

3073

T.C.  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

BAZI SEDATİF İLAÇ MADDELERİNİN  
YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ İLE  
MİKTAR TAYİNLERİ

( YÜKSEK LİSANS TEZİ )

Ecz. MERT ÜLGEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. ÜNAL YARS  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ  
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

İSTANBUL - 1987

T. C.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi

## İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BÖLÜM .....	2
2.1. Diazepam Hakkında Genel Bilgiler .....	2
2.2. Diazepam Üzerinde Yapılan Çalışmalar .....	3
2.2.1. Titrimetrik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar .....	3
2.2.2. Diğer Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar .....	4
2.2.3. Spektrofotometrik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar .....	4
2.2.4. Kromatografik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar .....	5
2.2.4.1. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar ...	5
2.2.4.2. Gaz Likit Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar .....	6
2.2.4.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar .....	6
2.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Hakkında Genel Bilgiler .....	9
3. DENEL BÖLÜM .....	12
3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler .....	12
3.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler .....	13
3.3. Yöntem .....	14
3.4. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması .....	24
4. SONUÇ .....	31
5. KAYNAKLAR .....	33

## 1. GİRİŞ

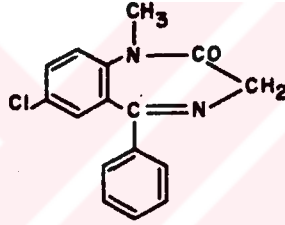
Sedatif ilaçlar, günümüzde yaygın kullanım alanına sahip olup gerek dozaj gerekse saflıkları açısından müsamaha göstermeksizin kontrol edilmesi gereken maddelerdir.

Bu özellikleri nedeniyle hassas, süratli ve güvenilir tayin yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı kullanılarak sedatif etkide ( 1,4-benzodiazepin türevi ) DİAZEPAM'ın ham madde ve katı bir farmasötik şekil olan kapsüllerinde miktar tayini için yeni bir yöntem araştırılmıştır.

## 2. GENEL BÖLÜM

### 2.1. Diazepam Hakkında Genel Bilgiler



DIAZEPAM

Diazepam ; " 7-kloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-on " yapısında bir maddedir. 131-135 °C'de eriyen, beyazdan sarıya değişen renklerde, kokusuz, kristal bir tozudur. Suda az, kloroform ve metanolde kolay çözünür. 0.1N etanollü sülfürik asitteki maksimum absorpsiyonları 242 ± 2 nm (a=100) , 285 ± 2 nm (a=43.7) ve 368 ± 2 nm (a=14.5) 'dir.

Nükleer Magnetik Rezonans Spektrumuna ait protonlar, kimyasal kaymalar ve tipleri sırası ile ; C<sub>1</sub> metil, 6.62  $\tau$ (ppm), s (J/Hz) ; C<sub>3</sub> (a), 5.19  $\tau$ (ppm), d(11) (J/Hz) ; C<sub>3</sub> (b), 6.25  $\tau$ (ppm), d(11) (J/Hz) ; C<sub>6</sub>,C<sub>8</sub>,C<sub>9</sub>,Ph, 2.55  $\tau$ (ppm), m(J/Hz)'dir.

Infrared Spektrumuna ait bulgular; NH,3390 ; -C=O,1680 ; Ph 1560,1480 pikleridir.

Mass Spektrumunda, diazepam için moleküler iyon m/e 284'de görülmüştür. Bulunan en önemli kütleler 256 m/e,255 m/e ve 249 m/e iyon pikleri olup CH<sub>2</sub>N,HCO ve Cl iyonlarının kaybıyla oluşmuştur.(1)

Diazepam, trankilizan etkiyle kullanılan bir ilaçtır. Vücutta yavaş metabolize edilmesi nedeni ile etki süresi uzun olan ve santral kas gevşetici olarak da kullanılan bir maddedir. Ayrıca, belirgin antikonvülsan etkinlik de gösterir. Bu etki bakımından en güçlü benzodiazepindir. (2)

Diazepamın majör metabolizma yolu, 1. konumdaki azotta demetilasyon, 3. konumdaki karbona hidroksil grubu katımı ile yürür. Kandaki primer aktif metaboliti N-demetil diazepam, idrardaki primer metaboliti oksazepam glukuronitleridir.

Asit hidrolizi, 2-metilamino-5-kloro benzofenon ve glisin verir. Metabolik demetilasyon sonucunda oluşan N- demetil diazepamın asit hidrolizi ise 2-amino-5-kloro benzofenon ve glisin verir. (3)

Diazepam, ilk olarak Strenbach, Fryer, Metlesich, Reeder, Sach, Saucy ve Stempel (4) tarafından ; 2-metilamino-5-kloro benzofenonun piridinli vasatta bir amino asit olan glisinin etil esteriyile reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir.

## 2.2. Diazepam Üzerinde Yapılan Çalışmalar

### 2.2.1. Titrimerik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar

İlk titrimetrik tayin, aseton ve asetik asit anhidriti içinde perklorik asitle yapılmış olup titrasyonun bitiş noktası kristal viole indikatörü ile veya potansiyometrik olarak tespit edilmiştir. (5) Farmasötik preparat şekillerinden yağlı solüsyonlarında (6) ve tabletlerinde (7) yine susuz vasatta perklorik asitle aynı yöntem kullanılarak miktar tayini yapılmıştır.

### 2.2.2. Diğer Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar

Diazepamın farmasötik preparatlarında veya kendisinde densitometrik (8,9), kompleksometrik (10), polarografik (11,12,13) tayinleri yapılmıştır.

### 2.2.3. Spektrofotometrik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar

İzotov ve arkadaşları (14), diazepamın 0.1 N HCl'deki eriğinde maksimum absorpsiyonunu tayin ederek farmasötik preparatlara uygulamışlardır. Daha sonra diazepamın sülfürik asitli alkollü eriğinin maksimumu tayin edilmiş ve farmasötik preparatlarda miktar tayini yapılmıştır.(15) Diğer bir çalışmada diazepamın asitli alkollü eriğinde hidroliz mahsulleriyle birlikte spektrofotometrik tayini yapılmış ve farmasötik preparatlarına uygulanabileceği bildirilmiştir. (16)

Popovici ve arkadaşları (17) ; diazepamı pikrik asitle renklendirip, renkli maddenin kloroform ile ekstraksiyonundan sonra absorpsiyonunu 400 nm de ölçerek miktar tayininde kullanılabileceğini bildirmişlerdir, yine diazepamın % 10 HCl ile verdiği sarı renkli solüsyonun absorbansını 365 nm de ölçmüşler ve 30-140 µg/ml konsantrasyonlarda Beer-Lambert kanununa ulduğunu belirterek farmasötik preparatlarda miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. (18)

Diazepam ve metabolitlerinin biyolojik sıvılarda UV tetkikleri çok yeni olarak yapılmıştır. (19)

Diazepamın farmasötik şekillerinden tablet, kapsül ve enjeksiyonluk çözeltilerinde tropaeolin 000 ile doğrudan veya hidrolizi sonucu oluşan glisini ninhidrin ile renklendirip renkli maddenin sırasıyla 485 ve 570 nm lerde absorbansları ölçülmüş ve miktar tayinine geçilmiştir. (20,21)

Bazı arařtırıcılar diazepamın farmasötik Őekillerinde (tablet, kapsül, damla) spektrofotometrik tayinini, numuneyi organik bir solventle ekstre ettikten sonra UV sahada absorbanları tetkik ederek gerćekleřtirmişler ve miktar tayinine gećmişlerdir.(22, 23,24)

#### 2.2.4. Kromatografik Yöntemlerle Yapılan ćalıřmalar

##### 2.2.4.1. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan ćalıřmalar

Diazepamın gerek tek madde halinde gerekse biyolojik sıvılarda veya farmasötik Őekillerinde ince tabaka kromatografisi ile ayrılmasını ve değişik belirtećler kullanarak lekeleri teğhis etmeyi birćok araştırıcı denemiştir. Suziki, Yamamoto ve Okuo (25), Vignoli ve arkadaşları (26), Radionova ve Izotov (27), Wouters ve arkadaşları (28), Pasich ve Wojdak (9) ; adsorban olarak silika-jel G kullanmışlar, değişik solvent sistemleriyle developmandan sonra lekeleri % 1 HgNO<sub>3</sub>, İodoplatinat eriyiği ve Dragendorff gibi belirtećlerle tespit etmişlerdir.

Schuetz ve arkadaşları (29) diazepam ve benzerlerinin; asit reaksiyon ürünleri olan glisin ve benzofenondan ayrılmalarını, silikajel adsorban kullanarak iki ayrı sistem ile sağlamışlardır.

Biyolojik sıvılardan kan ve idrarda, diazepam ve metabolitlerinin ince tabaka kromatografisi ile ayrılmaları değişik solvent sistemleriyle yapılmış ve lekeler UV de tetkik edilmiştir.(30, 31,32) Merwe ve Steyn (33) aynı Őekilde ćalıřarak spektrofotometrik yöntem ile serumda diazepam ve metabolitlerinin miktar tayinlerini yapmışlardır.

Diazepamın farmasötik preparatlarından tablet ve enjeksiyonluk solüsyonlarında silikajel plaklarda muhtelif solvent sistemleriyle ayrılmaları yapılmış ve densitometrik tayinler ile çok iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir. (34)

Yine diazepam enjeksiyon örneklerinde silikajel & adsorban olarak kullanılarak yapılan ayırmalarda elde edilen lekeler 285 nm de incelenmiş ve ısı-ışık etkisiyle absorbansın arttığı bildirilmiştir. (35)

#### 2.2.4.2. Gaz Likit Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar

Barazi ve arkadaşları (36) diazepam dahil birçok benzo-diazepin türevlerinin asetonadaki solüsyonlarında N-P-spesfik dedektör kullanarak tayinlerini yapmışlardır. Dement'eva, Zavrazhna-ya ve Potapova (37), azot ihtiva eden barbitüratlar, lokal anestetikler ve diğer ilaç grupları arasında diazepamı da alev iyonizasyon dedektörünü kullanarak incelemişler ve retensiyon hacimlerini vermişlerdir.

Biyolojik sıvılarda diazepam ve metabolitlerinin gaz kromatografisi ile yapılan çalışmalarına rastlanmaktadır. (38,39,40)

#### 2.2.4.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar

Diazepam ve metabolitlerinde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile yapılan çalışmalara 1970 senesinden itibaren rastlanmaktadır.

Scott ve Bommer (41), diazepam, oksazepam, 3-hidroksidiazepam ve N-demetildiazepamın birbirlerinden ve metabolitlerinden ayrılmalarını ; Durapak OPN kolon ve (95:5) Metanol-Su solvent sistemini kullanarak 254 nm de UV dedektör ile incelemişlerdir.



Baker ve arkadaşları (42) diazepamın  $\mu$ -Bondopak  $C_{18}$  kolonda, (2:3)  $NaH_2PO_4$  ile tamponlanmış Metanol-Su solvent sistemini kullanarak 254 ve 280 nm deki absorbanları ölçmüşler,retensiyon zamanını vermişlerdir.

Daldrup, Susanto ve Michalke (43) birçok ilaç arasında diazepamı da Oktadesilsilan kolon kullanarak incelemişler ve retensiyon zamanlarını araştırmışlardır.

Phu Lich ve arkadaşları (44) bazı benzodiazepinler arasında diazepamın sırasıyla (65:35) Metanol-Su ve (25:75) Fosfat tamponu-Asetonitril-Metanol) olmak üzere iki ayrı solvent sisteminde mukayeselerini yapmışlardır.

Dong ve arkadaşları (45) diazepamı  $C_{18}$  kolonda (35:35:30) Asetonitril-Metanol-% 5  $NH_4OH$  solvent sistemini kullanarak retensiyon zamanlarını ve pik alanlarını incelemişlerdir.

Diazepamın Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı ile yapılan çalışmalarının büyük bir bölümünü biyolojik sıvılardaki çalışmalar teşkil etmektedir.

Kabra, Stevens ve Gargy (46) diazepamı kanda, prazepam internal standartına karşı mobil faz olarak (35:65) Asetonitril-0.1 M Sodyumasetat tamponu kullanarak 240 nm de tetkik etmişler ve konsantrasyonunu incelemişlerdir.

Tjaden ve arkadaşları (47) serum, idrar ve salyada diazepam ve metabolitlerini;stasyoner faz olarak metil silika, mobil faz olarak % 50 metanol kullanıp 254 nm de tetkik etmişler, ilacın alınışından sonra bu sıvılardaki terapötik seviyeleri tayin etmişlerdir.

Raisys ve arkadaşları (48) plazmada diazepam ve nordiazepam tayinlerinde nitrazepamı internal standart olarak almışlar, mobil faz olarak da fosfat tamponlu asetonitril kullanarak çalışmışlardır.

Violon ve arkadaşları diazepamı, kendisinde (49) ve biyolojik sıvılarda (50) olmak üzere, hidrolizi ile açığa çıkan benzofenonları halinde (1:1) Metanol-Su mobil fazı ile LiChrosorb Hibar kolonda çalışarak camazepam internal standartına karşı ayırmışlar, 254 nm de tetkik etmişlerdir.

Benzodiazepin türevlerinin katı farmasötik şekillerinde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile yapılan analizlere ilk olarak Bailey'in çalışmasında (51) rastlamaktayız. Bailey, 10 mg diazepam tabletlerini % 85.4 ve 5 mg diazepam tabletlerini % 108.8 saflıkta bulduğunu bildirerek USP XIX % 90- 100 limiti ile mukayeselerini yapmıştır.

Noggle ve Clark (52) diazepam ve benzerlerinin diğer katı farmasötik şekillerinde, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile ayrılmalarını  $\mu$ -Bondopak C<sub>18</sub> kolonda, pH 8.04 fosfat tamponlu metanolü mobil faz olarak kullanarak sağlamışlardır.

Emery ve Kowtko (53) ; 2, 5 ve 10 mg lık diazepam tabletlerinin ayrılmalarında benzenin metanoldeki solüsyonunu internal standart ve (65:35) Metanol-Su solüsyonunu mobil faz olarak kullanmışlar, 254 nm de UV dedektör ve  $\mu$ -Bondopak C<sub>18</sub> kolon ile çalışmışlardır. Miktar tayinini pik yüksekliklerini ölçerek gerçekleştirmişlerdir.

Baker ve Fifer (54) diazepam tabletlerinin bir oktadesil zıt faz kolonda, potasyum fosfatın Metanol-Su karışımındaki solüsyonunu mobil faz olarak kullanarak yaptıkları tayinlerde, 254 ve 280 nm lerde retensiyon zamanlarını incelemişlerdir.

### 2.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Hakkında Genel Bilgiler

Analizlerde kullanılan ayırma yöntemlerinden birisi de kromatografi olup; numunenin hareketli bir faz ile (mobil faz),durgun bir faz (stasyonere faz) arasında dağılması esasına dayanır ve ayırma çeşitli sistemlerle yapılır. Bunlar :

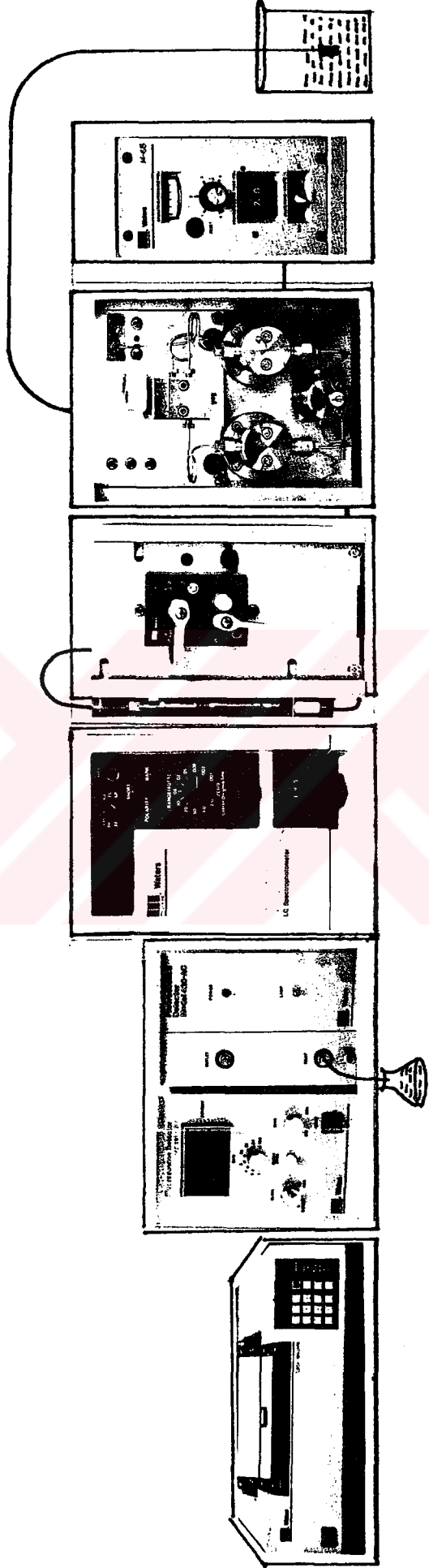
- " a. Kağıt Kromatografisi
- b. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)
- c. Sütun Kromatografisi
- d. Gaz Kromatografisi (GC)
- e. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) " olarak sınıflandırılır.

Bu çalışma Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yönteminden yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz, bir pompa ve buna bağlı solvent dağıtıcı sistem, çözücü deposu, örnek uygulama yeri, kolon, dedektör, toplama kabı ve integratörden ibarettir.

Bu yöntem ile molekül ağırlığı 50'den birkaç milyona kadar olan maddelerin analizi yapılabilir. Maddenin herhangi bir çözücünde çözünmesi ayırmayı sağlamak için yeterlidir.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı ile adsorpsiyon, partiyon, iyon değiştirme ve jel filtrasyon tekniklerine göre çalışmak mümkündür. Bu araştırmada kullandığımız sistem dağılma esasına dayanmaktadır. Çözünmüş madde hareketli faz ile durgun faz arasında dağılıma uğrar. Durgun faz, üzeri sıvı kaplanmış veya kimyasal reaksiyonla bağlanmış dolgu maddeleridir. Dolgu maddeleri çok küçük tane-cikli partiküller olup bir basınç uygulanmasıyla mobil fazın kolon içinde kolaylıkla geçişi sağlanmaktadır.

Maddeler az ya da çok tutulmalarına bağlı olarak, kolonu farklı zamanlarda terk ederler. Değişik sistemde çalışan dedektörler (refraktif index, polarografik, fluoresans, UV ve konduktivite dedektörleri) ile tespit edildikten sonra yazıcıda kaydedilirler.



ŞEKİL I - - YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOGRAFİ CİHAZI

Elde edilen kromatogramlar maddenin miktar tayininin yapılmasında birkaç şekilde değerlendirilebilir :

1. Standart Eğri Yöntemleri

a. Eksternal Standart Yöntemi : Pik alanlarına karşı konsantrasyon grafiği çizilir ve bilinmeyen maddenin pik alanına tekabül eden konsantrasyon grafikten bulunur.

b. Internal Standart Yöntemi : Bu yöntemde, referans standart yanında benzer yapıda bir internal standart kullanılmış olması gereklidir. Referans standart alanının internal standart alanına oranı ordinat, konsantrasyonlar absis olmak üzere bir grafik çizilir. Bilinmeyen maddenin pik alanı oranına tekabül eden konsantrasyon grafikten bulunur.

2. Mukayese (Orantı) Yöntemi

Gerek internal standartla beraber, gerekse sadece etken madde kullanılarak hazırlanan konsantrasyonları belli çözeltilerden alınan kromatogramlar, aynı şartlarda konsantrasyonu bilinmeyen çözeltilerden alınan kromatogramlarla mukayese edilerek bilinmeyen ağırlık hesaplanır :

$W_x$  → Bilinmeyen Ağırlık  
 $A_x$  → Bilinmeyenin Alanı  
 $W_b$  → Bilinen Ağırlık  
 $A_b$  → Bilinen Alan

$W_b$  →  $A_b$  ise  
 $W_x$  →  $A_x$  olur

Buradan :

$$W_x = \frac{A_x \cdot W_b}{A_b} \text{ bulunur.}$$

Daha hassas sonuç elde etmek için hesaplanan bu  $W_x$  değeri bir düzeltme faktörü (f) ile çarpılır.

Bu çalışmada internal standart kullanılmış olup sonuçlar pik alanlarının mukayesesi esasına dayanarak ölçüm yapan elektronik bir integratör yardımıyla alınmıştır.

### 3. DENEL BÖLÜM

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Madde ve Çözeltiler

Diazepam Referans Standartı<sup>1</sup> ve Oksazepam Referans Standartı<sup>2</sup> sırası ile Deva ve Wyeth İlaç Fabrikalarından temin edildi. Her iki standart da Farmakopelerin göstermiş olduğu limitlere uygundu.

Standart maddeleri ve farmasötik preparatları çözmek, ekstre etmek, mobil fazı hazırlamak için Metanol<sup>3</sup> kullanıldı.

Standart maddeler (70:30) Metanol-Su karışımında çözüldü. Mobil faz çözeltilisinin hazırlanmasında yine (70:30) Metanol-Su karışımı kullanıldı.

Çalışmada kullanılacak bidistle suyu hazırlamak için, önce deiyonize su cihazı ile iyonlarından arındırılmış su hazırlandı. Bu su, distilasyon cihazı ile  $KMnO_4$  dan bir kez distile edildi. Cam kaplarda saklandı ve her defasında 24 saat içerisinde kullanıldı.

<u>Diazepam (R.S)<sup>1</sup></u>	<u>Oksazepam (R.S)<sup>2</sup></u>	<u>Metanol<sup>3</sup></u>
% 99 - 101	% 99.50	Merck
Ver.no : 85-721 (depo)	USP Rx 040	Art.no : 6008
15.9.1986/ Deva Holding	İtem no : 556020	
	17.7.1986/ wyeth	

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı :

"Waters 510 Model Pompa ve buna bağlı solvent dağıtıcı sistem,  
Waters  $\mu$ - bondopak C<sub>18</sub> kolon,  
Lambda-Max 481 LC - deęişebilir dalga boylu UV Spektrofotometre,  
Waters 730-Model Data Modül" den ibarettir.

Sartorius analitik A 200 S terazi

Solvent Süzme Kiti :

" 1 litrelik dibi düz tromp erleni, bir cam filtre ve 300 ml lik  
bir huniden oluşan "Millipore model" düzeneęe, MODEL V 120-AE  
Vak'um Pompasının bağlanması ile" oluşmuştur.

0.5  $\mu$ m Millipore FH-tip organik filtreler

0.45  $\mu$ m Millipore HV-tip organik filtreler

10 ml lik Hamilton U6K süzme injektörü

25  $\mu$ l lik Hamilton U6K injektör

Elektromag M-22 tip Magnetik Karıştırıcı

Bransonic Model B 104879 Ultrasonik Banyo

NÜVE-MIX (Vortex) Tüp Çalkalayıcı

Andreas Hettieh D-72 Model Santrifüj Cihazı kullanıldı.

### 3.3. Yöntem

Referans standart maddeleri çözmek ve mobil fazı hazırlamak amacıyla 70 kısım metanol, 30 kısım bidistile su ile 250 cc. lik şilifli bir mezürde birleştirildi. Karışım 10 dakika magnetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra 15 dakika ultrasonik banyoda tutularak degaze edildi. Süzme kiti yardımıyla 0.5 µm luk FH tip organik filtreden süzülerek sıkı kapalı renkli bir şişeye alındı.

Diazepam referans standartının ve farmasötik preparatların miktar tayinlerinde, diazepam referans standartı ile benzer kimyasal yapıda ve molekül ağırlıkta olan, yakın maksimumunda absorpsiyon yapan oksazepam referans standartının bu çalışmada "Internal Standart" olarak kullanılabilceği düşünöldü. Her iki standart ile bir seri ön deneme yapılarak ideal şartlar tespit edildi.

Internal standart çözeltisini (STOK I) hazırlamak için, 10 mg oksazepam referans standart tam olarak tartıldı ve 50 ml lik bir balon jøjeye aktarıldı. Bir miktar (70:30) Metanol-Su çözücüsüyle çalkalandı ve aynı çözücü ile bu hacme tamamlandı. Bu çözelti, 10 ml lik Hamilton İnjektöre takılan 0.45 µm luk organik HV tip filtre yardımı ile kapaklı bir tübe süzöldü.

Referans standart çözeltisini (STOK II) hazırlamak için, 10 mg diazepam referans standart tam olarak tartıldı ve 50 ml lik bir balon jøjeye aktarıldı. Bir miktar (70:30) Metanol-Su çözücüsüyle çalkalandı ve aynı çözücü ile bu hacme tamamlandı. Bu çözelti, 10 ml lik Hamilton İnjektöre takılan 0.45 µm luk organik HV tip filtre yardımı ile kapaklı bir tübe süzöldü.



Stok I çözeltisinden 1'er ml alınıp 25 ml lik 6 ayrı balon jöjeye aktarıldı. Bunların üzerine Stok II çözeltisinden sırasıyla 0.5 , 0.7 , 1 , 1.3 , 1.5 ve 2 ml lik miktarlar ilave edildi ve bu hacme tamamlandı.

Bu değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerden her seferinde 20 µl injekte edilerek kromatogramlar alındı. Bu işlem, her bir konsantrasyon için üçer kez tekrarlandı.

Bu deneye ait koşullar TABLO I, sonuçlar TABLO II de gösterilmiştir.

Akış hızı	:	1.1 ml/dak
$\lambda$ max.	:	254 nm
İnjesiyon hacmi	:	20 µl
Basınç	:	2500-3500 psi
Temperatür	:	Oda Temperatürü
Aufs	:	0.1
Yazıcı Kart Hızı	:	2 cm/dak

TABLO I - İnjeksiyon Koşulları

Seyreltme numarası	STOK I ilave edilen (ml)	STOK II ilave edilen (ml)	Hesaplanan STOK I konsantrasyonu ( $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ )	Hesaplanan STOK II konsantrasyonu ( $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ )	Bulunan STOK II konsantrasyonu ( $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ )
I	1	0.5	0.16	0.08	0.08
II	1	0.7	0.16	0.112	0.11821
III	1	1	0.16	0.16	0.16089
IV	1	1.3	0.16	0.208	0.20761
V	1	1.5	0.16	0.24	0.2402
VI	1	2	0.16	0.32	0.32104

TABLO II - Sonuçlar

Not : Internal standart konsantrasyonu deėiřmemektedir.

V no.lu seyreltmede kullanılan akış hızı 0.8 ml/dak.'dır.

Yapılacak ölçümlerin hassasiyetini saptamak amacıyla aynı konsantrasyonda V no.lu çözeltiden (Bk. TABLO II) 10 kez injekte edildi. Elde edilen sonuçlar ile standart sapma hesaplandı :

OKUNAN KONSANTRASYON $x_i$ ( $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}$ )	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$
0.23980	$-4.7 \cdot 10^{-4}$	$22.09 \cdot 10^{-8}$
0.24022	$-0.5 \cdot 10^{-4}$	$0.25 \cdot 10^{-8}$
0.24142	$11.5 \cdot 10^{-4}$	$132.25 \cdot 10^{-8}$
0.24150	$12.3 \cdot 10^{-4}$	$151.29 \cdot 10^{-8}$
0.23965	$-6.2 \cdot 10^{-4}$	$38.44 \cdot 10^{-8}$
0.24018	$-0.9 \cdot 10^{-4}$	$0.81 \cdot 10^{-8}$
0.24014	$-1.3 \cdot 10^{-4}$	$1.69 \cdot 10^{-8}$
0.23969	$-5.8 \cdot 10^{-4}$	$33.64 \cdot 10^{-8}$
0.24001	$-2.6 \cdot 10^{-4}$	$6.76 \cdot 10^{-8}$
0.24006	$-2.1 \cdot 10^{-4}$	$4.41 \cdot 10^{-8}$
Toplam $x_i =$ $\sum x_i = 2.40267$		Toplam $(x_i - \bar{x})^2 =$ $\sum (x_i - \bar{x})^2 = 391.63 \cdot 10^{-8}$
Ortalama $x_i =$ $\bar{x} = 0.24027$		

TABLO III - STANDART SAPMA TABLOSU

Standart Sapma aşağıdaki formülden bulundu =

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$s = 6.596 \cdot 10^{-4}$$

Gerçek konsantrasyon değeri olan  $\mu$ 'nin güven aralığının bulunması için aşağıdaki formülden yararlanıldı =

$$\mu = \bar{X} \pm t \left( \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Burada,  $\bar{X}$  okunan 10 konsantrasyonun ortalaması  
t % 95 olasılık için t tablosundan alınan değer  
s standart sapma  
n deney sayısıdır.

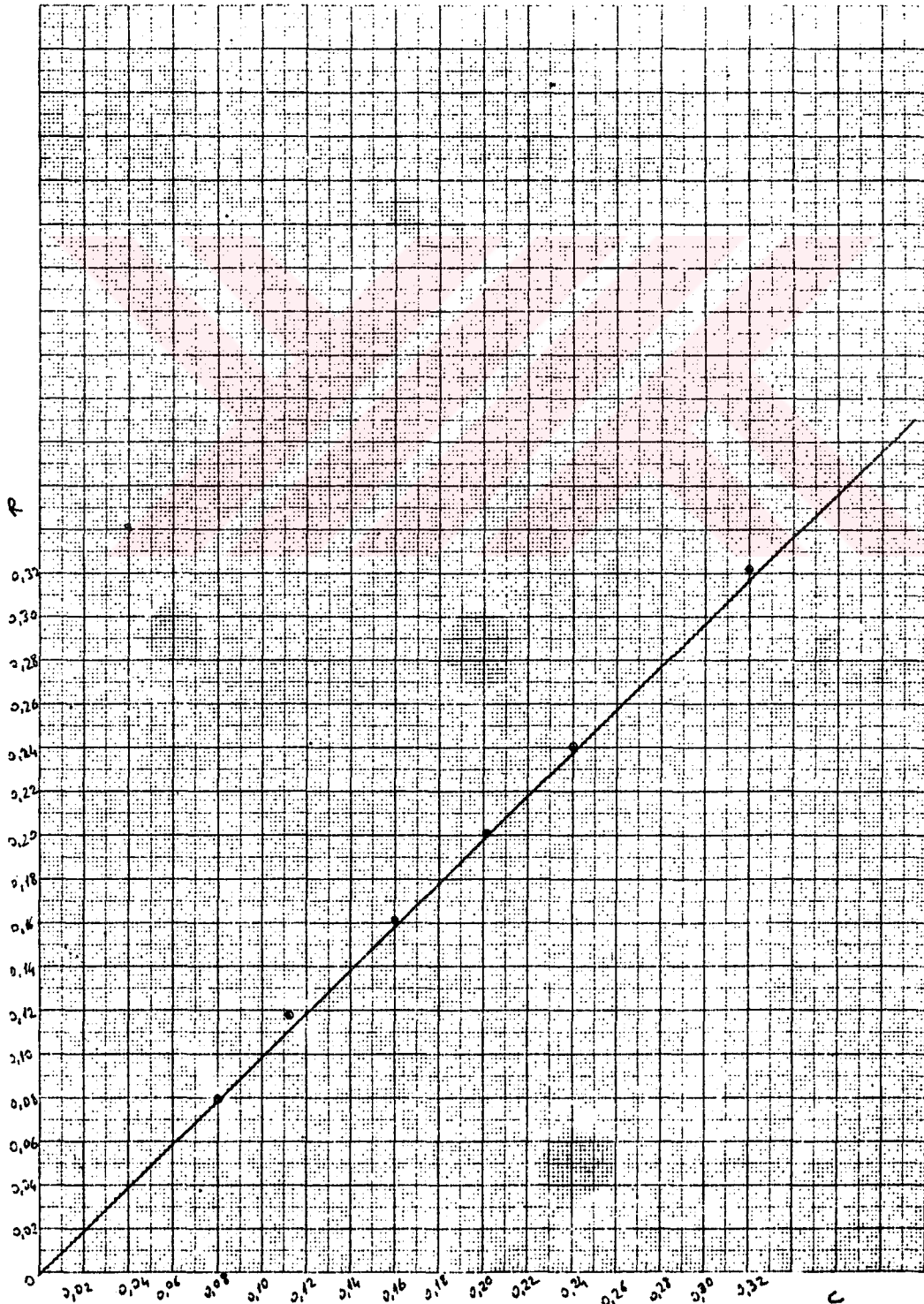
$$\mu = 0.24027 \pm 2.26 \left( \frac{6.596 \cdot 10^{-4}}{\sqrt{10}} \right)$$

Gerçek değer, % 95 olasılıkla 0.24074-0.23980  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}$  arasındadır.

Tablo II deki sonuçlar, en küçük kareler yöntemine göre değerlendirildi. (55)

Bir grafik kağıdı üzerinde hazırladığımız konsantrasyonlar (c) absise, ve okunan konsantrasyonlar (R) ordinata gelecek şekilde konsantrasyonlar işaretlendi.

ŞEKİL II-DÜZELTME GRAFIĞI



Bu noktalar arasından geçirilecek doğru  $R = mc + b$  formülü ile elde edildi. Burada =

$$m = \frac{\sum (c_i - \bar{c}) (R_i - \bar{R})}{\sum (c_i - \bar{c})^2} \quad \text{ve} \quad b = \bar{R} - m\bar{c} \quad \text{formülleri kullanıldı.}$$

$c_i$	$R_i$	$(c_i - \bar{c})^2$	$(c_i - \bar{c}) (R_i - \bar{R})$
0.08	0.08	$11.3763 \cdot 10^{-3}$	$11.5182 \cdot 10^{-3}$
0.112	0.11821	$5.57411 \cdot 10^{-3}$	$5.20977 \cdot 10^{-3}$
0.16	0.16089	$0.71075 \cdot 10^{-3}$	$0.722486 \cdot 10^{-3}$
0.208	0.20761	$0.455395 \cdot 10^{-3}$	$0.41869 \cdot 10^{-3}$
0.24	0.24020	$2.84515 \cdot 10^{-3}$	$2.78488 \cdot 10^{-3}$
0.32	0.32104	$17.7795 \cdot 10^{-3}$	$17.7408 \cdot 10^{-3}$
$\sum c_i = 1.12$ $\bar{c} = 0.18666$	$\sum R_i = 1.12795$ $\bar{R} = 0.18799$	$\sum (c_i - \bar{c})^2 = 38.74121 \cdot 10^{-3}$	$\sum (c_i - \bar{c}) (R_i - \bar{R}) = 38.3945 \cdot 10^{-3}$

TABLO IV - DOĞRU DENKLEMİNİN BULUNMASI

Böylece  $m = 0.9910508$  ve  $b = 0.0030005$  bulundu.

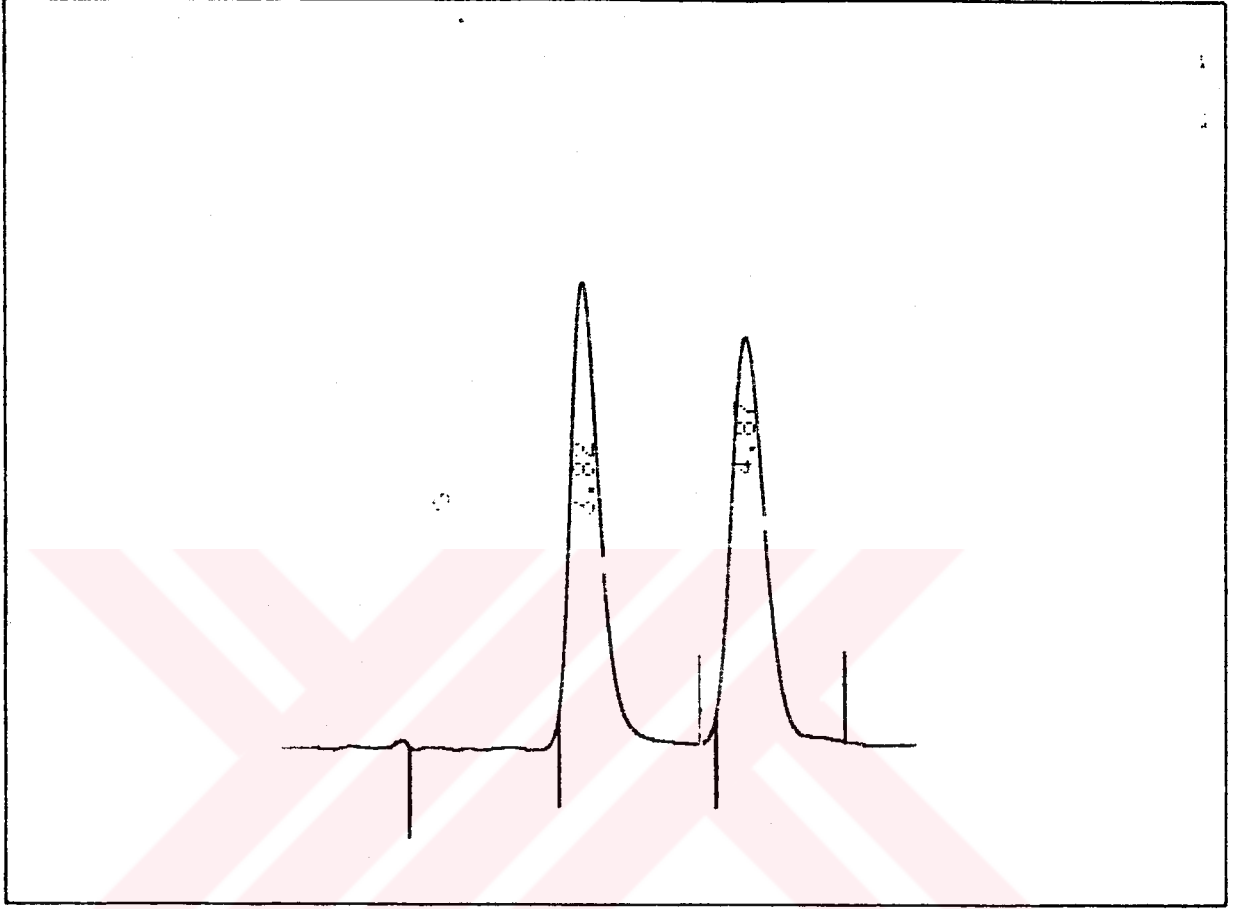
$m \neq 1$  olduğundan ölçümde bir miktar sapma olduğu anlaşıldı.

$b \neq 0$  olduğundan doğrunun orijinden geçmediği saptandı.

Yukarıdaki denkleme  $m$  ve  $b$  değerlerini koyarsak aşağıdaki hali alır =

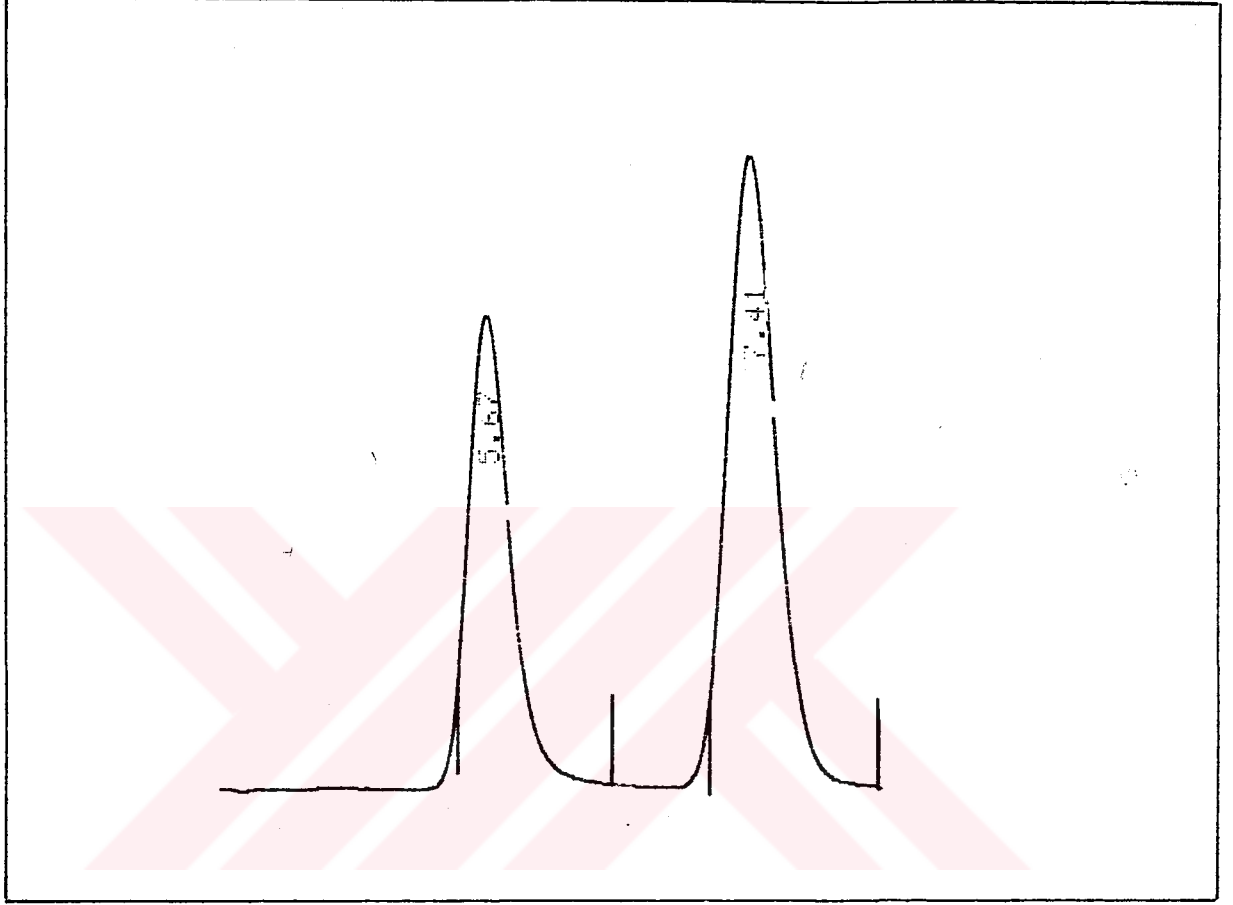
$$R = (0.9910508)c + 0.0030005$$

$c$  ye çeşitli değerler verilerek karşılık olan  $R$  değerleri bulundu, elde edilen doğru grafik üzerinden çizildi. Preparatta miktar tayini yapılırken bu doğrudan yararlanıldı.



	Madde	Retensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	3.82
2. Pik	Diazepam	4.87

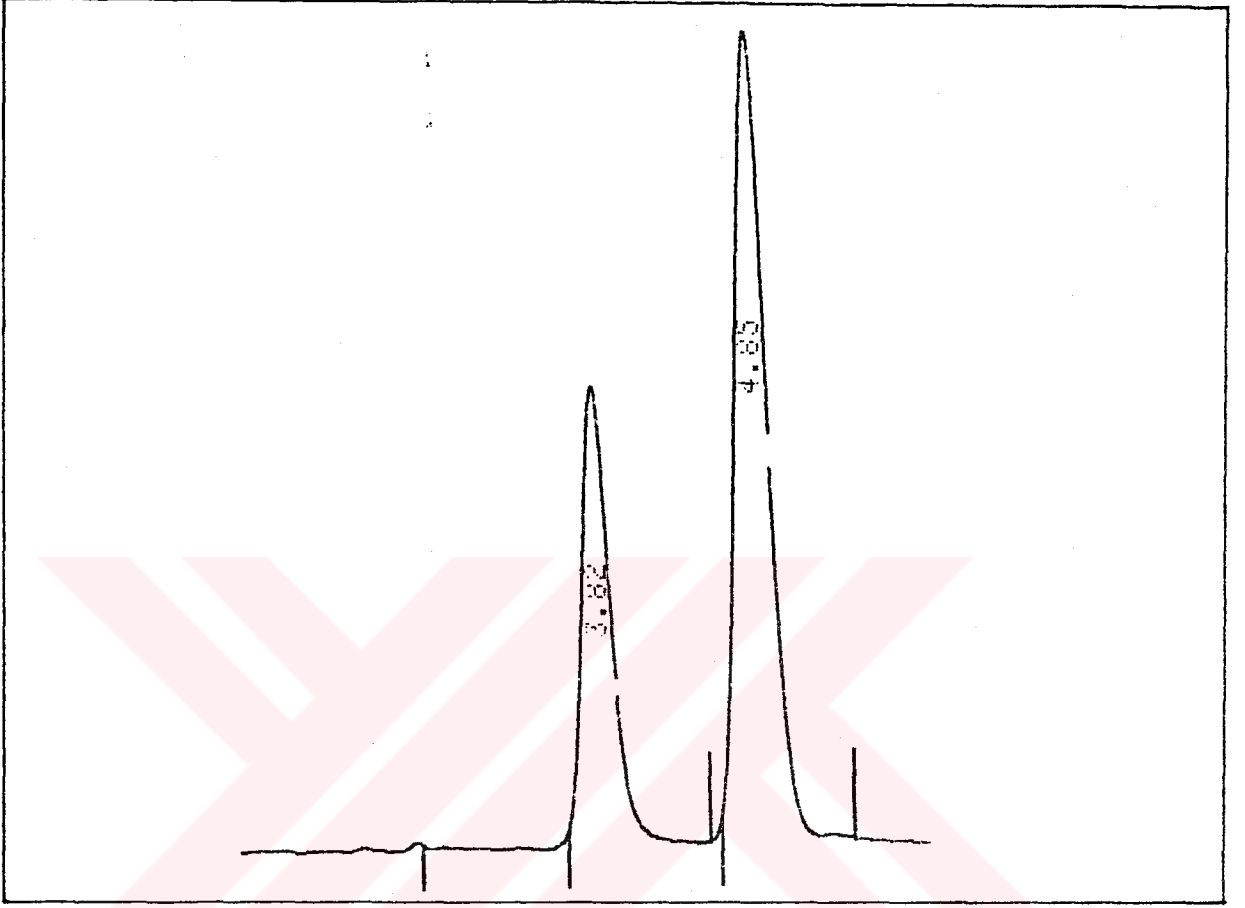
ŞEKİL III - III no lu seyreltmeye ait bir kromatogram



	Madde	Retensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	5.67
2. Pik	Diazepam	7.41

ŞEKİL IV - V no lu seyreltmeye ait bir kromatogram





	Madde	Fetensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	3.82
2. Pik	Diazepam	4.85

Şekil V - VI no lu seyreltmeye ait bir kromatogram

#### 3.4. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

2 mg Diazepam ihtiva eden Şubat 1986 üretim tarihli D<sub>2</sub> kapsülleri

20 kapsül muhtevası tartılarak porselen bir havanda iyice karıştırıldı. 10 mg etken maddeye eşdeğer miktar tam olarak tartıldı ve santrifüj tübüne aktarıldı. 5 ml metanol ilave edildi, iki dakika çalkalandıktan sonra beş dakika santrifüj edildi. Berrak kısım 50 ml lik bir balon jøjeye alındı. Ekstraksiyon işlemi 5 er ml metanol ile üç kez daha tekrarlandı, aynı hacme tamamlandı. 10 cc lik Hamilton İnjektöre takılan 0.45 µm luk organik HV tip filtre yardımı ile kapaklı bir tübe süzüldü. (STOK III)

Stok I ve Stok III çözeltilerinden 1 er ml alınarak 25 ml lik bir balon jøjeye aktarıldı ve (70:30) Metanol-Su karışımıyla bu hacme tamamlandı. Hazırlanan bu son çözeltiden üç kez 20 µl injeksiyon yapıldı.

5 mg Diazepam ihtiva eden Şubat 1986 üretim tarihli D<sub>5</sub> kapsülleri

20 kapsül muhtevası tartılarak porselen bir havanda iyice karıştırıldı. 10 mg etken maddeye eşdeğer miktar tam olarak tartıldı ve santrifüj tübüne aktarıldı. 2 mg Diazepam kapsülleri bölümünde yapılan işlemler sırayla tekrarlandı. (STOK IV)

10 mg Diazepam ihtiva eden Mart. 1985 üretim tarihli D<sub>10</sub> kapsülleri

20 kapsül muhtevası tartılarak porselen bir havanda iyice karıştırıldı. 10 mg etken maddeye eşdeğer miktar tam olarak tartıldı ve santrifüj tübüne aktarıldı. 2 mg Diazepam kapsülleri bölümünde yapılan işlemler sırayla tekrarlandı. (STOK V)

Bu deneye ait koşullar TABLO I ile aynı olup kullanılan akış hızı 0.8 ml/dak. dır.

Daha önce de belirtildiği gibi tek bir konsantrasyon üç kez injekte edilmiş ve üç injeksiyonun ortalamasından sonuca gidilmiştir. Bu deneye ait sonuçlar TABLO V , TABLO VI ve TABLO VII'de gösterilmiştir.

D<sub>2</sub> kapsülleri =

10 mg diazepam eşdeğer miktar 769.65 mg olup 769.9 mg lık bir tartım alınmıştır. Buna göre kapsül içinde 2 mg etken madde var ise 20 µl injeksiyon hacmi içerisindeki bulunması gereken miktar 0.16000 µg/20 µl dir.

STOK I ilave edilen (ml)	STOK III ilave edilen (ml)	Hesaplanan STOK I konsantrasyonu (µg/20µl)	Hesaplanan STOK III konsantrasyonu (µg/20µl)	Bulunan STOK III konsantrasyonu ve ortalaması (µg/20µl)	Grafikten okunan STOK III konsantrasyonu (µg/20µl)	% Hata
1	1	0.16	0.16000	0.16303 0.16297 0.16299 ort= 0.16299	0.1643	2.617

Düzeltilmiş konsantrasyon (µg/20µl)	Tartılan D <sub>2</sub> kapsüllerinde hesaplanan etken madde miktarı (mg)	Bu tartım da bulunan etken madde miktarı (mg)	%saflik	D <sub>2</sub> kapsüllerinde bulunan etken madde miktarı (mg)
0.16419	10.0032	10.262	102.59	2.052

TABLO V - D<sub>2</sub> kapsüllerinden alınan sonuçlar

USP XX'nin göstermiş olduğu %90-110 limitlerine uygundur.

D<sub>5</sub> kapsülleri =

10 mg diazepama eşdeğer miktar 308.29 mg olup 308.2 mg lık bir tartım alınmıştır. Buna göre kapsül içerisinde 5 mg etken madde var ise 20 µl injeksiyon hacmi içerisindeki bulunması gereken miktar 0.159952 µg/20 µl dir.

STOK I ilave edilen (ml)	STOK IV ilave edilen (ml)	Hesaplanan STOK I konsantrasyonu (µg/20µl)	Hesaplanan STOK IV konsantrasyonu (µg/20µl)	Bulunan STOK IV konsantrasyonları ve ortalaması (µg/20µl)	Grafikten okunan STOK IV konsantrasyonu (µg/20µl)	% Hata
1	1	0.16	0.159952	0.15207 0.15187 0.15205 ort= 0.15199	0.1535	- 4.203

Düzeltilmiş konsantrasyon (µg/20µl)	Tartılan D <sub>5</sub> kapsüllerinde hesaplanan etken madde miktarı (mg)	Bu tartımda bulunan etken madde miktarı (mg)	% saflık	D <sub>2</sub> kapsüllerinde bulunan etken madde miktarı (mg)
0.15323	9.997	9.577	% 95.80	4.79

TABLO VI - D<sub>5</sub> kapsüllerinden alınan sonuçlar

USP XX' nin göstermiş olduğu % 90-110 limitlerine uygundur.

D<sub>10</sub> kapsülleri =

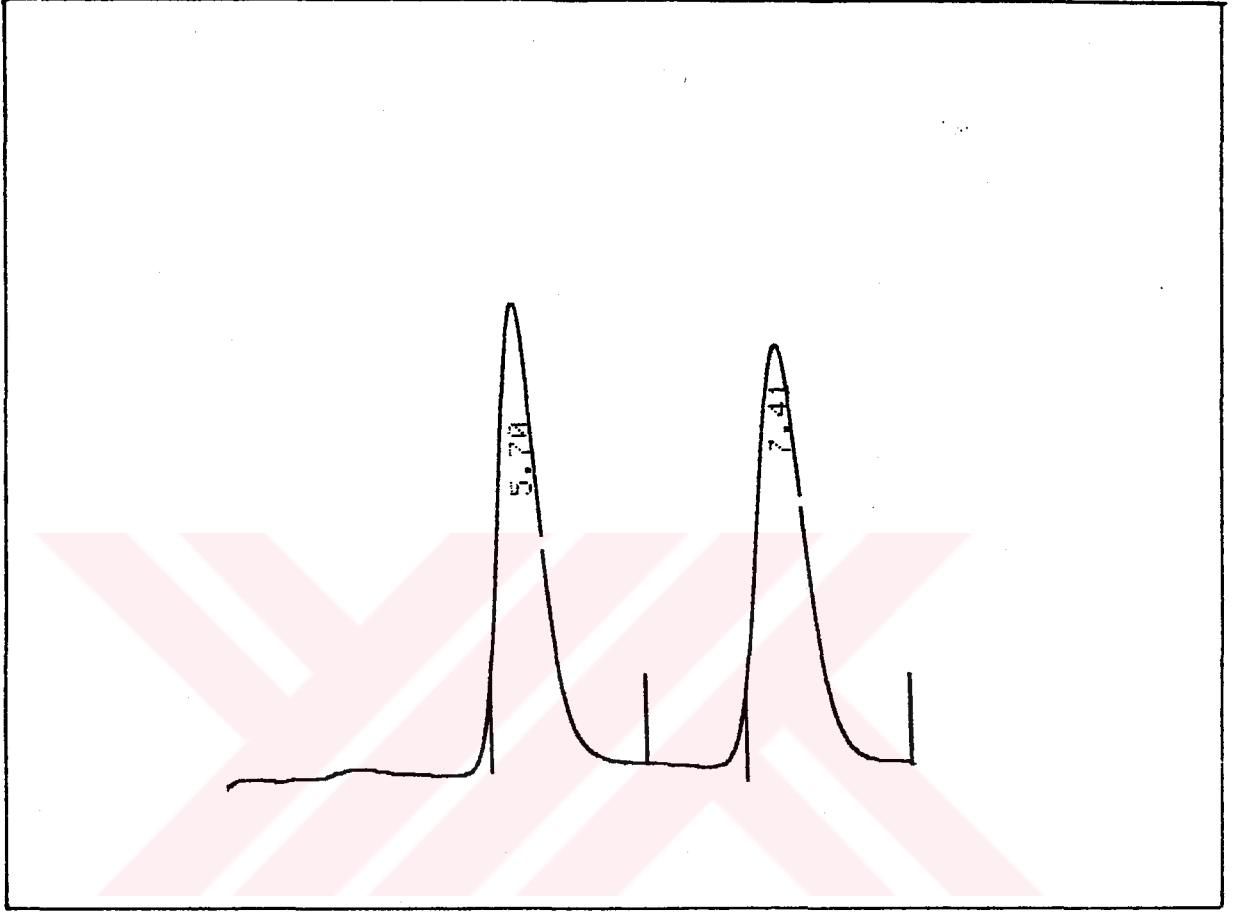
10 mg diazepam eşdeğer miktar 156.96 mg olup 156.9 mg lık bir tartım alınmıştır. Buna göre kapsül içinde 10 mg etken madde var ise 20 µl injeksiyon hacmi içerisindeki bulunması gereken miktar 0.15995 µg/20µl dir.

STOK I ilave edilen (ml)	STOK V ilave edilen (ml)	Hesaplanan STOK I konsantrasyonu (µg/20µl)	Hesaplanan STOK V konsantrasyonu (µg/20µl)	Bulunan STOK V konsantrasyonları ve ortalaması (µg/20µl)	Grafikten okunan STOK V konsantrasyonu (µg/20µl)	% Hata
1	1	0.16	0.15995	0.15096 0.15026 0.15029 ort= 0.15050	0.152	-5.23026

Düzeltilmiş konsantrasyon (µg/20µl)	Tartılan D <sub>10</sub> kapsüllerinde hesaplanan etken madde miktarı (mg)	Bu tartım- da bulunan etken madde miktarı (mg)	%saflik	D <sub>2</sub> kapsüllerinde bulunan etken madde miktarı (mg)
0.15158	9.996	9.473	94.77	9.477

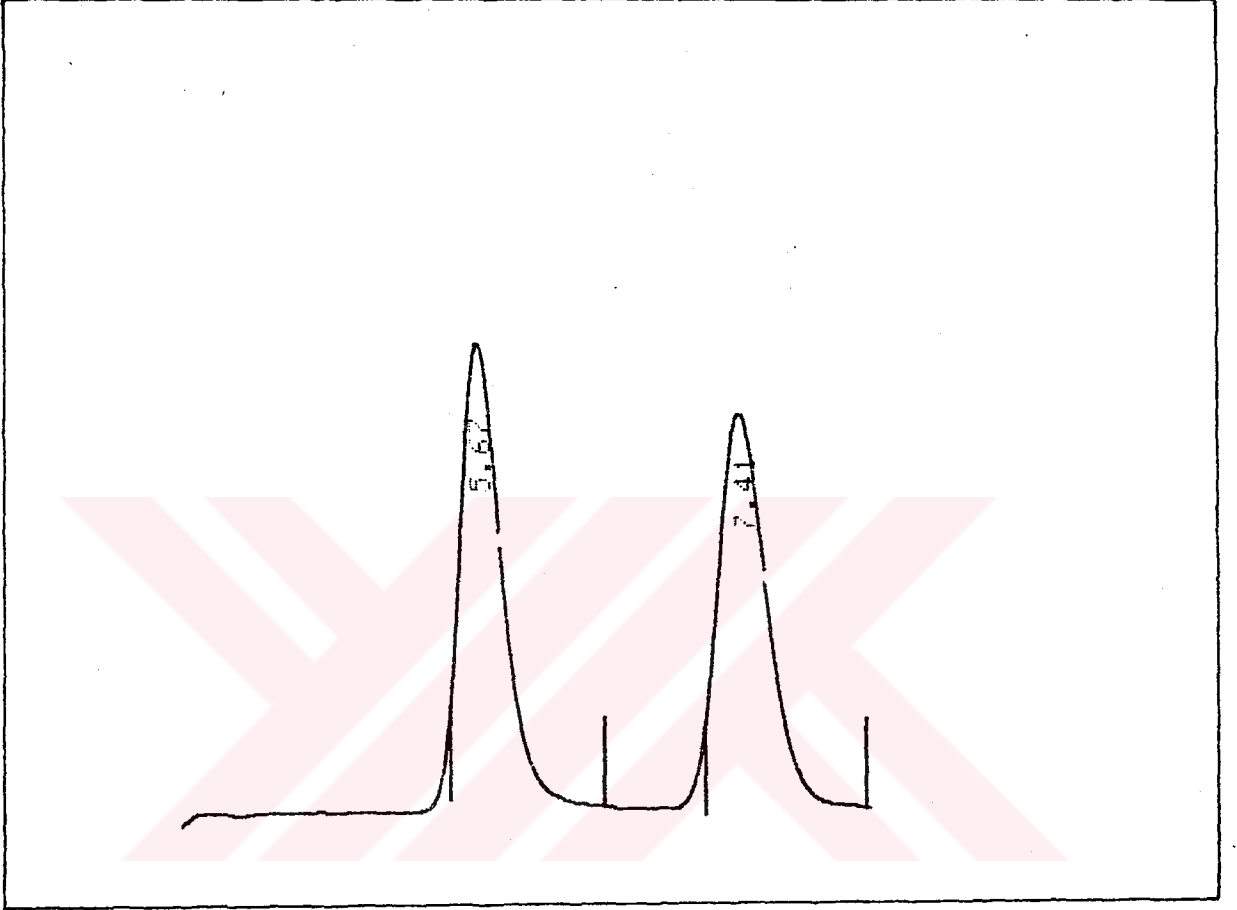
TABLO VII - D<sub>10</sub> kapsüllerinden alınan sonuçlar

USP XX'nin göstermiş olduğu %90-110 limitlerine uygundur.



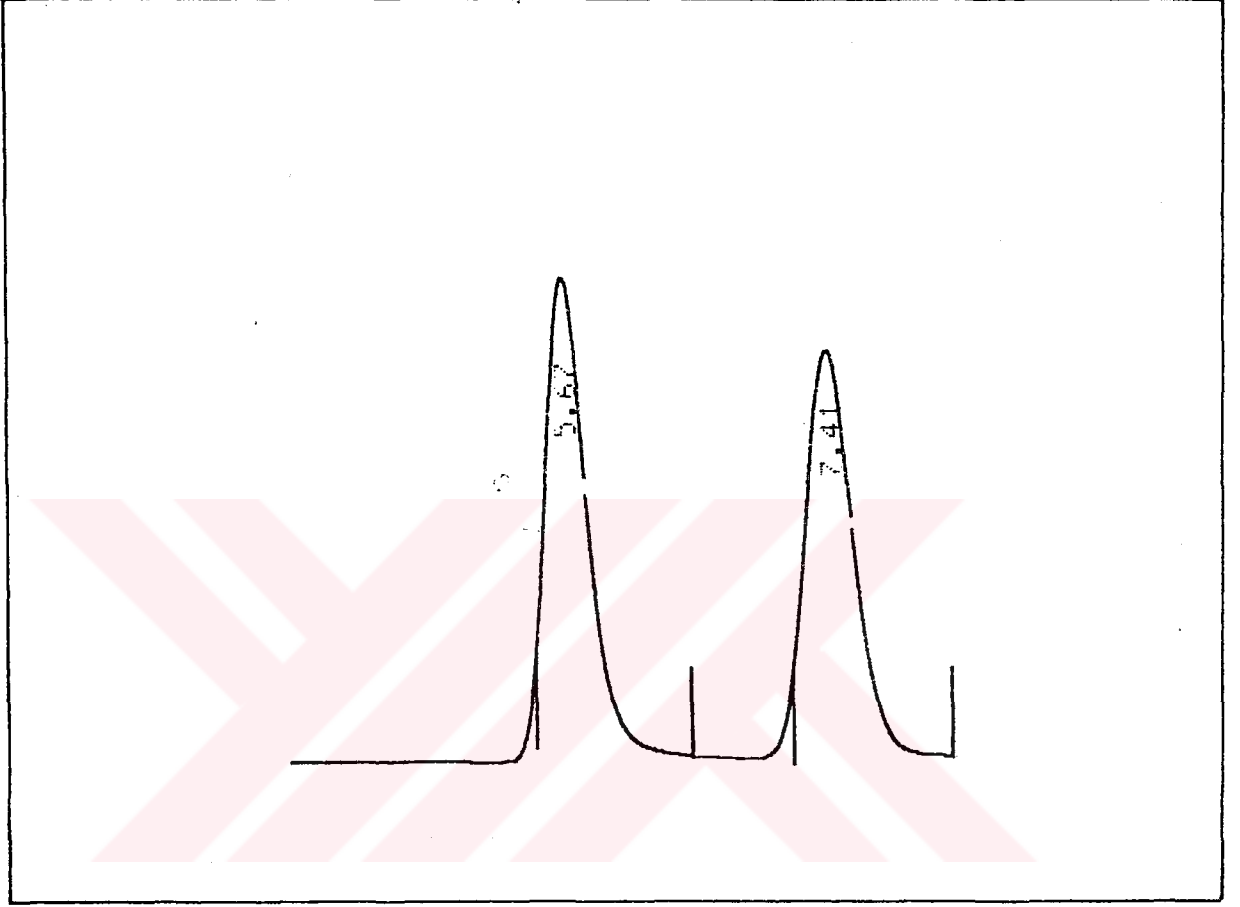
	Madde	Retensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	5.70
2. Pik	Diazepam	7.41

Şekil VI - D<sub>2</sub> kapsüllerinden alınan bir kromatogram



	Madde	Retensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	5.67
2. Pik	Diazepam	7.41

Şekil VII - D<sub>5</sub> kapsüllerinden alınan bir kromatogram.



	Madde	Retensiyon Zamanı (RT)
1. Pik	Oksazepam	5.67
2. Pik	Diazepam	7.41

Şekil VIII - D<sub>10</sub> kapsüllerinden alınan bir kromatogram



#### 4. SONUÇ

Bu çalışmada Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı kullanılarak diazepamın etken madde ve bir farmasötik şekil olan kapsülünde miktar tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

Kullandığımız yöntemin esası sıvı-sıvı kromatografisine dayanmakta olup durgun faz olarak  $\mu$ -Bondopak C<sub>18</sub> kolon, hareketli faz olarak da değişik sistemler arasından çalışmamız için en uygun olan (70:30) oranında Metanol-Su karışımı kullanılmıştır.

Pik alanlarının mukayesesi esasına göre ölçüm yapan elektronik bir integratör yardımı ile elde edilen konsantrasyonlardan miktar tayinine geçilmiştir. Sonuçlar farmakope standartlarına uygundur.

Etken maddede yaptığımız ölçümlerin hassasiyetini saptamak için aynı şartlarda yapılan bir seri çalışma ile aldığımız sonuçlardan aşağıdaki formüle göre standart sapma hesaplanmıştır =

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Bulduğumuz bu sapma değerinden yararlanılarak çalıştığımız konsantrasyonun gerçek değer aralığı aşağıdaki formülden hesaplanarak % 95 olasılıkla saptanmıştır =

$$\mu = \bar{x} \pm \left( \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Bundan sonra, okunan konsantrasyonlara karşı hazırlanan konsantrasyonlar yerleştirilerek en küçük kareler yöntemine göre bir doğru grafiği elde edilmiştir. Preparatta miktar tayininde bu doğrudan yararlanılarak düzeltilmiş yeni konsantrasyonlar hesaplanmış, sonuçlar elde edilmiştir.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi yöntemiyle diazepamın etken madde ve preparatlarında miktar tayini, henüz farmakopelere geçmemiştir.

Diazepamın farmasötik şekillerinden tabletlerinde (53) bu yöntem ile çalışılmış ise de internal standart olarak sıvı bir madde olan benzen kullanılmış olup miktar tayini pik yüksekliklerinin oranı ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda; internal standart olarak oksazepam, diazepam ile yakın maksimumunda ve benzer yapıda olması nedeniyle ilk defa bu çalışmada kullanılmıştır. Preparatlarda miktar tayinleri, literatürdeki farklı olarak pik alanlarının mukayesesi ile yine bu çalışmada gerçekleştirilmiştir.

Yöntem, minimum miktarda kimyasal madde ve çözelti gerektirdiği için oldukça ekonomik olup sonuçlar çok kısa bir sürede hassas bir şekilde elde edilmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Florey, K. : Analytical Profiles of Drug Substances , 1 , 79-99 (1972).
2. Kayaalp, O. : Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (3. bas-ki) , 2 , 1563 (1985).
3. de Silva, J.A.F., Koechlin, B.A. ve Bader, G. : J.Pharm.Sci. , 55 , 692-702 (1966).
4. Strenbach, L.H., Fryer, R.I., Metlesics, W., Reeder.,E., Sach, G., Saucy, G. ve Stempel, A. : J.Org.Chem. , 27 , 3788 (1962).
5. Beyer, K.H. ve Sadee, W. : Arch.Pharm. , 300 (8) , 667-73 (1967) ; C.A. , 68 , 72284x (1968).
6. Sirong, Z., Renxiu, D. ve Tianjun, H. : Yaowu Fenxi Zazhi , 3 (4) , 238-40 (1983) ; C.A. , 99 , 146197k (1983).
7. Greenhow, E.J. ve Lapido, O. : Fresenius Z. Anal. Chem. , 321 (5) , 485-9 (1985) ; C.A. , 103 ,76305u (1985).
8. Grijalba, A., Fos, D., Martinez Valls, L., Iodate, A. ve Vega, F.A. : J.Chromatogr. , 178 (2) , 443-51 (1979).
9. Pasich, J. ve Wojdak, H. : Ann. Acad. Med. Silesiensis , 6 , 63-6 (1982) ; C.A. , 99 , 110840a (1983).

10. Jarzebinsky, J. ve Gajewska, M. : Acta.Pol.Pharm. , 34 (5) , 503-7 (1977) ; C.A. , 88 , 141774j (1978).
11. Senkowski, B.Z., Levin, M.S., Urbigkit, J.R. ve Wollish, E.G. : Anal.Chem. , 36 (10) , 1991-1994 (1964).
12. Caille, G., Braun, J., Mochle, J.A. ve Can, J. : J.Pharm.Sci. , 5 (3) , 78-80 (1970).
13. Zsofia, F., Gyorgy, H., Geza, N., Zsuzanna, N., Klara, T. ve Erno, P. : Anal.Chim.Acta. , 145 , 41-50 (1983) ; C.A. , 98 , 113774x (1983).
14. Izotov, B.N., Azhgikhin, I.S., Gornostaeva, E.G. ve Nekot, P. : Biofarmatsii Farmakokinetiki Tezisy Dokl. Nauch. Konf. , 55-8 (1973) ; C.A. , 80 , 124805n (1974).
15. USP XIX " The United Staes Pharmacopeia" 19 th rev., March Publishing Co., Easton, Pa., 1975, pp. 135-136
16. Florey, K. : Analytical Profiles of Drug Substances, 4 , 108-109 (1975).
17. Popovici, I., Dorneanu, V., Cuciureanu, R. ve Stefanescu, E. : Rev.Chim. , 34 (7), 653-4 (1983) ; C.A. , 100 , 74053z (1984).
18. Nevrekar, V. : Indian Drugs , 21 (5), 219-20 (1984) ; C.A. , 101 , 12288s (1984).
19. Kabra, P.M. : Clin.Liq.Chromatogr. , 1 , 101-5 (1984) ; C.A. , 101 , 65297a (1984).
20. Beltagy, Y.A., Issa, A. ve Rida, S.M. : Pharmazie , 31 (7) , 484-5 (1976).

21. Rao, G.R., Kanjilal, G. ve Srivastava, C.M.R. : J.Pharm.Sci. ,  
42 (2) , 63-4 (1980) ; C.A. , 94 , 71624h (1981).
22. Chen, X. : Yaoxue Tongbao , 17 (5) , 312 (1982) ; C.A.,97 ,  
133666w (1982).
23. Li, J. : Yaowu Fenxi Zazhi , 2 (5) , 307-8 (1982) ; C.A. , 98 ,  
95755k (1983).
24. Abdel-Hamid, M.E., Abdel-Khalek, M.M. ve Mahrous, M.S. :  
Anal. Lett. , 17 (B12) , 1353-71 (1984) ; C.A. , 101 , 216528e  
(1984).
25. Yamamoto, J., Suzuki, M. ve Okuo, S. : Yakuzaigoku, 25 (4) , 23-6  
(1965) ; C.A. , 65 , 18428d (1966).
26. Vignoli, L., Cristau, B., Gouezo, F. ve Vassalo, J.M. : Bull.  
Trav. Soc. Pharm. Lyon , 2 (3) , 277-90 (1965) ; C.A. , 65 ,  
16793g (1966).
27. Rodionova, G.M. ve Izotov, B.N. : Khromatogr. Elektroforeticheskie  
Metody Issled. Biol. Aktiv. Soedin , 68-9 (1976) ; C.A. , 90 ,  
92499d (1978).
28. Wouters, I., Roets, E. ve Hoogmartens, J. : J.Chromatogr. , 179 (2),  
381-9 (1979).
29. Schuetz, C., Schuetz, H., Ha, Y.D. ve Muskat, E. : Deut. Apoth.  
Ztg. , 113 (50) , 1967-9 (1973) ; C.A.,80 , 103715t (1974).
30. Bellomonte, G. : Boll.Soc.Ital.Biol.Sper. , 43 (9) , 460-4 (1967) ;  
C.A. , 67 , 88200g (1967).

31. Kaniewska, T. : Farm.Pol. , 39 (9), 531-5 (1983) ; C.A. , 100 , 97740k (1984).
32. Reszka, I. ve Tyfczynska, J. : Farm.Pol. , 41 (3) , 149-52 (1985) ; C.A. , 103 , 189069p (1985).
33. Van der Merwe, P.J. ve Steyn, J.M. : J.Chromatogr. , 148 (2) , 549-52 (1978).
34. Jarzebinsky, J., Lugowska, E. ve Suchocki, P. : Acta.Pol.Pharm. , 35 , (2) , 227-32 (1978) ; C.A. , 89 , 169168j (1978).
35. Xue, S. ve Don, X. : Yaowu Fenxi Zazhi , 5 (2) , 98-9 (1985) ; C.A. , 103 , 27401p (1985).
36. Barazi, S. ve Bonini, M. : J.Chromatogr. , 202 (3) , 473-7 (1980).
37. Dement'eva, N.N., Zavrzhnaya, T.A. ve Patapova, V.N. : Farmatsiya , 31 (2) , 32-6 (1982) ; C.A. , 96 , 187405h (1982).
38. deSilva, J.A.F., Schwartz, M.A., Stefanovic, V., Kaplan, J. ve D'Arconte, L. : Anal.Chem. , 36 , (11) , 2099-2104 (1964).
39. deSilva, J.A.F. ve Puglisi, C.V. : Anal.Chem. , 42 (14) , 1725-1727 (1970).
40. Meola, J.M. : Chromatogr. Newsl. , 5 (1) , 1-3 (1977) ; C.A. , 87 , 161351b (1978).
41. Scott, C.G. ve Bommer, P. : J.Chrom.Sci. , 8 , 446 (1970) ;  
Ref. : Florey, K. : Analytical Profiles of Drug Substances , 1 , 79-99 (1972).

42. Baker, J.K., Skelton, R. ve Yuma, C. : J.Chromatogr., 168 , 417-427 (1979).
43. Daldrup, T., Susanto, F. ve Michalke, P. : Fresenius Z. Anal. Chem. , 308 (5) , 413-27 (1981) ; C.A. , 96 , 29498m (1982).
44. Phu Lich, N., Boubakeur, M ve Lemoan, G. : Ann. Falsif. Expert. Chim. Toxicol., 75 (810) , 387-92 (1982) ; C.A. , 98 , 95744g (1983).
45. Dong, M.W. ve Dicesore, J.L. : J.Chromatogr.Sci. , 20 (7) , 330-5 (1982) ; C.A. , 97 , 86420z (1982).
46. Kabra, P.M., Stevens, G.L. ve Marton, L.J. : J.Chromatogr. , 150 (2) , 355-60 (1978).
47. Tjaden, U.R., Meeles, M.T.H.A., Thys, C.P. ve Van Der Kaay, M. : J.Chromatogr. , 181 , 227-241 (1980).
48. Raisys, V.A., Friel, P.N., Graaff, P.R., Opheum, K.E. ve Wilensky, A.J. : J.Chromatogr. , 183 , 441-448 (1980).
49. Violon, C. ve Vercruysee, A. : J.Chromatogr. , 189 , 94-97 (1980).
50. Violon, C., Pessemier, L. ve Vercruysee, A. : J.Chromatogr. , 236 , 157-168 (1982).
51. Bailey, L.C. : Am. J.Pharm.Educ. , 42 (1) , 63-6 (1978) ; C.A. , 88 , 197743r (1978).
52. Noggle, F.T.J. ve Clark, C.R. : J.Assoc.Off.Anal.Chem. , 62 (4) , 799-807 (1979) ; C.A. , 91 , 118072g (1979).

53. Emery, M. ve Kowtko, J. : J.Pharm.Sci. , 68 (9) , 1185-1187 (1979).
54. Baker, J.K. ve Fifer, E.K. : J.Pharm.Sci. , 69 (5) , 590-592(1980).
55. Braun, R.D. : Introduction to Chemical Analysis , (1983).





## ÖZET

Bu çalışmada, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Cihazı kullanılarak diazepamın etken madde ve kapsüllerinde miktar tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

Durgun faz olarak  $\mu$ -bondopak C<sub>18</sub> kolon, mobil faz olarak da Metanol-Su karışımı kullanılmıştır. Elektronik bir integratör ile elde edilen konsantrasyonlardan miktar tayinine geçilmiştir. Yöntem oldukça ekonomik ve hassas olup sonuçlar çok kısa bir sürede elde edilmiştir.

## SUMMARY

In this work, a High Pressure Liquid Chromatography procedure was developed for diazepam and its capsules analysis.

A reversed phase column and Methanol-Water mobile phase were used. The method is simple, accurate and fast.

**T. G.**  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi