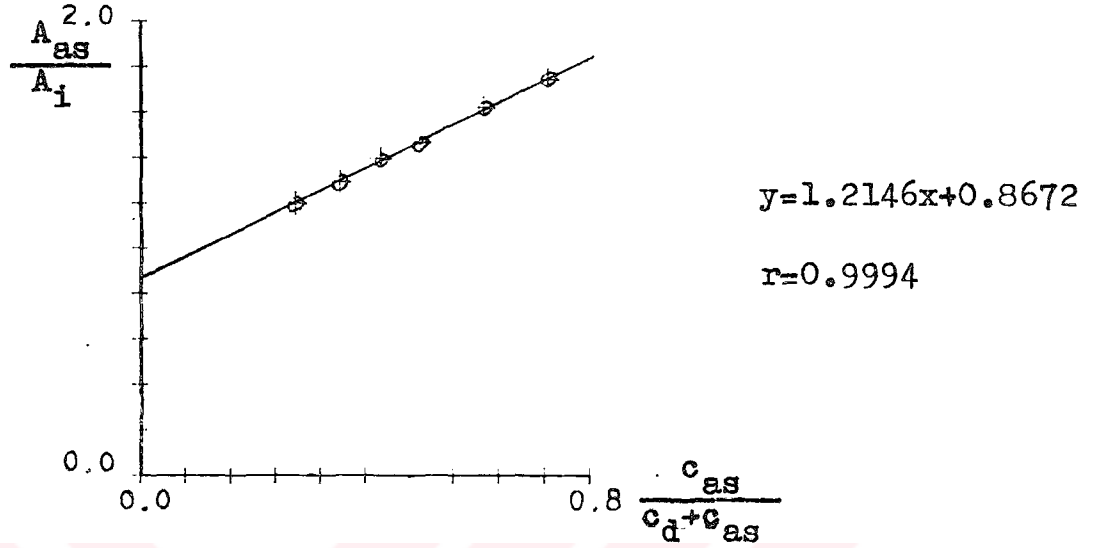
No	v_d (ml)	v_{as} (ml)	c_d (µg/ml)	c_{as} (µg/ml)	$\frac{c_d}{c_d+c_{as}}$	$\frac{c_{as}}{c_d+c_{as}}$
1	3	8	6	16	0.2727	0.7273
2	5	8	10	16	0.3846	0.6154
3	7	7	14	14	0.5000	0.5000
4	8	6	16	12	0.5714	0.4286
5	9	5	18	10	0.6429	0.3571
6	13	5	26	10	0.7222	0.2778

c_{as} =aspirin konsantrasyonu, c_d =dipiron konsantrasyonu

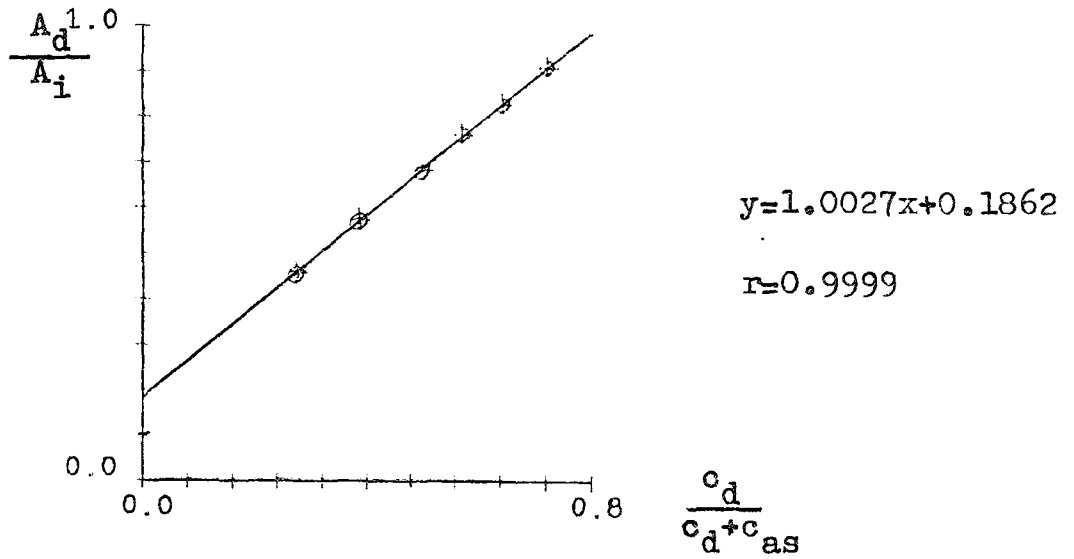
Tablo-67: 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanlar.

No	$A_{227.3}$ (227.3 nm)	A_{240} (240 nm)	$A_{256.8}$ (256.8 nm)
1	0.8523	0.4883	0.2240
2	0.9230	0.5693	0.3267
3	0.9113	0.6200	0.4247
4	0.8473	0.6060	0.4617
5	0.7980	0.6160	0.5103
6	0.9427	0.7837	0.7140

3.7.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması



Şekil-71: A_{as}/A_i Değerlerine karşı aspirinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-72: A_d/A_i Değerlerine karşı dipironun relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.7.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-69'da verildi.

Tablo-69: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	1	2	3	4	5	6
c_T ($\mu\text{g/ml}$)	22	26	28	28	28	36
a	22.195	21.896	22.143	21.643	22.000	21.769
\bar{a}	21.941					

Önceki bölümlerde verilen (12), (26), (27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-70'de verilmiştir.

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Aspirin için $\mu_{as}=99.96\pm 0.92$

Dipiron için $\mu_d=99.98\pm 0.69$

Görüldüğü gibi bu yöntem %27-72 oranında dipiron ve %28-73 oranında aspirin içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyon aralığı dipiron için 6-26 $\mu\text{g/ml}$, aspirin için 10-16 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Tablo-70: A_d/A_i ve A_{as}/A_i ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dip.	Hazırlanan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	% Asp.
6	6.0482	100.80	16	16.0912	100.57
10	10.0325	100.32	16	16.1094	100.68
14	14.0569	100.41	14	14.0194	100.14
16	15.8577	99.11	12	12.0747	100.62
18	17.9813	99.90	10	9.9000	99.00
26	25.8225	99.32	10	9.8721	98.72

$\bar{x}_d = 99.98$
 $S_d = 0.6590$

$\bar{x}_{as} = 99.96$
 $S_{as} = 0.8738$

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_d=c_{as}=14 \mu\text{g/ml}$ olan nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-71).

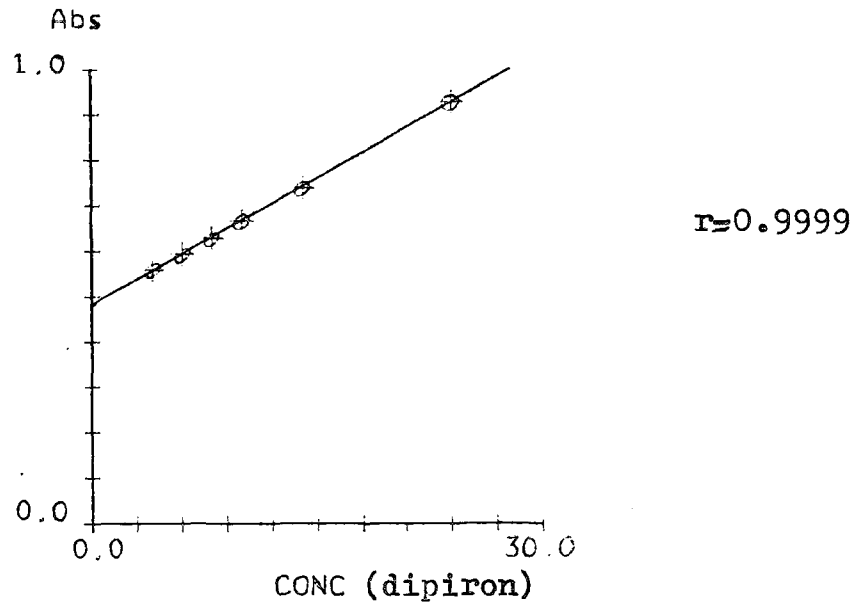
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki dipiron ve aspirin miktarları sırayla sabit tutularak absorban ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok dipiron ve stok aspirin çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Aspirin konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-72'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-73, şekil-74 ve şekil-75'de verilmiştir.

Tablo-71: 14 µg/ml Dipiron ve 14 µg/ml aspirin içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

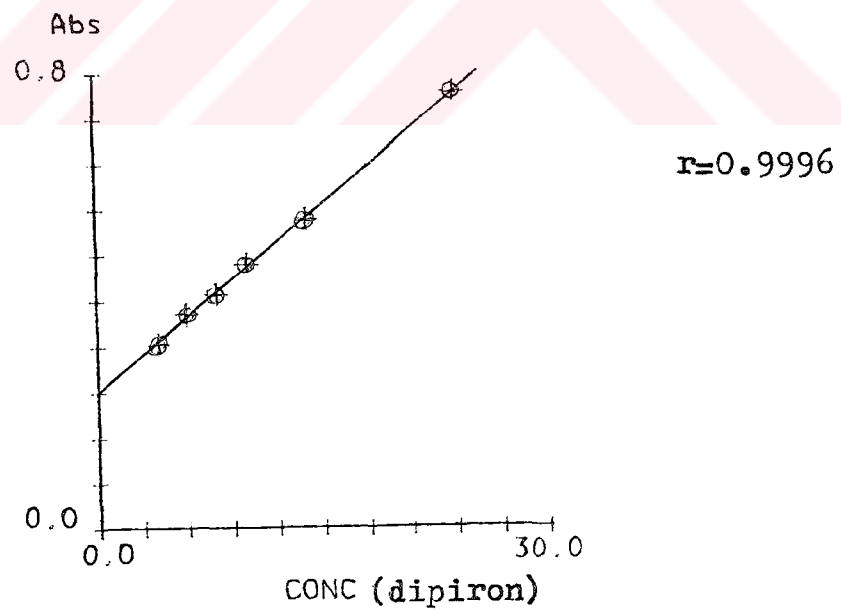
A_{as}	A_i	A_d
0.909	0.623	0.423
0.912	0.620	0.423
0.913	0.617	0.428
0.910	0.617	0.430
0.915	0.620	0.421
0.917	0.626	0.420
0.912	0.620	0.420
0.910	0.618	0.429
0.909	0.615	0.432
0.906	0.624	0.421
$\bar{A}_{as}=0.9113$ $S = 0.0032$	$\bar{A}_i=0.6200$ $S = 0.0035$	$\bar{A}_d=0.4247$ $S = 0.0046$

Tablo-72: $c_{as}=10$ µg/ml (sabit) iken sonuçlar.

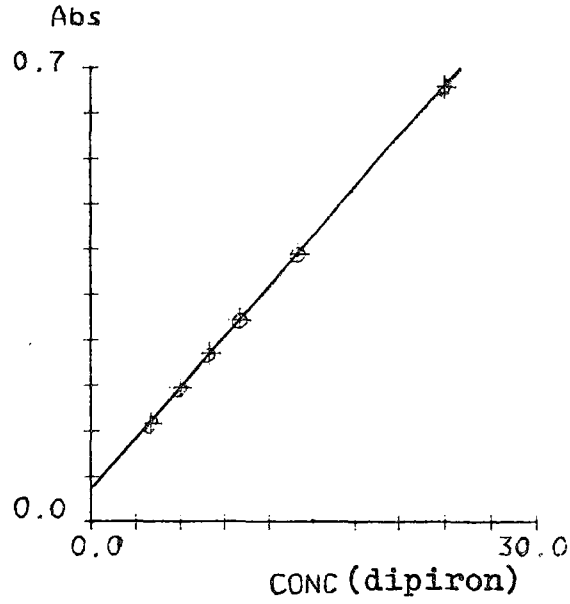
v_d (ml)	c_d (µg/ml)	A_{as}	A_i	A_d
2	4	0.560	0.325	0.153
3	6	0.595	0.377	0.208
4	8	0.629	0.411	0.259
5	10	0.668	0.463	0.311
7	14	0.740	0.542	0.413
12	24	0.928	0.765	0.672



Şekil-73: 227.3 nm'de c_{as} sabit iken grafik.



Şekil-74: 240 nm'de c_{as} sabit iken grafik.

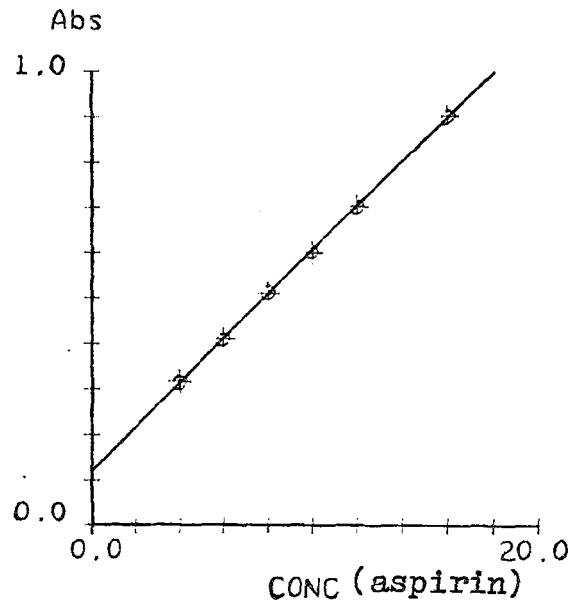


Şekil-75: 256.8 nm'de c_{as} sabit iken grafik.

Dipiron konsantrasyonlarının sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-73'de, buna göre çizilen grafikler şekil-76, şekil-77 ve şekil-78'de verilmiştir.

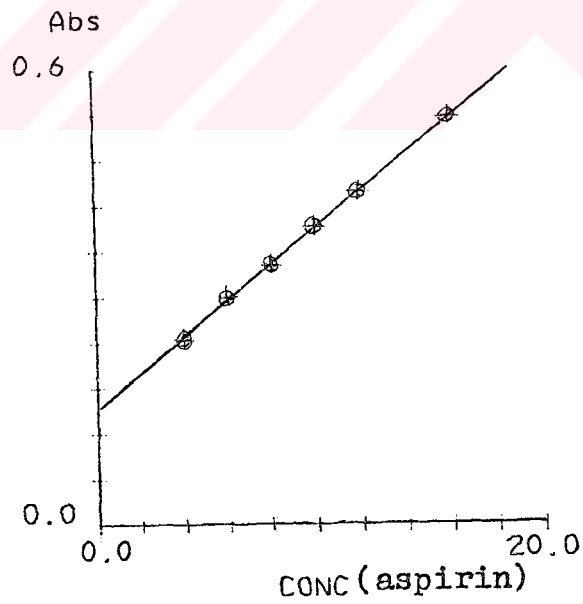
Tablo-73: $c_d=8 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

v_{as} (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
8	16	0.904	0.536	0.270
6	12	0.704	0.438	0.256
5	10	0.601	0.393	0.247
4	8	0.512	0.342	0.238
3	6	0.411	0.302	0.230
2	4	0.318	0.244	0.221



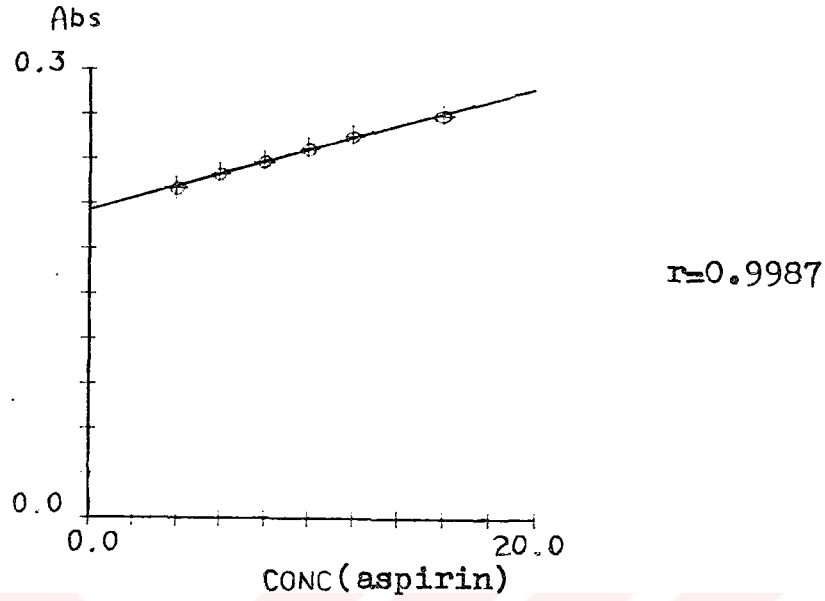
$r=0.9998$

Şekil-76: 227.3 nm'de c_d sabit iken grafik.



$r=0.9994$

Şekil-77: 240 nm'de c_d sabit iken grafik.



Şekil-78: 256.8 nm'de c_d sabit iken grafik.

3.7.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması

75 mg Aspirin ve 75 mg dipiron tartılarak 100 ml'lik balon jodede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda onbeş dakika tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltilerden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jodede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok çözeltilerindeki aspirin ile dipiron konsantrasyonu eşittir ve 75 µg/ml dir.

Stok çözeltilerinden 50 ml'lik balon jodelerde 0.1 N hidroklorik asit ile seyrelterek hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki çözeltilerin absorbansları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-74'de görülmektedir.

Tablo-74: 75 mg Aspirin ve 75 mg dipiron içeren karışım ile hazırlanan seyreltmeler ve absorbans değerleri.

\bar{v} (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
5.0	7.50	7.50	0.4953	0.3380	0.2300
6.0	9.00	9.00	0.5980	0.4080	0.2793
7.0	10.50	10.50	0.6937	0.4733	0.3233
8.0	12.00	12.00	0.8003	0.5467	0.3750
8.5	12.75	12.75	0.8423	0.5757	0.3927
9.0	13.50	13.50	0.8950	0.6120	0.4203

Bu değerlerin (12), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-75'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-75: 75 mg Aspirin ve 75 mg dipiron içeren sentetik karışımlarda sonuçlar.

Hazırlanan $c_{as}=c_d$ ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aspirin (mg)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki dipiron (mg)
7.50	7.5869	75.87	7.5937	75.94
9.00	9.1627	76.36	9.2422	77.02
10.50	10.6289	75.92	10.6895	76.35
12.00	12.2404	76.50	12.4182	77.61
12.75	12.8727	75.72	12.9773	76.34
13.50	13.6690	75.94	13.9246	77.36

$\bar{x}_{as} = 76.05$ $s_{as} = 0.3062$	$\bar{x}_d = 76.77$ $s_d = 0.6582$
---	---------------------------------------

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Aspirin için $\mu_{as} = 76.05 \pm 0.32$

Dipiron için $\mu_d = 76.77 \pm 0.69$

Elde edilen sonuçlar yüzdeye çevrildiği zaman %101.40 aspirin, %102.36 dipiron bulunur ve bu değerler farmakope sınırlarına uymaktadır (270).

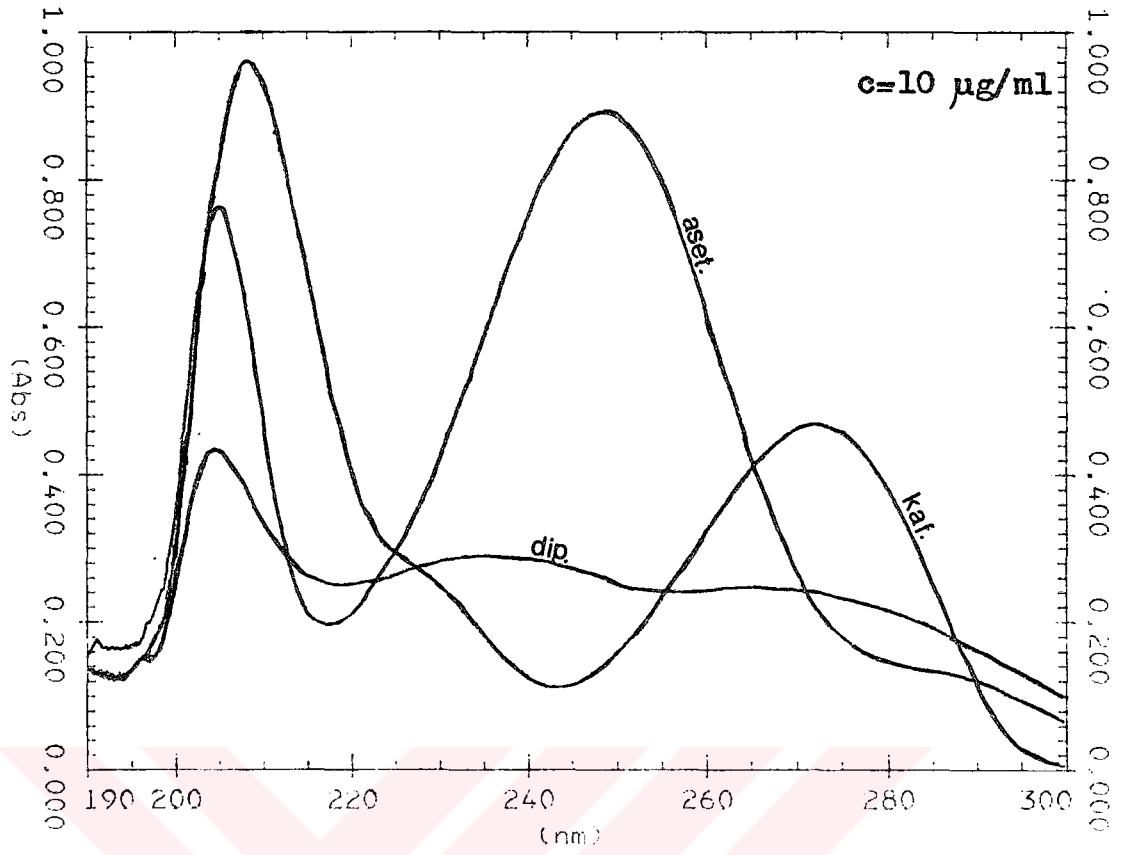
3.8. ASETAMİNOFEN-DİPİRON-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.8.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

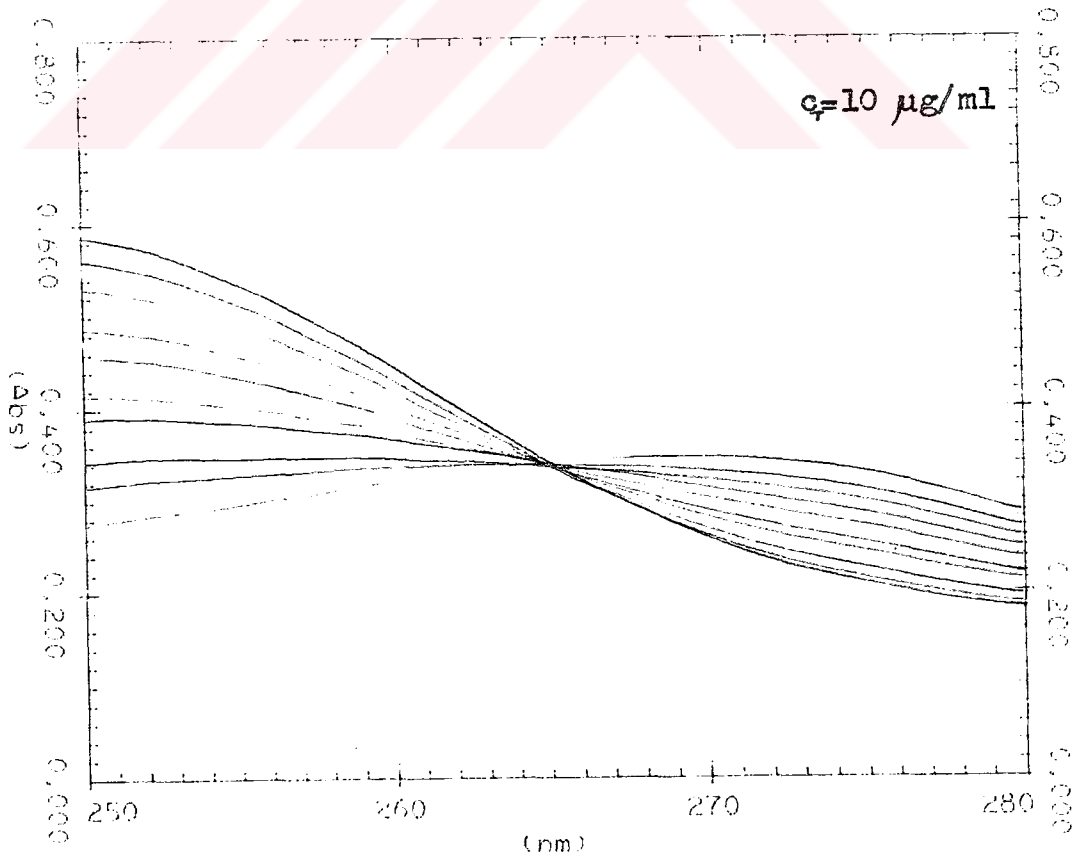
3.8.1.1. Dalga Boyu Seçimi

Eşit konsantrasyonda ($c=10 \mu\text{g/ml}$) hazırlanan asetaminofen, dipiron ve kafein çözeltilerinin %95'lik etanol içinde alınan spektrumları üst üste çizdirildi(şekil-79). İsoabsorptif dalga boyunun hassas olarak tayini için, çalışma sırasında hazırlanan ve toplam konsantrasyonu $10 \mu\text{g/ml}$ olan standart karışım çözeltilerinin spektrumları üst üste alındı. Bu şekilde isoabsorptif dalga boyu 265.4 nm olarak tespit edildi(şekil-80).

Maddelerin etanoldeki spektrumları önceki bölümlerde mevcut olduğu için bu bölümde tekrar verilmemiştir. Asetaminofenin maksimum absorpsiyonu 248.1 nm 'de, kafeinin maksimum absorpsiyonu ise 271.7 nm 'de gerçekleşmektedir (şekil-15, şekil-51, şekil-52).



Şekil-79: İsoabsorptif dalga boyu (etanolde).



Şekil-80: İsoabsorptif dalga boyu (standart çözeltilerle, etanolde).

3.8.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltilisi:

100 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jofede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 2.5 ml, 100 ml'lik balon jofede etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltilisinin konsantrasyonu 25 µg/ml'dir.

Stok dipiron çözeltilisi:

88 mg Dipiron 100 ml'lik balon jofede etanolle hacmine tamamlandı. Onbeş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 5 ml, 100 ml'lik balon jofede etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok dipiron çözeltilisinin konsantrasyonu 44 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltilisi:

100 mg Kafein 100 ml'lik balon jofede etanolle hacmine tamamlandı. On dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 2 ml, 100 ml'lik balon jofede etanolle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok kafein çözeltilisinin konsantrasyonu 20 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltililerden 50 ml'lik balon jofelerde etanolle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltililerin 248.1, 265.4 ve 271.7 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerlerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-76 ve tablo-77'de görülmektedir.

Tablo-76: Stok asetaminofen, dipiron ve kafein gözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler (dipiron konsantrasyonu sabit).

No	v_a (ml)	v_k (ml)	v_d (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)
1	10.6	0.75	5	5.3	0.3	4.4
2	10.0	1.50	5	5.0	0.6	4.4
3	9.2	2.50	5	4.6	1.0	4.4
4	8.0	4.00	5	4.0	1.6	4.4
5	7.2	5.00	5	3.6	2.0	4.4
6	6.0	6.50	5	3.0	2.6	4.4
7	5.2	7.50	5	2.6	3.0	4.4
8	4.0	9.00	5	2.0	3.6	4.4
9	3.2	10.00	5	1.6	4.0	4.4
10	2.0	11.50	5	1.0	4.6	4.4

Tablo-77: 248.1, 265.4 ve 271.7 nm'lerdeki absorbanlar.

No	A_a (248.1 nm)	A_i (265.4 nm)	A_k (271.7 nm)
1	0.6190	0.3530	0.2480
2	0.5950	0.3530	0.2570
3	0.5620	0.3507	0.2643
4	0.5140	0.3490	0.2790
5	0.4857	0.3533	0.2923
6	0.4373	0.3530	0.3077
7	0.4040	0.3490	0.3150
8	0.3560	0.3477	0.3303
9	0.3243	0.3470	0.3410
10	0.2770	0.3483	0.3557

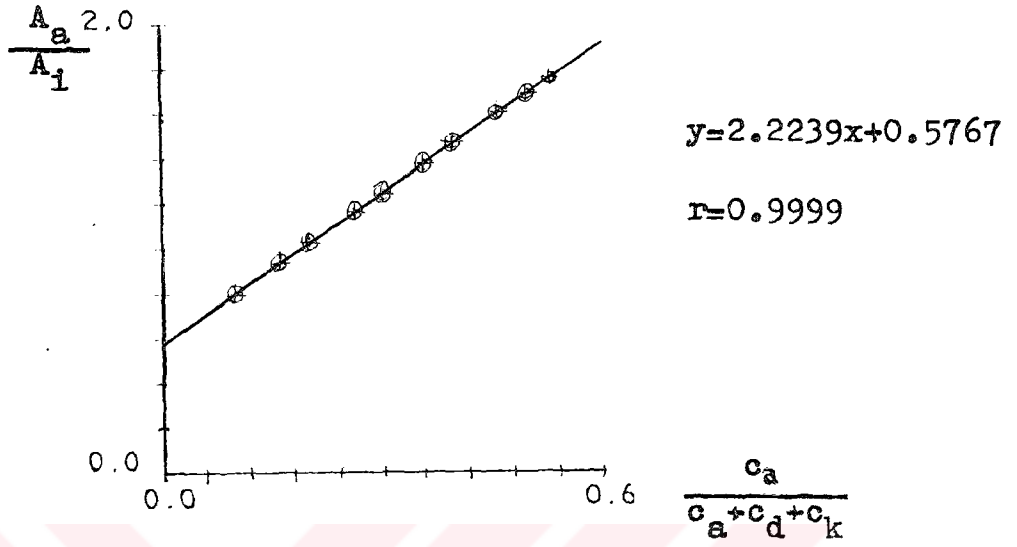
3.8.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorbans oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi. Grafik değerleri tablo-78'de görülmektedir.

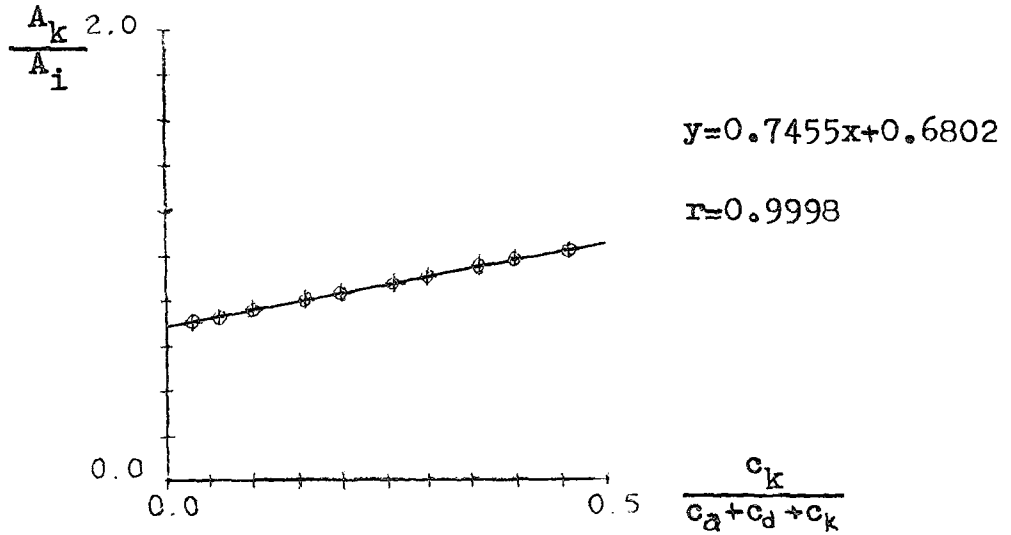
Şekil-81'de asetaminofenin, şekil-82'de ise kafeinin relatif konsantrasyonları absise, absorbans oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir. Grafiklerdeki doğru denklemleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır.

Tablo-78: Elde edilen absorbans değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_a}{c_a+c_d+c_k}$	$\frac{A_a}{A_i}$	$\frac{c_k}{c_a+c_d+c_k}$	$\frac{A_k}{A_i}$	$\frac{c_d}{c_a+c_d+c_k}$
1	0.53	1.7535	0.03	0.7025	0.44
2	0.50	1.6855	0.06	0.7280	0.44
3	0.46	1.6025	0.10	0.7536	0.44
4	0.40	1.4728	0.16	0.7994	0.44
5	0.36	1.3747	0.20	0.8273	0.44
6	0.30	1.2388	0.26	0.8717	0.44
7	0.26	1.1576	0.30	0.9026	0.44
8	0.20	1.0239	0.36	0.9499	0.44
9	0.16	0.9346	0.40	0.9827	0.44
10	0.10	0.7953	0.46	1.0212	0.44



Şekil-81: A_a/A_i Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-82: A_k/A_i Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.8.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-79'da verildi.

Tablo-79: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	c_T ($\mu\text{g/ml}$)	a
1	10	35.300
2	10	35.300
3	10	35.070
4	10	34.900
5	10	35.330
6	10	35.300
7	10	34.900
8	10	34.770
9	10	34.700
10	10	34.830
		$\bar{a}=35.040$

Önceki bölümlerde verilen (12), (26), (27), numaralı formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-80 ve tablo-81'de verilmiştir.

Tablo-80: A_a/A_i ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	% Asetaminofen
5.3	5.3309	100.58
5.0	5.0228	100.46
4.6	4.6166	100.36
4.0	4.0133	100.33
3.6	3.6180	100.50
3.0	2.9993	99.98
2.6	2.6016	100.06
2.0	1.9954	99.77
1.6	1.5937	99.61
1.0	0.9771	97.71

$\bar{x}_a = 99.94$
 $S_a = 0.8465$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.26$

Asetaminofen için $\mu_a = 99.94 \pm 0.60$

Tablo- 81: A_k/A_i ile yapılan değerlendirmeler.

Hazırlanan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	% Kafein
0.3	0.3013	100.45
0.6	0.6459	107.65
1.0	0.9854	98.54
1.6	1.5925	99.53
2.0	1.9895	99.47
2.6	2.5878	99.53
3.0	2.9713	99.04
3.6	3.5898	99.72
4.0	4.0183	100.46
4.6	4.5467	98.84

$\bar{x}_k = 100.32$
 $S_k = 2.6477$

%95 Güven aralığı için $t=2.26$

Kafein için $\mu_k = 100.32 \pm 1.89$

Dipiron konsantrasyonu, isoabsorptif dalga boyundaki toplam konsantrasyondan asetaminofen ve kafeinin konsantrasyonları çıkarılarak (22) nolu formüle göre hesaplandı. Sonuçlar tablo-82'de görülmektedir.

Tablo-82: Dipiron için sonuçlar.

Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
4.4	4.4420	100.95
4.4	4.4055	100.12
4.4	4.4066	100.15
4.4	4.3542	98.96
4.4	4.4753	101.71
4.4	4.4871	101.98
4.4	4.3871	99.71
4.4	4.3377	98.58
4.4	4.2910	97.52
4.4	4.4163	100.37

$\bar{x}_d = 100.00$
 $S_d = 1.3845$

%95 Güven aralığı için $t = 2.26$

Dipiron için $\mu_d = 100.00 \pm 0.99$

Görüldüğü gibi bu yöntem %10-53 oranında asetaminofen, %3-46 oranında kafein ve %44 dipiron içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyonu dipiron için 4.4 $\mu\text{g/ml}$ (sabit), asetaminofen için 1-5.3 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 0.3-4.6 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_a = 3 \mu\text{g/ml}$, $c_k = 2.6 \mu\text{g/ml}$ ve $c_d = 4.4 \mu\text{g/ml}$ olan 6 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-83).

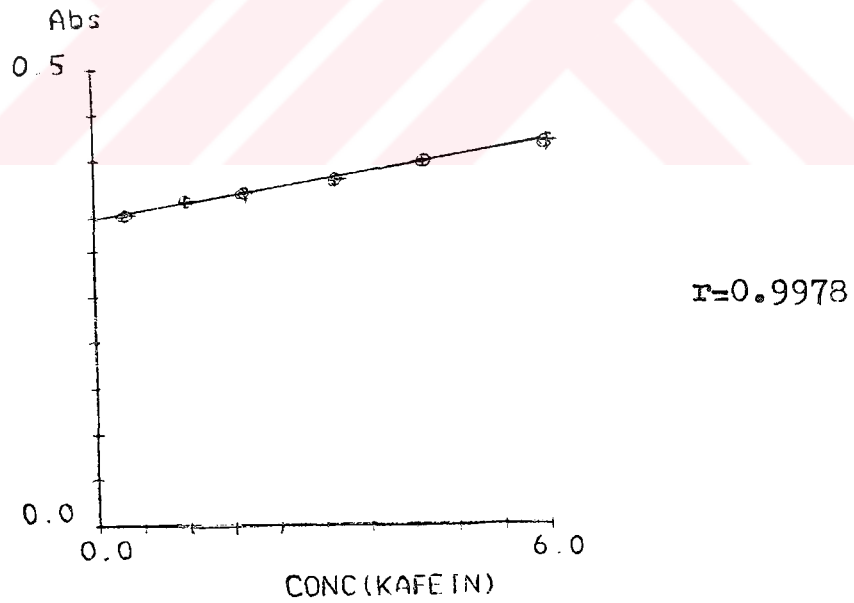
Tablo-83: 3 µg/ml asetaminofen, 2.6 µg/ml kafein ve 4.4 µg/ml dipiron içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

A_a	A_i	A_k
0.435	0.353	0.310
0.437	0.358	0.310
0.429	0.357	0.305
0.440	0.350	0.302
0.441	0.350	0.311
0.439	0.351	0.307
0.440	0.356	0.309
0.435	0.352	0.311
0.438	0.351	0.308
0.439	0.352	0.304
$\bar{A}_a=0.4373$ $S=0.0035$	$\bar{A}_i=0.3530$ $S=0.0029$	$\bar{A}_k=0.3077$ $S=0.0031$

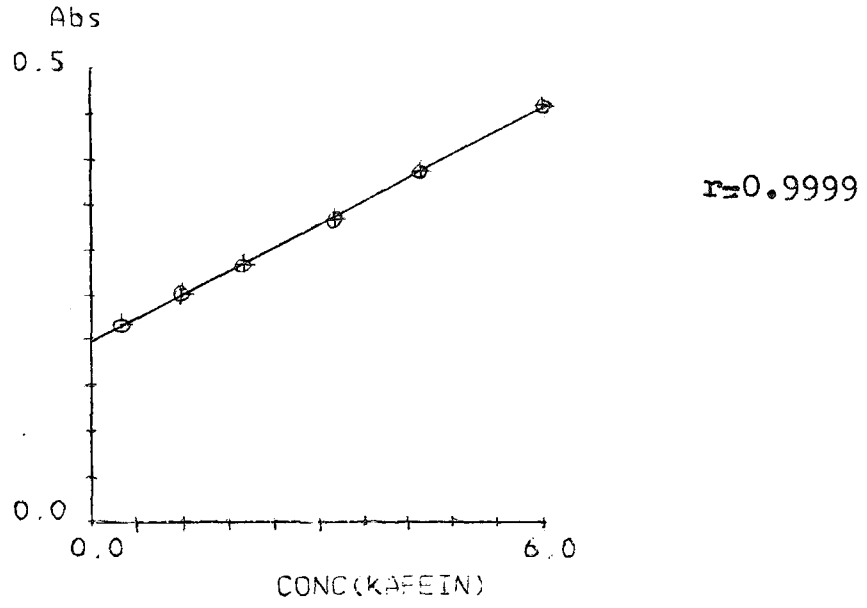
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki asetaminofen ve kafein miktarları sırayla sabit tutularak absorbans ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok asetaminofen ve stok kafein çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Asetaminofen konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-84'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-83, şekil-84 ve şekil-85'de verilmiştir.

Tablo-84: $c_d=4.4 \mu\text{g/ml}$ ve $c_a=2.5 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

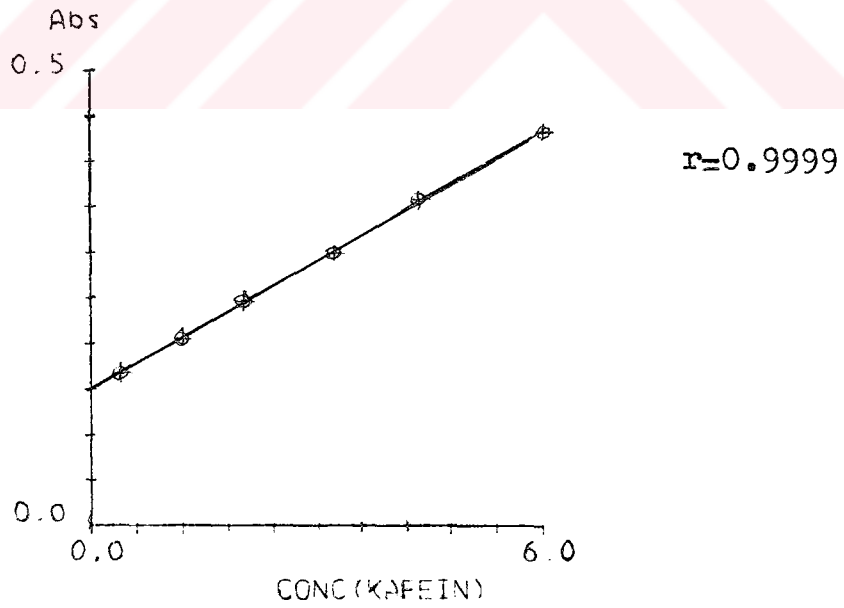
v_k (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_i	A_k
1	0.4	0.340	0.218	0.168
3	1.2	0.355	0.252	0.206
5	2.0	0.365	0.284	0.247
8	3.2	0.378	0.336	0.300
11	4.4	0.399	0.388	0.360
15	6.0	0.419	0.459	0.434



Şekil-83: 248.1 nm'de c_d ve c_a sabit iken grafik.



Şekil-84: 265.4 nm'de c_d ve c_a sabit iken grafik.

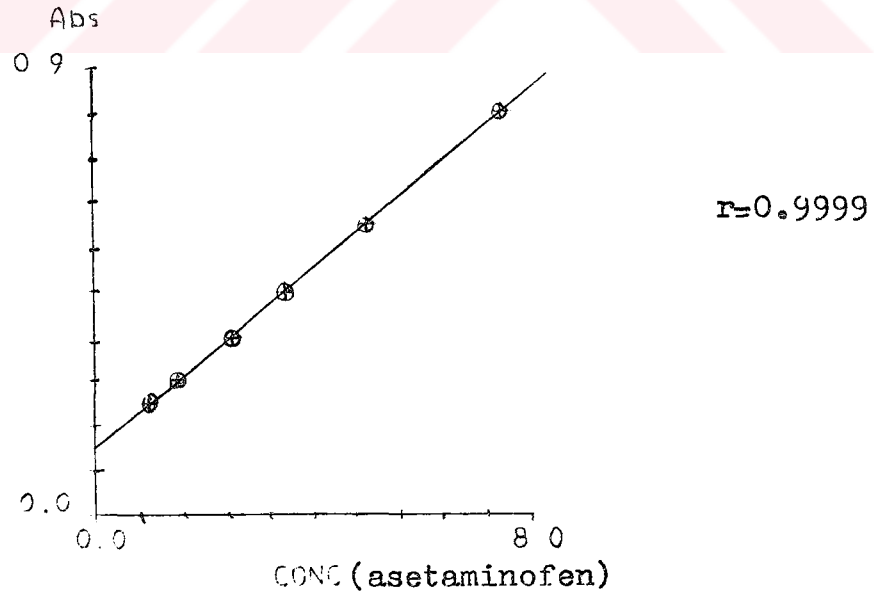


Şekil-85: 271.7 nm'de c_d ve c_a sabit iken grafik.

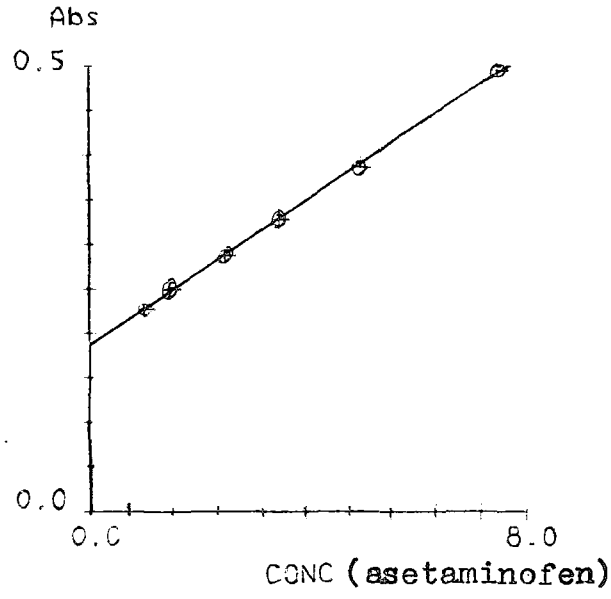
Kafein konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-85'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-86, şekil-87 ve şekil-88'de verilmiştir.

Tablo-85: $c_d=4.4 \mu\text{g/ml}$ ve $c_k=2 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

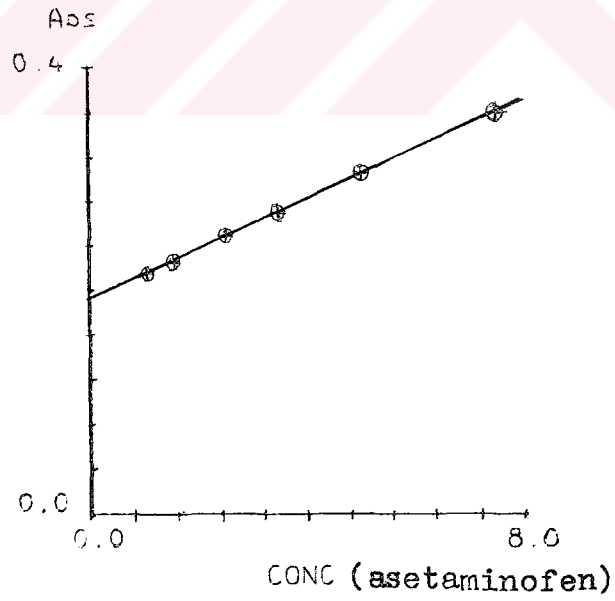
v_a (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_i	A_k
2	1.0	0.225	0.228	0.216
3	1.5	0.272	0.250	0.225
5	2.5	0.358	0.288	0.249
7	3.5	0.448	0.329	0.270
10	5.0	0.584	0.387	0.305
15	7.5	0.814	0.495	0.360



Şekil-86: 248.1 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-87: 265.4 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-88: 271.7 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.

3.8.4. Yöntemin Tabletlerle Uygulanması

Ülkemizde kullanılmakta olan ve her bir tabletinde 250 mg asetaminofen, 220 mg dipiron, 30 mg kafein ihtiva eden formülasyon şekli kullanıldı. Geliştirilen yöntem izlenerek miktar tayinleri gerçekleştirildi.

20 Tablet tartılarak (13.4 g) havanda iyice toz edildi. Bundan 134 mg tartılarak 100 ml'lik balon jode etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda 20 dakika tutulduktan sonra bir santrifüj tüpüne alınarak 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Berrak çözeltilerden bir pipetle alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jode etanolle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltideki asetaminofen konsantrasyonu 50 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 44 µg/ml, kafein konsantrasyonu 6 µg/ml'dir.

Stok çözeltilerinden 5 ml alınarak etanolle 50 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltilerden altı kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi (tablo-86). Son çözeltideki asetaminofen konsantrasyonu 5 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 4.4 µg/ml, kafein konsantrasyonu 0.6 µg/ml dir.

Tablo-86: 250 mg Asetaminofen, 220 mg dipiron ve 30 mg kafein içeren tabletlerden hazırlanan çözeltilerin absorban değerleri.

A_a	A_i	A_k
0.5450	0.3200	0.2317
0.5540	0.3217	0.2330
0.5497	0.3203	0.2317
0.5513	0.3213	0.2327
0.5460	0.3203	0.2320
0.5423	0.3223	0.2337

Bu değerlerin (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-87'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-87: 250 mg Asetaminofen, 220 mg dipiron ve 30 mg kafein içeren tabletlerde sonuçlar.

Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki aset. (mg)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki kafein (mg)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tab- letteki dipiron (mg)
4.6255	231.28	0.5378	26.89	3.9691	198.46
4.7286	236.43	0.5431	27.15	3.9092	195.46
4.6837	234.19	0.5297	26.48	3.9276	196.38
4.6967	234.83	0.5412	27.06	3.9316	196.58
4.6365	231.82	0.5407	27.04	3.9638	198.19
4.5740	228.70	0.5540	27.70	4.0701	203.50
$\bar{x}_a = 232.87$ $S_a = 2.8028$		$\bar{x}_k = 27.05$ $S_k = 0.3958$		$\bar{x}_d = 198.10$ $S_d = 2.8822$	

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 232.87 \pm 2.94$

Dipiron için $\mu_d = 198.10 \pm 3.02$

Kafein için $\mu_k = 27.05 \pm 0.41$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman %93.15 asetaminofen, %90.04 dipiron ve %90.17 kafein bulunur. Asetaminofen ve kafein için elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uyduğu (269) halde dipiron, Japon Farmakopesinde verilen %95-105 sınırına girmemektedir(270). Bu durumun yöntemimizden mi, yoksa tabletlerden mi kaynaklandığını araştırmak amacıyla aynı tablet terkiibini içeren

karışım hazırlanarak tekrar tayin edildi.

Bir tablet içeriği olan 250 mg asetaminofen, 220 mg dipiron, 30 mg kafein, 74 mg nişasta, 77 mg avisel, 17 mg talk ve 7 mg magnezyum stearat ihtiva eden karışım hazırlandı. Bundan 135 mg tartılarak 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda 20 dakika tutulduktan sonra bir santrifüj tüpüne alınarak 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Berrak çözeltiden bir pipetle alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisindeki asetaminofen konsantrasyonu 50 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 44 µg/ml, kafein konsantrasyonu 6 µg/ml'dir.

Stok çözeltisinden alınan 5 ml, 50 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Altı kez hazırlanan bu çözeltilerde asetaminofen konsantrasyonu 5 µg/ml, kafein konsantrasyonu 0.6 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 4.4 µg/ml'dir. Bu altı çözeltinin absorbanları belirlenen dalga boylarında okundu. Çalışma üç kez tekrarlanarak ortalamaları kullanıldı. Sonuçlar tablo-88'de görülmektedir.

Tablo-88: Hazırlanan tablet karışımlarının absorbanları.

A_a	A_i	A_k
0.5900	0.3520	0.2550
0.5820	0.3500	0.2540
0.5893	0.3527	0.2557
0.5853	0.3527	0.2557
0.5900	0.3540	0.2567
0.5883	0.3520	0.2553

Bu değerlerin (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-89'da verilen sonuçlar elde edildi.

Tablo-89: 250 mg Asetaminofen, 220 mg dipiron ve 30 mg kafein içeren tablet karışımında sonuçlar.

Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki aset. (mg)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki kafein (mg)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bir tabletteki dipiron (mg)
4.9663	248.31	0.5960	29.80	4.4834	224.17
4.8784	243.92	0.6098	30.49	4.5004	225.02
4.9521	247.60	0.6046	30.23	4.5089	225.44
4.9008	245.04	0.6046	30.23	4.5602	228.01
4.9515	247.57	0.6090	30.45	4.5422	227.11
4.9445	247.22	0.6075	30.37	4.4937	224.68
$\bar{x}_a = 246.61$ $S_a = 1.7242$		$\bar{x}_k = 30.26$ $S_k = 0.2508$		$\bar{x}_d = 225.74$ $S_d = 1.4984$	

%95 Güven aralığı için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 246.61 \pm 1.81$

Kafein için $\mu_k = 30.26 \pm 0.26$

Dipiron için $\mu_d = 225.74 \pm 1.57$

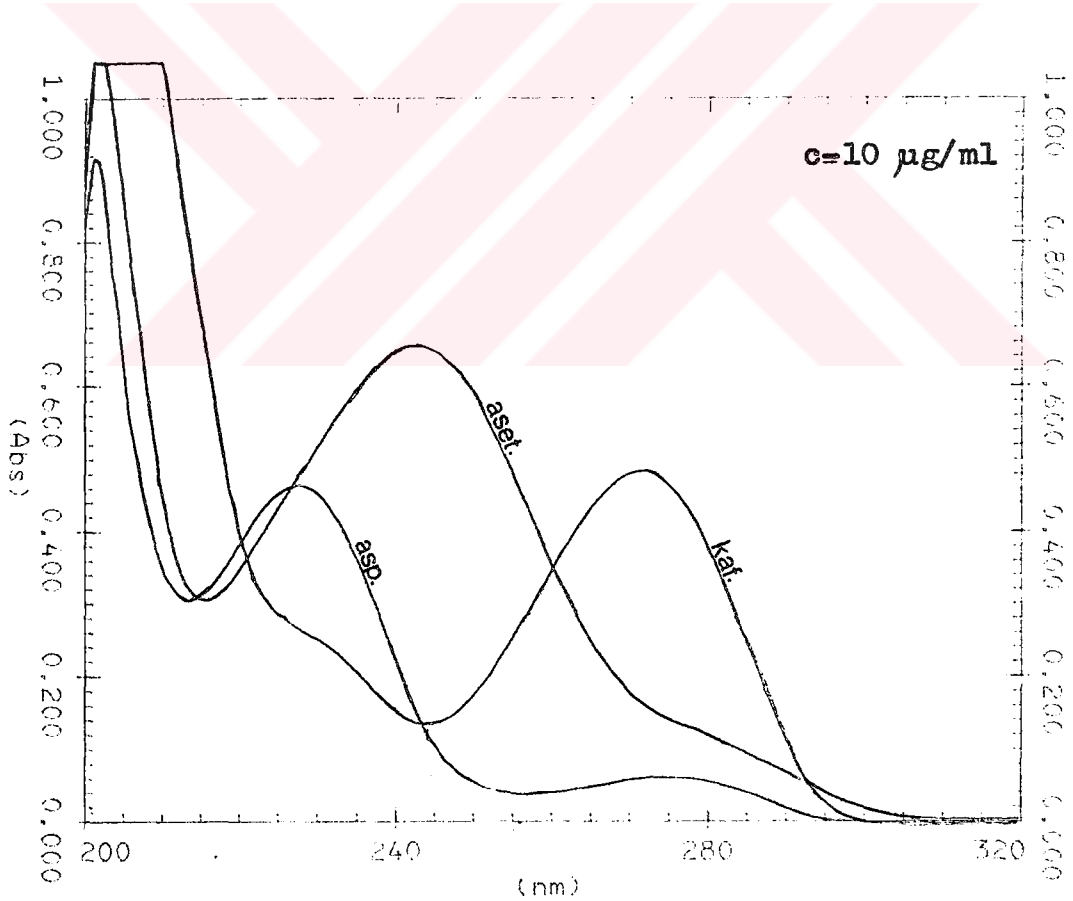
Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman %98.64 asetaminofen, %100.87 kafein ve %102.61 dipiron bulunur. Elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır.

3.9. ASETAMİNOFEN-ASİRİN-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.9.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.9.1.1. Dalga Boyu Seçimi

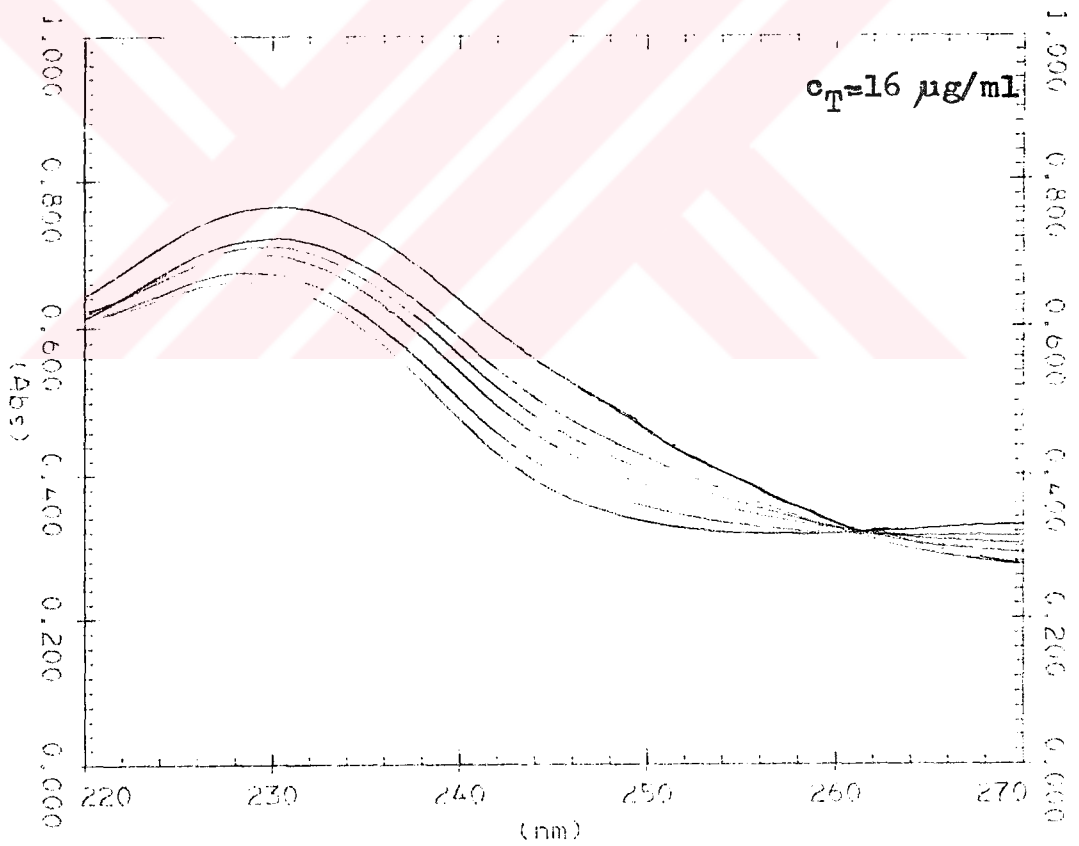
Eşit konsantrasyonda hazırlanan ($c=10 \mu\text{g/ml}$) asetaminofen, aspirin ve kafein çözeltilerinin 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumları üst üste çizdirildi(şekil-89).



Şekil-89: İsoabsorptif dalga boyu (0.1 N HCl'de).

İsoabsorptif dalga boyunun hassas olarak tayini için, çalışma sırasında hazırlanan ve toplam konsantrasyonu 16 $\mu\text{g/ml}$ olan standart karışım çözeltilerinin spektrumları üst üste alındı. Bu şekilde isoabsorptif dalga boyu 260.5 nm olarak tespit edildi(şekil-90).

Maddelerin 0.1 N hidroklorik asitteki spektrumları önceki bölümlerde mevcut olduğu için bu bölümde tekrar verilmemiştir. Asetaminofenin maksimum absorpsiyonu 241.9 nm'de, aspirininki 227.3 nm'de, kafeininki ise 271.4 nm'de gerçekleşmektedir(şekil 40, şekil-62, şekil-63).



Şekil-90: İsoabsorptif dalga boyu (standart çözeltilerle, 0.1 N HCl'de).

3.9.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltilisi:

100 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 5 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltilisinin konsantrasyonunu 50 µg/ml'dir.

Stok aspirin çözeltilisi:

Stok asetaminofen çözeltilisiyle aynı şekilde hazırlanan stok aspirin çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltilisi:

100 mg Kafein 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandıktan sonra stok asetaminofen çözeltilisi gibi hazırlandı. Stok kafein çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltililerden 50 ml'lik balon jojelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 241.9, 260.5 ve 271.4 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-90 ve tablo-91'de görülmektedir.

Tablo-90: Stok asetaminofen, aspirin ve kafein gözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler(aspirin konsantrasyonu sabit).

No	v_a (ml)	v_k (ml)	v_{as} (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)
1	6.0	2.0	8	6.0	2.0	8
2	5.5	2.5	8	5.5	2.5	8
3	5.0	3.0	8	5.0	3.0	8
4	4.5	3.5	8	4.5	3.5	8
5	4.0	4.0	8	4.0	4.0	8
6	3.5	4.5	8	3.5	4.5	8

Tablo-91: 241.9, 260.5 ve 271.4 nm'lerdeki absorbanlar.

No	A_a (241.9 nm)	A_i (260.5 nm)	A_k (271.4 nm)
1	0.5707	0.3280	0.2450
2	0.5520	0.3313	0.2670
3	0.5300	0.3323	0.2863
4	0.5017	0.3267	0.3030
5	0.4810	0.3290	0.3250
6	0.4570	0.3250	0.3380

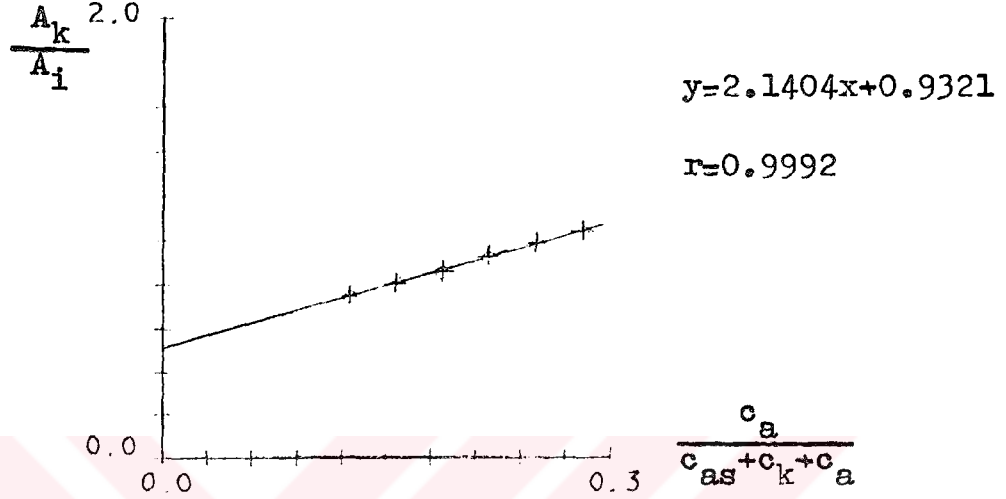
3.9.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorbands oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi. Grafik değerleri tablo-92'de görülmektedir.

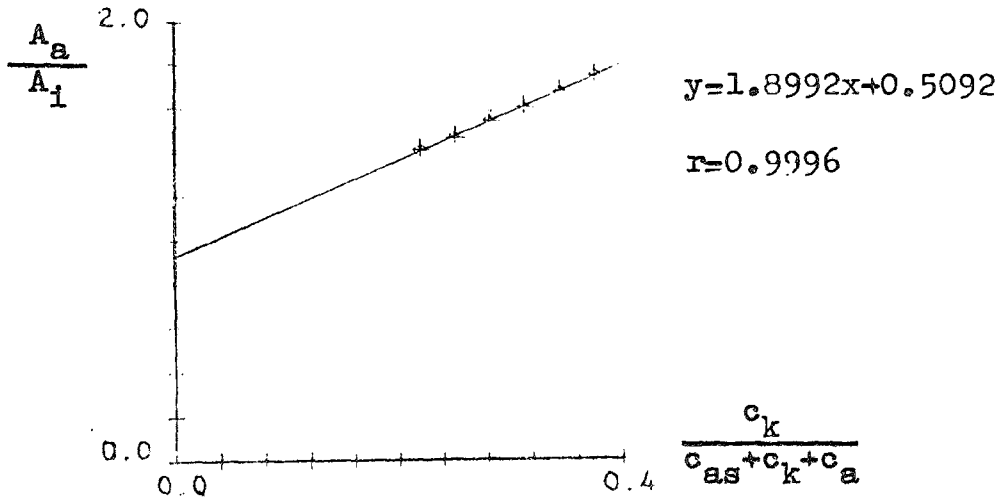
Şekil-91'de asetaminofenin, şekil-92'de ise kafeinin relatif konsantrasyonları absise, absorbands oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir. Grafiklerdeki doğru denklemleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır.

Tablo-92: Elde edilen absorbands değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_a}{c_{as}+c_k+c_a}$	$\frac{A_a}{A_i}$	$\frac{c_k}{c_{as}+c_k+c_a}$	$\frac{A_k}{A_i}$	$\frac{c_{as}}{c_{as}+c_k+c_a}$
1	0.3750	1.7399	0.1250	0.7470	0.5000
2	0.3437	1.6662	0.1563	0.8059	0.5000
3	0.3125	1.5949	0.1875	0.8616	0.5000
4	0.2812	1.5357	0.2188	0.9275	0.5000
5	0.2500	1.4620	0.2500	0.9878	0.5000
6	0.2188	1.4062	0.2812	1.0400	0.5000



Şekil-91: A_a/A_i Değerlerine karşı asetaminofenin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-92: A_k/A_i Değerlerine karşı kafeinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.9.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-93'de verildi ($c_T=16 \mu\text{g/ml}$, sabit).

Tablo-93: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	1	2	3	4	5	6
a	20.500	20.706	20.769	20.419	20.562	20.313
\bar{a}	20.544					

Önceki bölümlerde verilen (12),(22),(26),(27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-94 ve tablo-95 'de verilmiştir.

Tablo-94: Asetaminofen ve aspirin için sonuçlar.
(hazırlanan $c_{as}=8 \mu\text{g/ml}$, sabit)

Hazırlanan $c_a(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_a(\mu\text{g/ml})$	% Aset.	Bulunan $c_{as}(\mu\text{g/ml})$	% Asp.
6.0	6.0256	100.43	7.9410	99.26
5.5	5.5309	100.56	8.0762	100.95
5.0	5.0088	100.18	8.1649	102.06
4.5	4.4845	99.66	7.9154	98.94
4.0	3.9647	99.12	8.0141	100.18
3.5	3.5041	100.12	7.8942	98.68
		$\bar{x}_a=100.01$ $S_a=0.5356$		$\bar{x}_{as}=100.01$ $S_{as}=1.3108$

Tablo-95: Kafein için sonuçlar.

Hazırlanan $c_k(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_k(\mu\text{g/ml})$	% Kafein
2.0	1.9991	99.95
2.5	2.5193	100.77
3.0	3.0013	100.04
3.5	3.5025	100.07
4.0	4.0356	100.89
4.5	4.4214	98.25
		$\bar{x}_k = 99.99$ $S_k = 0.9441$

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 100.01 \pm 0.56$

Aspirin için $\mu_{as} = 100.01 \pm 1.37$

Kafein için $\mu_k = 99.99 \pm 0.99$

Görüldüğü gibi bu yöntem %22-37 oranında asetaminofen, %50 aspirin ve %12-28 oranında kafein içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyonu aspirin için 8 $\mu\text{g/ml}$ (sabit), asetaminofen için 3.5-6 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 2-4.5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltilerden ($c_a=6 \mu\text{g/ml}$, $c_k=2 \mu\text{g/ml}$, $c_{as}=8 \mu\text{g/ml}$ olan 1 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-96).

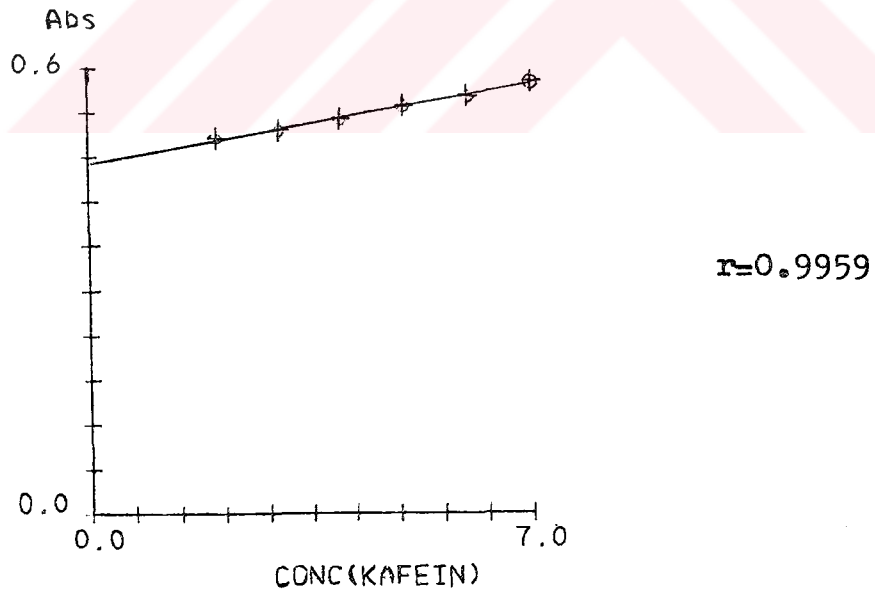
Tablo-96: 6 µg/ml asetaminofen, 2 µg/ml kafein ve 8 µg/ml aspirin içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

A_a	A_i	A_k
0.569	0.330	0.249
0.567	0.326	0.242
0.576	0.328	0.250
0.572	0.327	0.240
0.565	0.329	0.242
0.576	0.330	0.245
0.570	0.325	0.248
0.573	0.326	0.242
0.567	0.333	0.249
0.572	0.326	0.243
$\bar{A}_a=0.5707$ $S=0.0038$	$\bar{A}_i=0.3280$ $S=0.0025$	$\bar{A}_k=0.2450$ $S=0.0037$

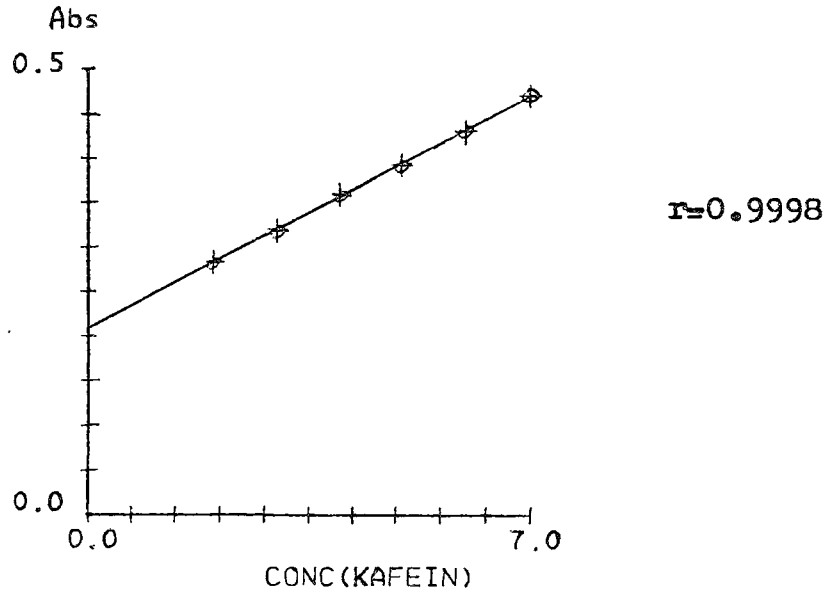
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki asetaminofen ve kafein miktarları sırayla sabit tutularak absorbans ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok asetaminofen ve stok kafein çözeltileriyle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Asetaminofen konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-97'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-93, şekil-94 ve şekil-95'de verilmiştir.

Tablo-97: $c_{as}=8 \mu\text{g/ml}$ ve $c_a=5 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

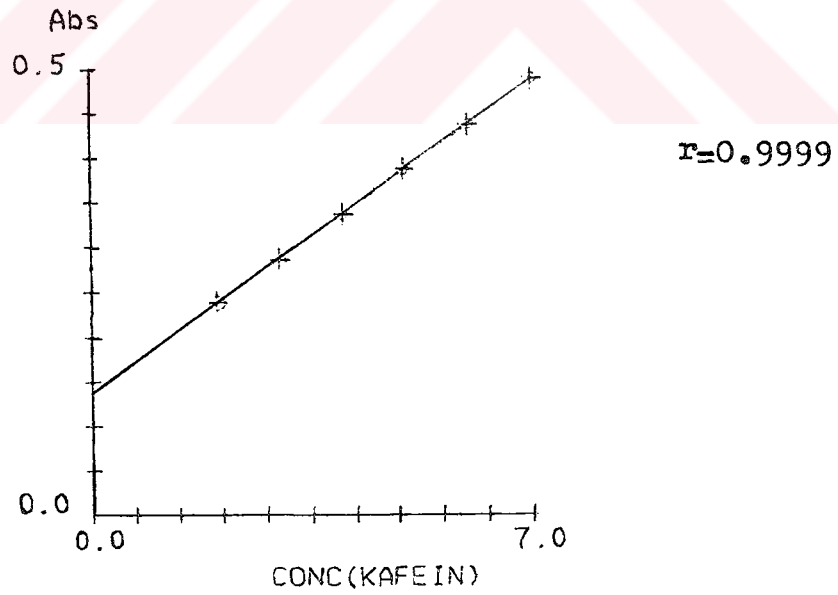
V_k (ml)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_i	A_k
2	2	0.505	0.284	0.239
3	3	0.515	0.320	0.286
4	4	0.530	0.360	0.337
5	5	0.549	0.394	0.388
6	6	0.560	0.432	0.437
7	7	0.580	0.471	0.489



Şekil-93: 241.9 nm'de c_{as} ve c_a sabit iken grafik.



Şekil-94: 260.5 nm'de c_{as} ve c_a sabit iken grafik.

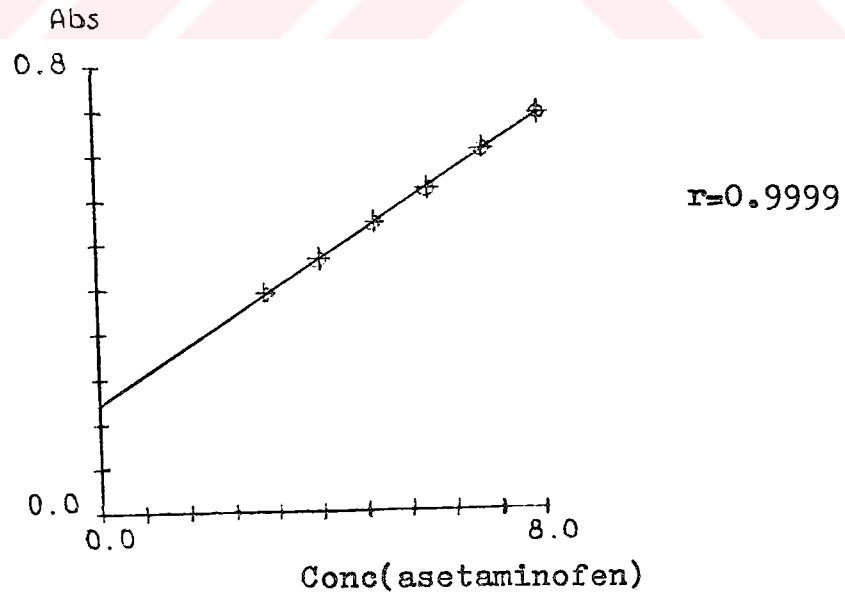


Şekil-95: 271.4 nm'de c_{as} ve c_a sabit iken grafik.

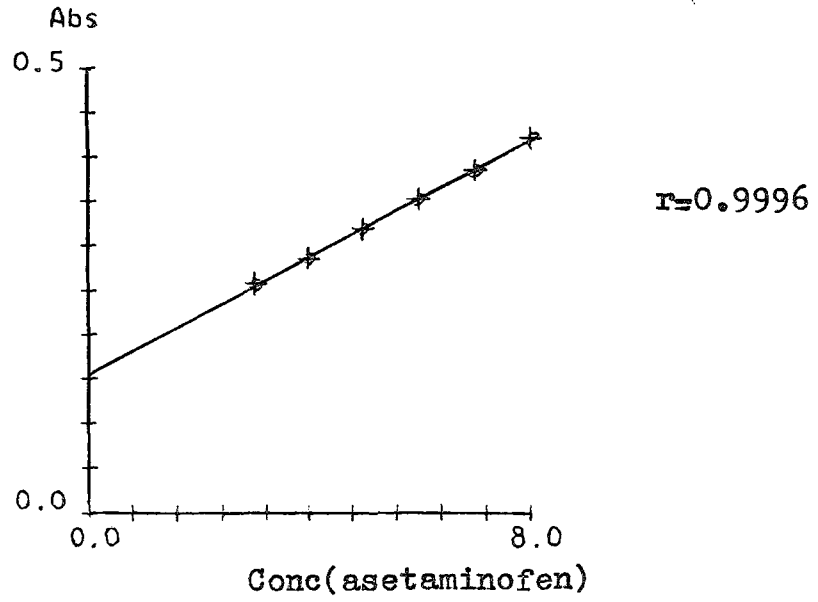
Aspirin ve kafein konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-98'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-96, şekil-97 ve şekil-98'de verilmiştir.

Tablo-98: $c_{as}=8 \mu\text{g/ml}$ ve $c_k=3 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

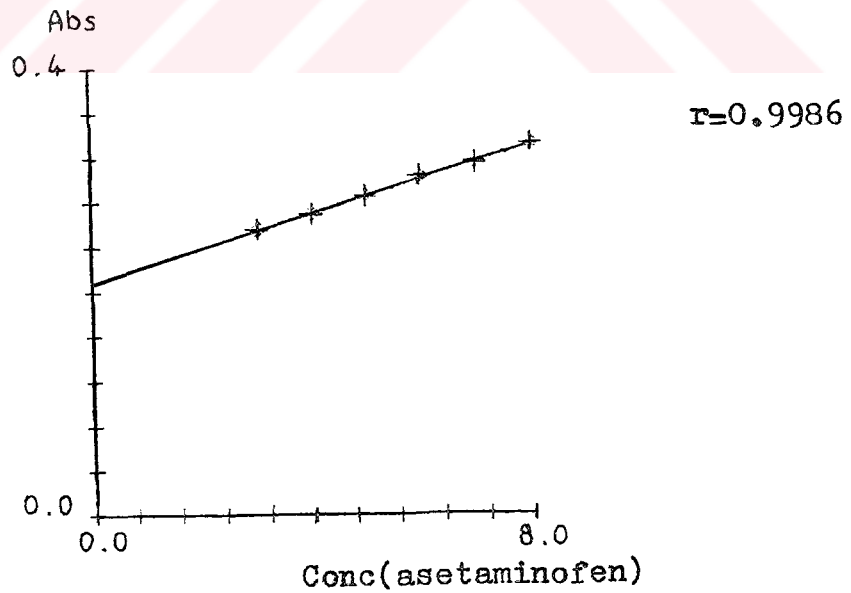
v_a (ml)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)	A_a	A_i	A_k
3	3	0.390	0.257	0.255
4	4	0.451	0.286	0.269
5	5	0.515	0.320	0.286
6	6	0.576	0.352	0.303
7	7	0.644	0.385	0.314
8	8	0.708	0.421	0.332



Şekil-96: 241.9 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-97: 260.5 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-98: 271.4 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.

3.9.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması

100 mg Aspirin, 75 mg asetaminofen ve 25 mg kafein tartılarak 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda yirmi dakika tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltideki asetaminofen konsantrasyonu 75 µg/ml, aspirin konsantrasyonu 100 µg/ml, kafein konsantrasyonu 25 µg/ml'dir.

Stok çözeltisinden 4 ml alınarak 0.1 N hidroklorik asitle 50 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltiden altı kez hazırlanarak absorbanstaları tayin edildi (tablo-99). Son çözeltideki asetaminofen konsantrasyonu 6 µg/ml, aspirin konsantrasyonu 8 µg/ml, kafein konsantrasyonu 2 µg/ml'dir.

Tablo-99: 100 mg Aspirin, 75 mg asetaminofen ve 25 mg kafein içeren sentetik karışımdan hazırlanan çözeltilerin absorbanst değerleri.

A_a	A_i	A_k
0.5710	0.3203	0.2433
0.5700	0.3203	0.2437
0.5710	0.3200	0.2410
0.5733	0.3220	0.2450
0.5687	0.3180	0.2403
0.5703	0.3217	0.2427

Bu değerlerin (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-100'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-100: 100 mg Aspirin, 75 mg asetaminofen ve 30 mg kafein içeren sentetik karışımlarda sonuçlar.

Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aset. (mg)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki kafein (mg)	Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aspirin (mg)
6.1959	77.44	2.0556	25.69	7.3394	91.74
6.1731	77.16	2.0658	25.82	7.3520	91.90
6.2022	77.53	2.0005	25.01	7.3736	92.17
6.2122	77.65	2.0770	25.96	7.3845	92.31
6.1923	77.40	2.0087	25.11	7.2780	90.97
6.1503	76.87	2.0219	25.27	7.4869	93.59
$\bar{x}_a = 77.34$ $S_a = 0.2825$		$\bar{x}_k = 25.48$ $S_k = 0.3980$		$\bar{x}_{as} = 92.11$ $S_{as} = 0.8619$	

%95 Güvenilirlik düzeyinde $t=2.57$

Asetaminofen için $\mu_a = 77.34 \pm 0.30$

Aspirin için $\mu_{as} = 92.11 \pm 0.90$

Kafein için $\mu_k = 25.48 \pm 0.42$

Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman %103.12 asetaminofen, %92.11 aspirin ve %101.92 kafein bulunur. Elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır (269).

3.9.5. Geliştirilen Yöntem ile Literatür Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

A.El-Shanawany ve arkadaşları asetaminofen-aspirin-kafein içeren tabletlerde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle kantitatif analiz gerçekleştirmişlerdir. İnternal standart olarak salisilamid, mobil faz olarak pH'sı 2.7'ye ayarlanmış metanol-su (3:7) karışımı kullanmışlardır. Bilinen çözeltilerle olan çalışmalarında (deney sayısı 6) asetaminofen %99.93 (S=0.799), kafein %100.92 (S=1.495), aspirin %100.25 (S=0.368) bulunmuştur(194). Bu yöntem "iki ortalamanın karşılaştırılması" ve "F testi"ne göre, geliştirdiğimiz yöntemle mukayese edildi. Literatür yönteminde her üç maddenin konsantrasyonu değiştirilebildiği halde, bizim yöntemi-mizde aspirin konsantrasyonu sabit tutulmuştur. Bu nedenle karşı-laştırmalar asetaminofen ve kafein için yapılmıştır.

"İki ortalamanın karşılaştırılması yöntemi"ne göre:

Asetaminofen için:

$N_a=6$	$S_a=0.799$	$\bar{x}_a=99.93$
$N_b=6$	$S_b=0.5356$	$\bar{x}_b=100.01$

(Literatür yöntemi "a" ile, geliştirdiğimiz yöntem "b" ile belirlendi.)

%95 Güvenilirlik düzeyi için $t=2.23$

Bölüm (2.7.3.)'de verilen (28) ve (29) nolu bağıntılar kullanılarak aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

$$S_p=0.6802, \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 0.8757, \quad \left| \bar{x}_a - \bar{x}_b \right| = 0.08$$

$0.08 < 0.8757$ olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında asetaminofen tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

Kafein için:

$$\begin{array}{llll} N_a=6 & S_a=1.495 & \bar{x}_a=100.92 & t=2.23 \\ N_b=6 & S_b=0.9441 & \bar{x}_b=99.99 & \end{array}$$

Bu değerler (28) ve (29) nolu bağıntılarda yerine konuldu.

$$S_p=1.2503 \quad , \quad t \cdot S_p \cdot \sqrt{\frac{1}{N_a} + \frac{1}{N_b}} = 1.6097 \quad , \quad |\bar{x}_a - \bar{x}_b| = 0.93$$

0.93 < 1.6097 olduğu için %95 olasılıkla iki yöntem arasında kafein tayini bakımından önemsenecek bir fark yoktur.

"F Testi"ne göre:

(30) Nolu formüle göre hesaplanan F değeri ile tablodan bulunan F_t değeri karşılaştırılarak, iki yöntemin duyarlılığı mukayese edildi (tablo-101).

Tablo-101:F Testi sonuçları.

	Asetaminofen	Kafein
$N_a=N_b$	6	6
S_a	0.799	1.495
S_b	0.5356	0.9441
F	2.2254	2.5075
F_t	5.05	5.05

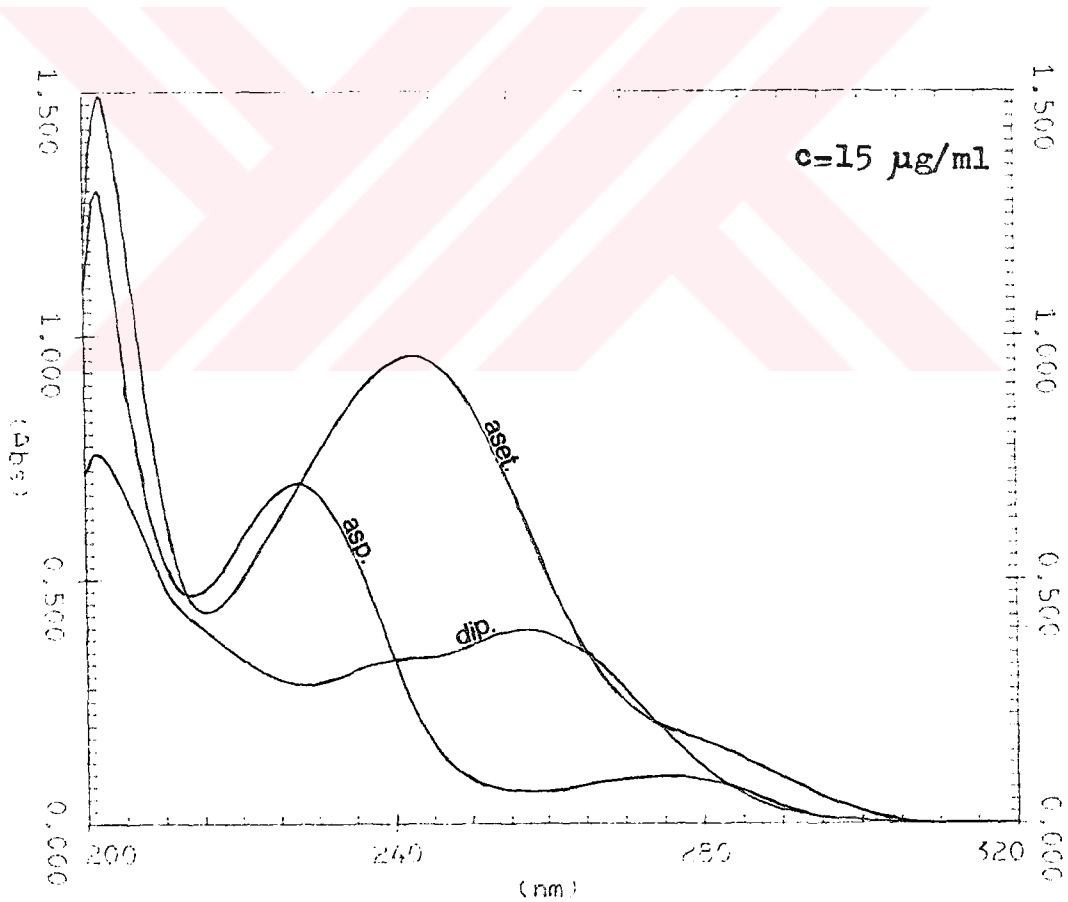
Her iki madde için $F < F_t$ olduğundan %95 olasılıkla iki yöntemin duyarlılığı arasında önemsenecek bir fark yoktur.

3.10. ASETAMİNOFEN-ASİRİN-DİPİRİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.10.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.10.1.1. Dalga Boyu Seçimi

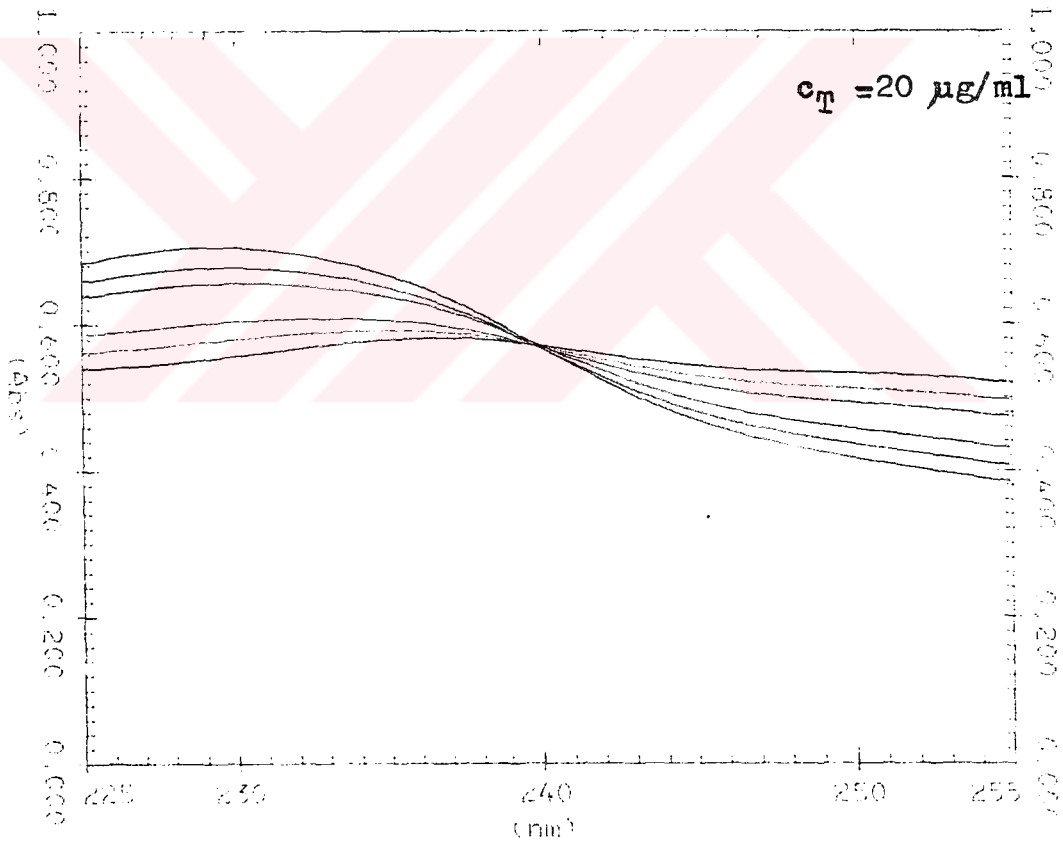
Esit konsantrasyonda hazırlanan ($c=15 \mu\text{g/ml}$) asetaminofen, aspirin ve dipiron çözeltilerinin 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumları üst üste çizdirildi (şekil-99).



Şekil-99: İsoabsorptif dalga boyu (0.1 N HCl'de).

İsoabsorptif dalga boyunun hassas olarak tayini için, çalışma sırasında hazırlanan ve toplam konsantrasyonu 20 µg/ml olan standart karışım çözeltilerinin spektrumları üst üste alındı. Bu şekilde isoabsorptif dalga boyu 240 nm olarak tespit edildi(şekil-100).

Maddelerin 0.1 N hidroklorik asitteki spektrumları önceki bölümlerde mevcut olduğu için bu bölümde tekrar verilmemiştir. Asetaminofenin maksimum absorpsiyonu 241.9 nm'de, aspirininki 227.3 nm'de, dipironunki ise 256.8 nm'de gerçekleşmektedir(şekil 41, şekil-62, şekil-63).



Şekil-100: İsoabsorptif dalga boyu (standart çözeltilerle, 0.1 N HCl'de).

3.10.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok asetaminofen çözeltilisi:

100 mg Asetaminofen 100 ml'lik balon jojede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 5 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok asetaminofen çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Stok aspirin çözeltilisi:

Stok asetaminofen çözeltilisiyle aynı şekilde hazırlandı, farklı olarak ikinci seyreltmede 10 ml alındı. Stok aspirin çözeltilisinin konsantrasyonu 100 µg/ml'dir.

Stok dipiron çözeltilisi:

100 mg Dipiron 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandıktan sonra stok asetaminofen çözeltilisi gibi hazırlandı. Stok dipiron çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltililerden 50 ml'lik balon jojelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerlerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-102 ve tablo-103'de görülmektedir.

Tablo-102: Stok asetaminofen, aspirin ve dipiron çözeltileri ile hazırlanan seyreltmeler(asetaminofen konsantrasyonu sabit).

No	v_{as} (ml)	v_d (ml)	v_a (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	c_a ($\mu\text{g/ml}$)
1	1.5	14	3	3	14	3
2	2.0	13	3	4	13	3
3	2.5	12	3	5	12	3
4	3.5	10	3	7	10	3
5	4.0	9	3	8	9	3
6	4.5	8	3	9	8	3

Tablo-103: 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanlar.

No	A_{as} (227.3 nm)	A_i (240 nm)	A_d (256.8 nm)
1	0.5367	0.5643	0.5030
2	0.5653	0.5640	0.4813
3	0.5930	0.5657	0.4593
4	0.6470	0.5663	0.4157
5	0.6713	0.5633	0.3923
6	0.7013	0.5663	0.3720

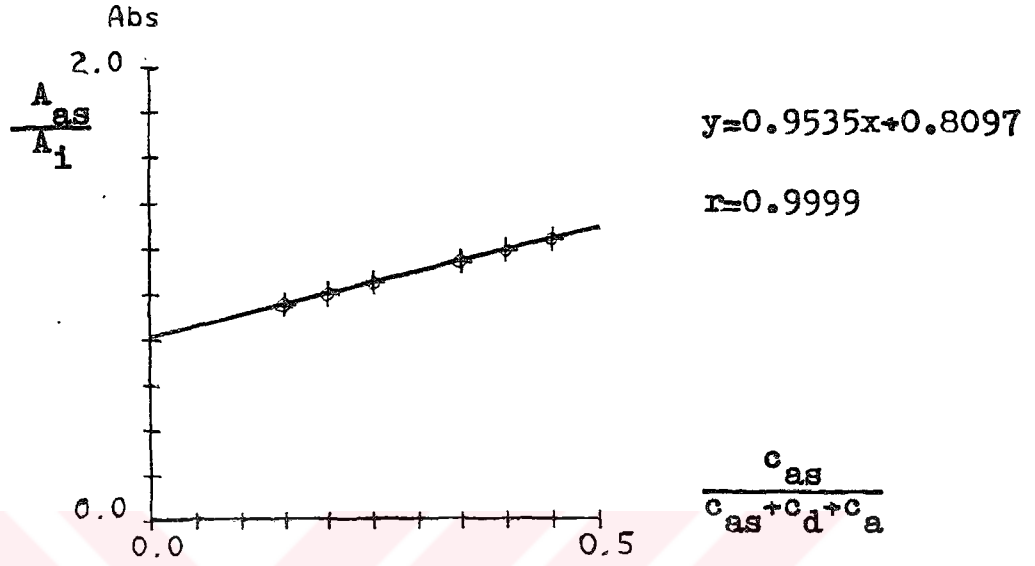
3.10.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorbands oranları yöntemine göre grafiğe geçirildi. Grafik değerleri tablo-104'de görülmektedir.

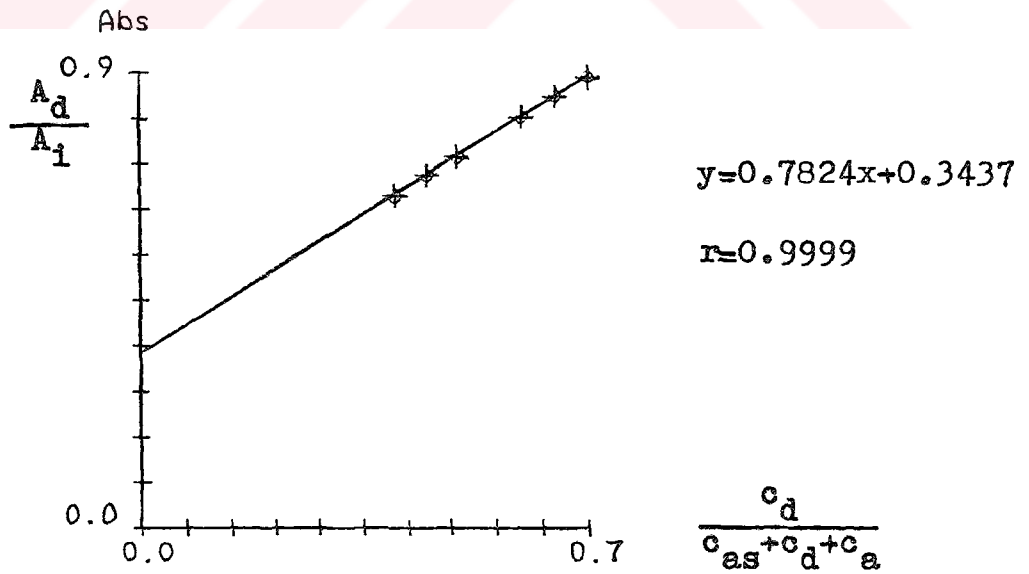
Şekil-101'de aspirinin, şekil-102'de ise dipironun relatif konsantrasyonları absise, absorbands oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir. Grafiklerdeki doğru denklemleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır.

Tablo-104: Elde edilen absorbands değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_{as}}{c_{as}+c_d+c_a}$	$\frac{A_{as}}{A_i}$	$\frac{c_d}{c_{as}+c_d+c_a}$	$\frac{A_d}{A_i}$	$\frac{c_a}{c_{as}+c_d+c_a}$
1	0.15	0.9511	0.70	0.8914	0.15
2	0.20	1.0023	0.65	0.8534	0.15
3	0.25	1.0483	0.60	0.8119	0.15
4	0.35	1.1425	0.50	0.7341	0.15
5	0.40	1.1917	0.45	0.6964	0.15
6	0.45	1.2384	0.40	0.6569	0.15



Şekil-101: A_{as}/A_i Değerlerine karşı aspirinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-102: A_d/A_i Değerlerine karşı dipironun relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.10.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_1/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-105'de verildi ($c_T=20 \mu\text{g/ml}$, sabit).

Tablo-105: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	1	2	3	4	5	6
a	28.215	28.200	28.285	28.315	28.165	28.315
\bar{a}	28.249					

Önceki bölümlerde verilen (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-106 ve tablo-107'de verilmiştir.

Tablo-106: Aspirin ve asetaminofen için sonuçlar.

(hazırlanan $c_a=3 \mu\text{g/ml}$, sabit)

Hazırlanan $c_{as}(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_{as}(\mu\text{g/ml})$	% Asp.	Bulunan $c_a(\mu\text{g/ml})$	% Aset.
3	2.9623	98.74	3.0299	100.99
4	4.0328	100.82	2.9260	97.53
5	5.0111	100.22	3.0309	101.03
7	6.9969	99.95	3.0469	101.56
8	7.9887	99.86	2.9628	98.76
9	9.0131	100.14	3.0088	100.29
		$\bar{x}_{as}= 99.95$ $S_{as}=0.6838$		$\bar{x}_a=100.02$ $S_a=1.5632$

Tablo-107: Dipiron için sonuçlar.

Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
14	13.9837	99.88
13	13.0065	100.05
12	11.9835	99.86
10	10.0029	100.02
9	8.9890	99.87
8	8.0248	100.31
		$\bar{x}_d=100.00$
		$S_d=0.1731$

%95 Güvenilirlik düzeyinde $t=2.57$

Aspirin için $\mu_{as}=99.95\pm 0.72$

Dipiron için $\mu_d=100.00\pm 0.18$

Asetaminofen için $\mu_a=100.02\pm 1.64$

Görüldüğü gibi bu yöntem %15-45 oranında aspirin, %40-70 oranında dipiron ve %15 asetaminofen içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyonu aspirin için 3-9 $\mu\text{g/ml}$, dipiron için 8-14 $\mu\text{g/ml}$, asetaminofen için 3 $\mu\text{g/ml}$ (sabit)'dir.

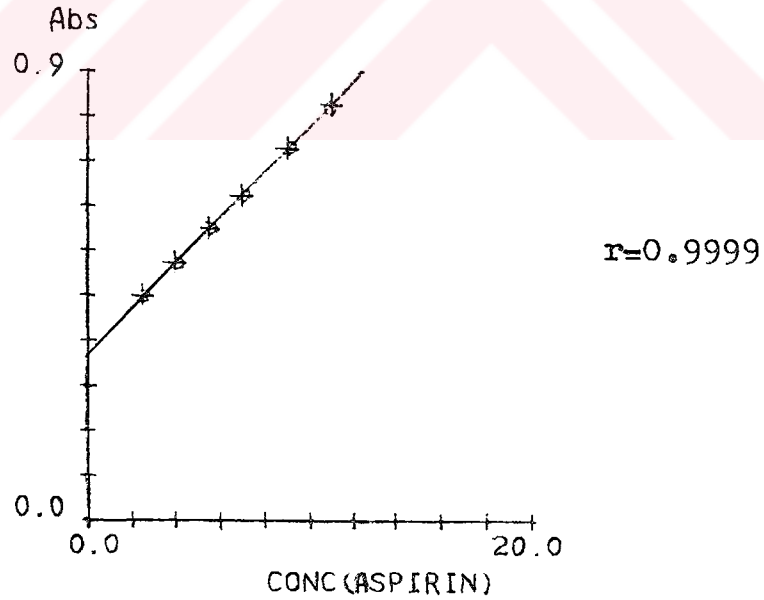
Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_{as}=5 \mu\text{g/ml}$, $c_d=12 \mu\text{g/ml}$, $c_a=3 \mu\text{g/ml}$ olan 3 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbansları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-108).

Tablo-108: 5 µg/ml aspirin, 12 µg/ml dipiron ve 3 µg/ml asetaminofen içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

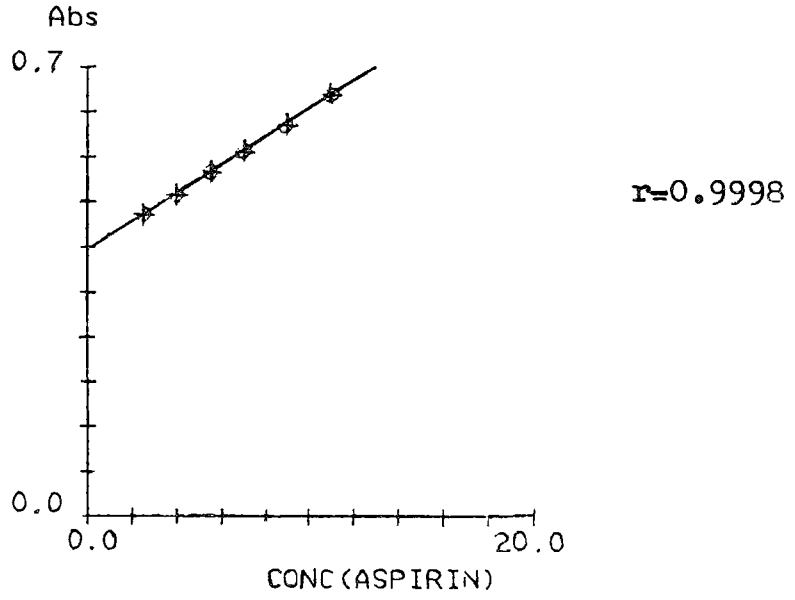
A_{as}	A_i	A_d
0.593	0.564	0.459
0.594	0.567	0.460
0.592	0.566	0.459
0.593	0.560	0.455
0.590	0.562	0.467
0.595	0.569	0.458
0.598	0.569	0.462
0.590	0.562	0.462
0.592	0.565	0.456
0.593	0.573	0.455
$\bar{A}_{as}=0.5930$	$\bar{A}_i=0.5657$	$\bar{A}_d=0.4593$

Tablo-109: $c_a=3 \mu\text{g/ml}$ ve $c_d=10 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

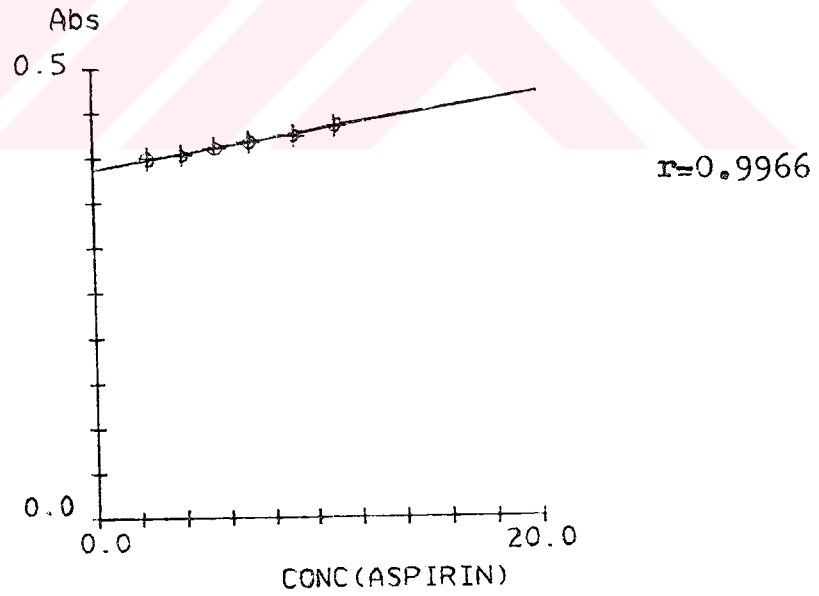
V_{as} (ml)	C_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
2.5	2.5	0.447	0.471	0.399
4.0	4.0	0.513	0.503	0.403
5.5	5.5	0.582	0.537	0.410
7.0	7.0	0.649	0.569	0.417
9.0	9.0	0.743	0.610	0.424
11.0	11.0	0.832	0.658	0.435



Şekil-103: 227.3 nm'de c_a ve c_d sabit iken grafik.



Şekil-104: 240 nm'de c_a ve c_d sabit iken grafik.

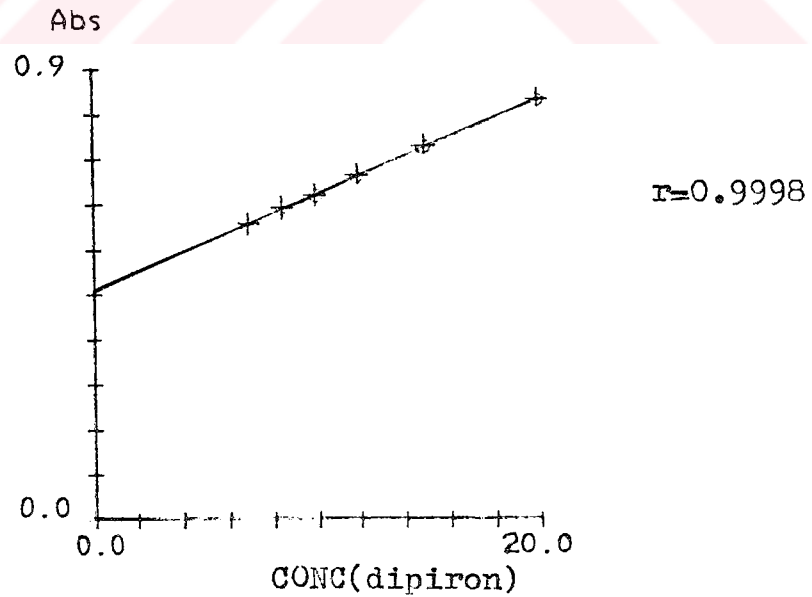


Şekil-105: 256.8 nm'de c_a ve c_d sabit iken grafik.

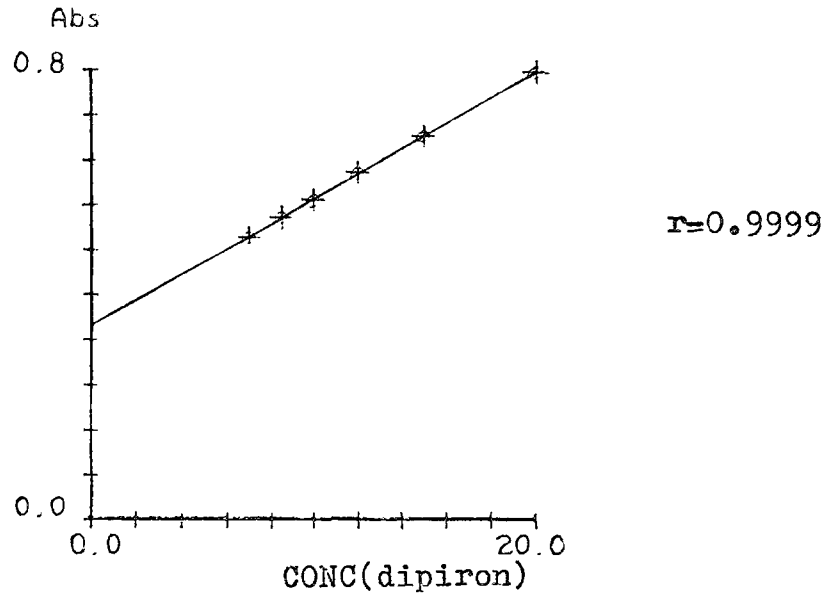
Aspirin konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-110'da, buna göre çizilen grafikler ise şekil-106, şekil-107 ve şekil-108'de verilmiştir.

Tablo-110: $c_a=3 \mu\text{g/ml}$ ve $c_{as}=7 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

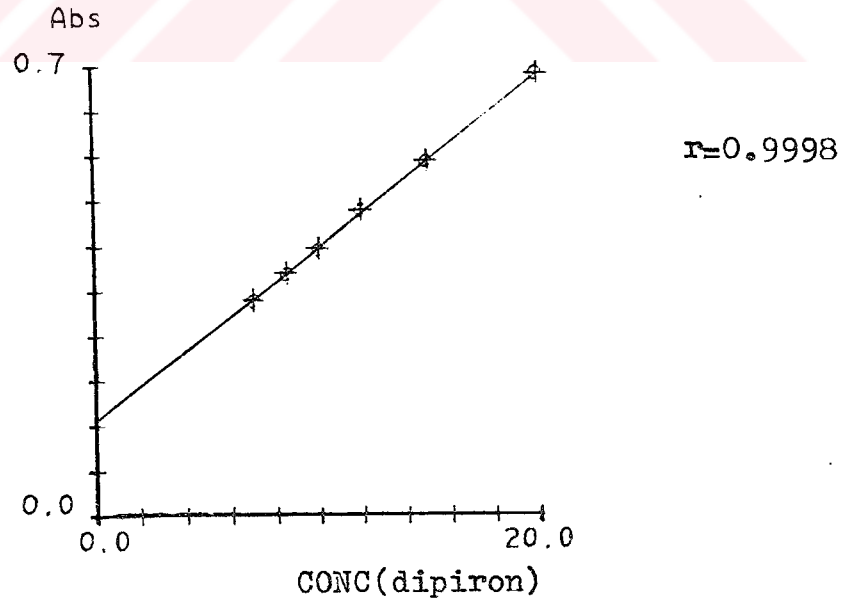
v_d (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
7.0	7.0	0.592	0.503	0.337
8.5	8.5	0.625	0.538	0.379
10.0	10.0	0.649	0.569	0.417
12.0	12.0	0.687	0.618	0.477
15.0	15.0	0.747	0.633	0.552
20.0	20.0	0.840	0.797	0.637



Şekil-106: 227.3 nm'de c_a ve c_{as} sabit iken grafik.



Şekil-107: 240 nm'de c_a ve c_{as} sabit iken grafik.



Şekil-108: 256.8 nm'de c_a ve c_{as} sabit iken grafik.

3.10.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması

70 mg Aspirin, 100 mg dipiron ve 30 mg asetaminofen tartılarak 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda yirmi dakika tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltideki aspirin konsantrasyonu 70 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 100 µg/ml, asetaminofen konsantrasyonu 30 µg/ml'dir.

Stok çözeltisinden 5 ml alınarak 0.1 N hidroklorik asitle 50 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltiden altı kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi (tablo-111). Son çözeltideki aspirin konsantrasyonu 7 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 10 µg/ml, asetaminofen konsantrasyonu 3 µg/ml'dir.

Tablo-111: 70 mg Aspirin, 100 mg dipiron ve 30 mg asetaminofen içeren sentetik karışımdan hazırlanan çözeltilerin absorban değerleri.

A_{as}	A_i	A_d
0.6637	0.5790	0.4243
0.6660	0.5803	0.4250
0.6707	0.5820	0.4257
0.6693	0.5820	0.4267
0.6700	0.5813	0.4240
0.6720	0.5837	0.4280

Bu değerlerin (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-112'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-112: 70 mg Aspirin, 100 mg dipiron ve 30 mg asetaminofen içeren sentetik karışımlarda sonuçlar.

Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aspirin (mg)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki dipiron (mg)	Bulunan c_a ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aset. (mg)
7.2352	72.35	10.1935	101.93	3.0676	30.68
7.2815	72.81	10.2050	102.05	3.0558	30.56
7.4049	74.05	10.2102	102.10	2.9874	29.87
7.3529	73.53	10.2555	102.55	2.9941	29.94
7.4000	74.00	10.1442	101.44	3.0335	30.33
7.4021	74.02	10.2878	102.87	2.9728	29.73
$\bar{x}_{as} = 73.46$ $S_{as} = 0.7229$		$\bar{x}_d = 102.16$ $S_d = 0.4986$		$\bar{x}_a = 30.18$ $S_a = 0.3932$	

%95 Güvenilirlik düzeyinde $t=2.57$

Aspirin için $\mu_{as} = 73.46 \pm 0.76$

Dipiron için $\mu_d = 102.16 \pm 0.52$

Asetaminofen için $\mu_a = 30.18 \pm 0.41$

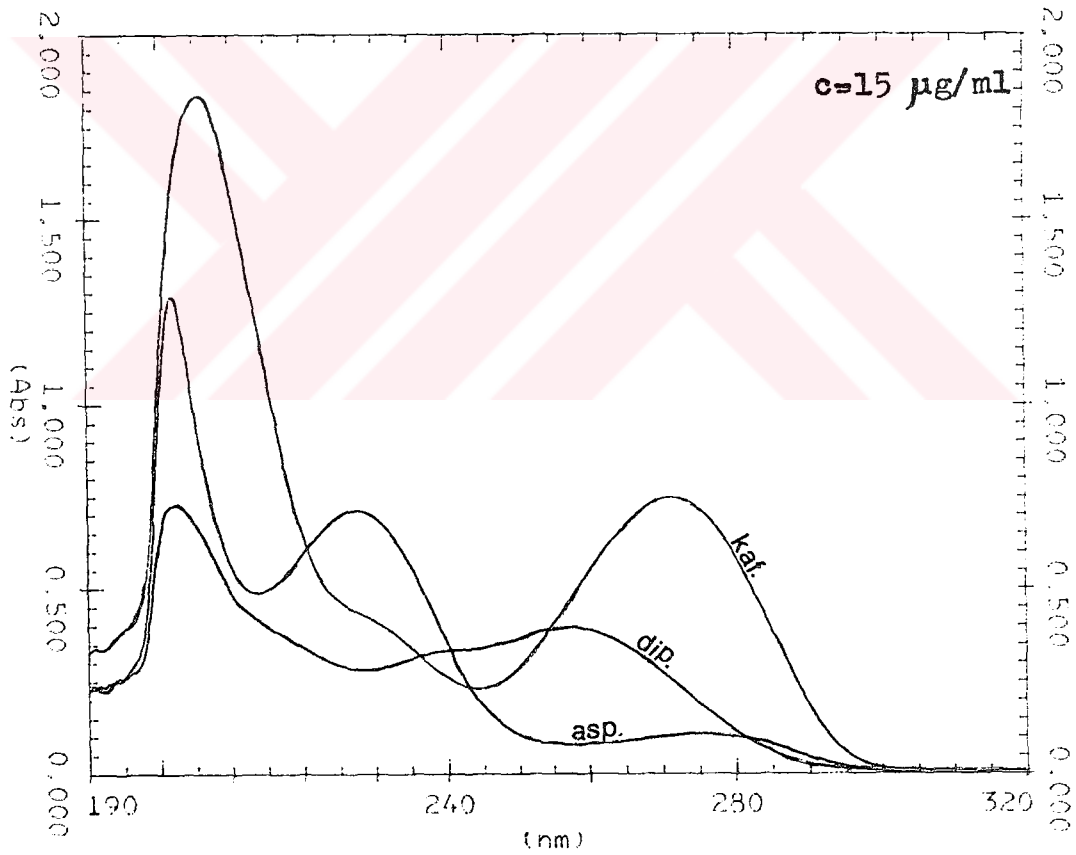
Bu sonuçları yüzdeye çevirdiğimiz zaman %104.94 aspirin, %102.16 dipiron ve %100.60 asetaminofen bulunur. Elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır (269).

3.11. ASPIRİN-DİPİRON-KAFEİN KARIŞIMININ ABSORBANS ORANI
YÖNTEMİ İLE MİKTAR TAYİNİ

3.11.1. DENEY KOŞULLARININ SAPTANMASI

3.11.1.1. Dalga Boyu Seçimi

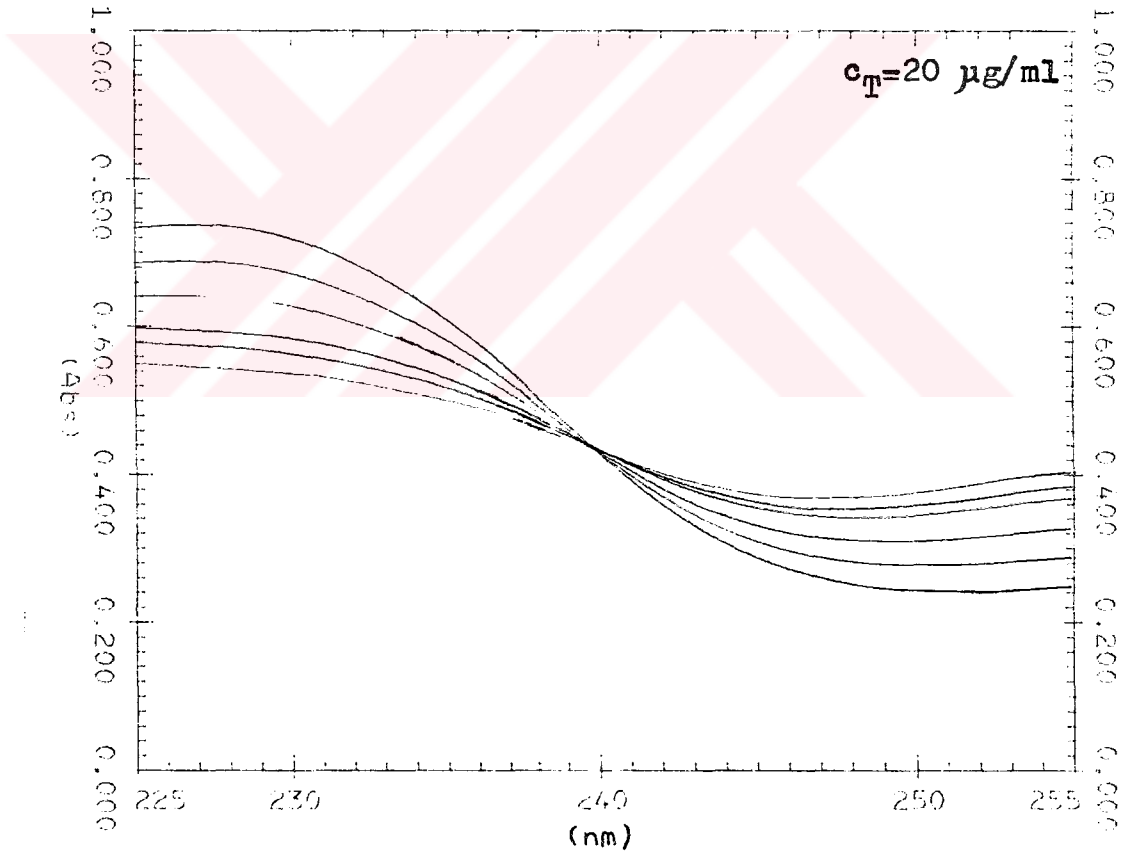
Eşit konsantrasyonda hazırlanan ($c=15 \mu\text{g/ml}$) aspirin, dipiron ve kafein çözeltilerinin 0.1 N hidroklorik asit içinde alınan spektrumları üst üste çizdirildi (şekil-109).



Şekil-109: İsoabsorptif dalga boyu (0.1 N HCl'de).

İsoabsorptif dalga boyunun hassas olarak tayini için, çalışma sırasında hazırlanan ve toplam konsantrasyonu 20 µg/ml olan standart karışıģözeltilerinin spektrumları üst üste alındı. Bu şekilde isoabsorptif dalga boyu 240 nm olarak tespit edildi(şekil-110).

Maddelerin 0.1 N hidroklorik asitteki spektrumları önceki bölümlerde mevcut olduğu için bu bölümde tekrar verilmemiştir. Aspirinin maksimum absorpsiyonu 227.3 nm'de, dipironunki 256.8 nm'de, kafeininki ise 271.4 nm'de gerçekleşmektedir(şekil-40, şekil-41 ve şekil-62).



Şekil-110: İsoabsorptif dalga boyu (standart çözeltilerle, 0.1 N HCl'de).

3.11.1.2. Konsantrasyon Tayini

Stok aspirin çözeltilisi

100 mg Aspirin 100 ml'lik balon jøjede %95'lik etanolle hacmine tamamlandı. Beş dakika ultrasonik banyoda tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiliden alınan 5 ml, 100 ml'lik balon jøjede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Bu şekilde hazırlanan stok aspirin çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Stok dipiron çözeltilisi:

100 mg Dipiron 100 ml'lik balon jøjede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandıktan sonra yukarıdaki şekilde hazırlandı. Stok dipiron çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Stok kafein çözeltilisi:

Stok dipiron çözeltilisiyle aynı şekilde hazırlandı. Stok kafein çözeltilisinin konsantrasyonu 50 µg/ml'dir.

Yukarıdaki şekilde hazırlanan stok çözeltililerden 50 ml'lik balon jøjelerde 0.1 N hidroklorik asitle bir seri seyreltme yaparak standart çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanları tespit edildi. Çalışmalar üç kez tekrarlanarak, üç değerin ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar tablo-113 ve tablo-114'de görülmektedir.

Tablo-113: Stok aspirin, dipiron ve kafein çözeltileriyle hazırlanan seyreltmeler (kafein konsantrasyonu sabit).

No	v_{as} (ml)	v_d (ml)	v_k (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	c_k ($\mu\text{g/ml}$)
1	5.4	12.6	2	5.4	12.6	2
2	6.4	11.6	2	6.4	11.6	2
3	7.2	10.8	2	7.2	10.8	2
4	9.0	9.0	2	9.0	9.0	2
5	10.8	7.2	2	10.8	7.2	2
6	12.6	5.4	2	12.6	5.4	2

Tablo-114: 227.3, 240 ve 256.8 nm'lerdeki absorbanlar.

No	A_{as} (227.3 nm)	A_i (240 nm)	A_d (256.8 nm)
1	0.5433	0.4473	0.4190
2	0.5700	0.4470	0.3970
3	0.5900	0.4450	0.3760
4	0.6433	0.4473	0.3390
5	0.6913	0.4473	0.2983
6	0.7403	0.4467	0.2573

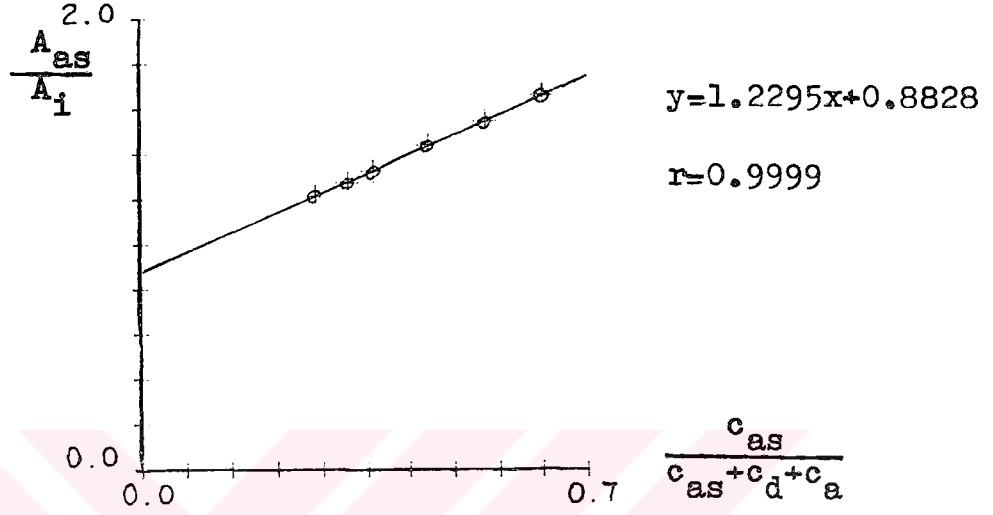
3.11.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Elde edilen sonuçlar absorptans oranı yöntemine göre grafiğe geçirildi. Grafik değerleri tablo-115'de görülmektedir.

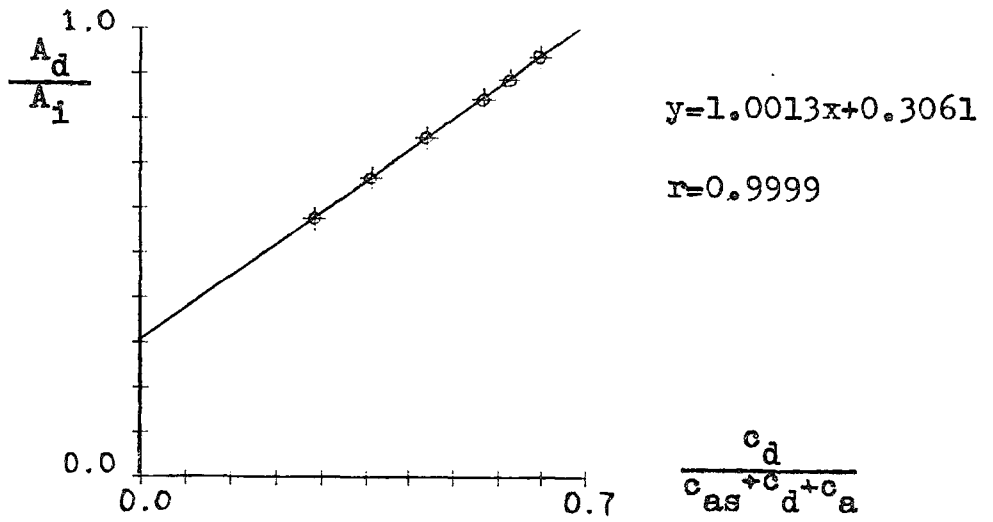
Şekil-111'de aspirinin, şekil-112'de ise dipironun relatif konsantrasyonları absise, absorptans oranları ordinata yerleştirilerek hazırlanan grafikler görülmektedir. Grafiklerdeki doğru denklemleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır.

Tablo-115: Elde edilen absorptans değerleri ile yapılan hesaplamalar.

No	$\frac{c_{as}}{c_{as}+c_d+c_k}$	$\frac{A_{as}}{A_i}$	$\frac{c_d}{c_{as}+c_d+c_a}$	$\frac{A_d}{A_i}$	$\frac{c_k}{c_{as}+c_d+c_a}$
1	0.27	1.2146	0.63	0.9367	0.10
2	0.32	1.2752	0.58	0.8881	0.10
3	0.36	1.3258	0.54	0.8449	0.10
4	0.45	1.4382	0.45	0.7579	0.10
5	0.54	1.5455	0.36	0.6669	0.10
6	0.63	1.6573	0.27	0.5760	0.10



Şekil-111: A_{as}/A_i Değerlerine karşı aspirinin relatif konsantrasyonlarının grafiği.



Şekil-112: A_d/A_i Değerlerine karşı dipironun relatif konsantrasyonlarının grafiği.

3.11.3. Standart Çözeltilerin Kontrolü

Yöntemin uygulanması için gerekli olan isoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayıları $a=(A_i/c_T).1000$ formülüne göre hesaplandı ve tablo-116'da verildi ($c_T=20 \mu\text{g/ml}$, sabit).

Tablo-116: İsoabsorptif dalga boyundaki absorptivite katsayısı.

No	1	2	3	4	5	6
a	22.365	22.350	22.250	22.365	22.365	22.335
\bar{a}	22.338					

Önceki bölümlerde verilen (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde ilgili parametreler yerine konarak yapılan hesaplamaların sonuçları tablo-117 ve tablo-118'de verilmiştir.

Tablo-117: Aspirin ve kafein için sonuçlar.

(hazırlanan $c_k=2 \mu\text{g/ml}$, sabit)

Hazırlanan $c_{as}(\mu\text{g/ml})$	Bulunan $c_{as}(\mu\text{g/ml})$	% Asp.	Bulunan $c_k(\mu\text{g/ml})$	% Kaf.
5.4	5.4038	100.07	2.0095	100.48
6.4	6.3865	99.79	1.9931	99.66
7.2	7.1778	99.69	2.0238	101.19
9.0	9.0455	100.50	1.9435	97.17
10.8	10.7930	99.93	2.0158	100.79
12.6	12.5969	99.97	2.0102	100.51
		$\bar{x}_{as}= 99.99$ $S_{as}=0.2830$		$\bar{x}_k= 99.97$ $S_k=1.4593$

Tablo-118: Dipiron için sonuçlar.

Hazırlanan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	% Dipiron
12.6	12.6108	100.08
11.6	11.6311	100.26
10.8	10.7196	99.25
9.0	9.0352	100.39
7.2	7.2153	100.21
5.4	5.3902	99.82
		$\bar{x}_d=100.00$ $S_d=0.4159$

%95 Güvenilirlik düzeyinde $t=2.57$

Aspirin için $\mu_{as}=99.99\pm 0.29$

Dipiron için $\mu_d=100.00\pm 0.44$

Kafein için $\mu_k=99.97\pm 1.53$

Görüldüğü gibi bu yöntem %27-63 oranında aspirin, %27-63 oranında dipiron ve %10 kafein içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Çalışma konsantrasyonu aspirin için 5.4-12.6 $\mu\text{g/ml}$, dipiron için 5.4-12.6 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 2 $\mu\text{g/ml}$ (sabit)'dir.

Yapılan ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyondaki çözeltiden ($c_{as}=5.4 \mu\text{g/ml}$, $c_d=12.6 \mu\text{g/ml}$, $c_k=2 \mu\text{g/ml}$ olan 1 nolu seyreltme) on kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi ve (26) nolu formüle göre standart sapması hesaplandı (tablo-119).

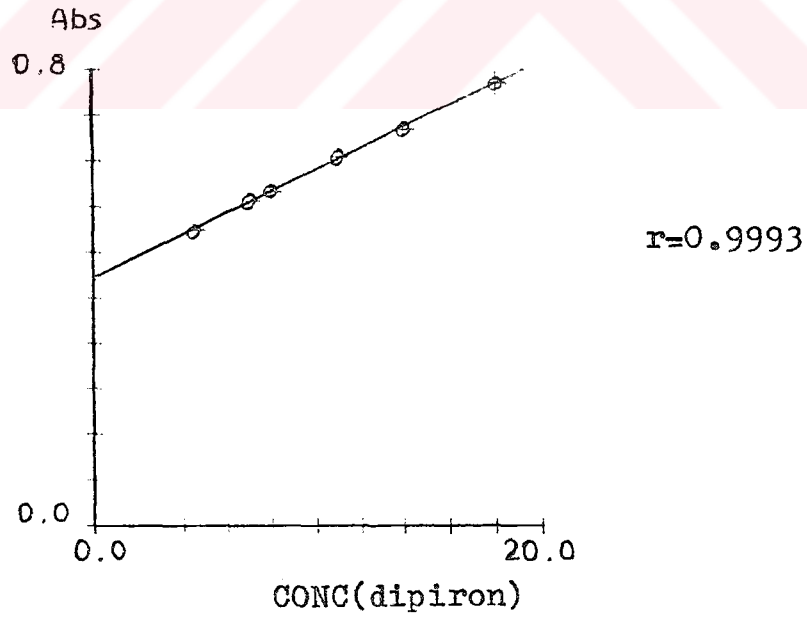
Tablo-119: 5.4 µg/ml Aspirin, 12.6 µg/ml dipiron ve 2 µg/ml kafein içeren karışımın absorbansının on kez tayini.

A_{as}	A_i	A_d
0.543	0.450	0.422
0.547	0.444	0.417
0.538	0.448	0.420
0.545	0.443	0.415
0.550	0.450	0.422
0.539	0.448	0.421
0.547	0.449	0.410
0.545	0.444	0.421
0.540	0.449	0.420
0.539	0.448	0.422
$\bar{A}_{as}=0.5433$ $S=0.0041$	$\bar{A}_i=0.4473$ $S=0.0026$	$\bar{A}_d=0.4190$ $S=0.0039$

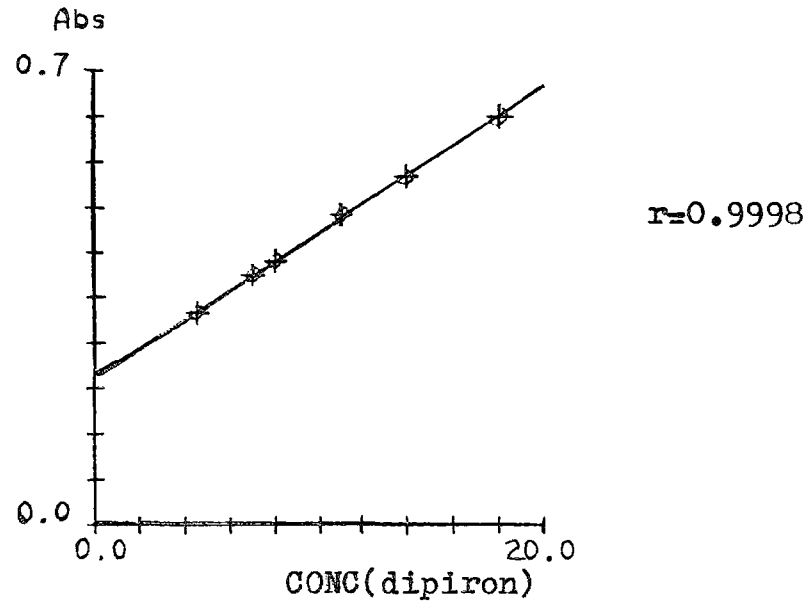
Yöntemin Beer Kanununa uygunluğu, karışımdaki aspirin ve dipiron miktarları sırayla sabit tutularak absorbans ve konsantrasyon arasında çizilen grafiğin lineer olmasıyla kanıtlandı. Bunun için stok çözeltilerle bir seri seyreltme yaparak çalışıldı. Aspirin konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-120'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-113, şekil-114 ve şekil-115'de verilmiştir.

Tablo-120: $c_{as}=8 \mu\text{g/ml}$ ve $c_k=2 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

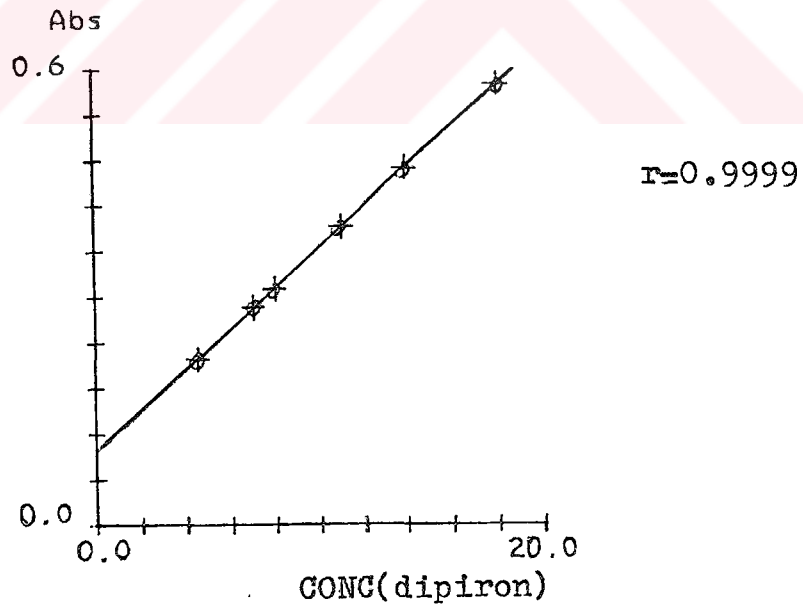
v_d (ml)	c_d ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
4.5	4.5	0.519	0.327	0.219
7.0	7.0	0.570	0.386	0.288
8.0	8.0	0.586	0.408	0.312
11.0	11.0	0.648	0.479	0.393
14.0	14.0	0.695	0.540	0.470
18.0	18.0	0.777	0.630	0.580



Şekil-113: 227.3 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-114: 240 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.

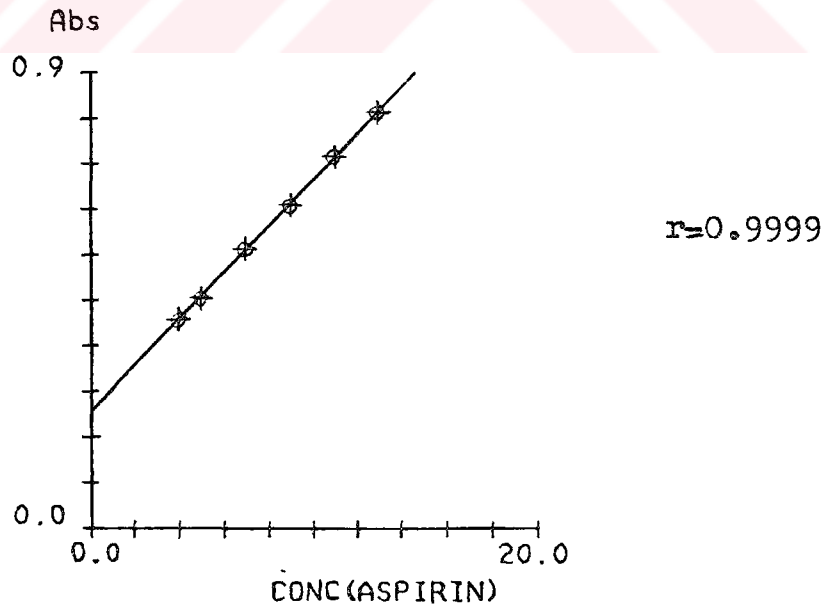


Şekil-115: 256.8 nm'de c_{as} ve c_k sabit iken grafik.

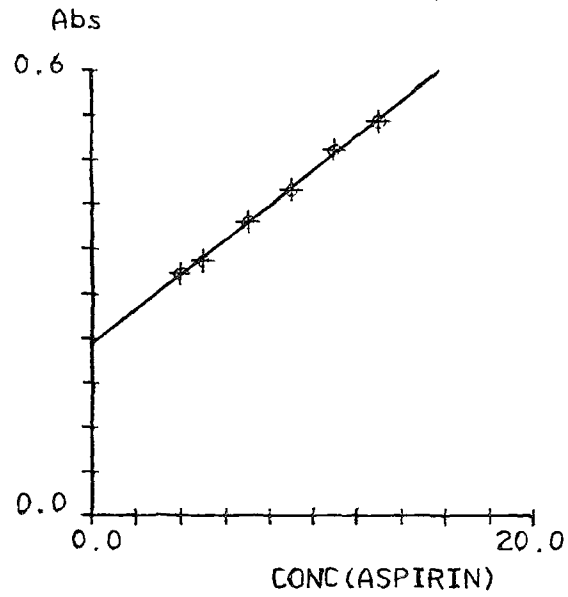
Dipiron konsantrasyonunun sabit tutulduğu seyreltmeler ve ölçüm sonuçları tablo-121'de, buna göre çizilen grafikler ise şekil-116, şekil-117 ve şekil-118'de verilmiştir.

Tablo-121: $c_d=9 \mu\text{g/ml}$ ve $c_k=2 \mu\text{g/ml}$ (sabit) iken sonuçlar.

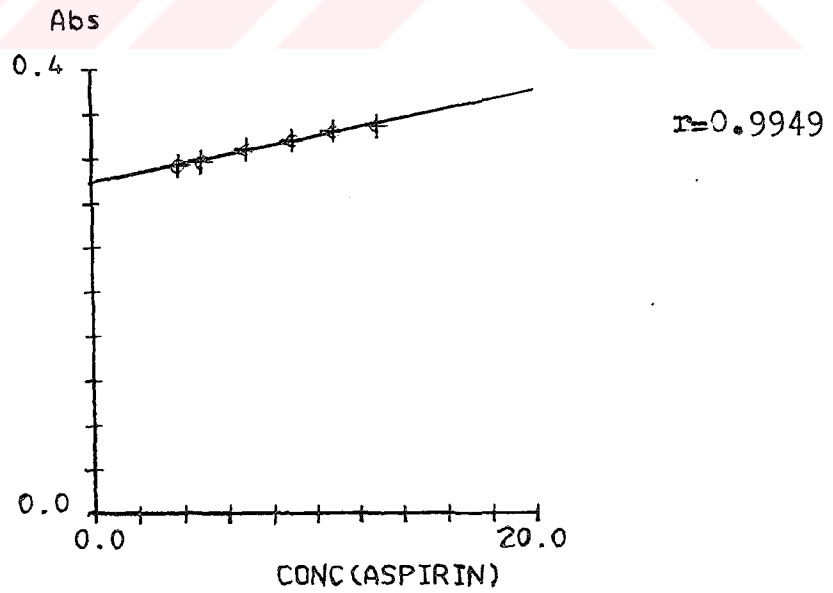
v_{as} (ml)	c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	A_{as}	A_i	A_d
4	4	0.412	0.327	0.314
5	5	0.454	0.344	0.318
7	7	0.552	0.396	0.329
9	9	0.640	0.440	0.336
11	11	0.735	0.493	0.345
13	13	0.821	0.532	0.350



Şekil-116: 227.3 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-117: 240 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.



Şekil-118: 256.8 nm'de c_d ve c_k sabit iken grafik.

3.11.4. Yöntemin Sentetik Karışımlara Uygulanması

90 mg Aspirin, 90 mg dipiron ve 20 mg kafein tartılarak 100 ml'lik balon jojede etanolle hacmine tamamlandı. Ultrasonik banyoda yirmi dakika tutularak tam bir çözünme sağlandı. Bu çözeltiden alınan 10 ml, 100 ml'lik balon jojede 0.1 N hidroklorik asitle hacmine tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltideki aspirin konsantrasyonu 90 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 90 µg/ml, kafein konsantrasyonu 20 µg/ml'dir.

Stok çözeltisinden 5 ml alınarak 0.1 N hidroklorik asitle 50 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltiden altı kez hazırlanarak absorbanları tayin edildi (tablo-122). Son çözeltideki aspirin konsantrasyonu 9 µg/ml, dipiron konsantrasyonu 9 µg/ml, kafein konsantrasyonu 2 µg/ml'dir.

Tablo-122: 90 mg Aspirin, 90 mg dipiron ve 20 mg kafein içeren sentetik karışımdan hazırlanan çözeltilerin absorban değerleri.

A_{as}	A_i	A_d
0.6550	0.4500	0.3360
0.6620	0.4560	0.3433
0.6607	0.4533	0.3390
0.6620	0.4547	0.3413
0.6563	0.4503	0.3367
0.6617	0.4543	0.3400

Bu değerlerin (12), (22), (26), (27) nolu formüllerde yerine konmasıyla tablo-123'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo-123: 90 mg Aspirin, 90 mg dipiron ve 20 mg kafein içeren sentetik karışımlarda sonuçlar.

Bulunan c_{as} ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki aspirin (mg)	Bulunan c_d ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki dipiron (mg)	Bulunan c_k ($\mu\text{g/ml}$)	Karışım- daki kafein (mg)
9.3844	93.84	8.8637	88.64	1.8969	18.97
9.4464	94.46	9.1079	91.08	1.8593	18.59
9.4859	94.86	8.9527	89.53	1.8542	18.54
9.4882	94.88	9.0363	90.36	1.8309	18.31
9.4221	94.22	8.8909	89.91	1.8455	18.45
9.4902	94.90	8.9837	89.84	1.8636	18.64
$\bar{x} = 94.53$		$\bar{x} = 90.90$		$\bar{x} = 18.50$	

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

İkili veya üçlü karışımlarda yanyana kantitatif analiz için çeşitli tekniklerle spektroskopik tayinlerin geliştirildiği çalışmalar 1960'lı yıllarda başlamasına rağmen yakın zamana kadar spektrofotometrik yöntemle yapılan çalışmalarda karışımın komponentleri ya ekstraksiyon ve kromatografi gibi yöntemlerle ayrıldıktan sonra ultraviole spektrofotometresinde okunarak, ya da çeşitli reaktiflerle renklendirdikten sonra kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.

Analjezik ilaç karışımlarının miktar tayinleri en fazla kromatografik yöntemlerle, özellikle de yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle yapılmıştır. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi hassas bir yöntem olmakla beraber kolon, pompa, süzme kitleri ve pahalı solventler gerektirir. O nedenle son yıllarda çeşitli ilaç karışımlarının yanyana kantitatif analizi için ultraviole spektroskopisiyle yapılan çalışmaların sayısında artma görülmektedir. Cihazda çeşitli modifikasyonların yapıldığı veya spektroskopik kanunlardan yeni bağıntıların türetildiği bu araştırmalarda oldukça iyi geri kazanım değerlerine ulaşılmıştır.

İşte bu çalışmada da ülkemizde kullanılmakta olan, ikili veya üçlü madde karışımı içeren analjezik tabletler için ultraviole spektrometrisinden yararlanarak, absorban oranları tekniği ile kantitatif tayin yapılması amaçlanmıştır. Geliştirilen yöntem tabletlere uygulandığı zaman iyi bir geri kazanım sağlanmıştır. Ayrıca yöntemimiz değişik oranlarda analjezik maddeler içeren bazı sentetik karışımlara da uygulanabilmektedir.

Çalışmada kullanılacak solvent seçiminde solventin maddeyle etkileşmemesinden sonra dikkate alınan en önemli özellik ucuz, kolay bulunur ve nontoksik olmasıdır.

Aspirin-Kafein Karışımı:

Aspirin-kafein karışımı için solvent olarak %95'lik etanol tercih edilmiştir. Karışımda kafein yüzdesi %50-6.98, aspirin yüzdesi %93.02-50 tutulmuştur. Çünkü bu değerlerden itibaren kafein yüzdesi artarken, aspirin yüzdesinin azaldığı konsantrasyonlarla yapılan ölçümler sonucunda, daha farklı eğim ve kayım değerine sahip olan ikinci bir doğru elde edilmiştir.

Analjezik etkili farmasötik preparatlardaki kafein yüzdesinin düşük tutulduğu göz önüne alınarak çalışmalar her iki madde için belirlenen yüzde aralıkları içinde gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen iki isoabsorptif dalga boyunda (220.4 ve 241.4 nm) ve kafeinin maksimum absorptans gösterdiği dalga boyunda çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-124'de görülmektedir.

Tablo-124: İki isoabsorptif dalga boyunda sonuçlar.

	220.4 nm	241.4 nm
S_{kafein}	1.0368	2.3351
μ_{kafein} (%95)	100.12 \pm 0.80	99.93 \pm 1.80
S_{aspirin}	0.5773	2.1876
μ_{aspirin} (%95)	100.00 \pm 0.44	100.00 \pm 1.68

Görüldüğü gibi 241.4 nm'nin kullanıldığı çalışmada standart sapma değerleri daha yüksektir. İki dalga boyundaki standart sapma değerlerinin mukayesesi için F testi uygulandığında elde edilen sonuçlar tablo-125'de görülmektedir.

Tablo-125: F Testi sonuçları ($N_1=N_2=9$).

	S_1	S_2	F	F_t
Kafein	1.0368	2.3351	5.0725	3.44
Aspirin	0.5773	2.1876	14.3593	3.44

Her iki madde için $F > F_t$ olduğundan, iki isoabsorptif noktanın kullanımı bakımından %95 olasılıkla önemsenecek bir fark vardır.

Sonuç olarak, eğer spektrofotometremiz 220.4 nm'de yeterince hassas bir okuma yapabiliyorsa, çalışmaların bu isoabsorptif dalga boyu kullanılarak yapılması tercih edilmelidir.

Yöntemin literatür yöntemiyle (116) karşılaştırılmasıyla ortalamalar arasında önemli bir fark olmadığı, fakat aspirin tayininde duyarlılıklar arasında önemsenecek bir fark olduğu ve özellikle 220.4 nm'nin kullanıldığı yöntemimizin oldukça hassas olduğu görülmüştür.

Tabletlerde yapılan analizin, literatür yönteminde birinci türev ultraviyole spektrofotometrisi ile yapılan analiz ile (170) mukayese edilmesiyle de paralel sonuçlar alınmış, 220.4 nm'nin kullanıldığı ölçümlerde duyarlı bir tayin yapıldığı ve literatür yöntemiyle %95 olasılıkla önemli bir fark göstermediği belirlenmiştir.

Ayrıca tablet yapımında kullanılan diğer maddelerin yöntemi etkilemediği görülmüştür.

Asetaminofen-Kafein Karışımı:

Asetaminofen-kafein karışımı için solvent olarak distile su tercih edilmiştir. Tespit edilen iki isoabsorptif dalga boyu (221.2 ve 259.7 nm) ile maddelerin maksimum absorbans gösterdikleri dalga boylarında çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-126'da görülmektedir.

Tablo-126: İki isoabsorptif dalga boyunda sonuçlar.

	221.2 nm	259.7 nm
S_{kafein}	0.9400	1.2138
μ_{kafein} (%95)	100.14±0.52	99.94±0.67
$S_{\text{aset.}}$	0.9113	0.7009
$\mu_{\text{aset.}}$ (%95)	99.96±0.50	100.02±0.39

İki isoabsorptif dalga boyunun kullanıldığı ölçümlerin duyarlılığı F testi ile mukayese edilmiş ve anlamlı bir fark görülmemiştir (tablo-127).

Tablo-127: F Testi sonuçları ($N_1=N_2=15$)

	S_1	S_2	F	F_t
Kafein	0.9400	1.2138	1.6674	2.49
Asetaminofen	0.9113	0.7009	1.6905	2.49

$F < F_t$ olduğu için %95 olasılıkla kafein ve asetaminofen tayini bakımından iki isoabsorptif dalga boyunun kullanılması arasında önemsenecek bir fark yoktur.

Tabletlerde yapılan analizin literatür yönteminde birinci türev ultraviole spektroskopisi ile yapılan analizle karşılaştırılmasıyla(172) iki yöntemin duyarlılığı arasında %95 olasılıkla bir fark olmadığı görülmüştür.

Ayrıca tablet yapımında kullanılan diğer maddelerin yöntemi etkilemediği de gözlenmiştir.

Dipiron-Kafein Karışımı:

Dipiron-kafein karışımı için solvent olarak 0.1 N hidroklorik asit tercih edilmiştir. Çünkü dipiron bu solvent içinde 257 nm'de maksimum absorbans değeri göstermiştir. Fakat deneysel çalışma sırasında bu dalga boyunun kullanıldığı tayinlerden elde edilen değerlerle en küçük kareler yöntemine göre çizilen grafikte noktaların iyi bir doğrusallık göstermediği ve r değerinin 1'den saptığı gözlenmiştir. O nedenle tespit edilen iki isoabsorptif dalga boyu (235.1 ve 255.2 nm) ile, kafeinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-128'de verilmiştir.

Tablo-128: İki isoabsorptif dalga boyunda sonuçlar.

	235.1 nm	255.2 nm
S_{kafein}	0.9702	0.9037
μ_{kafein} (%95)	100.00±0.54	100.02±0.50
S_{dipiron}	1.0367	1.0926
μ_{dipiron} (%95)	100.08±0.57	100.11±0.60

Görüldüğü gibi her iki isoabsorptif dalga boyunun kullanıldığı ölçümlerde duyarlılıklar ve ortalamalar birbirine çok yakındır.

Yöntemin hazırlanan tablet karışımlarına uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar da her iki isoabsorptif dalga boyunun kullanıldığı ölçümler de çok yakın sonuçlar vermektedir ve farmakopede dipiron ile kafein için verilen sınırlara uymaktadır.

Ayrıca tablet yapımında kullanılan diğer yardımcı maddelerin yöntemi etkilemediği gözlenmiştir.

Gerek literatürlerde, gerekse farmakopelerde (268,269,270) dipiron-kafein içeren tablet veya karışımların analizine rastlanmadığı için bu bölümün mukayesesi yapılmamıştır.

Asetaminofen-Dipiron Karışımı

Asetaminofen-dipiron karışımı için solvent olarak %95'lik etanol tercih edilmiştir. Tespit edilen iki isoabsorptif dalga boyu (223.5 ve 270.5 nm) ile asetaminofenin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-129'da görülmektedir.

Tablo-129: İki isoabsorptif dalga boyunda sonuçlar.

	223.5 nm	270.5 nm
$S_{\text{aset.}}$	0.9051	2.2927
$\mu_{\text{aset.}}$ (%95)	100.01±0.50	99.88±1.27
S_{dipiron}	1.6420	2.0285
μ_{dipiron} (%95)	100.00±0.91	100.04±1.12

İki isoabsorptif dalga boyundaki ölçümlerin duyarlılığı F testi ile mukayese edilmiştir (tablo-130).

Tablo-130: F Testi sonuçları ($N_1=N_2=15$)

	S_1	S_2	F	F_t
Asetaminofen	0.9051	2.2927	6.4165	2.49
Dipiron	1.6420	2.0285	1.5262	2.49

Asetaminofen için $F > F_t$ olduğundan iki isoabsorptif dalga boyunun kullanımı açısından önemsenecek bir fark vardır ve duyarlılığın daha yüksek olduğu 223.5 nm'deki tayinler tercih edilmelidir.

Dipiron için $F < F_t$ olduğundan iki isoabsorptif dalga boyunun kullanımı açısından önemsenecek bir fark yoktur.

Yöntem tabletlere uygulandığında her iki isoabsorptif dalga boyunda elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır. Tablet yapımında kullanılan diğer maddelerin yöntemi etkilemediği tespit edilmiştir.

Asetaminofen-Aspirin Karışımı:

Asetaminofen-aspirin karışımı için solvent olarak 0.1 N hidroklorik asit tercih edilmiştir. Tespit edilen isoabsorptif dalga boyunda (228.4 nm) ve asetaminofenin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda çalışılmıştır. Aspirinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda yapılan çalışmalar sonucunda, en küçük kareler yöntemine göre çizilen grafikte noktaların iyi bir doğrusallık göstermediği ve hesaplanan geri kazanım değerlerinin farmakope sınırlarına girmediği görülmüştür; o nedenle bu dalga boyunda yapılan çalışmalar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-131'de görülmektedir.

Yöntemin, literatürde susuz titrimetrik yöntemle yapılan bir çalışma ile mukayasesinde (139), iki yöntemin duyarlılığı arasında asetaminofen tayini bakımından önemsenecek bir fark olmadığı halde, aspirin tayini bakımından az da olsa farklılık vardır.

Asetaminofen-aspirin karışımı için geliştirilen yöntem sentetik karışımlara tatbik edilmiştir ve elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır. Ülkemizde bu karışımın preparatları bulunmadığı için yöntem tabletlere uygulanamamıştır. Farmakopede (269) asetaminofen-aspirin tabletlerinde kantitatif analiz için verilen yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodu internal standart olarak benzoik asit, mobil faz olarak tetrametilamonyum hidroksit pentahidrat-su-metanol-asetonitril-glasiyel asetik asit karışımı kullanılmaktadır. Farmakope yöntemiyle karşılaştırıldığında, geliştirdiğimiz yöntem daha basit ve ekonomiktir.

Tablo-131: Asetaminofen-aspirin karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Asetaminofen	0.8325	99.99 \pm 0.87
Aspirin	0.8099	100.00 \pm 0.85

Aspirin-Dipiron Karışımı:

Aspirin-dipiron karışımı için solvent olarak, her iki maddenin de uygun dalga boylarında maksimum absorptans gösterdiği 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi tercih edilmiştir. Maddeler için belirlenen dalga boylarında ve isosorptif dalga boyunda (240 nm) çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-132'de görülmektedir.

Tablo-132: Aspirin-dipiron karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Aspirin	0.8738	99.96±0.92
Dipiron	0.6590	99.98±0.69

Aspirin-dipiron karışımı için geliştirilen yöntem sentetik karışımlara tatbik edilmiştir ve elde edilen sonuçlar farmakopeye her bir madde için verilen sınırlara girmektedir. Bu karışımın preparatı bulunmadığı için yöntem farmasötik ürünlere uygulanamamıştır. Gerek literatürlerde, gerekse farmakopelerde (268,269,270) aspirin-dipiron içeren karışım veya preparatların analizine rastlanmadığı için bu bölümün mukayesesi yapılmamıştır.

Asetaminofen-Dipiron-Kafein Karışımı:

Asetaminofen-dipiron-kafein karışımında solvent olarak %95'lik etanol tercih edilmiştir. Tespit edilen isoabsorptif dalga boyunda (265.4 nm) ve kafein ile asetaminofenin maksimum absorpsiyon gösterdikleri dalga boylarında çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-133'de görülmektedir ve farmakope sınırlarına uymaktadır. Karışımdaki kafein yüzdesinin düşük tutulduğu konsantrasyonlarda çalışmalar özel bir dikkat gerektirmektedir. Çünkü yapılacak çok küçük hatalar bile çizilen doğrunun eğim ve kayım değerlerini etkilemekte, dolayısıyla bu konsantrasyonlardaki geri kazanım değerleri ortalama değerden sapmaktadır.

Bu yöntemde dipiron yüzdesi tabletteki oranda (%44) sabit tutularak, değişen asetaminofen ve kafein yüzdeleriyle çalışılmıştır.

Tablo-133: Asetaminofen-dipiron-kafein karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Asetaminofen	0.8465	99.94±0.60
Dipiron	1.3845	100.00±0.99
Kafein	2.6477	100.32±1.89

Gerek literatürde gerekse farmakopelerde (268,269,270) asetaminofen-dipiron-kafein içeren tablet veya karışımların analizine rastlanmadığı için bu bölümün mukayesesi yapılmamıştır.

Asetaminofen-Aspirin-Kafein Karışımı:

Asetaminofen -aspirin-kafein karışımında solvent olarak 0.1 N hidroklorik asit tercih edilmiştir. Asetaminofen-aspirin karışımında belirtilen nedenlerden dolayı, aspirinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda çalışılmamıştır. Aspirin konsantrasyonlarının sabit tutulduğu bu yöntemde, tespit edilen isoabsorptif dalga boyunda (260.5 nm) ve asetaminofen ile kafeinin maksimum absorbans gösterdikleri dalga boylarında çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-134'de görülmektedir ve farmakope sınırlarına uymaktadır.

Yöntemin, literatürde verilen yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle (194) mukayesesinde, iki yöntemin duyarlılıkları ve ortalamaları arasında önemsenecek bir fark olmadığı görülmüştür.

Tablo-134: Asetaminofen-aspirin-kafein karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Asetaminofen	0.5356	100.01±0.56
Aspirin	1.3108	100.01±1.37
Kafein	0.9441	99.99±0.99

Asetaminofen-aspirin-kafein karışımı için geliştirilen yöntem sentetik karışımlara tatbik edilmiştir ve elde edilen sonuçlar farmakope sınırlarına uymaktadır. Ülkemizde bu karışımın preparatları bulunmadığı için yöntem tabletlere uygulanmamıştır. Farmakopede (269) asetaminofen-aspirin-kafein tabletlerinde kantitatif analiz için verilen yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodunda internal standart olarak benzoik asit, mobil faz olarak metanol-su-glasiyel asetik asit karışımı kullanılmaktadır. Geliştirdiğimiz yöntem farmakope yöntemine göre daha basit ve ekonomiktir.

Asetaminofen-Aspirin-Dipiron Karışımı:

Asetaminofen-aspirin-dipiron karışımı için solvent olarak 0.1 N hidroklorik asit tercih edilmiştir. İsoabsorptif dalga boyunda ve aspirin ile dipironun maksimum absorbans gösterdikleri dalga boylarında çalışılmıştır; bu nedenle de karışımındaki asetaminofen yüzdesi sabit tutulmuştur. Değişen aspirin ve dipiron yüzdeleriyle elde edilen sonuçlar tablo-135'de görülmektedir.

Tablo-135: Asetaminofen-aspirin-dipiron karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Asetaminofen	1.5632	100.02 \pm 1.64
Aspirin	0.6838	99.95 \pm 0.72
Dipiron	0.1731	100.00 \pm 0.18

Bu çalışma aspirin yüzdesi sabit tutularak yapıldığı zaman, en küçük kareler yöntemine göre dipiron için çizilen grafiğin yönü değişmekte ve asetaminofen konsantrasyonuyla orantılı olmaktadır. Yöntemin uygulanabilmesi için dipironun maksimum absorbens gösterdiği dalga boyunda, asetaminofenin konsantrasyonu düşük bir değerde (%15) sabit tutulmuştur.

Ayrıca dipiron yüzdesi sabit tutulduğu zaman da, asetaminofen-aspirin karışımında belirtilen nedenlerden dolayı, aspirinin maksimum absorbens gösterdiği dalga boyunda çalışılmamaktadır.

Asetaminofen-aspirin-dipiron için geliştirilen bu yöntem sentetik karışımlara tatbik edilmiştir ve elde edilen sonuçlar farmakopede her bir madde için verilen sınırlara girmektedir. Bu karışımın preparatı bulunmadığı için yöntem farmasötik ürünlere uygulanmamıştır. Literatürlerde ve farmakopelerde asetaminofen-aspirin dipiron karışımının analizine rastlanmamıştır.

Aspirin-Dipiron-Kafein Karışımı:

Aspirin-dipiron-kafein karışımında solvent olarak 0.1 N hidroklorik asit tercih edilmiştir. Kafein yüzdesi sabit tutularak, aspirin ve dipironun maksimum absorbens gösterdikleri dalga boylarında ve isoabsorptif dalga boyunda çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo-136'da görülmektedir.

Tablo-136: Aspirin-dipiron-kafein karışımında sonuçlar.

	S	μ (%95)
Aspirin	0.2830	99.99±0.29
Dipiron	0.4159	100.00±0.44
Kafein	1.4593	99.97±1.53

Aspirin-dipiron-kafein için geliştirilen bu yöntem sentetik karışımlara tatbik edilmiştir ve elde edilen sonuçlar farmakopede her bir madde için verilen sınırlara girmektedir. Literatürlerde ve farmakopelerde aspirin-dipiron-kafein karışımının analizine rastlanmamıştır.

Üçlü karışımların herhangi bir ayırma işlemi uygulanmadan, ultraviöle spektrofotometrik yöntemle kantitatif tayinlerine oldukça az rastlanmaktadır. Literatürde karşılaşılan bu tip çalışmalarda ya karmaşık matematiksel bağıntılardan yararlanılmış, ya da spektrofotometreyle kombine halde kullanılan bilgisayarlardan yararlanarak çalışma koşulları tespit edilmiş ve çeşitli parametreler değerlendirilmiştir. Bu sebeplerle ultraviöle spektrofotometrisiyle absorbans oranları tekniğini kullanarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışmalar ikili ve üçlü karışımlarda yanyana tayin imkanı sağlayan basit ve hassas bir yöntemdir.

5.ÖZET

Bu çalışmada ikili ve üçlü madde karışımları içeren analjezik ilaçlarda herhangi bir ayırma uygulanmaksızın, absorbans oranları tekniği kullanılarak, doğrudan spektrofotometrik yöntemle miktar tayinleri yapılmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerle maddelerin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyunda ve isoabsorptif dalga boyunda çalışılmış ve elde edilen değerlerin birbirine oranı alınarak relatif konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilmiştir. Çizilen lineer doğrular en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilerek doğru denklemi çıkarılmıştır; eğim ve intersept değerleri ilgili formüllerde yerine konarak analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir karışımdaki çalışma için standart sapmalar hesaplanmış ve yöntem tabletlerde tayin için uygulanmıştır. Piyasa örnekleri ile yapılan çalışmalarda tablet yapımında kullanılan diğer maddelerin yöntemi etkilemediği saptanmış ve elde edilen sonuçların farmakope sınırlarına girdiği görülmüştür. Ayrıca çeşitli analjezik karışımlar için de yöntem geliştirilmiştir. Çalışılan on adet karışımdan dört tanesi literatür yöntemiyle mukayese edilmiştir. Farmakope ve literatürlerde diğer karışımların beş tanesi için herhangi bir kantitatif analize rastlanmamıştır.

Aspirin-kafein karışımı için çalışma konsantrasyon aralığı, aspirin için 10-20 µg/ml, kafein için 1.5-10 µg/ml'dir. Yöntem %6.98-50 oranında kafein ve %50-93.02 oranında aspirin içeren karışımlara uygulanabilmektedir.

Asetaminofen-kafein karışımında çalışma konsantrasyon aralığı asetaminofen için 1-18 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 1-17 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntemin %5.56-94.74 oranında asetaminofen ve %5.26-94.44 oranında kafein içeren karışımlar için uygun olduğu saptanmıştır.

Dipiron-kafein karışımında çalışma konsantrasyon aralığı dipiron için 2-24 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 1-18 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntem %10-96 oranında dipiron ve %4-90 oranında kafein içeren karışımlarda geçerlidir.

Asetaminofen-dipiron karışımında konsantrasyon aralığı asetaminofen için 2-8 $\mu\text{g/ml}$, dipiron için 2-16 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntem %11-80 oranında asetaminofen ve %20-89 oranında dipiron içeren karışımlarda analiz için uygundur.

Asetaminofen-aspirin karışımında konsantrasyon aralığı asetaminofen ve aspirinin her ikisi için 3-7.5 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntem %71-28 oranında asetaminofen ve aspirin içeren karışımlara uygulanabilmektedir.

Aspirin-dipiron karışımında çalışma konsantrasyon aralığı aspirin için 10-16 $\mu\text{g/ml}$, dipiron için 6-26 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntemin %28-73 oranında aspirin ve %27-72 oranında dipiron içeren karışımlar için uygun olduğu tespit edilmiştir.

Asetaminofen-dipiron-kafein karışımında çalışma konsantrasyon aralığı dipiron için 4.5 $\mu\text{g/ml}$ ile sabit olup, asetaminofen için 1-5.3 $\mu\text{g/ml}$, kafein için 0.3-4.6 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Yöntem %10-53 oranında asetaminofen, %3-46 oranında kafein ve %44 (sabit) dipiron içeren karışımlarda geçerlidir.

Asetaminofen-aspirin-kafein karışımında çalışma konsantrasyonu aspirin için 8 µg/ml ile sabit olup, asetaminofen için 3.5-6 µg/ml, kafein için 2-4.5 µg/ml'dir. Yöntem %22-37 oranında asetaminofen, %12-28 oranında kafein ve %50 aspirin (sabit) içeren karışımların analizi için uygundur.

Asetaminofen-aspirin-dipiron karışımında konsantrasyon aralığı aspirin için 3-9 µg/ml, dipiron için 8-14 µg/ml olup, asetaminofen için 3 µg/ml'de sabittir. Yöntem %15-45 oranında aspirin, %40-70 oranında dipiron ve %15 asetaminofen (sabit) içeren karışımların analizinde kullanılabilir.

Aspirin-dipiron-kafein karışımında kafein konsantrasyonu 2 µg/ml'de sabit tutulmuştur, aspirin ve dipiron konsantrasyonları 5.4-12.6 µg/ml'dir. Yöntem %27-63 oranında aspirin ve dipiron, %10 kafein içeren karışımlarda geçerlidir.

6. SUMMARY

In this study, the absorbancy ratio technique was applied to the analysis of binary and ternary mixtures. The analysis was carried out without prior separation of the components of the mixture and was applicable to commercial preparations containing analgesic drugs.

A series of standard solutions were prepared. The study was carried out at two wavelengths i.e. the wavelength at the maximum absorbance of the compounds and the isoabsorptive wavelength. Graphics were plotted using the absorbance ratio values at these wavelengths versus the relative concentrations of compounds. The linear plots were evaluated using the smallest squares method and a line equation was obtained. The quantitative analyses were performed using the related formulae from the slope and intercept values calculated.

The standard deviations were calculated for each mixture used. The procedure was employed for the assay of the commercial tablets. It was found, in the studies with tablet combinations, that the ingredients in the formulation did not affect the procedure. It was also demonstrated that the values obtained are within the limits of pharmacopoeia. Good recoveries of the drugs were obtained in the analysis of commercial preparations. This procedure was also applied to the analysis of five synthetic analgesic mixtures.

Out of ten mixtures analysed, four were compared with the previous quantification methods in the literature. The literature search showed that there was no quantitative assay method available for other five mixtures.

The concentration range used for aspirin-caffeine mixture was as follows: 10-20 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin, 1.5-10 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine. The procedure can be applied for the mixtures containing 6.98-50% caffeine and 50-93.02% aspirin.

The concentration range used for acetaminophen-caffeine mixtures was as follows: 1-18 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen, 1-17 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine. The procedure can be applied for the mixtures containing 5.56-94.74% acetaminophen and 5.26-94.44% caffeine.

The concentration range used for dipyrrone-caffeine mixture was as follows: 2-24 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrrone, 1-18 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine. The procedure can be applied for the mixtures containing 10-96% dipyrrone and 4-90% caffeine.

The concentration range used for acetaminophen-dipyrrone mixture was as follows: 2-8 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen, 2-16 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrrone. The procedure can be applied for the mixtures containing 11-80% acetaminophen and 20-89% dipyrrone.

The concentration range used for acetaminophene-aspirin mixture was as follows: 3-7.5 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen, 3-7.5 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin. The procedure can be applied for the mixtures containing 28-71% acetaminophen and 28-71% aspirin.

The concentration range used for aspirin-dipyrrone mixture was as follows: 10-16 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin, 6-26 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrrone. The procedure can be applied for the mixtures containing 28-73% aspirin and 27-72% dipyrrone.

The concentration range used for the mixture of acetaminophen-dipyrone-caffeine was a constant value and is 4.4 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrone, 1-5.3 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen and 0.3-4.6 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine. The procedure can be applied for the mixtures containing 10-53% acetaminophen, 3-46% caffeine and 44% dipyrone.

The concentration range used for the mixture of acetaminophen-aspirin-caffeine was a constant value and is 8 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin, 3.5-6 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen and 2-4.5 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine. The procedure can be applied for the mixtures containing 22-37% acetaminophen, 12-28% caffeine and 50% aspirin.

The concentration range used for the mixture of acetaminophen-aspirin-dipyrone was a constant value and is 3 $\mu\text{g/ml}$ for acetaminophen, 3-9 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin and 8-14 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrone. The procedure can be applied for the mixtures containing 15-45% aspirin, 40-70% dipyrone and 15% acetaminophen.

The concentration range used for the mixture of aspirin-dipyrone-caffeine was a constant value and is 2 $\mu\text{g/ml}$ for caffeine, 5.4-12.6 $\mu\text{g/ml}$ for aspirin and 5.4-12.6 $\mu\text{g/ml}$ for dipyrone. The procedure can be applied for the mixtures containing 27-63% aspirin, 27-63% dipyrone and 10% caffeine.

7. KAYNAKLAR

1. Windolz, M., The Merck Index, 10. Baskı, Merck and Co. Inc., Rahway (1983).
2. Florey, K., Analytical Profiles of Drug Substances, 3, s.1, Academic Press, New York (1974).
3. Shane, N., Kowblansky, M., "Determination of Acetylsalicylic Acid, Salicylamide, Acetaminophen, and Caffeine in Tablets or Powders by Independent Methods", J. Pharm.Sci., 57, 1218 (1968).
4. Moffat, A.C., Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2. Baskı, s.465, The Pharmaceutical Press, London (1986).
5. Rogers, A.R., "Spectral Slit Width and the Absorption of Light by Substances in the Addendum 1964 to the British Pharmacopoeia 1963", J. Pharm. Pharmacol., 17, 325 (1965).
6. Mills, T., Roberson, J.C., Instrumental Data for Drug Analysis, 2. Baskı, 1, Elsevier Science Publishing Co. Inc., New York (1987).
7. Cizmarık, J., Lycka, A., "¹⁵N NMR in the Analysis of Drugs. Characterization of Some Analgetics-Antipyretics", Pharmazie, 43, 794 (1988).
8. British Pharmacopoeia, 1, s.414, Majesty's Stationery Office, London (1988).

9. Ergenç,N., Gürsoy,A., Ateş,Ö., İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini, 4. Baskı, Gençlik Basımevi, İstanbul (1989).
10. Kayaalp,O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2. Cilt, 5. Baskı, Feryal Matb., Ankara (1990).
11. Levy,G., Yamada,H., "Drug Biotransformation Interactions in Man III: Acetaminophen and Salicylamide", J. Pharm. Sci., 60, 215 (1971).
12. Levy,G., Regardh,C.G., "Drug Biotransformation Interactions in Man V: Acetaminophen and Salicylic Acid", ibid, 60, 608 (1971).
13. Wilson,J.M., Slattery,J.T., Forte,A.J., Nelson,S.D., "Analysis of Acetaminophen Metabolites in Urine by High Performance Liquid Chromatography with UV and Amperometric Detection", J. Chromatogr. Biomed. Appl., 227, 453 (1982).
14. Shibasaki,J., Sadakane,E., Konishi,R., Koizumi,T., "Drug Absorption, Metabolism, and Excretion. Preparation of Ether-type Glucuronide of 4-Hydroxyacetanilide", Chem. Pharm. Bull., 18, 2340 (1970).
15. Brown,E.R., Gwilt,J.R., "Assay of Paracetamol Tablets", Pharm. J., 419 (1964).
16. Vaughan,J.B., "Colorimetric Determination of Acetaminophen", J. Pharm. Sci., 58, 469 (1969).
17. Datta,B.K., Bachar,S.C., Banoo,R., Haque,S., "Colorimetric

Method for the Determination of Paracetamol from Pharmaceutical Preparations", Indian J. Pharm. Sci., 51, 270 (1989).

18. Sanghavi, N.M., Kulkarni, S.P., "Colorimetric Method for Estimation of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations", *ibid*, 42, 10 (1980).
19. Sanghavi, N.M., Vishwasrao, D.R., "Colorimetric Method for Estimation of Paracetamol and Phenacetin", Indian J. Pharmacy, 35, 172 (1973).
20. Das, S., Sharma, S.C., Talwar, S.K., "Estimation of Paracetamol and Analgin in Pharmaceutical Preparations with PDAB", Indian Drugs, 23, 382 (1986). -Ref. C.A., 105, 12242e(1986).
21. Deodhar, R.D., Shastri, M.R., Mehta, R.C., "Colorimetric Estimation of Paracetamol and/or Aspirin in Pharmaceutical Formulations", Indian J. Pharmacy, 38, 18 (1976).
22. Inamdar, M.C., Kaji, N.N., "Colorimetric Estimation of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations", *ibid*, 31, 79(1969).
23. El-Kheir, A.A., Belal, S., El-Shanwani, A., "Application of Difference Spectrophotometry to the Nitrosation Reaction in the Assay of Certain Antipyretic Drugs", Pharmazie, 40, 62 (1985).
24. Belal, S., Abdel-Hady Elsayed, M., El-Waliely, A., Abdine, H., "Colorimetric Acetaminophen Determination in Pharmaceutical Formulations", J. Pharm. Sci., 68, 750 (1979).

25. Sultan, S.M., Alzamil, I.Z., Alrahman, A.M.A., Altamrah, S.A., Asha, Y., "Use of Cerium(IV) Sulphate in the Spectrophotometric Determination of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations", *Analyst*, 111, 919 (1986).
26. Yoo, G.S., Koh, I.B., "Determination of Acetaminophen in Tablet Formulations by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry", *Yakhak Hoechi*, 30, 100 (1986). -Ref. C.A., 105, 85288j (1986).
27. Onur, F., Acar, N., "Determination of Acetaminophen by Ion-Pair Extraction with Rhodamine B", *J. Fac. Pharm. Gazi*, 7, 25 (1990).
28. Prasad, S.D., "Spectrophotometric Determination of Paracetamol and Solid Dosage Forms", *Indian Drugs*, 29, 130 (1991). -Ref. C.A., 116, 67349c (1992).
29. Öztunç, A., "Fluorimetric Determination of Acetaminophen as its Dansyl Derivative", *Analyst*, 107, 585 (1982).
30. Gilpin, R.K., Gaudet, M.H., "Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Determination of acetaminophen in Dosage Form Using a Totally Aqueous Mobile Phase", *J. Chromatogr.*, 248, 160 (1982).
31. Abdel-Hady Elsayed, M., "Kinetic Method for Assay of Acetaminophen in Tablets", *Pharmazie*, 34, 569 (1979).
32. Laurent, O., "Dosage en Milieu Non Aqueux de L'acétanilide, de la N-Méthylacétanilide, de L'acétophénétidine et de L'acétaminophen", *J. Pharm. Belg.*, 25, 157 (1970).

33. Vyas, P.N., Kharat, R.B., "Potentiometric Titration of Paracetamol in Non Aqueous Medium", Indian J. Pharm. Sci., 50, 279 (1988).
34. Inamdar, M.C., Saboo, J.C., Kamdar, C.N., Sanghavi, N.M., "Titrimetric Method for Estimation of Paracetamol", Indian J. Pharmacy, 35, 187 (1973).
35. Elste, U., Duda, H., "Zur Kenntnis des Paracetamols mit einem Beitrag zu dessen quantitativer Bestimmung", Dtsch. Apoth. Ztg., 112, 711 (1972).
36. El-Fatary, H.M., Aboul-Enein, H.Y., Lofti, E.A., "Conductimetric Determination of Acetaminophen", Canadian J. Pharm. Sci., 15, 19 (1980).
37. Beilstein X, 67 (1927).
38. Florey, K., Analytical Profiles of Drug Substances, 8, s.1, Academic Press, New York (1979).
39. Masoud, A.N., "Systematic Identification of Drugs of Abuse I: Spot Tests", J. Pharm. Sci., 64, 841 (1975).
40. Kovar, K.A., "Die Anfärbung von Hydroxybenzoesäurederivaten nach der Vitali-Morin Methode", Arch. Pharm., 307, 264 (1974).
41. Morgan, A.M., Truitt, E.B., "Evaluation of Acetylsalicylic Acid Esterase in Aspirin Metabolism", J. Pharm. Sci., 54, 1640 (1965).

42. Rowland, M., Riegelman, S., "Pharmacokinetics of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid After Intravenous Administration in Man", *ibid*, 57, 1313 (1968).
43. Rowland, M., Riegelman, S., Harris, P.A., Sholkoff, S.D., Eyring, E.J., "Kinetics of Acetylsalicylic Acid Disposition in Man", *Nature*, 215, 413 (1967).
44. Borst, W.R., Christian, J.E., Miya, T.S., "Determination of the Excretion and the Tissue Distribution of Carboxyl Carbon in the Rat After Administration of C¹⁴ Carboxyl Acetylsalicylic Acid", *J. Am. Pharm. Assoc.*, 45, 511 (1956).
45. Smith, M.J.H., "Plasma-Salicylate Concentrations After Small Doses of Acetylsalicylic Acid", *J. Pharm. Pharmacol.*, 3, 409 (1951).
46. Rumble, R.H., Roberts, M.S., Wanwimolruk, S., "Determination of Aspirin and its Major Metabolites in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography without Solvent Extraction", *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 225, 252 (1981).
47. Morris, C.H., Christian, J.E., Landolt, R.R., Hansen, W.G., "Gas-Liquid Chromatography of Salicylate Metabolites", *J. Pharm. Sci.*, 59, 270 (1970).
48. Levy, G., Procknal, J.A., "Drug Biotransformation Interactions in Man I. Mutual Inhibition in Glucuronide Formation of Salicylic Acid and Salicylamide in Man", *ibid*, 57, 1330 (1968).
49. Schunack, W., Mayer, K., Haake, M., *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*, 2. Baski, s.211, Friedr. Vieweg & Sohn. Braunschweig/Wiesbaden (1983).

50. Miller, R., "Determination of Aspirin and Sodium Salicylate in Powders", *Am. J. Pharm.*, 89, 347 (1917).-Ref. C.A., 11, 2714 (1917).
51. Walash, M.I., Rizk, M., "Nonaqueous Titration of Certain Analgesic Dosage Forms in Tetramethylurea", *Indian J. Pharmacy*, 39, 82 (1977).
52. Chan, W.H., Wong, M.S., Yip, C.W., "Ion-Selective Electrode in Organic Analysis", *J. Chem. Educ.*, 63, 915 (1986).
53. Tinker, R.B., McBay, A.J., "Spectrophotometric Determination of Acetylsalicylic and Salicylic Acids", *J. Am. Pharm. Assoc.*, 43, 315 (1954).
54. Bezakova, Z., Bachrata, M., Blesova, M., Knazko, L., "The Use of Differential Spectrophotometry in Drug Analysis. Acetylsalicylic Acid", *Farm. Obz.*, 55, 257 (1986). -Ref. C.A. 105, 85278f (1986).
55. Juhl, W.E., Kirchhoefer, R.D., "Aspirin-A National Survey. Semiautomated Determination of Aspirin in Bulk and Tablet Formulations and Salicylic Acid in Tablet Formulations", *J. Pharm. Sci.*, 69, 544 (1980).
56. Theimer, E.E., Ciurczak, E.W., "Quick Specific Assay for Aspirin", *ibid*, 66, 139 (1977).
57. Güneri, T., Kirilmaz, L., "Determination of Some Anti-Inflammatory Drugs Containing Acid Groups in Pharmaceutical Dosage Forms", *Acta Pharm. Turc.*, 30, 149 (1988).

58. Street, K.W., "Method Development for Analysis of Aspirin Tablets", *J. Chem. Educ.*, 65, 914 (1988).
59. Luber, J.R., Visalli, A.J., Patel, D.M., "Modified USP Assay for Simultaneous Determination of Aspirin and Nonaspirin Salicylates in Aspirin and Buffered Aspirin Tablets", *J. Pharm. Sci.*, 68, 780 (1979).
60. Ebel, S., Herold, G., "Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen mit internem Standard. Bestimmung von Acetylsalicylsäure durch in situ-Fluoreszenzmessung", *Arch. Pharm.*, 308, 839 (1975).
61. Lange, W.E., Bell, S.A., "Fluorometric Determination of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid in Blood", *J. Pharm. Sci.*, 55, 385 (1966).
62. Kanter, S.L., Horbaly, W.R., "Direct Measurement of Aspirin", *ibid*, 60, 1898 (1971).
63. Cotty, V.F., Ederma, H.M., "Method for the Direct Measurement of Acetylsalicylic Acid in Human Blood", *ibid*, 55, 837 (1966).
64. Muni, I.A., Leeling, J.L., Helms, R.J., Johnson, N., Bare, J.J., Phillips, B.M., "Improved Colorimetric Determination of Aspirin and Salicylic Acid Concentrations in Human Plasma", *ibid*, 67, 289 (1978).
65. Rowland, M., Riegelman, S., "Determination of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid in Plasma", *ibid*, 56, 717 (1967).

66. Walter, L.J., Biggs, D.F., Coutts, R.T., "Simultaneous GLC Estimation of Salicylic Acid and Aspirin in Plasma", *ibid*, 63, 1754 (1974).
67. Patel, S., Perrin, J.H., Windheuser, J.J., "GLC Analysis of Aspirin from Solid Dosage Forms", *ibid*, 61, 1794 (1972).
68. El-Fatatry, H.M., "Application of PMR Spectrometry in Pharmaceutical Analysis. Assay of Noramidopyrine-methansulfonate Sodium (Dipyrone)", *Pharmazie*, 38, 227 (1983).
69. Ergenç, N., "Pirazolon Türevi Bazı İlaçların p-Dimetilamino-benzaldehid ile Renk Reaksiyonları ve İnce Tabaka Kromatografisi ile Teşhisleri", *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, 3, 13 (1967).
70. Lamspringe, K.J., "Über die Farbreaktionen des Amino-phenyl-dimethyl-pyrazolons", *Pharm. Ztg.*, 86, 542 (1950).
71. Damm, D., "Simultaneous Determination of the Main Metabolites of Dipyrone by High-pressure Liquid Chromatography", *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 39(II), 1415 (1989).
72. Van Giffen, H.J., "Examination of Tablets", *Pharm. Weekblad*, 69, 1476 (1932). -*Ref. C.A.*, 27, 1086 (1933).
73. Wirth, C.M.P., "Über die Quantitative Bestimmung von Novalgin", *Pharm. Acta Helv.*, 32, 383 (1957).
74. Schulek, E., Maros, L., "Beiträge zur Analytik Einiger Methansulfonsäurederivate. Jodometrisches Verfahren zur Bestimmung von Novalgin (Novamidazophen) und Melubrin Auch in Gegenwart von Antipyrin (Azophen) und Pyramidon (Amidazophen)", *Anal. Chim. Acta*, 19, 4 (1958).

75. Abdel-Hady Elsayed, M., Abdine, H., Abdel-Hamid, M.E., "Application of Difference Spectrophotometry to the Determination of Dipyrone", *Analyst*, 104, 568 (1979).
76. Pijck, J., Claeys, A., "Le Dosage Spectrophotométrique de la Mélubrène et de la Novalgine", *J. Pharm. Belg.*, 19, 324 (1964).
77. Qureshi, S.Z., Saeed, A., Hasan, T., "Spectrophotometric Determination of Novalgin in Tablets by Use of Potassium Iodate", *Talanta*, 36, 869 (1989). -Ref. C.A., 111, 140647b (1989).
78. Vegh, A., Szasz, G., Kertesz, P., "Die Bestimmung des Novamidazophens mit Hilfe der UV-Spectrophotometrie", *Pharmazie*, 16, 512 (1961).
79. Devi, M.V., Murthy, P.N., Rao, M.E.B., Suresh, P., "Spectrophotometric Determination of Analgin", *East. Pharm.*, 31, 137 (1988). -Ref. C.A., 109, 216102b (1988).
80. Sarkar, B.N., "Estimation of Analgin in Pharmaceutical Formulations", *Indian J. Pharmacy*, 35, 188 (1973).
81. Shingbal, D.M., "Colorimetric Method for the Estimation of Analgin in Pharmaceutical Dosage Forms", *ibid*, 36, 144 (1974).
82. Diab, A.M., Awad, N.S., "Colorimetric-Thin-Layer-Chromatographic Estimation of Noramidopyrine Methansulfonate Sodium in Dosage Forms", *Pharmazie*, 30, 745 (1975).
83. Mahajan, S.N., Sivaramakrishnan, M.V., Rao, G.R., "Colorimetric Determination of Analgin in Pharmaceutical Preparations", *Indian J. Pharmacy*, 34, 98 (1972).

84. Philip,G., "Colorimetric Determination of Analgin in Pharmaceutical Preparations", *ibid*, 36, 14 (1974).
85. Abdine,H., Soliman,S.A., Morcos,M.G., "Colorimetric Determination of Dipyrone", *J. Pharm. Sci.*, 62, 1834 (1973).
86. Diab,A.M., "Colorimetric Assay of Noramidopyrine Methanesulfonate Sodium in Formulations and in Blood and Urine Samples", *Pharmazie*, 32, 226 (1977).
87. Ergenç,N., Rollas,S., "Farmasötik Maddelerde NMR Spektroskopisi Yardımı ile Miktar Tayini. Pirazolon Serisi İlaçlar", *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, 13, 38 (1977).
88. Fabre,H., Eddine,N.H., Bressolle,F., Mandrou,B., "Stability Indicating Assay for Dipyrone. Separation and Quantitative Determination of Dipyrone and its Degradation Products by Thin-layer Chromatography", *Analyst*, 107, 61 (1982).
89. Eddine,N.H., Bressolle,F., Mandrou,B., Fabre,H., "Stability Indicating Assay for Dipyrone. Separation and Quantitative Determination of Dipyrone and its Degradation Products by High-performance Liquid Chromatography", *ibid*,107,67(1982).
90. Asmardi,G., Jamali,F., "High-performance Liquid Chromatography of Dipyrone and its Active Metabolite in Biological Fluids", *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 277, 183 (1983).
91. Florey,K., *Analytical Profiles of Drug Substances*, 15, s.71, Academic Press, New York (1986).

92. Salvadori, M.C., Velletri, M.E., Camargo, M.M.A., Araujo, A.C.P., "Identification of Doping Agents by Chromatographic Techniques and UV Spectrophotometry", *Analyst*, 113, 1189 (1988).
93. Reynolds, J.E.F., Martindale The Extra Pharmacopoeia, 28. Baskı, s.340, Pharmaceutical Press, London (1982).
94. Delgado, J.N., Remers, W.A., Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, 9. Baskı, s.396, J.B. Lippincott Company, Philadelphia (1991).
95. Rollas, S., İlaçların Metabolizması (Biyotransformasyon), s.149, Mar. Üniv. Teknik Eğitim Fak. Matbaa Birimi, İstanbul (1992).
96. Emery, W.O., "Analysis of Headache Mixtures", *Am. J. Pharm.*, 81, 3 (1909). -Ref. C.A., 3, 576 (1909).
97. Atay, O., Bulut, P., "Aspirin Kombinasyonunda Kafeinin Spektrofotometrik Tayini", *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 44, 275 (1987).
98. Daoust, R.A., "The Colorimetric Determination of Caffeine in Tablet Mixtures", *J. Am. Pharm. Assoc.*, 42, 744 (1953).
99. Sanghavi, N.M., Katdare, A.V., "Spectrophotometric Method of Estimation of Caffeine", *Indian J. Pharmacy*, 34, 90 (1972).
100. Lau, W., Luk, S., Cheng, 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 (1992).

101. Anastasi,A., Gallo,U., Novacic,L., "A Note on the Titration of Caffeine in Pharmaceutical Preparations", J. Pharm. Pharmacol., 7, 263 (1955).
102. Rink,M., "Titrationsen in nichtwäßrigem Medium mit Perchlorsäure in Eisessig", Pharmazie, 15, 519 (1960).
103. Mayanna,S.M., Jayaram,B., "Determination of Caffeine Using Sodium N-Chloro-p-toluenesulphonamide", Analyst, 106, 729 (1981).
104. Raber,H., Ott,R., "Über die bromometrische Bestimmung von Theobromin, Theophyllin und Coffein", Sci. Pharm., 31, 10 (1963).
105. Alary,J., Vergnes,M.F., "Contrôle par Chromatographie liquide à Haute Performance de Médicaments Renfermant de la Cafféine", Ann. Pharm. Franç., 42, 249 (1984).
106. Hartley,R., Cookman,J.R., Smith,I.J., "Simultaneous Determination of Caffeine and Its N-Demethylated Metabolites in Umbilical Cord Plasma Using High-Performance Liquid Chromatography", J. Chromatogr. Biomed. Appl., 306, 191 (1984).
107. O'Connell,S.E., Zurzola,F.J., "Rapid Quantitative Liquid Chromatographic Determination of Caffeine Levels in Plasma After Oral Dosing", J. Pharm. Sci., 73, 1009 (1984).
108. Grab,F.L., Reinstein,J.A., "Determination of Caffeine in Plasma by Gas Chromatography", ibid, 57, 1703 (1968).

109. Pernarowski, M., Knevel, A.M., Christian, J.E., "Application of Absorbancy Ratios to the Analysis of Pharmaceuticals . Practical Aspects of the Analysis of Binary Mixtures", *ibid*, 50, 946 (1961).
110. Yokoyama, F., Pernarowski, M., "Application of Absorbancy Ratios to the Analysis of Pharmaceuticals. Simultaneous Analysis of Aminophylline and Phenobarbital", *ibid*, 50, 953 (1961).
111. Pernarowski, M., Searl, R.O., Naylor, J., "Application of Absorbance Ratios to Analysis of Pharmaceuticals. Analysis of Tetracycline Hydrochloride in Presence of Anhydrotetracycline and Epianhydrotetracycline", *ibid*, 58, 470 (1969).
112. Cho, M.J., Pernarowski, M., "Application of Absorbance Ratios to Analysis of Pharmaceuticals. Analysis of Binary Mixture Using a Reference Spectrum", *ibid*, 59, 1333 (1970).
113. Zhang, L., Guo, Y., Liu, Z., Chai, M., Yang, Z., "Methodology of Absorbancy Ratio for Assay of Caffeine and Sodium Benzoate Injection", *Hebei Yixueyuan Xuebao*, 12, 200 (1991). -Ref. C.A., 116, 136372u (1992).
114. Amal, H., Gürsu, E., Demir, S., "Spectrophotometric Analysis of Some Pharmaceuticals by the Absorbancy Ratios Method", *J. Fac. Pharm. İstanbul*, 7, 30 (1971).
115. Chatterjee, P.K., Jain, C.L., Sethi, P.D., "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Oxyphenbutazone and Analgin in Pharmaceutical Formulations", *Indian J. Pharm. Sci.*, 49, 111 (1987).

116. Atay,O., Bulut,P., "Aspirin-Kafein Karışımının Absorbans Oranları Tekniği ile Spektrofotometrik Tayini", Türk Hij. Den. Biyol. Derg., 44, 91 (1987).
117. Atay,O., Gümüş,F., "İzopropilfenazon-Kafein İçeren Analjezik İlaçlarda Absorbans Oranları Yöntemi ile Spektrofotometrik Miktar Tayini Çalışmaları", Fabad Farm. Bil. Der., 13, 500 (1988).
118. Yücesoy,C., "Parasetamol ve Klorzoksazonun Absorbans Oranları Yöntemi ile Spektrofotometrik Miktar Tayini", Pharmacia JTPA, 30, 13 (1990).
119. Guo,J., Li,T., Dong,Y., Guo,H., Jiang,H., Liu,H., "Determination of Pyramidon and Caffeine in Naoqing Tablets by Absorbance Ratio", Hebei Yixueyuan Xuebao, 13, 71 (1992).-Ref. C.A., 117, 239937g (1992).
120. Atay,O., Orbey,M.T., "Metokarbamol ve Parasetamol İçeren Tabletlerde Spektrofotometrik Miktar Tayini Çalışmaları", Fabad Farm. Bil. Der., 15, 223 (1990).
121. Glenn,A.L., "The Importance of Extinction Ratios in the Spectrophotometric Analysis of Mixtures of Two Known Absorbing Substances", J. Pharm. Pharmacol., 12, 595 (1960).
122. Das,S., Sharma,S.C., Talwar,S.K., Sethi,P.D., "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Mefenamic Acid and Paracetamol in Pharmaceutical Preparations", Analyst, 114, 101 (1989).

123. Atay, O., Yıldır, İ., "Spectrophotometric Determination of Mephenoxalone and Paracetamol in Tablets Using Vierordt Method", *Fabad J. Pharm. Sci.*, 17, 241 (1992).
124. Atay, O., Perçiner, H., "Spectrophotometric Determination of Chlorzoxazone and Paracetamol in Tablets Using Vierordt Method", *Doğa-Tr. J. Pharm.*, 2, 139 (1992).
125. Machek, G., "Spektralphotometrische Bestimmung von Salicylamid bzw. Acetylsäure, Coffein und Phenacetin in Tabletten und Kapseln", *Sci. Pharm.*, 29, 73 (1961).
126. Machek, G., Lorenz, F., "Indirekte Spektralphotometrische Analyse von Zwei- und Mehrstoffgemischen", *ibid*, 30, 25 (1962).
127. Machek, G., Lorenz, F., "Indirekte Spektralphotometrische Analyse von Zwei- und Mehrstoffgemischen. Indirekte Vierstoffanalyse", *ibid*, 34, 213 (1966).
128. Raber, H., "Über die Spektralphotometrische Bestimmung von Purinderivaten", *ibid*, 32, 122 (1964).
129. Pernarowski, M., Padval, V.A., "Resolution of Binary Mixtures by Partial Extraction and Specialized Spectrophotometric Techniques", *J. Pharm. Sci.*, 52, 218 (1963).
130. Ebel, S., Herold, G., "Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen mit Internem Standard. Zweiwellenlängenmeßtechnik im Zigzag Scan", *Arch. Pharm.*, 309, 660 (1976).
131. Cha, J., Wang, Y., Liu, Y., "Ultraviolet Spectrophotometric determination of Compound Acetylsalicylic Acid Tablet", *Yiyao Gongye*, 16, 73 (1985).-Ref. C.A., 102, 191253s (1985).

132. King, T.H., Mann, C.K., Vickers, T.J., "Determination of Phenylpropanolamine Hydrochloride and Acetaminophen in Pharmaceutical Preparations by Raman Spectroscopy", *J. Pharm. Sci.*, 74, 443 (1985).
133. Luo, G., Luo, Z., Wang, Y., "Quantitative Analysis of a Three Component Mixture-compound Tablets of Acetaminophen Using Signal Multiplier Spectrophotometry", *Yaoxue Xuebao*, 21, 521 (1986). -Ref. C.A., 105, 158942e (1986).
134. Sharma, S.C., Sharma, S.C., Saxena, R.C., Talwar, S.K., "Simultaneous Spectrophotometric Analysis of Ternary Mixture of Pharmaceuticals-Assay for Aspirin, Paracetamol and Caffeine Mixtures", *Indian J. Pharm. Sci.*, 52, 103 (1990).
135. McDowell, A.E., Pardue, H.L., "Simultaneous Multicomponent Drug Determinations with a Vidicon Spectrometer", *J. Pharm. Sci.*, 67, 822 (1978).
136. Clayton, A.W., Thiers, R.E., "Direct Spectrophotometric Determination of Salicylic Acid, Acetylsalicylic Acid, Salicylamide, Caffeine, and Phenacetin in Tablets or Powders", *ibid.*, 55, 404 (1966).
137. Abdel-Hady Elsayed, M., Belal, S.F., Elwalily, A.M., Abdine, H., "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen, Salicylamide and Codeine Phosphate in Tablets", *Analyst*, 104, 620 (1979).
138. Sattler, H., "Spektralphotometrische Verfahren zur Bestimmung von Arzneistoffen in pharmazeutischen Präparaten. Spektralphotometrische Bestimmung von Phenacetin, Coffein und Propyphenazon nebeneinander in Tabletten", *Pharm. Ztg.*, 43, 1605 (1969).

139. Fogg, A.G., Sausins, P.J., Smithson, J.R., "The Determination of Paracetamol and Aspirin in Mixtures by Nonaqueous Potentiometric Titrimetry or by Ultraviolet Spectrophotometry", *Anal. Chim. Acta*, 49, 342 (1970).
140. Halim, A.F., "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Caffeine and Ergotamine in Tablets", *Pharmazie*, 36, 157 (1981).
141. Tatrai, O., Mühlemann, H., "Die Gehaltsbestimmung in Suppositoria Acidi Acetylosaliclici Comp.", *Pharm. Acta Helv.*, 43, 465 (1968).
142. Overton, M.W., Alber, L.L., Valentine, R.S., "Semiautomated UV Analysis of Caffeine in Aspirin-Phenacetin-Caffeine Tablets", *J. Pharm. Sci.*, 62, 1524 (1973).
143. Pfandl, A., "Quantitative Bestimmung von Analgetica-Antipyretica-Kombinationen", *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 114, 325 (1974).
144. Namigochar, F., Khorrami, J., "Dosage de L'aspirine, Phénacétine et Caféine par Spectrophotométrie U.V.", *Ann. Pharm. Franç.*, 34, 457 (1976).
145. Yarnelle, M.K., West, K.J., "Modification of an Ultraviolet Spectrophotometric Determination of the Active Ingredients in APC Tablets", *J. Chem. Educ.*, 66, 601 (1989).
146. James, T., "Individual Tablet Analysis for Codeine and Caffeine in Codeine-Aspirin-Phenacetin-Caffeine Tablets", *J. Pharm. Sci.*, 62, 1500 (1973).

147. Gurtoo, H.L., Phillips, B.M., "Determination of Total Salicylates, Phenacetin and/or Total N-Acetyl-p-aminophenol, and Caffeine in Biological Samples and Analgesic Formulations", *ibid*, 62, 383 (1973).
148. Belal, S.F., Abdel-Hady Elsayed, M., Elwalily, A., Abdine, H., "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen and Salicylamide Through Nitrosation and Subsequent Chelation", *Analyst*, 104, 919 (1979).
149. El Kheir, A.A., Belal, S., El Sadek, M., El Shanwani, A., "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen, Oxyphenbutazone and Salicylamide by Nitration and Subsequent Complexation Reactions", *ibid*, 111, 319 (1986).
150. Heise, D., Pflüger, J.C., "Zur Analytik von Analgetica und Antipyretica. Photometrische Bestimmung von Aminophenazon, Phenazon, Phenacetin, Salicylsäure sowie deren Derivaten und Coffein nebeneinander", *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 115, 2024 (1975).
151. Plakogiannis, F.M., Saad, A.M., "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen and Dichloralantipyrine in Capsules", *J. Pharm. Sci.*, 64, 1547 (1975).
152. Drygieniec, D., Jadwiga, B., "Determination of Phenacetin, Pyramidon, and Novalgin in Compound Powders", *Farm. Pol.*, 22, 753 (1966). -Ref. C.A., 67, 57288n (1967).
153. Levine, J., Weber, J.D., "Determination of Antipyrine in Combinations with Other Drugs", *J. Pharm. Sci.*, 54, 636 (1965).

154. Levine, J., "A Rapid Chromatographic Assay of Acetylsalicylic Acid, Acetophenetidin, and Caffeine", J. Am. Pharm. Assoc., 46, 687 (1957).
155. Heuermann, R.F., Levine, J., "The Analysis of Combinations of Acetylsalicylic Acid, Acetophenetidin, and Caffeine with Other Drugs", *ibid*, 47, 276 (1958).
156. Koshy, K.T., "Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Aspirin, Caffeine, and Acetaminophen", J. Pharm. Sci., 53, 1280 (1964).
157. Dibbern, H.W., Scholz, G., "Quantitative Trennung und Bestimmung von Arzneistoffgemischen aus der Gruppe der Analgetika/Antipyretika", Arch. Pharm., 298, 175 (1965).
158. Turi, P., "Assay Procedure for Pharmaceutical Combinations of Aspirin, Phenacetin, Caffeine, and Itobarbital with Phenothiazine Derivatives I", J. Pharm. Sci., 53, 369 (1964).
159. Häberli, E., Béguin, E., "Ionenaustausch und Spektrophotometrie in der Organischpharmazeutischen Analyse", Pharm. Acta Helv., 34, 65 (1959).
160. Häberli, E., Béguin, E., "Ionenaustausch und Spektrophotometrie in der Organisch-Pharmazeutischen Analyse. Bestimmung von Pyrazolonen und Alkaloidbasen Nebeneinander", *ibid*, 35, 13 (1960).
161. Sjöström, E., Nykänen, L., "Ion Exchange Method for Determination of Caffeine in Presence of Antipyrine and Phenacetin", J. Am. Pharm. Assoc., 47, 248 (1958).

162. Sion, H., "The Dosage of a Mixture of Analgesics", *J. Pharm. Belg.*, 19, 265 (1964).
163. Levine, J., "Analysis of Acetylsalicylic Acid and Acetylsalicylic Acid Tablets", *J. Pharm. Sci.*, 50, 506 (1961).
164. Fabrizio, F., "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen, Phenylephrine Hydrochloride, Codeine Phosphate, and Pyrilamine Maleate in Tablets or Powder", *ibid*, 57, 644(1968).
165. Fabrizio, F., "Analysis of Acetaminophen, Phenylephrine Hydrochloride, Diphenhydramine Hydrochloride, and Ascorbic Acid in a Capsule Preparation", *ibid*, 63, 91 (1974).
166. Kitamura, K., Takagi, M., Hozumi, K., "Determination of Aspirin and Salicylic Acid in Aspirin Tablets by Second Derivative Ultraviolet Spectrometry", *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 1484(1984).
167. Konstantianos, D.G., Ioannou, P.C., Efstathiou, C.E., "Simultaneous Determination of Acetylsalicylic and Salicylic Acids in Human Serum and Aspirin Formulations by Second-derivative Synchronous Fluorescence Spectrometry", *Analyst*, 116, 373 (1991).
168. Onur, F., Acar, N., "Determination of Propyphenazone and Caffeine in Sugar-coated Tablets by First Derivative Ultraviolet Spectrophotometry", *J. Fac. Pharm. Gazi*, 5, 167 (1988).
169. Onur, F., Acar, N., "Determination of Paracetamol and Phenprobamate in Sugar-coated Tablets by First Derivative Ultraviolet Spectrophotometry", *ibid*, 6, 23 (1989).

170. Onur, F., Acar, N., "Aspirin ve Kafeinin Farmasötik Preparatlarda Birinci Türev UV Spektrofotometrisi ile Miktar Tayinleri", Ankara Ecz. Fak. Der., 19, 11 (1989).
171. Metwally, M.F., El Shanawani, A., Abdel Aziz, L., Abou Kull, M., "Differential First Derivative Determination of Acetylsalicylic Acid in the Presence of Caffeine", Zhonghua Yaoxue Zazhi, 44, 289 (1992). -Ref. C.A., 117, 198637p (1992).
172. Onur, F., Acar, N., "Kafein ve Parasetamolün Farmasötik Preparatlarda Birinci Türev UV Spektrofotometrisi ile Miktar Tayinleri", FABAD Farm. Bil. Der., 14, 1 (1989).
173. Yurdakul, G., Ersoy, L., Sungur, S., "Comparison of HPLC and Derivative Spectrophotometric Methods for the Determination of Paracetamol and Caffeine in Tablets", Pharmazie, 46, 885 (1991).
174. Cruz, A., Lopez-Rivadulla, M., Fernandez, P., Bermejo, A.M., "Simultaneous Sequential Determination of Compounds of Toxicological Interest in Mixtures by Derivative Spectroscopy", J. Anal. Toxicol., 16, 240 (1992).
175. Açikkol, M., "Simultaneous Determination of Paracetamol and Mephenoxalone by Third-derivative UV Spectrophotometry", J. Pharm. Univ. Mar., 6, 91 (1990).
176. Üstün, M., Sungur, S., "Derivative Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid and Acetylsalicylic Acid Mixtures in Pharmaceuticals", Pharmazie, 47, 459 (1992).

177. Lu, R.G., "Derivative Spectrophotometric Signal Multiplier Method and Its Application to the Determination of Aspirin in Antipyretic Tablets for Infants", Yaoxue Xuebao, 26, 219 (1991). -Ref. C.A., 114, 235140g (1991).
178. Kister, G., Ribes, M.M., Chanal, J., Catterini, A., "Dosage de L'acide Salicylique et de L'acide acétylsalicylique par Spectrophotométrie Infrarouge: Application au Contrôle Unitaire de gélules Renfermant une Préparation Complexe à base D'acide Acétylsalicylique", Ann. Pharm. Franç., 34, 215(1976).
179. Rehse, K., "Arzneimittelanalyse Durch Kernmagnetische Resonanz. Qualitative und Quantitative Analyse von Analgetisch Wirken- den Kombinationspräparaten", Arch. Pharm., 303, 617 (1970).
180. Eberhart, S.T., Hatzis, A., Rothchild, R., "Quantitative NMR Assay for Aspirin, Phenacetin, and Caffeine Mixtures with 1,3,5-Trioxane as Internal Standard", J. Pharm. Biomed. Anal., 4, 147 (1986).
181. Gänshirt, H., "Untersuchung zur Quantitativen Auswertung der Dünnschichtchromatographie. Bestimmung der in Einem Pharma- zeutischen Kombinationspräparat Enthaltenen Komponenten: Cof- fein, Mandelsäurebenzylester, Amidopyrin und Phenacetin", Arch. Pharm., 296, 129 (1963).
182. Pfandl, A., "Gehaltsbestimmung Pharmazeutischer Zubereitungen, die Analgetica und Antipyretica Enthalten", Dtsch. Apoth. Ztg., 108, 568 (1968).
183. Schlemmer, W., Kammerl, E., "Application of Quantitative Thin Layer Chromatography in Drug Assay and Stability Testing. De- termination of Codeine Phosphate, Noscapine, Diphenhydramine

- Hydrochloride, Phenylephrine Hydrochloride, Caffeine, Etofyllin, Phenobarbital and Thiamine Hydrochloride by In Situ Reflectance Spectroscopy", *J. Chromatogr.*, 82, 143 (1973).
184. Thassler, K., Kross, W., "Quantitative Bestimmung Verschiedener Analgetikagemische", *Pharm. Ztg.*, 8, 253 (1972).
185. Allen, L., "Quantitative Determination of Carisoprodol, Phenacetin, and Caffeine in Tablets by Near IR Spectrometry and Their Identification by TLC", *J. Pharm. Sci.*, 63, 912 (1974).
186. Wintersteiger, R., Gübitz, G., "Densitometrische Bestimmung von Analgetikagemischen Durch in situ-Remissionsmessung", *Sci. Pharm.*, 45, 18 (1977).
187. Tománková, H., Vasatová, M., "Densitometrische Bestimmung von Propyphenazon, Paracetamol, Guajacolglycerinether, Coffein und Acetylsalicylsäure in Analgetisch-Antipyretischen Präparaten auf Dünnschichtchromatogrammen", *Pharmazie*, 44, 197 (1989).
188. El Sadek, M., El Shanawany, A., Aboul Khier, A., Rücker, G., "Determination of the Components of Analgesic Mixtures Using High-performance Thin-layer Chromatography", *Analyst*, 115, 1181 (1990).
189. Rosenbaum, D., "Quantitative Analysis of a Multicomponent Analgesic Product Containing Butalbital, Using High Speed Reverse Phase Liquid Chromatography", *Anal. Chem.*, 46, 2226 (1974).
190. Ascione, P.P., Chrekian, G.P., "Automated High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Aspirin, Phenacetin, and Caffeine", *J. Pharm. Sci.*, 64, 1029 (1975).

191. Stuber, B., Müller, K.H., "Hochdruckflüssigkeitschromatographie von Paracetamol, Azetylosalicylsäure und Kodeiniumphosphat", *Pharm. Acta Helv.*, 57, 181 (1982).
192. Cockaerts, P., Roets, E., Hoogmartens, J., "Analysis of a Complex Analgesic Formulation by High-Performance Liquid Chromatography with Column-switching", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 4, 367 (1986).
193. Verma, K.K., Sanghi, S.K., Jain, A., Gupta, D., "Determination of Aspirin by Pre-Column Transacetylation Reaction 3-Aminophenol and Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography: Simultaneous Determination of Aspirin, Acetaminophen, and Caffeine", *J. Pharm. Sci.*, 76, 551 (1987).
194. El Shanawany, A., El Sadek, M., Aboul Khier, A., Rucker, G., "Quantitative Determination of a Mixture of Acetylsalicylic Acid, Paracetamol and Caffeine in the Presence of Their Degradation Products Applying HPLC", *Indian J. Pharm. Sci.*, 53, 209 (1991).
195. Williams, K.J., Li Wan Po, A., Irwin, W.J., "Sample-Solvent-Induced Peak Broadening in the Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography of Aspirin and Related Analgesics", *J. Chromatogr.*, 194, 217 (1980).
196. Henry, R.A., Schmit, J.A., "The Analysis of Analgesics by High-Speed Liquid Chromatography", *Chromatographia*, 3, 116 (1970).
197. Gupta, V.D., "Simultaneous Quantitation of Acetaminophen, Aspirin, Caffeine, Codeine Phosphate, Phenacetin, and Salicylamide by High-Pressure Liquid Chromatography", *J. Pharm. Sci.*, 69, 110 (1980).

198. Fogel, J., Epstein, P., Chen, P., "Simultaneous High-Performance Liquid Chromatography Assay of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid in Film-Coated Aspirin Tablets", *J. Chromatogr.*, 317, 507 (1984).
199. Thomis, R., Roets, E., Hoogmartens, J., "Analysis of Tablets Containing Aspirin, Acetaminophen, and Ascorbic Acid by High-Performance Liquid Chromatography", *J. Pharm. Sci.*, 73, 1830 (1984).
200. Mamolo, M.G., Vio, L., Maurich, V., "Simultaneous Quantitation of Paracetamol, Caffeine and Propyphenazone by High-Pressure Liquid Chromatography", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 3, 157(1985).
201. Santoni, G., Fabbri, L., Gratteri, P., Renzi, G., Pinzauti, S., "Simultaneous Determination of Aspirin, Codeine Phosphate and Propyphenazone in Tablets by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography", *Int. J. Pharm.*, 80, 263 (1992).
202. Rau, H.L., Aroor, A.R., Rao, P.G., "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Analgin and Diazepam in Combined Dosage Forms", *Indian Drugs*, 29, 92 (1991). -Ref. C.A., 116, 201271b (1992).
203. Rau, H.L., Aroor, A.R., Rao, P.G., "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Analgin and Ibuprofen in Combined Dosage Forms", *ibid*, 29, 94 (1991). -Ref. C.A. 116, 201272c (1992).
204. Mikhailova, S., Tencheva, Zh., Chakurova, P., "Qualitative and Quantitative Methods for Analysis of Paracofdal Tablets", *Probl. Farmakol. Farm.*, 2, 107 (1988). -Ref. C.A., 110, 141656v (1989).

205. Barnes, A.R., "Determination of Caffeine and Potassium Sorbate in a Neonatal Oral Solution by HPLC", *Int. J. Pharm.*, 80, 267 (1992).
206. McSharry, W.O., Savage, I.V.E., "Simultaneous High-Pressure Liquid Chromatographic Determination of Acetaminophen, Guai-fenesin, and Dextromethorphan Hydrobromide in Cough Syrup", *J. Pharm. Sci.*, 69, 212 (1980).
207. Carnevale, L., "Simultaneous Determination of Acetaminophen, Guai-fenesin, Pseudoephedrine, Pholcodine, and Paraben Preser-vatives in Cough Mixture by High-Performance Liquid Chroma-tography", *ibid*, 72, 196 (1983).
208. Menyharth, A., Mahn, F.P., Heveran, J.E., "Rapid Quantitative Determination of Three Active Ingredients in Liquid Antitus-sive Preparations by High-Speed Liquid Chromatography", *ibid*, 63, 430 (1974).
209. Gupta, V.D., Heble, A.R., "Quantitation of Acetaminophen, Chlor-pheniramine Maleate, Dextromethorphan Hydrobromide, and Phe-nylpropanolamine Hydrochloride in Combination Using High-Per-formance Liquid Chromatography", *ibid*, 73, 1553 (1984).
210. Onur, E., "Drajede Parasetamol, Fenilefrin Klorhidrat, Karbi-noksamin Maleat ve Noskapinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatog-rafisi Yöntemi ile Analizi", *FABAD Farm. Bil. Der.*, 9, 212 (1984).
211. Volkmann, D., "Quantitative Bestimmung eines Analgetikagemi-sches mit Lobar-Fertigsäulen im Niederdruckbereich", *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 118, 501 (1978).

212. Baum, R.G., Cantwell, F.F., "Liquid Chromatographic Analysis of Analgesics on Amberlite XAD-7", *Anal. Chem.*, 50, 280 (1978).
213. Stevenson, R.L., Burtis, C.A., "The Analysis of Aspirin and Related Compounds by Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 61, 253 (1971).
214. Baum, R.G., Cantwell, F.F., "Determination of Salicylic Acid and Aspirin in Multicomponent Tablets by Liquid Chromatography on a Nonionic Resin", *J. Pharm. Sci.*, 67, 1066 (1978).
215. Mohammed, H.Y., Cantwell, F.F., "Liquid Chromatographic Analysis of Pharmaceutical Syrups Using Pre-Columns and Salt-Adsorption on Amberlite XAD-2", *Anal. Chem.*, 50, 491 (1978).
216. Honigberg, I.L., Stewart, J.T., Smith, M., "Liquid Chromatography in Pharmaceutical Analysis: Determination of Muscle Relaxant-Analgesic Mixtures Using Normal Phase Chromatography", *J. Pharm. Sci.*, 67, 675 (1978).
217. Melin, A.T., Askemark, Y., "Reversed Phase Ion Pair Chromatography with an Adsorbing Stationary Phase and a Hydrophobic Quaternary Ammonium Ion in the Mobile Phase. Quantitative Analysis of Multi-Component Analgesic Pharmaceutical Preparations", *Acta Pharm. Succ.*, 16, 289 (1979).
218. Stevens, M.R., "GLC Analysis of Caffeine and Codeine Phosphate in Pharmaceutical Preparations", *J. Pharm. Sci.*, 64, 1686 (1975).
219. Plakogiannis, F.M., Saad, A.M., "Simultaneous GLC Determination of Acetaminophen, Dichloralantipyrine, and Isometheptene Mucate", *ibid*, 66, 604 (1977).

220. Cometti, A., Bagnasco, G., Maggi, N., "GLC Analysis of Multicomponent Suppository Formulations", *ibid*, 60, 1074 (1971).
221. Fabrizio, F., "Simultaneous GLC Analysis of Salicylamide, Phenylpropanolamine Hydrochloride, Caffeine, Chlorpheniramine Maleate, Phenylephrine Hydrochloride, and Pyrilamine Maleate in Capsule Preparations", *ibid*, 69, 854 (1980).
222. Ali, S.L., "A Comparative Study of the Derivatisation of Salicylic Acid and Acetylsalicylic Acid with BSTFA, MSTFA and Methyl Iodide in Presence of Potassium Carbonate Prior to GLC Determination", *Chromatographia*, 8, 33 (1975).
223. Thomas, B.H., Solomonraj, G., Coldwell, B.B., "The Estimation of Acetylsalicylic Acid and Salicylate in Biological Fluids by Gas-Liquid Chromatography", *J. Pharm. Pharmacol.*, 25, 201 (1973).
224. Rance, M.J., Jordan, B.J., Nichols, J.D., "A Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid, Salicylic Acid and Salicylamide in Plasma by Gas Liquid Chromatography", *ibid*, 27, 425, (1975).
225. Hoffman, A.J., Mitchell, H.I., "Gas Chromatographic Analysis of Acetylsalicylic Acid, Acetophenetidin, and Caffeine Mixture in Pharmaceutical Tablet Formulations", *J. Pharm. Sci.*, 52, 305 (1963).
226. Oesch, M., Sahli, M., "Zur gaschromatographischen Bestimmung von Phenacetin, Coffein, Antipyrin und Dimethylaminoantipyrin in pharmazeutischen Spezialitäten", *Pharm. Acta Helv.*, 49, 317 (1974).

227. Monard, A., "Application de la Chromatographie Gazeuse a L'analyse des Médicaments. Détermination Quantitative D'anti-pyrétiques en Mélange", J. Pharm. Belg., 23, 323 (1968).
228. Watson, J.R., Crescuolo, P., Matsui, F., "Rapid Simultaneous Determination of Salicylic Acid and Aspirin by GC: Analysis of Synthetic Aspirin-Salicylic Acid Mixtures and of Single-Component Aspirin Tablets", J. Pharm. Sci., 60, 454 (1971).
229. Markovic, S., Kusec, Z., "Determination of Caffeine, Paracetamol and Propyphenazone in Pharmaceutical Preparations by Gas Chromatography Method", Pharmazie, 45, 935 (1990).
230. Markovic, S., Kusec, Z., "Determination of Butalbital, Caffeine and Propyphenazone in Pharmaceutical Preparations by Gas Chromatography Method", *ibid*, 46, 886 (1991).
231. Brownlee, G.W., "The Assay of Tab. Codein. Co.", Pharm. J., 152 (1943).
232. Wirth, C.M.P., "Die Bestimmung von Acetylsalicylsäure, Phenazetin und Koffein in Tabletten", Pharm. Acta Helv., 34, 283 (1959).
233. Stainier, C., Lapière, Ch., "Analyse Quantitative d'un Mélange Antinévralgique Contenant de la Phénylsemicarbazide", *ibid*, 33, 85 (1958).
234. Feltkamp, H., "Ein Beitrag zur Gehaltsbestimmung von Coffein-Natriumbenzoat, Coffein-Natriumsalicylat und Theobromin-Natriumsalicylat", Dtsch. Apoth. Ztg., 104, 99 (1964).

235. Gachon, M., Maire, G., Eloy, F., "Dosage du Mélange Noramidopyrine Méthanesulfonate de Sodiummétabisulfite de Sodium", *Ann. Pharm. Franç.*, 32, 697 (1974).
236. Rao, S.N., Ramamoorthy, M., Mohan, N.R.C., Dar, R.N., "Estimation of Analgin and Ascorbic Acid in Formulations", *Indian J. Pharmacy*, 37, 98 (1975).
237. Botev, B., "Quantitative Determination of a Caffeine-Containing Drug", *Probl. Farm.*, 9, 18 (1981). -Ref. C.A., 95, 103388y (1981).
238. Srivastava, M.K., Ahmad, S., Singh, D., Shukla, I.C., "Titrimetric Determination of Dipyrone and Paracetamol with Potassium Hexacyanoferrate(III) in an Acidic Medium", *Analyst*, 110, 735 (1985).
239. Lin, S., Blake, M.I., "Determination of Acetylsalicylic Acid and Barbiturate Combinations by Differentiating Nonaqueous Titration", *J. Pharm. Sci.*, 55, 781 (1966).
240. Lin, S., Blake, M.I., "Determination of Acetylsalicylic Acid and Barbiturate Combinations in Dosage Forms", *ibid*, 56, 43 (1967).
241. Agarwal, S.P., Walsh, M.I., "Differential Titrimetric Determination of Salicylamide-Paracetamol Combinations in Non-Aqueous Medium", *Indian J. Pharmacy*, 36, 47 (1974).
242. Rhodes, H.J., DeNardo, J.J., Bode, D.W., Blake, M.I., "Differentiating Nonaqueous Titration of Aspirin, Acetaminophen, and Salicylamide Mixtures", *J. Pharm. Sci.*, 64, 1386 (1975).

243. Blake, M.I., Hunt, J., Rhodes, H.J., "Analysis of Acetaminophen and Barbiturate Combinations by Differentiating Nonaqueous Titration", *ibid*, 63, 89 (1974).
244. Honigberg, I.L., Stewart, J.T., Smith, A.P., "Liquid Chromatography in Pharmaceutical Analysis: Determination of Cough-Cold Mixtures", *ibid*, 63, 766 (1974).
245. Twitchett, P.J., Moffat, A.C., "High-Pressure Liquid Chromatography of Drugs an Evaluation of an Octadecylsilane Stationary Phase", *J. Chromatogr.*, 111, 149 (1975).
246. Twitchett, P.J., Gorvin, A.E.P., Moffat, A.C., "High-Pressure Liquid Chromatography of Drugs. An Evaluation of a Microparticulate Cation-Exchange Column", *ibid*, 120, 359 (1976).
247. Harzer, K., Barchet, R., "Trennung und Nachweis einiger gebräuchlicher Analgetika durch die Hochdruckflüssigkeitschromatographie", *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 116, 1229 (1976).
248. Baker, J.K., Skelton, R.E., Ma, C.Y., "Identification of Drugs by High-Pressure Liquid Chromatography with Dual Wavelength Ultraviolet Detection", *J. Chromatogr.*, 168, 417 (1979).
249. Takeuchi, T., Ishii, D., Nakanishi, A., "Instrumentation for Fast Micro High-Performance Liquid Chromatography", *ibid*, 285, 97 (1984).
250. Matsushima, Y., Nagata, Y., Niyomura, M., Takakusagi, K., Takai, N., "Analysis of Antipyretics by Semimicro Liquid Chromatography", *ibid*, 332, 269 (1985).

251. Jane, I., McKinnon, A., Flanagan, R.J., "High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Basic Drugs on Silica Columns Using Non-Aqueous Ionic Eluents. Application of UV, Fluorescence and Electrochemical Oxidation Detection", *ibid*, 323, 191 (1985).
252. Gimet, R., Filloux, A., "Identification et Dosage D'alcaloides en Mélange Dans une Forme Pharmaceutique par Chromatographie Liquide Haute Performance", *ibid*, 177, 333 (1979).
253. Guillemin, C.L., Thomas, J.P., Thiault, S., Bounine, J.P., "Spherosil for High-Performance, Moderate-Pressure Liquid Chromatography", *ibid*, 142, 321 (1977).
254. Gänshirt, H., Malzacher, A., "Die Dünnschichtchromatographie in der Arzneimittelanalyse", *Arch. Pharm.*, 293/65, 925(1960).
255. Hsiu, H.C., Shih, T.B., Wang, K.T., "Polyamide Layer Chromatography of Some Antipyretics", *J. Chromatogr.*, 41, 489 (1969).
256. Serfontein, W.J., Botha, D., Villiers, L.S., "A Rapid and Comprehensive System for the Routine Identification of Drugs in Biological Material Based on Microphase Extraction and Drug Colour Profiles", *ibid*, 115, 507 (1975).
257. French, W.N., Wehrli, A., "Thin-Layer Chromatography of Ergot Alkaloids in Pharmaceutical Preparations", *J. Pharm. Sci.*, 54, 1515 (1965).
258. Khemani, L., French, I.W., "Thin-Layer Chromatography of Amino-benzoates and Salicylates", *J. Chromatogr.*, 41, 274 (1969).

259. Chiang, H.C., Chiang, T.M., "Polyamide-Kieselguhr Layer Chromatography of Antipyretics", *ibid*, 47, 128 (1970).
260. Conine, F., Paul, J., "A Thin-Layer Chromatographic Procedure for the Separation of Aspirin, Cocaine, Caffeine, Codeine, Heroin, 6-Monoacetyl Morphine, and Morphine", *Mikrochimica Acta*, 443, (1974).
261. Masoud, A.N., "Systematic Identification of Drugs of Abuse: TLC", *J. Pharm. Sci.*, 65, 1585 (1976).
262. Pernarowski, M., Knevel, A.M., Christian, J.E., "Application of Absorbancy Ratios to the Analysis of Pharmaceuticals I. Theory of the Analysis of Binary Mixtures", *ibid*, 50, 943 (1961).
263. Sattler, H., "Spektralphotometrische Methoden zur Bestimmung von Arzneistoffen in pharmazeutischen Präparaten. Eine Einführung in die Technik der UV-Spektralphotometrie Speziell bei der Bestimmung von Substanzgemischen", *Pharm. Ztg.*, 39, 1395 (1966).
264. Bonnier, J.M., Gaudemaris, G., "Simplifications Apportées à L'analyse Spectrophotométrique d'un Mélange de Deux Constituants", *Bull. Soc. Chim. France*, 567 (1955).
265. Öztunç, A., "Karışımların Spektrofotometrik Analizleri", *Mar. Üniv. Ecz. Der.*, 3, 99 (1987).
266. Pernarowski, M., Knevel, A.M., Christian, J.E., "Application of Absorbancy Ratios to the Analysis of Pharmaceuticals. Analysis of Ternary Mixtures", *J. Pharm. Sci.*, 51, 688 (1962).

267. Gennaro, A.R., Remington's Pharmaceutical Sciences, 17. Baskı, s. 104, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1985).
268. British Pharmacopoeia, 2, s. 901, Majesty's Stationery Office, London (1988).
269. U.S. Pharmacopoeia, 22. Baskı, U.S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville (1990).
270. Pharmacopoeia of Japan, 12. Baskı, s. 526, The Ministry of Health and Welfare, Japan (1991).

