

**SİMETİDİN'İN METAL KOMPLEKSLERİ
OLUŞTURMASINA DAYANAN YÖNTEMLER İLE
ANALİZİ ÜZERİNDE BİR ÇALIŞMA**

Analitik Kimya Programı
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. SACİDE SARISOY

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİMETİDİN'İN METAL KOMPLEKSLERİ
OLUŞTURMASINA DAYANAN YÖNTEMLER İLE
ANALİZİ ÜZERİNDE BİR ÇALIŞMA

Analitik Kimya Programı
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. SACİDE SARISOY

Rehber Öğretim Üyesi : Doç. Dr. AYTEKİN TEMİZER

ANKARA - 1984

Araştırmamı yöneten, her türlü bilgi ve yardımlarından yararlandığım hocam Sayın Doç. Dr. Aytekin Temizer'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında Bilim Dalındaki UV aletini kullanmama izin veren Kadın-Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Aydın İnal'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tezimin her safhasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı Dr. Nuran Özaltın'a, tüm çalışma arkadaşlarıma, aileme ve Bilim Dalı personeline teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No.</u>
I. GİRİŞ ve AMAÇ _____	1
II. GENEL BİLGİLER _____	3
II.1. Histamin H ₁ ve/veya H ₂ reseptör blokörleri _____	3
II.2. Simetidin _____	6
II.2.1. Kimyasal yapısı ve fizikokimyasal özellikleri _____	6
II.2.2. Farmakolojik etkileri _____	7
II.2.3. Absorbsiyon, metabolizma ve atılımı _____	8
II.2.4. Yan etkileri _____	9
II.2.5. Kullanılışı _____	9
II.3. Simetidin analiz yöntemleri _____	10
II.3.1. Titrimetrik yöntemler _____	10
II.3.2. Kromatografik yöntemler _____	10
II.3.2.1. İnce tabaka kromatografisi _____	10
II.3.2.2. Gaz kromatografisi _____	11
II.3.2.3. Sıvı kromatografisi _____	11
II.3.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi _____	11
II.3.3. Spektrofotometrik yöntemler _____	14
II.4. Kompleks bileşikleri _____	16
II.4.1. Komplekslerin bileşimlerinin spektrofotometrik olarak tayini _____	18
II.4.2. Komplekslerin kararlılık sabitlerinin spektrofotometrik olarak tayini _____	22
III. DENEYSEL KISIM _____	24
III.1. Kullanılan maddeler _____	24
III.2. Kullanılan araç ve gereçler _____	26
III.3. Yöntemlerin uygulanışı _____	27
III.3.1. Çözeltilerin hazırlanışı _____	27
III.3.2. Kullanılan çözeltilerin UV spektrumlarının çizilmesi ve dalga boyu seçimi _____	28
III.3.3. Job yöntemi ile metal-ligand oranının bulunması _____	29

III.3.4. Spektrofotometrik yöntem ile standart eğri çizimleri ve müstahzarlara uygulanması	30
IV. BULGULAR	31
V. TARTIŞMA ve SONUÇ	43
V.1. Uygulanan yöntem üzerinde tartışma	43
V.2. Seçilen yöntemin sulu ve etil alkollü ortamda doğrudan Cu(II)-simetidin kompleksi oluşturulmasına dayanan yöntem ile karşılaştırılması üzerinde tartışma	44
V.3. Cu(II)-simetidin kompleksinin yapısı ile ilgili tartışma	47
V.3.1. Cu(II)-simetidin kompleksinin metal-ligand oranının Job ve eğim oranı yöntemi ile bulunması üzerinde tartışma	47
V.3.2. Kompleks yapıları ile I.R. spektrumları arasındaki bağıntılar üzerinde tartışma	48
V.3.3. Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin metal-ligand oranının Job ve eğim oranı yöntemi ile bulunması üzerinde tartışma	53
V.3.4. Job yöntemi ile Cu(II)-simetidin ve Cu(II)-kuinalizarin komplekslerinin oluşum sabitlerinin tayini üzerinde tartışma	53
V.4. Yöntemin uygulanabilirliği üzerinde tartışma	54
V.5. Simetidin içeren müstahzarların spektrofotometrik analizleri ile ilgili tartışma	55
ÖZET - Türkçe	57
ÖZET - Yabancı Dilde	58
KAYNAKLAR	59
EKLER	69

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa No.

ŞEKİL 1	:	Bir çözelti içindeki kompleksin metal-ligand mol oranının absorbands ile değişimi _____	21
ŞEKİL 2	:	Bir çözelti içindeki kompleksin metal-ligand, izomolar karışımlarının absorbands ile değişimi _____	21
ŞEKİL 3	:	Simetidin'in sulu çözeltisinin ve sulu ortamda Cu(II)-simetidin kompleksinin UV spektrumları _____	31
ŞEKİL 4	:	Simetidin ve $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 'ın etilalkol çözeltisindeki ve etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin kompleksinin UV spektrumları _____	32
ŞEKİL 5	:	Simetidin ve kuinalizarinin etilalkol çözeltisi içindeki UV spektrumları _____	33
ŞEKİL 6	:	Etilalkollü ortamda $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ çözeltisi üzerine kuinalizarin çözeltisinin eklenmesi ile oluşan Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin UV spektrumları _____	34
ŞEKİL 7	:	Cu(II)-simetidin kompleksinin kuinalizarinin etilalkoldeki çözeltisine karşı spektrumları _____	35
ŞEKİL 8	:	Sulu ortamda Cu(II) ve simetidin'in izomolar karışımlarının absorbands ile değişimi _____	36
ŞEKİL 9	:	Etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin'in izomolar karışımlarının absorbands ile değişimi _____	36
ŞEKİL 10	:	Etilalkollü ortamda Cu(II)-kuinalizarinin izomolar karışımlarının absorbands ile değişimi _____	37
ŞEKİL 11	:	Sulu ve etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin kompleksinin kalibrasyon eğrisi _____	38
ŞEKİL 12	:	Kuinalizarin varlığında Cu(II)-simetidin kompleksinin kalibrasyon eğrisi _____	38
ŞEKİL 13	:	Kuinalizarinin etilalkoldeki çözeltisi üzerine simetidin eklenmesi ile oluşturulan çözeltinin UV spektrumu _____	46
ŞEKİL 14	:	İmidazol ve Cu(II)-imidazol kompleksinin IR spektrumları _____	49
ŞEKİL 15	:	Simetidin'in IR spektrumu _____	50
ŞEKİL 16	:	Sulu ortamda oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksinin IR spektrumu _____	51
ŞEKİL 17	:	Etilalkollü ortamda oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksinin IR spektrumu _____	52

TABLolarIN LİSTESİ

	<u>Sayfa No.</u>
TABLO 1 : Histamin ve antagonistleri arasındaki kimyasal farklılıklar _____	4
TABLO 2 : Simetidin'in fizikokimyasal özellikleri _____	7
TABLO 3 : Üzerinde çalışılan simetidin içeren müstahzarlar _____	25
TABLO 4 : Tagamet ^(R) tablet için değişik miktarlar alınarak yapılan analiz bulguları _____	39
TABLO 5 : Tagamet ^(R) tablet analiz bulguları _____	39
TABLO 6 : Ulkamet tablet analiz bulguları _____	40
TABLO 7 : Tagamet ^(R) ampul analiz bulguları _____	40
TABLO 8 : Simetin tablet analiz bulguları _____	41
TABLO 9 : Cu(II)-simetidin kompleksinin UV spektrofotometresi ile yapılan miktar tayininde alt ve üst konsantrasyon sınırları _____	41
TABLO 10 : Simetidin ve kuinalizarinin Cu(II) iyonu ile oluşturduğu komplekslerin ligand sayıları ve kompleks oluşum sabitleri _____	53
TABLO 11 : Cu(II)-simetidin komplekslerinin UV spektrofotometrik yöntemlerdeki kalibrasyon eğrilerinin istatistiksel hesaplamalarının sonuçları _____	42
TABLO 12 : Regresyon varyans analiz tablosu _____	70

BÖLÜM I

G İ R İ Ő v e A M A Ç

En sık rastlanan hastalıklar arasında yer alan duodenum ve mide ülserlerinin tedavisinde H₂-reseptör antagonistlerinin kullanımı giderek artmaktadır. Bu ilaçlardan biri olan simetidin mide mukozasında bulunan H₂-reseptörlerine bağlanarak histaminin etkisini önlemekte ve böylelikle histaminin, midenin asit salgısını uyarmasını engellemektedir. Midedeki toplam asit konsantrasyonunun azalması ve buna bağlı olarak asiditenin nötral pH'ya kayması, ülserin iyileşmesinde önemli bir etken olmaktadır (1).

Simetidin ülkemizde, değişik firmalar tarafından çeşitli farmasötik şekillerde son üç yıl içinde piyasaya sürülmüştür. Bu müstahzarlardaki etken maddenin miktar tayini gerek mamul madde, gerekse piyasa kontrolü açısından önemlidir.

Simetidin miktar tayini için volumetrik, spektrofotometrik, kromatografik esaslara dayanan değişik analiz yöntemleri geliştirilmiştir.

Bu çalışmada Türkiye piyasasında bulunan ve etken madde olarak simetidin içeren müstahzarlardaki simetidin miktarının tayini için kullanılacak duyarlı bir analiz yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bunun için simetidin Cu(II) iyonu ile oluşturduğu kompleksin absorpsiyonunun ölçümüne dayanan yöntemin geliştirilmesi üzerine çalışılmıştır (2). Bildirilen bu yöntem ile tayin edilebilen simetidin miktarının alt tayin sınırını düşürmek ve doğruluk sınırını artırmak üzere çalışmalar

yapılmıştır ve simetidin, kuinalizarin reaktifinin varlığında Cu(II) iyonu ile oluşturduğu kompleksin 350 nm dalga boyundaki absorpsiyonunun ölçümüne dayanan spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmiştir.

Bu yöntem Türkiye'de bulunan simetidin içeren müstahzarların tablet ve ampul farmasötik şekillerine uygulanarak elde edilen sonuçlar, simetidin miktar tayini için literatürde verilen spektrofotometrik yöntem (2) ve B.P. 1973 (3)'de yer alan susuz ortam titrasyon yöntemi sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

BÖLÜM II

II - GENEL B İ L G İ L E R

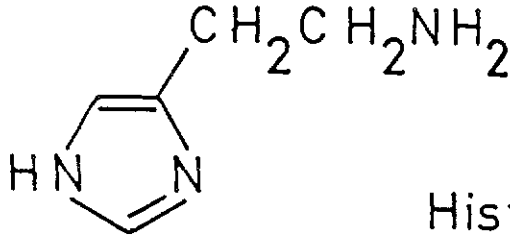
II.1. HİSTAMİN H₁- ve/veya H₂-RESEPTÖR BLOKÖRLERİ

Vücutta yaygın olarak bulunan histaminin bazı fizyolojik ve patolojik olayların oluşmasında katkısı olduğu bilinmektedir. Bazı ilaçların etki mekanizmasında onların dokularda histaminle etkileşmeleri önemli rol oynar. Bir kısım ilaçlar ise dokuda bağlı durumda olan histaminin açığa çıkmasına neden olur. Histaminin kan basıncında düşme, damar düz kaslarında gevşeme, damar dışındaki yapıların düz kaslarında büzülme ve mide asit salgılanmasını stimülasyon gibi çeşitli biyolojik etkileri bulunmaktadır. Histaminin bu etkileri histamin reseptörlerinin aktive edilmesine bağlıdır (4).

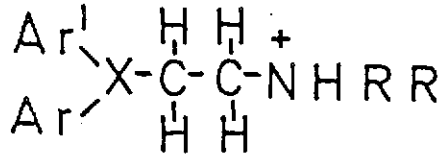
1937 yılında sentez edilen ilk antihistaminik ilaçların, histaminin belirtilen etkilerinden bazılarını bloke ettikleri halde, mide asit salgısını artırıcı, uterus kaslarını gevşetici ve yüksek dozda vazodilatasyon gibi etkilerini bloke etmedikleri görülmüştür (5). Bu durum histaminin etkilerinin iki tip reseptör aracılığı ile olduğunu düşündürmüştür (6).

Klasik antihistaminikler tarafından bloke edilen histamin reseptörlerine H₁-, ikinci tip reseptörlere H₂-reseptörleri adı verilmiştir. Histaminin H₁- ve/veya H₂-reseptör blokörleri, bu reseptörlere karşı histaminle yarışarak histaminin etkilerini antagonize ederler. H₁-reseptör antagonistleri, aril veya heteroaril halkaları taşırlar. Aril grupları moleküle

lipofilik özellik kazandırır ve oktanol/su partiyon oranları birden büyüktür. H₁-reseptör antagonistleri yan zincirde genellikle amonyum taşımaları nedeni ile histamine benzeyip bu amonyum grubu ile H₁-reseptörlerine bağlanırlar. H₂-reseptör antagonistleri ise histamin formülünden hareketle sentez edilmiş olup, imidazol halkasına bağlı, uzun, yüksüz, polar bir yan zincir içerirler. Bunlar H₂-reseptörlerine imidazol halkası ile bağlanırlar (7) (Tablo 1).



Histamin (β -imidazoletilamin)

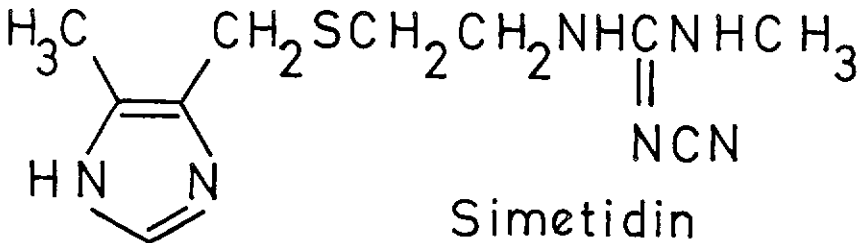
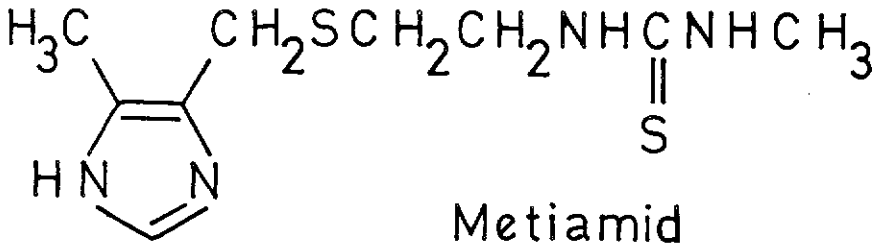
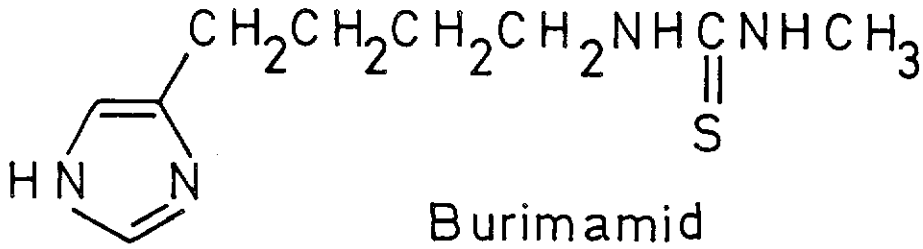


H₁ - reseptör antagonisti

TABLO 1 : Histamin ve Antagonistleri Arasındaki Kimyasal Farklılıklar.

H ₂ -antagonisti	Histamine (agonist)	H ₁ -antagonisti
İmidazol hidrofilik	İmidazol hidrofilik	Aril halkaları lipofilik
Tiyöre siyanoguanidin yüksüz	Amonyum yüklü	Amonyum yüklü

Black ve diğeri (8) tarafından 1972 yılında H₂-reseptör antago-
nisti olan BURİMAMİD (N-metil-N'- [4-(imidazol-4-il) butil] tiyoüre),
1973 yılında METİAMİD (N-metil-N'- {2- [(5-metilimidazol-4-il) metiltiyo]
etil} tiyoüre) sentez edilmiştir. Burimamid'in oral etkinliği azdır. Buri-
mamid'deki tiyoüre grubu değiştirilmeden imidazol halkasının beşinci kar-
bonuna metil sübstitüenti, dördüncü karbondaki yan zincirde üçüncü metilen
grubu yerine izosterik tiyoeter (-S-) getirilerek etkinlik artırılmıştır
(9). Metiamid oral olarak etkin olmakla beraber agranülositoz yapıcı et-
kiye sahiptir (10). Bu etkinin tiyoüre grubundan kaynaklandığı saptanmış-
tır. Brimblecombe ve diğeri (11) tarafından 1975 yılında tiyoüre grubu
içermeyen bir kimyasal yapısı olan kükürt atomunun (= S), siyanoimino gru-
bu ile (= N - C ≡ N) yer değiştirmesiyle SİMETİDİN (N -siyano-N'-metil-N''-
{2- [(5-metilimidazol-4-il) metiltiyo] etil} guanidin) sentez edilmiştir.



Burimamid'den farklı olarak metiamid ve simetidın hidrofılik özellik taşıır. Bu üç ilaç histamine imidazol halkası taşımaları açısından benzerler. Fakat polar bir yan zincir taşımaları ile de ayrılırlar, ayrıca histaminin uyarıcı özelliklerini taklit edemezler. Düşük lipofılik özellikte olmaları merkezi sinir sistemini etkilemelerini sınırlar. Bu üç ilaç H_1 -reseptörlerle ilişkili antihistaminik ilaçların kullanımı sırasında ortaya çıkan yan etkilerin bazılarını engeller. Lipofılik H_1 -reseptör antagonistlerinden farklı olarak burimamid, metiamid ve simetidın merkezi sinir sistemi aktivitesini etkilemezler, ancak zayıf lokal anesteziik etkiye sahiptirler (7).

II.2. SİMETİDİN

II.2.1. Kimyasal Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri (11-13) :

Tablo 2'de fizikokimyasal özellikleri gösterilen simetidın molekülü, imidazol halkası ve guanidin gruplarını içerir. İmidazol halkasındaki azot atomu oldukça bazik olup pK_a 'sı 6.8'dir. Siyanoguanidin grubu ise oldukça asidik özellik gösterip, pK_a 'sı -0.4'dür. Simetidın, su, metil alkol, izopropil alkol veya asetonitril aracılığı ile kristallendirilebilir. Simetidın polar bir moleküldür ve siyanoguanidin grubu düzlemsel yapıda olup zayıf amfoterik özelliktedir. pH 2-12 arasında noniyonizedir. Çok polar ve hidrofıliktir. Seyreltik hidroklorik asit eklenmesi ile imidazol halkası protonlanır ve çözünürlük artar.

TABLO 2 : Simetidin'in Fizikokimyasal Özellikleri.

FORMÜL	: $C_{10}H_{16}N_6S$, Molekül ağırlığı : 252.4
GÖRÜNÜM	: Renksiz, kristaller. E.N.: 141-142°C
pKa	: 7.09 (25°C de ve 0.1 M KCl içinde) Monoasidik bir bazdır. İmidazol halkasından protonlanır.
ÇÖZÜNÜRLÜK	: Suda 25°C de 6.15 mg/ml 37°C de 11.4 mg/ml (pH 9.3 vermek üzere)'dir. Metanolde : 24°C de 141 mg/ml Seyreltik HCl ile nötralize edildiğinde sudaki çözünürlük büyük ölçüde artar. (25°C suda 149 mg/ml, 24°C metanolde 109 mg/ml'dir).
PARTİSYON KATSAYISI ($C_{OKTANOL}/C_{SU}$ olarak)	: 37°C de 2.5'dur. pH = 9.2 de
SUDAKİ DAYANIKLILIK	: pH = 7 sulu çözeltileri oda sıcaklığında en az 7 gün dayanıklıdır. Asit çözeltileri (pH < 2) dayanıklı olmayıp guanilüre türevleri vermek üzere hidrolize uğrarlar.

II.2.2. Farmakolojik Etkileri :

Simetidin mide mukozasında bulunan H_2 -reseptörlerine bağlanarak histaminin etkisini önler. Böylece histaminin mide asit salgısını uyarmasını engeller (4).

Simetidin intravenöz veya oral yolla verildiğinde mide asit salgısını dozla ilişkili olarak inhibe eder (8,14).

Histamin H_2 -reseptörü antagonistleri, pepsin ve gastrik sıvı hacimlerini de azaltırlar. Bu nedenle terapötik etkileri, sadece mide asidi salgılanışının inhibisyonuna bağlı olmayıp toplam gastrik sıvı salgılanması üzerindeki etkileriyle birlikte gözlenir. Böylece simetidin gerek kendiliğinden, gerekse besinle veya histamin, insülin, kafein gibi stimulanlarla stimüle edilen mide asidi salgılanışını oral veya intravenöz yolla verildiğinde inhibe eden bir ilaçtır (15,16).

Simetidin, kolinerjiklerle stimüle edilmiş salgılanma üzerine az etkilidir. Antikolinerjiklerle birlikte kullanımı etkisini artırmaz (17). Mide sıvı salgılanmasını inhibe edici dozlarda diğer fizyolojik sistemler üzerinde etkisizdir (13). Pankreatik enzimleri ve safra asitlerini etkilemez (18). H₂-reseptörleri kardiyovasküler sistemde de mevcuttur. Fakat asit salgılanmasını inhibe eden dozlarda simetidin bu sistem üzerine etkili olmadığı gösterilmiştir. Yüksek dozları vazodilatasyon ve hipotansiyona yol açar (19).

II.2.3. Absorbsiyon, Metabolizma ve Atılımı :

Simetidin oral yolla kullanımını takiben % 70-85'i ince barsaklardan hızla absorbe edilir. Aç karına 200 mg alımdan sonra, 45-120 dakika içinde, kandaki konsantrasyonu 0.7-1.14 µg/ml olmak üzere en yüksek düzeye ulaşır (15,20). Plazma proteinlerine % 20 oranında bağlanır (13). Verilen dozu ile kan konsantrasyonu-zaman eğrisi arasında iyi bir korelasyon sağlandığı gözlenir (20,21). Vücutta birikmez ve kullanım sırasında biyoyararlanımı değişmez (20). Antiasit ile birlikte simetidin kullanımı biyoyararlanımını etkilemez (22). Besin uyarımı ile oluşan asit salgılanmasını azaltır (23,24). Besinlerle birlikte alınması en yüksek kan düzeyine ulaşma zamanını değiştirir; ancak genel biyoyararlanımında bir fark olmaz (20). Oral ve intravenöz yolla kullanılan simetidin 52.3 L kadar sıvı dağılım hacmine sahip olduğu gözlenmiştir (25). Eliminasyon yarı ömrü iki saattir. Büyük bir kısmı idrarla, az bir kısmı feçesle atılır. Verilen dozun % 70'i idrarla değişmeden, % 10-20'si sülfoksit metabolitine dönüşerek atılır. Sülfoksit metabolitinin oluşumu, verilmiş yolu ve dozuma bağımlı değildir (15,25).

II.2.4. Yan Etkileri :

Simetidin'in klinik kullanıma girişinden kısa süre sonra yapılan araştırmalar ilacın kesilmesini gerektirmeyen bazı yan etkilerinin varlığını göstermiştir. Bunlar plasebo ile aynı sıklıkta görülen baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk hissi, yüzde kızarma, cilt döküntüleri, ishal, kabızlık ve adale ağrısı gibi etkilerdir (26).

Simetidin toksisitesi düşük bir ilaçtır. İnsanlarda 12-24 g'lık dozların tolere edilebildiği, gelişen toksisite belirtilerinin 24 saatte ortadan kaldırılabilirdiği gözlenmiştir. Aşırı doz alımlarında sersemlik, konfüzyon, oryantasyon bozukluğu ve baş dönmesi gibi merkezi sinir sistemi bozukluğu belirtileri, terleme ve yüz kızarması görülür. Bu tür şikayetler, ilaç kesildiğinde veya vücuttan atıldığında ortadan kalkabileceği gibi semptomatik tedavi şeklindeki uygulamalar da başarılı sonuçlar verir (27-30).

II.2.5. Kullanılışı :

Simetidin başlıca duodenal ülser ve Zollinger-Ellison sendromunda kullanılan bir ilaçtır (31). Duodenal ülserin ilaçla tedavisinde hala en etkin ilaç olduğu kabul edilir (4). Simetidin ülser ağrısını tedaviye başladıktan kısa bir süre sonra ortadan kaldırır ve antiasit tabletlere olan gereksinimi süratle azaltır (32). Ayrıca duodenal ülser nükslerinin sayısını da azaltarak idame dozları ile hastayı nükslere karşı etkin bir şekilde korur (33). Simetidin mide ülseri ve akut erozyonlu gastrik olgularda da kullanılmaktadır (34). Kronik pankreatit olgularında eksik olan pankreas enzimlerini yerine koymak amacıyla, ağızdan verilen enzimlerin mide-barsak kanalında hidroklorik asit tarafından parçalanmasını önlemek için enzim müstahzarları ile birlikte simetidin verilebileceğine de değinilmektedir (4).

II.3. SİMETİDİNİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

II.3.1. Titrimerik Yöntemler :

Kajfez ve diğçerleri (35), simetidın için susuz ortam titrasyonu önermişlerdir. Bu yöntemde tabletlerdeki simetidın glasiyel asetik asit ve asetik anhidrit karışımında çözülp, glasiyel asetik asit içindeki perklorik asit çözeltisi ile titre edilir. Dönüm noktası potansiyometrik olarak saptanır.

Mehta ve Chainani(36), simetidının farmasötik dozaj şekillerine susuz ortam titrasyonu uygulamışlardır. Bu yöntemde glasiyel asetik asit içinde çözünen madde perklorik asit çözeltisi ile titre edilir. Dönüm noktası potansiyometrik olarak veya kristal viyole belirteci kullanılarak saptanır. Ayrıca bu çalışmada simetidının Ehrlich diazo reaksiyonu oluşturmalarına dayanan spektrofotometrik miktar tayini denenerak reaksiyon sonucu oluşan ürünün 405 nm dalga boyunda verdiği absorbans ölçülmüş ve sonuçlar önceki yöntem ile karşılaştırılmıştır.

II.3.2. Kromatografik Yöntemler :

II.3.2.1. İnce Tabaka Kromatografisi :

Simetidın ve sülfoksitinin ayırımı silikajel adsorban içeren plaklar kullanılarak, çeşitli çözücü sistemleri denenerak ince tabaka kromatografisinde hızlı bir şekilde yapılmıştır. Lekeler ultraviyole lambası ile (254 nm) veya iyot buharı ile belirlenmiştir. Bu yöntem saflık testi için uygulanmıştır (35).

Mazza ve diğçerleri (37), simetidının miktarını kan, idrar ve farmasötik dozaj şekillerinde spektrofotometrik ve kromatografik olarak tayin etmişlerdir. Araştırmacılar simetidini ilaçlardan etilalkol ile

tüketerek silikajel kaplı plaklara tatbik edip etil alkol-asetik asit-su çözücü sisteminde sürüklemişlerdir. Lekeleri Folin-Ciocalteu belirteci ile belirleyip 1 N NaOH çözeltisinde çözdükten sonra 626 nm dalga boyunda absorbans okumuşlardır. Tayin sınırı 2 µg/ml olarak bildirilmiştir. Kan ve idrara da aynı yöntem uygulanmıştır.

II.3.2.2. Gaz Kromatografisi :

Simetidin'in gaz kromatografisi ile tayini cam kolonlar ve alev iyonizasyon dedektörü kullanılarak yapılmıştır. Çok çeşitli sabit fazlar denenmesine rağmen ayırım düşük olduğu için başarılı olunamadığına karar verilmiştir (35).

II.3.2.3. Sıvı Kromatografisi :

Larsen ve diğerleri (38), simetidin'i alkali plazmadan etil asetat çözeltisiyle tüketip organik fazı uçurduktan sonra kalıntıyı etil alkol çözeltisinde çözerek sıvı kromatografisine uygulamışlardır. Kolon dolgu maddesi 10-ODS olup hareketli faz asetonitril-su-amonyak (1000:50:1)'dir. Spektrofotometrik tayini 228 nm dalga boyunda yapılmıştır. En düşük tayin sınırı 0.1 mg/L'dir.

Simetidin'in ve hidroksimetil sülfoksit ile guanil üre metabolitlerinin ve kreatinin serum ve plazmada tayini sıvı kromatografisi ile SKF 92374 maddesi iç standart olarak kullanılarak yapılmıştır. Simetidin için en düşük tayin sınırınının 0.05 mg/L olduğu saptanan yöntemde ultraviyole spektrofotometresi dedektör olarak kullanılmıştır (39).

II.3.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi :

Randolph ve diğerleri (40), simetidin'in yüksek basınçlı sıvı kromato-

grafisi (HPLC) ile analizini yapmışlardır. Paslanmaz çelik kolonlar silika ile doldurularak kullanılmıştır. Hareketli faz genelde asetonitrildir. Simetidin kan ve idrardan 1-oktanol çözeltisi ile tüketilerek alınmıştır. Kanda yapılan çalışmalarda 0.05-2.00 µg/ml konsantrasyon arasında doğrusal olduğu bulunmuştur.

Simetidin'in idrardan HPLC ile analizinde 10 µm çapında silikajel β-siyanoetiltrioksisi silan ile kaplanmış kolonlar hidroklorik asit ile hidrolizlenerek kullanılmıştır. Hareketli faz 0.01 M potasyum fosfat (pH=5) tamponudur. Bu analizde idrarda ön ayırma işlemine gerek olmadığı bildirilmiştir (41).

Chiarmonite ve Schentog (42), Randolph'un(40), HPLC yöntemini geliştirerek uygulamışlardır. Kolon dolgu maddesi olarak "Dupon Sil" kullanıldığında 0.5 ml serumda ölçüm yapılabilmıştır. Pankreas, mide, plevra ve beyin-omurilik sıvıları yanı sıra bütün vücut dokularında bu yöntemle analiz yapabileceklerini açıklamışlardır.

Soldin ve diğerleri (43), plazma ve serumdaki simetidin'in oral veya intravenöz kullanımının ardından iç standart olarak β-hidroksipropilteofilin kullanılarak, HPLC ile analiz yapmışlardır.

ODS-Li-Chrosorb RP-2-Pre kolonlar ve % 20 metil alkol içeren fosfat tamponu (pH= 8) hareketli faz olarak kullanılarak simetidin'in plazma ve idrarda HPLC ile tayini yapılmıştır. Kolondan çıkan maddeler ultraviyole dedektörü (220 nm) ile tayin edilmiştir. Tayin sınırı plazmada 0.1-25 µg/ml, idrarda ise 100 µg/ml olarak belirtilmiştir (44).

Fleitman ve diğerleri (45), plazmadan simetidin miktarını ranitidin maddesini iç standart olarak kullanıp HPLC ile analizi üzerinde çalışmışlardır.

Simetidin ve zolimidinin HPLC ile tayini β -Bondopak C₁₈ kolonlar kullanılarak da yapılmıştır (46). İlaçlarda 0.2-1.2 µg/µl arasında tayin gerçekleştirilebilmiştir.

Geliştirilmiş HPLC yönteminde simetidine benzer yapıdaki N-siyano-N'-metil-N''- [3-(4-imidazoil) propil] guanidin iç standart olarak kullanılmıştır. Akış hızı 2 ml/dakika'ya ayarlandığında alıkonma süresi iç standart için 2.8, simetidin için 6.2 dakika olarak saptanmıştır. Standart eğrinin simetidin için 0.1-4.0 µg/ml arasında doğrusal olduğu bulunmuştur (47).

Mihaly ve diğerleri (48), alkali plazma ve idrardan simetidini diklormetan ile tüketerek organik fazı uçurmuşlardır. HPLC yöntemi ile 25 ng/ml duyarlıkta tayini gerçekleştirmişlerdir.

Goulet ve diğerleri (49), HPLC yöntemini geliştirerek biyolojik sıvılara uygulamışlardır. Buna göre serum numunesinden oktanol ile tüketilip Lichrosorb SI 60 veya Particil 5 sabit faz; metilsiyanür, metilalkol, su ve amonyak (1000:200:20:5) hareketli faz olarak kullanılır. Ultraviyole tayini 228 nm dalga boyunda yapılır. Klinikte de bu yöntem kullanılmaktadır.

Apffel ve diğerleri (50), kanda ve idrarda simetidin tayinini HPLC ile yapmışlardır. Numuneyi Sep-pak C-18 prekolonlara su ile yerleştirip, bazik çözeltide 1 ml metil alkol içinde elue etmişlerdir. Kan numuneleri azot atmosferinde çalışılmıştır. Hareketli faz metil alkol, sodyum dodesil sülfat (fosfat tamponu pH= 3 içinde) (35:65)'dir. Prokain iç standart olarak kullanılıp, ultraviyole tayini 228 nm dalga boyunda yapılmıştır. Bu yöntemde 20 ng'a kadar inilebilmiştir.

Hızlı ve güvenilir bir analiz yöntemi de biyolojik sıvılardan simetidin HPLC ile yapılan nicel tayinidir. Bu yöntemde simetidin plazma ve

idrardan doğrudan Sep-pak C₁₈ materyali içeren mini kolona adsorbe ettirilir. Metilsiyanyür ile elue edilen çözelti Particil 10 ODS kolonda analiz edilir. Hareketli faz fosfat ve metil alkol karışımıdır. 228 nm de ultraviyole dedektörü kullanılır. Bu yöntem biyolojik sıvılarda simetidin miktar tayinini zaman alan ön temizleme işlemlerine gerek kalmadan doğru ve duyar olarak yaptığı için üstündür. Ayrıca hareketli fazın bileşiminde küçük bir değişikliğin yapılmasıyla simetidin metabolitlerinin de ayrı ayrı tayinleri gerçekleştirilebilir (51).

Diğer bir HPLC yönteminde ise simetidin plazmadan etil asetat ile tüketilmiştir. Metiamid iç standard olarak kullanılmıştır. Alt tayin sınırı 0.03 mg/L olarak saptanmıştır (52).

İç standart olarak N-siyano-N'- {2- [5-metil-1 H-imidazol-4-il) metiltiyo] etil} -5-metilizotiyoyüre'nin kullanıldığı yöntemde simetidin önce şartlandırılmış Sep-pak kolonlardan doğrudan geçirilir. Metilalkol ile elue edilip 1 ml kalıncaya kadar uçurulur. Lichrosorb RP-18 kolonlara 45°C de enjekte edilir. Hareketli faz olarak % 40 metilalkol, % 60 0.01 M amonyum karbonat çözeltisi (pH= 8.9) karışımı kullanılır. 0.2-15.84 µmol/L arasında doğrusaldır (53).

II.3.3. Spektrofotometrik Yöntemler :

Gagliardi ve diğerleri (54), simetidin HCl tuzunu tabletlerden 0.1 N hidroklorik asit ile tüketip Reineckate tuzu ile karıştırarak, buzdolabında bekletip çöktürdükten sonra, çökeleği süzüp, çözerek 522 nm dalga boyunda absorbansını okuyup kolorimetrik olarak tayinini yapmışlardır.

Simetidin, tabletlerden seyreltik hidroklorik asit ile çözülmüş, % 2'lik NH₄ [Cr(NH₃)₂ (SCN)₄] ile karıştırılıp çöktürüldükten sonra yeniden

asetonda çözülmüştür. 525 nm dalga boyunda absorbans okunarak 400-2000 µg/ml konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu gözlenmiştir (55).

Simetidin'in farmasötik preparatlarından kolorimetrik olarak yapılan tayininde ninhidrin reaktifi ile oluşturulan mor renkli kompleksin absorban-sı 570 nm dalga boyunda ölçülmüş 10-200 µg/ml konsantrasyon aralığında doğrusal bulunmuştur. Uygun pH 7'dir (56).

Simetidin'in Co(SCN)₂ reaktifi ile verdiği mavi renk 24 saat karar-lı olup, 625 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösterip 80-140 µg/ml'de tayini yapılmıştır. Na, 1,2-naftakinon-4-sülfonat reaktifi ile verdiği ye-şilimsi-sarı renk ise on dakika kararlı olup 435 nm dalga boyunda absorpsi-yon gösterip 10-40 µg/ml'de tayin yapılmıştır (57).

Sane ve diğerleri (58), simetidin'in tabletlerde kolorimetrik tayini ile ilgili olarak çalışma yapmışlardır. Bu yöntemde simetidin dia-zolama reaktiflerinden sülfonilamid, sülfafenazon, sülfasetamid'in sodyum tuzu, benzokain veya p-amino asetofenon ile muamele edilip, 415, 420, 415, 425 ve 425 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Konsantrasyon aralığı 2-12 µg/ml'dir.

Tablet ve kapsüllerden simetidin'in bromtimol mavisi reaktifi ile iyon çifti oluşumuna dayanan kolorimetrik bir yöntemle tayini üzerinde ça-lışılmıştır. Oluşan sarı renkli kompleksin 422 nm dalga boyunda absorban-sı ölçülmüştür. Kompleks bir saatten fazla kararlı olup, tayin sınırı 2.5-15 µg/ml'dir (59).

Tablet ve kapsüllerden simetidin'in tayini için klorimid ile tepkime-ye sokulan ilaç, 100°C de 20 dakika bekletilip 440 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır. 6-64 µg/ml konsantrasyon aralığında doğrusal ilişkinin bulun-duğu saptanmıştır (60).

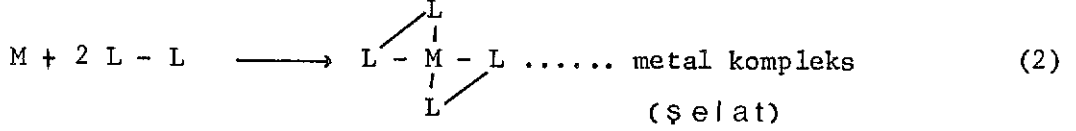
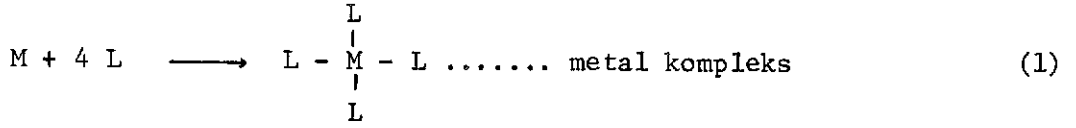
Patel ve diğeri (2) simetidin'in biyolojik sıvılardan ve dozaj şekillerinden, bakırasetatın sulu çözeltisiyle yaptıkları kolorimetrik tayininde 640 ± 2 nm dalga boyunda absorpsiyonunu okumuş, $0.7 \mu\text{g/ml}$ alt sınırına kadar inilebildiğini göstermişlerdir.

Güven ve diğeri (61), simetidin'in bakırasetat ile reaksiyonu sonucu bakır-simetidin kompleksinin organik faza çekilmesinden sonra bu kompleksdeki bakırın, sodyumdiethylitiotiyokarbamat (DTC) ile verdiği kompleksin 433 nm dalga boyunda absorpsiyonunun okunmasına dayanan bir yöntemle spektrofotometrik tayinini yapmışlardır. Bu yöntemle $10-1000 \mu\text{g/ml}$ arasında simetidin miktar tayini yapılmıştır.

II.4. KOMPLEKS BİLEŞİKLERİ

Bir metal iyonu ile elektron verici bir grup arasında bağ oluşumu sonucu meydana gelen yeni bileşiğe "kompleks" veya "koordinasyon bileşiği" denir. Komplekslerde atom veya moleküllerle sarılmış bir merkez atom vardır. Bu merkez atoma "çekirdek atom", çevresindeki elektron verici iyon veya molekül gruplarına da "ligand" adı verilir. Bir çekirdek atomun bağ yapabileceği en fazla ligand sayısına "koordinasyon sayısı" denir. Ligand yapısında iki veya daha fazla elektron verici grup varsa, reaksiyon sonunda bir veya daha fazla halkalı bileşik oluşur. Bu bileşiğe "şelat" adı verilir (62).

Kompleks ve şelat bağları şematik olarak aşağıdaki şekilde gösterilebilir (63) :



Burada,

- M : Metal iyonunu
- L : Kompleks oluşturuucu ligandı
- L-L : Şelat oluşturuucu ligandı

göstermektedir.

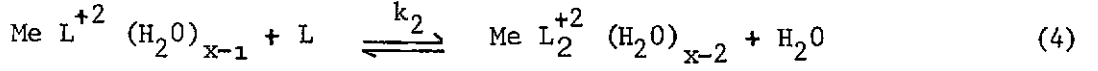
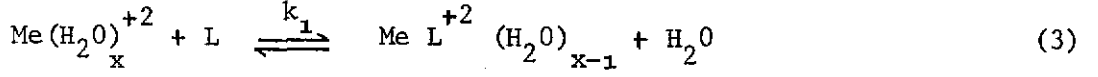
Komplekslerdeki, özellikle geçiş metallerinin oluşturduğu komplekslerdeki, bağ yapısı hakkında 3 teori ileri sürülmüştür. Bu teoriler şu şekilde özetlenebilir (64).

a)- Kristal alanı teorisi : Bu teoride merkez metal iyonu ile ligand arasındaki bağ tamamen elektrostatik, yani aksi yüklü iyonların veya pozitif metal iyonu ile dipolar moleküllerin negatif uçlarının birbirini çekmesinden ileri geldiği kabul edilmiştir.

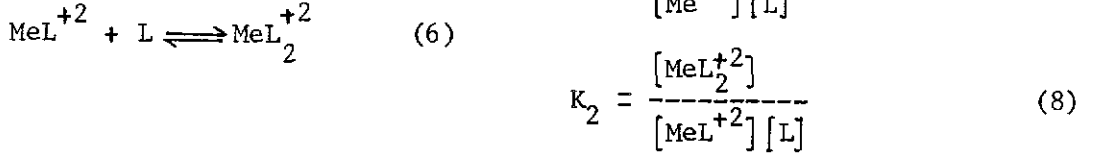
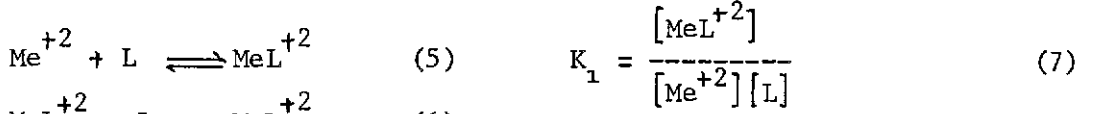
b)- Değerlik bağı teorisi : Bu teoride, her ligandın metal iyonuna bir elektron çifti vererek koordine-kovalent bir metal-ligand bağı oluşturduğu kabul edilmiştir.

c)- Ligand alanı teorisi : Bu teoriye göre moleküler orbitallerin, merkez atomunun atomik orbitalleriyle ligand orbitallerinin üstüste çakışmasından oluştuğu kabul edilmiştir. Bu moleküler orbitaller bağ yapıcı, karşı bağ ve bağ yapmayan şekilde olabilir. Metal ve ligandın özelliğine bağlı olmak üzere, bağ yapan orbital, elektronların metal ve ligandlar arasında eşit olarak paylaşıldığı kovalent tipte veya elektron yoğunluğunu ligand üzerinde toplayarak iyonik tipte olabilir.

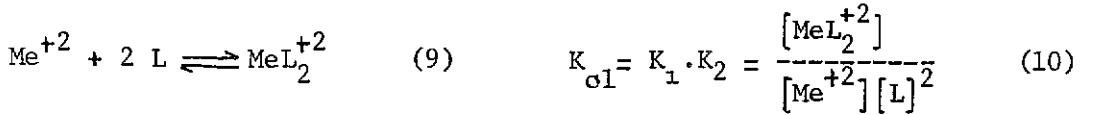
Çözeltide kompleks oluşum reaksiyonu sırası aşağıdaki şekilde gösterilebilir (65).



Burada Me : metal iyonunu göstermektedir. Genelde koordine su molekülleri yazılmaz.



Toplam reaksiyon :



şeklinde verilebilir. K_{o1} , kompleksin "kararlılık sabiti" veya "oluşum sabiti" olarak bilinir, pratikte logaritması alınarak kullanılır. Kararlılık sabiti ne kadar büyük ise kompleks o kadar karardır. Komplekslerin bileşimi ve kararlılıklarının tayini için geliştirilmiş pek çok yöntem bulunmaktadır. Ancak çalışma konusu açısından spektrofotometrik tayin üzerinde durulacaktır.

II.4.1. Komplekslerin Bileşimlerinin Spektrofotometrik Olarak Tayini (66-69) :

Komplekslerin yapılarının aydınlatılmasında kullanılan yöntemlerden birisi de spektrofotometridir. Bu yöntemin kullanılabilmesi için ortamda

bulunan bileşenlerden birisinin belli dalga boyunda absorpsiyon yapması gerekir. Komplekslerin çözeltilerdeki oluşum sabitleri spektrofotometrik olarak tayin edilebilir. Bu amaçla kompleks iyon çalışmaları için üç tür spektrofotometrik yöntem kullanılır.

a) Mol oranı yöntemi : Bu yöntemde reaksiyona girenlerden birinin (genellikle katyonun) ortamdaki konsantrasyonu sabit tutularak ligandın katyonunkinin (0.1), (0.2), (0.3) (1), (2), (3) katı yapılır. Her seferinde çözeltinin absorpsiyonu ölçülür. Böylece ligandın mol sayısının katyonun mol sayısına oranından çıkan sayı absiste, ölçülen absorpsiyon ordinatta gösterilerek grafiğe geçirilir. Grafikte farklı eğimli iki doğrunun kesim noktasının absisinin gösterdiği sayı, ligandın metale oranını verir. Bu oran 1 ise kompleksteki ligand-metal oranı (1:1), 2 ise (1:2), 3 ise (1:3)'dür (Şekil-1). Bu yöntemle bir katyondan birden fazla kompleksin oluşup oluşmadığı gösterilebilir. Ancak bunun için oluşan komplekslerin absorpsiyon katsayıları ve oluşum sabitleri birbirinden oldukça farklı olmalıdır.

b) Eğim oranı yöntemi : Ortamda oluşan kompleks zayıf ve bir tane olduğu zaman uygulanabilir. Yöntem kompleks zayıf da olsa bileşenlerinden birinin diğerine oranı çok büyük olduğu zaman dengenin tamamen sağa kaydırılmış olabileceği ve Beer kanununun uygulanabileceği düşüncesine dayanır.



Ligandın metale oranı çok büyük olması halinde,

$$[M_X L_y] = \frac{C_M}{X} \quad (12)$$

$$A_1 = \epsilon b [M_X L_y] = \epsilon \cdot b \cdot C_M / X \quad (13)$$

ϵ : ekstinksiyon katsayısı

b : hücre kalınlığı

yazılabilir. Bu eşitlik A_1 in C_M ile doğrusal değiştiğini gösterir. Metalin liganda oranı çok büyük olması halinde,

$$\left[\begin{matrix} M_X & L_y \\ \end{matrix} \right] = \frac{C_L}{y} \quad (14)$$

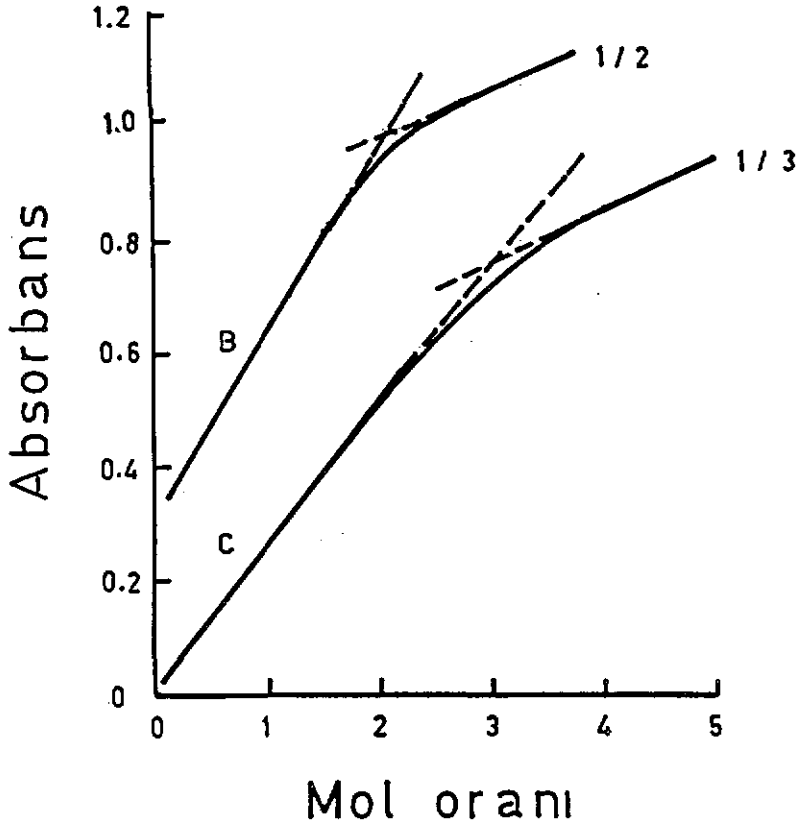
$$A_2 = \epsilon b \left[\begin{matrix} M_X & L_y \\ \end{matrix} \right] = \epsilon \cdot b \cdot C_L / y \quad (15)$$

olur. Bu iki doğrunun eğimleri sırasıyla A_1/C_M ve A_2/C_L 'dir. Eğimlerin birbirine oranından kompleksin bileşimi bulunur (Ek: 2).

$$\frac{A_1 / C_M}{A_2 / C_L} = \frac{\epsilon b / X}{\epsilon b / y} = \frac{y}{X} \quad (16)$$

c) Job veya devamlı değişmeler yöntemi : Bu yöntemde Job tarafından ortaya konulan izomolar seriler yöntemi olarak tanınan bir yol izlenir. İzomolar seriler metal ve ligand çözeltilerinin değişik oranlarda karıştırılmasıyla elde edilir. Ancak karışımın toplam hacmi değişmemelidir. Metal ve ligandan oluşan kompleks için iyi bir çözücü bulunup, seçilen dalga boyunda kompleksteki metal-ligand oranı saptanabilir. Bunun için kompleksin UV spektrumu alınır, maksimum absorbands verdiği dalga boyu seçilir. Metal (M) ve ligandın (L) aynı konsantrasyonda ayrı ayrı çözeltileri hazırlanır. Önce saf metal çözeltilisinin absorbandsı ölçülür. Bundan sonra :

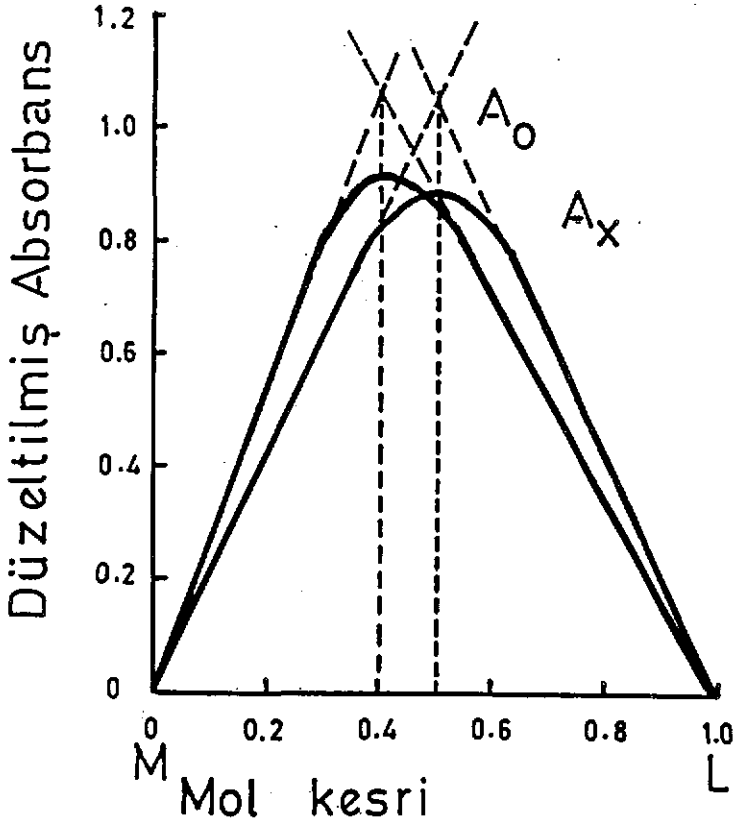
9 ml M + 1 ml L
8 ml M + 2 ml L
7 ml M + 3 ml L
6 ml M + 4 ml L
5 ml M + 5 ml L
4 ml M + 6 ml L
3 ml M + 7 ml L
2 ml M + 8 ml L
1 ml M + 9 ml L



Sekil 1. Bir çözelti içindeki kompleksin metal:ligand mol oranının absorbans ile değişimi.

B : Metal : ligand oranı 1/2

C : Metal : ligand oranı 1/3



Sekil 2. Bir çözelti içindeki kompleksin metal-ligand izo- molar karışımlarının absorbans ile değişimi.

ve en son saf ligand çözeltisinin absorbanası ölçülür. Ölçülen değerler mol kesirlerine karşı grafiğe geçirilir (Şekil-2). Elde edilen grafikten maksimum absorbanasa karşı gelen mol kesri kompleksin çözeltideki stökiyometrisini verir. Bu uygulamanın yapılabilmesi için kompleks absorbanası konsantrasyon ile doğrusal değişmeli yani Beer kanunu geçerli olmalıdır.

II.4.2. Komplekslerin kararlılık sabitlerinin spektrofotometrik olarak tayini :

Komplekslerin belli bir ölçüde ayrışması halinde Şekil-2'deki izomolar seriler eğrisi doğrusal kısımların ekstrapolasyonu ile elde edilen maksimumdan daha düşük bir absorbanas değerinde bir maksimum verir (70).



Burada k_1 : kompleksin oluşma sabiti
 k_2 : kompleksin ayrışma (dissosiyasyon) sabiti

(17) numaralı reaksiyon denkleminde ayrışma derecesi α ile gösterilirse denge şu şekilde yazılabilir.



$$\text{Ayrışma sabiti : } k_2 = \frac{\alpha^2 C}{1-\alpha} \quad (19)$$

$$\text{Ayrışma derecesi : } \alpha = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad (20)$$

ile verilir.

C_0 : Ayrışmanın olmadığı halde meydana gelen kompleks konsantrasyonu olup ekstrapolasyon ile bulunan absorbanas değerinden, C ise stökiyometrik

oranlarda hazırlanan kompleks çözeltisinin absorbandsından bulunabilir. Bu denklemler birleştirilirse :

$$\frac{\epsilon b (C_0 - C)}{\epsilon b C_0} = \alpha = \frac{A_0 - A_x}{A_0} = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad (21)$$

Bu şekilde denel olarak bulunan α (19) numaralı eşitlikte yerine konularak ayrışma sabiti (k_2) ve bu sabitin tersi ($1/k_2$) de oluşma sabiti olarak bulunur.

BÖLÜM III

D E N E Y S E L K I S I M

III.1. KULLANILAN MADDELER

Bu çalışmada kullanılan simetidin standart maddesi (Batch 126 Ceg 61 R) Fako İlaçları Anonim Şirketi aracılığı ile Smith, Kline ve French Laboratuvarı Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Bu maddenin ergime derecesi tayini, ince tabaka kromatografisi, UV, IR, NMR spektrumu yardımıyla saflık kontrolleri yapılmış, uygun özellikte olduğu anlaşıldığından ön saflaştırma yapılmamıştır (35).

İmidazol standart maddesi (Aldrich-Europe Kat. No: 002419) Aldrich Firması aracılığı ile temin edilmiştir.

Kullanılan simetidin içeren müstahzarlar Ankara eczanelerinden temin edilmişlerdir.

Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan maddeler şunlardır :

- 1) Nitrik asit (Merck)
- 2) Hidroklorik asit (Merck)
- 3) Sülfürik asit (Merck)
- 4) Glasiyel asetik asit (BDH analar)
- 5) Asetik anhidrit (Merck)
- 6) Perklorik asit (Merck pro analysi)
- 7) Etil asetat (Merck)
- 8) Metilalkol (Merck)

- 9) Etilalkol (% 99.9) (Tekel)
- 10) Amonyak (Merck)
- 11) Bakır (II) klorür (Merck)
- 12) Bakır (II) asetat (Merck)
- 13) Bakır (II) nitrat (Merck)
- 14) İyot (Merck)
- 15) Kristal viyole (BDH analar)
- 16) Potasyum hidrojen ftalat (Merck)
- 17) Kuinalizarin (BDH analar)
- 18) Silikajel G (Merck)
- 19) Potasyum bromür (Merck)

TABLO 3 : Üzerinde Çalışılan Simetidin İçeren Müstahzarlar.

Müstahzar adı	Farmasötik şekli	Birim doz içeriği
Tagamet (R)	Tablet	200 mg Simetidin
	Ampul	200 mg Simetidin/2 ml
Ulkamet	Tablet	200 mg Simetidin
Simetin	Tablet	200 mg Simetidin

III.2. KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

1. UV-Görünür bölge spektrofotometresi (Pye-Unicam, SP-1700)
2. Yazıcı (Pye-Unicam, AR-25)
3. Kolorimetre (Spectronic 20, Baush and Lomb)
4. pH metre (Model 12 Corning. Corning Scientific Instrument, New York, U.S.A.)
5. pH metre cam elektrodu (Corning)
6. pH metre referans elektrodu (Corning)
7. IR spektrofotometresi (Perkin-Elmer, Model 457)
8. NMR spektrofotometresi (Perkin-Elmer, 90 MHz)
9. Manyetik karıştırıcı (Model MK 20 Nüve)
10. İletkenlik köprüsü (Model 31, Yellow Spring Instruments Co., Inc., Ohio, U.S.A.)
11. Etüv (Model 5169 MAS. Labortechnik)
12. Santrifüj (Model T5, Janetzki)
13. Duyar Terazı (H 20 Mettler Instrument Corporation Princeton N.J., U.S.A.)
14. Ergime noktası aleti (Gallenkamp)
15. İnce tabaka kromatografi düzeneđi (Camag)
16. Otomatik mikropipetler (Model Witopet)
17. Çeşitli boy pyrex^(R) balonjoje, pipet ve büretler.

III.3. YÖNTEMLERİN UYGULANIŞI

III.3.1. Çözeltilerin hazırlanışı :

10^{-3} M simetidin standart çözeltisi : 0.0252 g simetidin standart maddesi tartılıp su veya etilalkol ile çözüldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır.

Simetidin içeren müstahzarlardan tablet dozaj şekli için yapılan analizlerde 10 tablet tartılır. Havanda toz edilerek homojen hale getirilir. Bir tabletin ortalama ağırlığından yararlanılarak 10^{-3} M simetidine karşılık gelen miktar toz edilmiş karışımdan duyarlı şekilde tartılarak 100 ml'lik balonjojeye alınır. Su veya etilalkol ile çözülerek, tamamlanır. Ampul dozaj şekli için yapılan analizlerde 1 ampul içeriği 10^{-3} M konsantrasyonda olacak şekilde 100 ml'lik balonjojede su veya etilalkol ile seyreltilir.

10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi : 0.017054 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp su veya etilalkol ile çözüldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır.

10^{-3} M kuinalizarin çözeltisi : 0.01361 g kuinalizarin tartılıp etilalkol ile çözüldükten sonra 50 ml'ye tamamlanır.

0.2 F NaOH çözeltisi : 8 g NaOH tartılıp su ile çözüldükten sonra bir litreye tamamlanır.

0.1 N Perklorik asit çözeltisi (71) : 900 ml glasiyel asetik asit içine 25°C de 8.2 ml perklorik asit (% 72 a/a) ilave edilip karıştırılır. 32 ml asetik anhidrit eklenir. Oda sıcaklığına kadar soğutulur ve glasiyel asetik asit ile 1000 ml'ye tamamlanıp, 24 saat bekletilir.

Kristal viyole T.S. (71) : Kristal viyole reaktifinin glasiyel asetik asit içindeki % 0.5 a/h çözeltisidir.

Çözeltilerin saklandığı balon jojeler ve diğer cam eşya yıkama çözeltisiyle temizlendikten sonra çeşme suyu ve damıtık su ile yıkanmıştır.

Bütün çözeltilerin hazırlanmasında, deiyonize üç defa damıtılmış su kullanılmıştır. Bidistile su, kuvvetli anyon ve kation değiştirici reçinelerin bulunduğu kolondan geçirilip deiyonize edilmektedir. Daha sonra içerisinde seyreltik $KMnO_4$ çözeltisi bulunan balonda damıtılan su iki defa daha damıtılıp bir kapta toplanmaktadır. Bu işlem sonucu elde edilen suyun iletkenliği $1 \mu mho$ 'dan küçük olduğu görülmüştür (72). Yukarıda ve bundan sonra "su" denildiği zaman üç defa damıtılmış su anlaşılmalıdır.

III.3.2. Kullanılan çözeltilerin UV spektrumlarının çizilmesi ve dalga boyu seçimi :

Aşağıdaki çözeltilerin 200-800 nm dalga boyları arasında spektrumları alındı ve elde edilen pikler ilgili şekil olarak sunuldu :

- 1) $10^{-3} M$ Simetidin'in sulu çözeltisinin ve $Cu(II)$ -simetidin (mol oranı 1:2) kompleksinin, suya karşı spektrumu (Şekil-3).
- 2) $10^{-3} M$ Bakır klorür dihidratın ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) etilalkollü çözeltisinin ve $Cu(II)$ -simetidin (mol oranı 1:1) kompleksinin, etilalkole karşı spektrumu (Şekil-4).
- 3) $5 \times 10^{-3} M$ Kuinalizarinin ($C_{14}H_8O_6$) etilalkoldeki çözeltisinin ve $10^{-4} M$ simetidin'in etilalkollü çözeltisinin etilalkole karşı spektrumu (Şekil-5).
- 4) $10^{-4} M$ Kuinalizarinin etilalkoldeki çözeltisi üzerine $10^{-3} M$ simetidin eklenmesinin, etilalkole karşı spektrumu (Şekil 13).

5) Cu(II)-kuinalizarin (mol oranı 3:2) kompleksinin etilalkole karşı spektrumu (Şekil-6).

6) Cu(II)-simetidin (mol oranı 1:1) kompleksinin kuinalizarinin etilalkoldeki çözeltisine karşı spektrumu (Şekil 7).

Elde edilen absorpsiyon spektrumu değerlendirilerek Cu(II)-simetidin kompleksinin etilalkollü ortamda maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyu saptandı. Gerek numune çalışmalarında gerekse standart eğri çizimlerinde bu dalga boyu kullanıldı.

III.3.3. Job yöntemi ile metal-ligand oranının bulunması:

Toplam hacim (10 ml) sabit kalacak şekilde, Cu(II) ve simetidin sulu ve etilalkollü çözeltilerinin, Cu(II) ve kuinalizarinin etilalkollü çözeltilerinin, izomolar karışımları hazırlandı.

Bu işlem şu şekilde yapıldı :

$10^{-3}M$ simetidin + $10^{-3}M$ Cu(II)
[veya $10^{-4}M$ kuinalizarin + $10^{-4}M$ Cu(II)]

0 ml + 10 ml
1 ml + 9 ml
2 ml + 8 ml
:
:
:
9 ml + 1 ml
10 ml + 0 ml

Bu izomolar karışımların, seçilen maksimum dalga boylarında verdiği absorbans değerleri mol kesirlerine karşı grafiğe geçirildi (Şekil-8 - 10). Maksimum absorbansa karşılık gelen mol kesrinden çözeltideki metal-ligand oranları bulundu.

III.3.4. Spektrofotometrik Yöntem ile Standart Eğri Çizimleri ve Müstahzarlara Uygulanması :

Sulu ortamda Cu(II)-sime-tidin kompleksinin maksimum absor-bans ver-diği dalga boyunda (380 nm), etilalkollü ortamda Cu(II)-sime-tidin komplek-sinin maksimum absor-bans verdiği dalga boyunda (350 nm), 10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çö-zeltisi üzerine μl düzeyinde 10^{-3} M sime-tidin eklendi. Gözlenen absor-bans de-ğerleri eklenen sime-tidin konsan-trasyonuna karşı grafiğe geçirildi. Bu yöntemde boş numune olarak su ve etilalkol kullanıldı (Şekil 11).

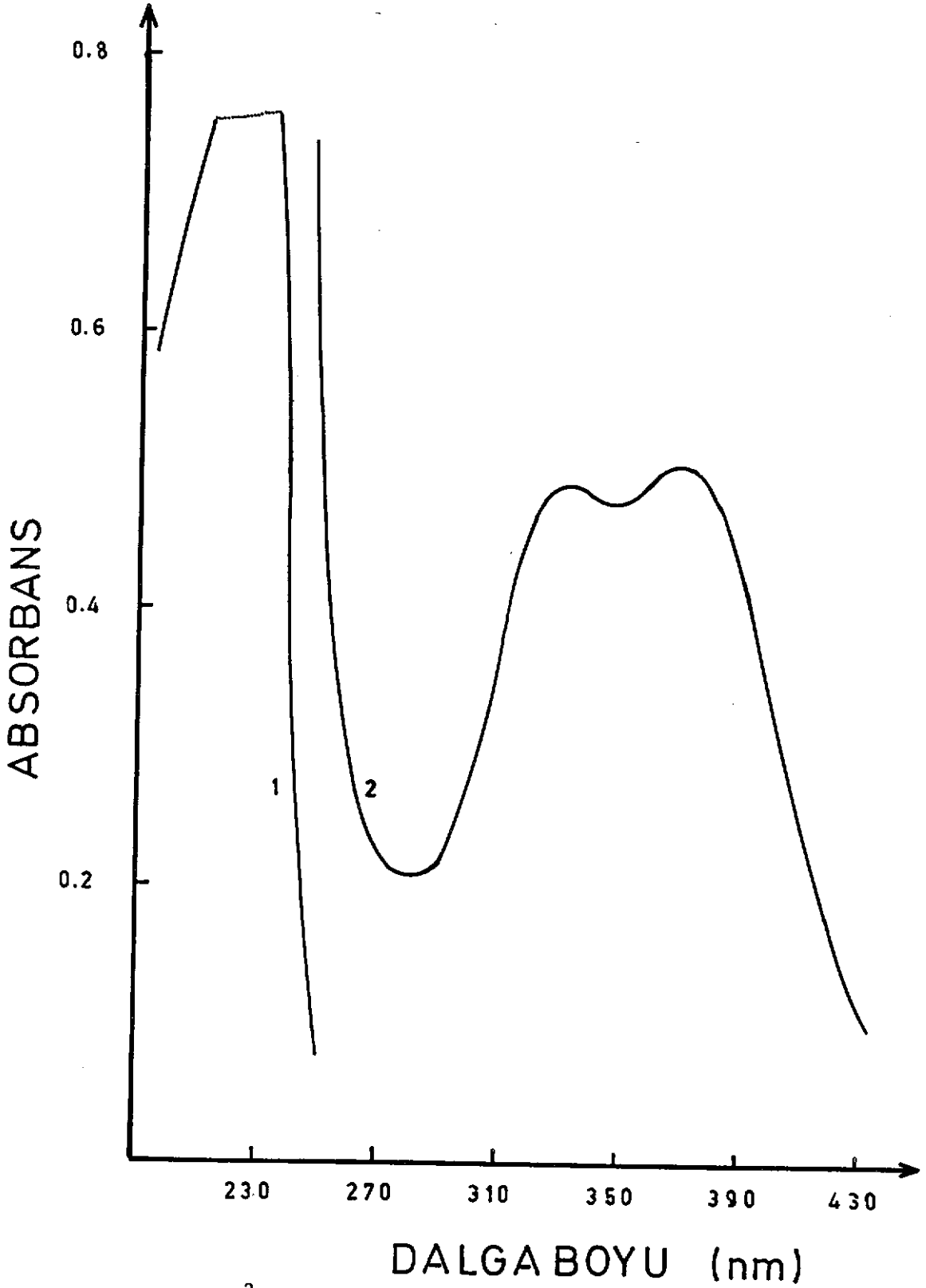
Önerilen yöntemde, 3 ml 10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 2 ml 10^{-3} M Kuinalizarin karışımına (mol oranı 3:2) etilalkollü ortamda μl düzeyinde 10^{-3} M sime-tidin eklenerek gözlenen absor-banslar eklenen sime-tidin konsan-trasyonuna karşı grafiğe geçirildi. Bu yöntem de boş numune olarak 3:2 oranındaki Cu(II)-Kuinalizarin kompleksi kullanıldı (Şekil 12).

Standart eğriler çizildikten sonra müstahzarlardaki ilaç miktarları-na geçildi. Bunun için hazırlanan ilaç çö-zelteleri ile standart maddelerde olduğu gibi çalışıldı. Gözlenen absor-bansa karşı gelen konsan-trasyon stan-dart eğri yardımıyla bulundu. Gerekli hacim dü-zeltmeleri yapıldıktan sonra bulunan sonuçlar bir dozaj şekline indir-gendi.

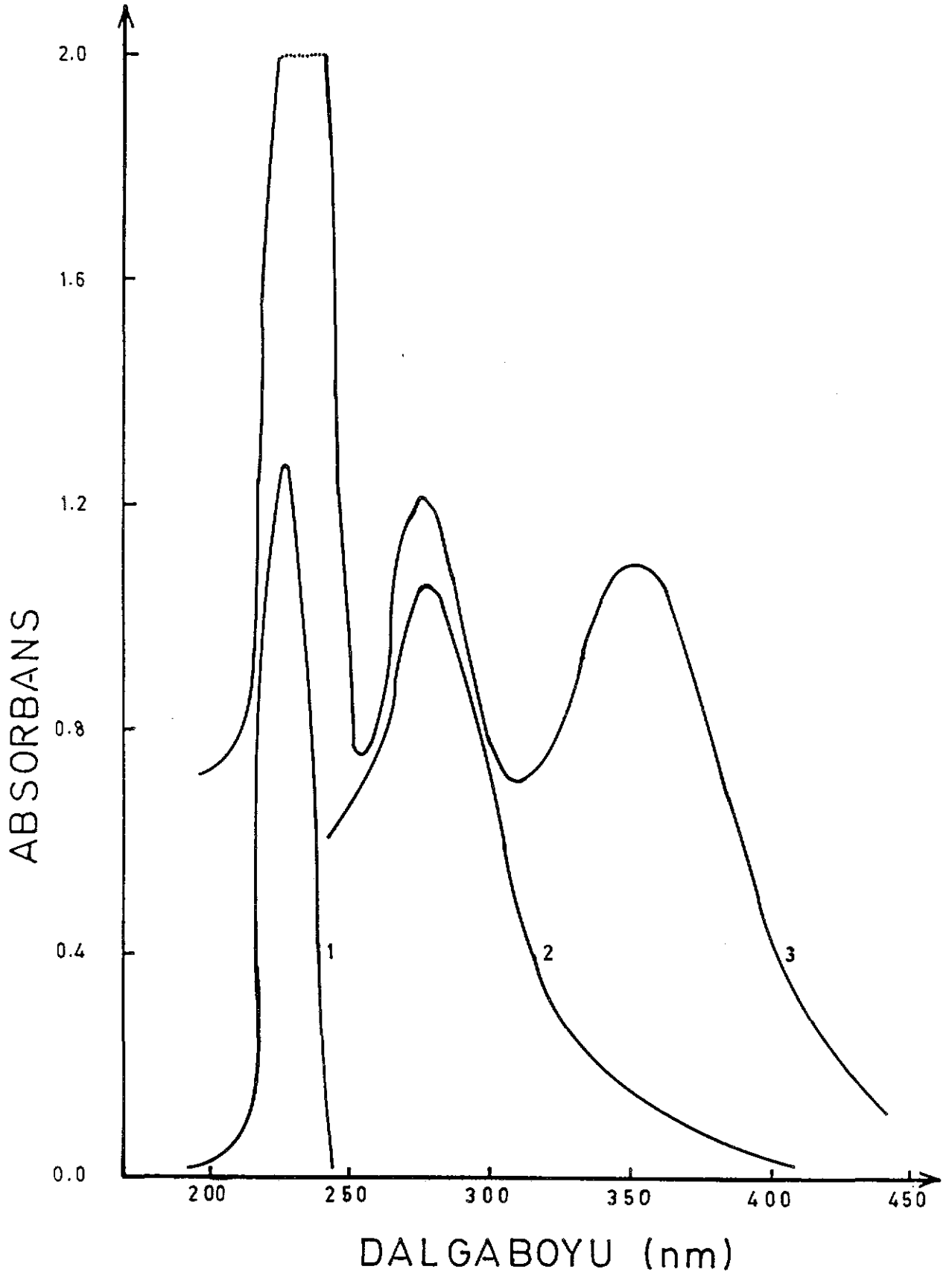
Tabletlerde çalışırken homojenliği sağlamak için alınacak en uygun tablet sayısını saptamak amacıyla müstahzarlardan alınan 5, 10 ve 20 tab-let ile de deneyler yapılmış sonuçlarda bir fark gözlenmemiştir. Bu neden-le sonraki çalışmalarda 10 tablet alınarak deneyler yapılmıştır (Tablo 4-8).

BÖLÜM IV

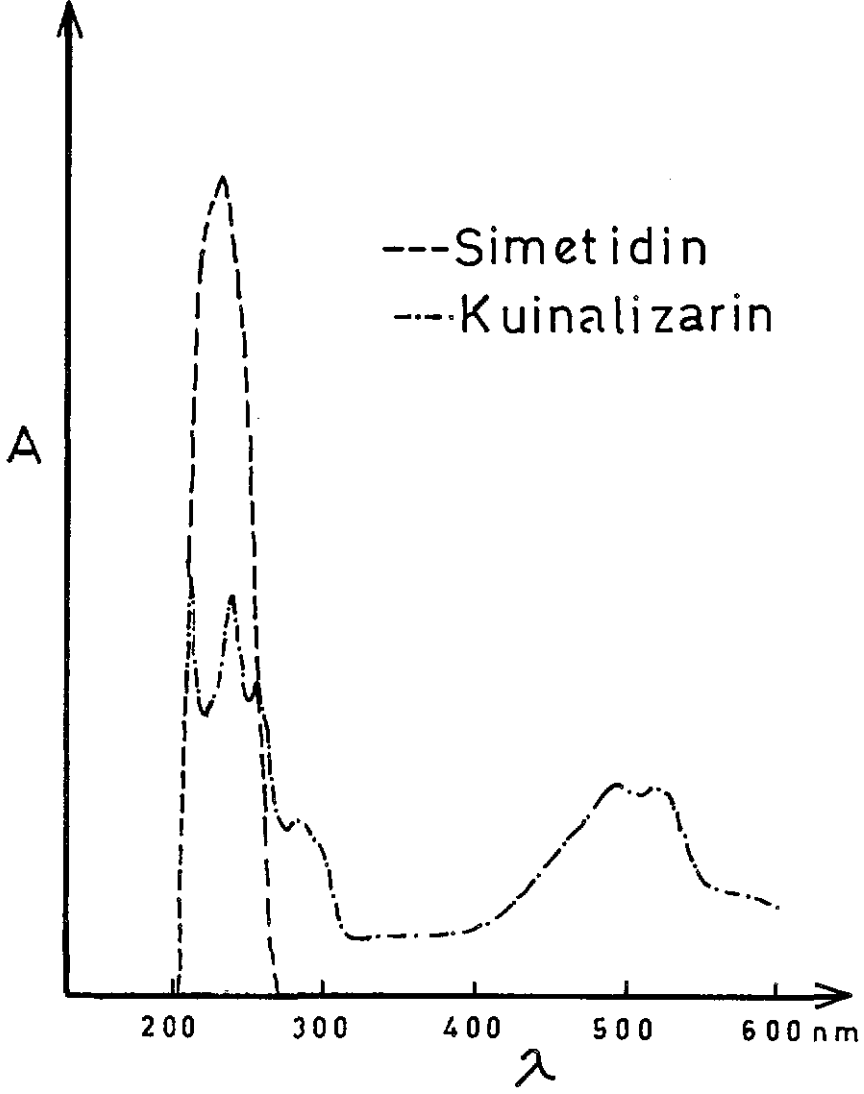
B U L G U L A R



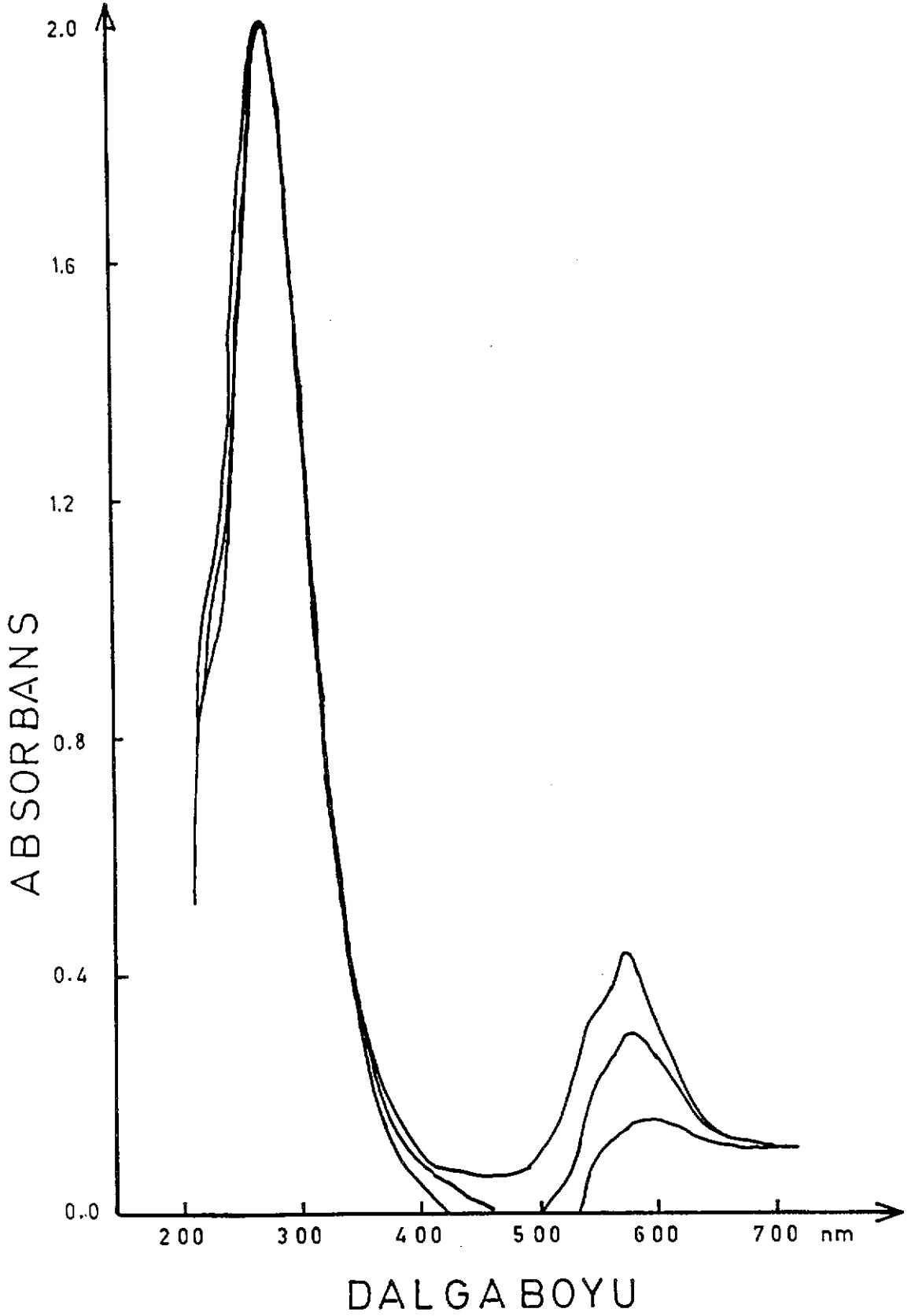
Şekil 3. 1. 10⁻³ M simetidin sulu çözeltisinin,
2. Sulu ortamdaki Cu(II)-simetidin kompleksinin UV spektrumları
(Boş numune : su).



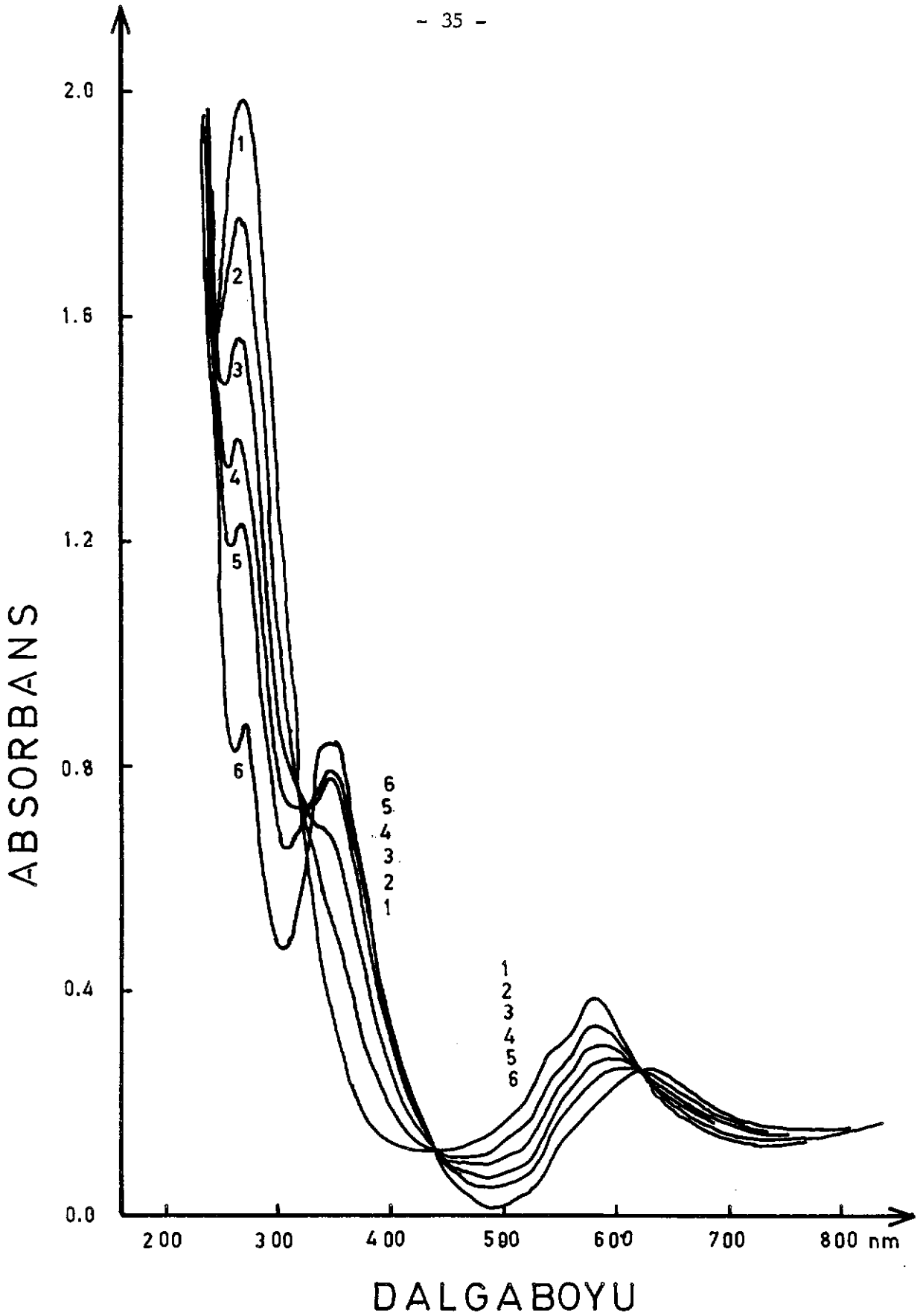
Şekil-4. 1. 10^{-4} M simetidin'in etilalkol içindeki çözeltisinin,
2. 10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'ın etilalkol içindeki çözeltisinin,
3. Cu(II)-simetidin kompleksinin etilalkollü ortamdaki UV spektrumları (Boş numune : etil alkol).



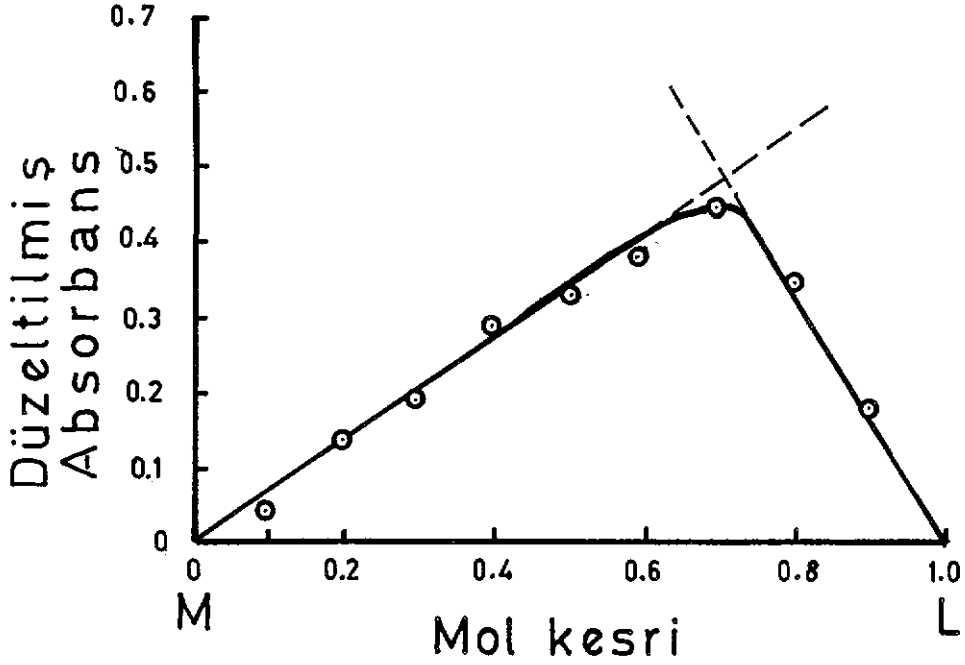
Şekil-5. Simetidin ve kuinalizarinin etilalkol çözeltisi içindeki UV spektrumları (Boş numune : etil alkol).



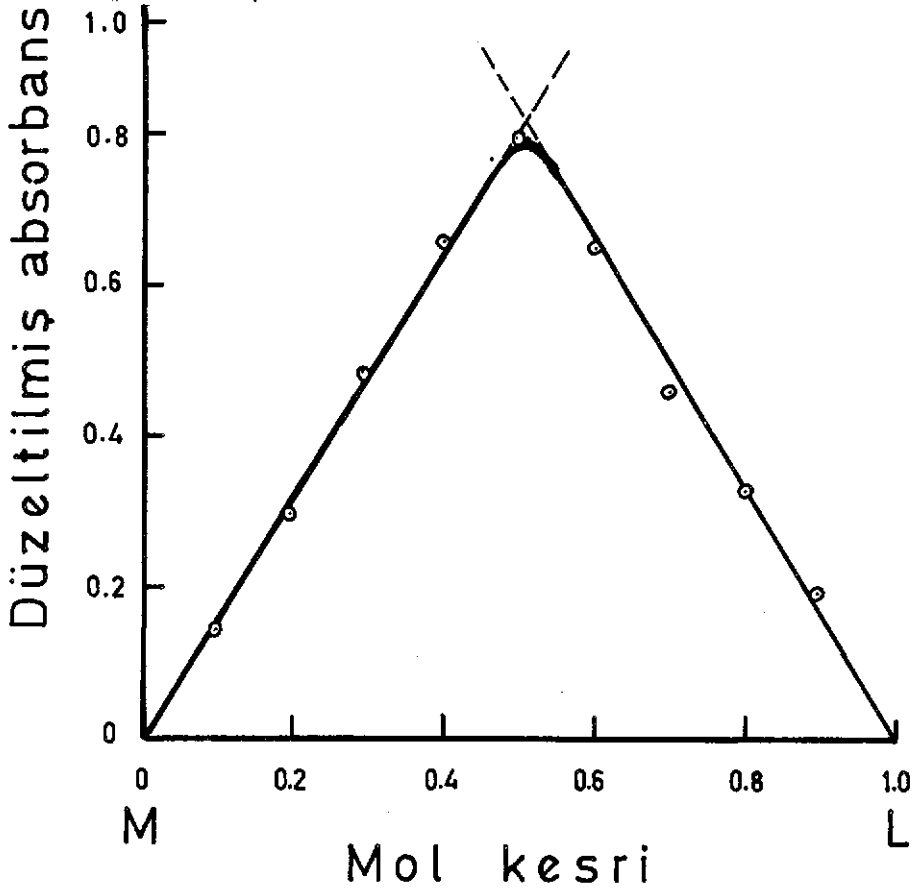
Şekil-6. CuCl₂.2H₂O çözeltisi üzerine kuinalizarin eklemeleri ile oluşan Cu(II)-küinalizarin kompleksinin UV spektrumları (Boş numune : etilalkol).



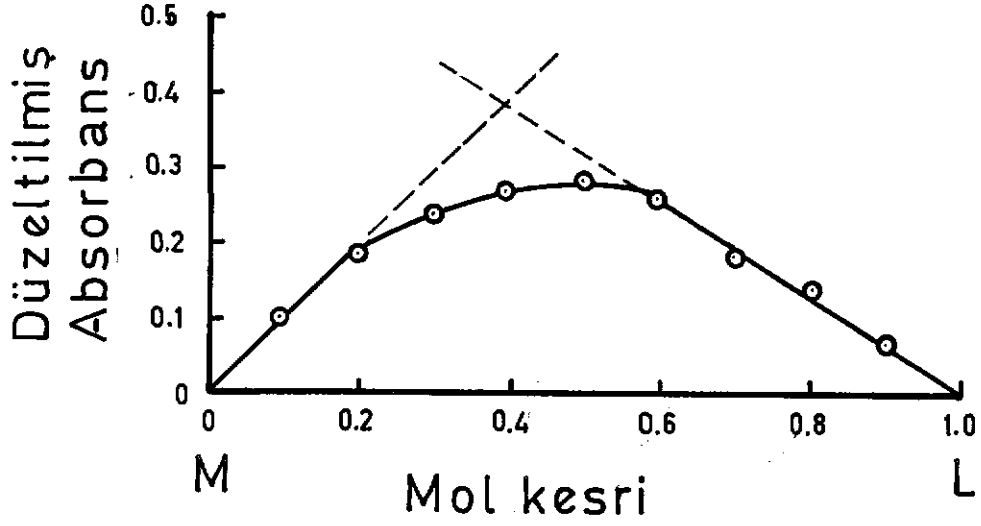
Şekil-7. Cu(II)-kuinalizarin kompleksi üzerine simetidin eklemeleri ile oluşan Cu(II)-simetidin kompleksinin spektrumları . (Boş numune : 10^{-4} M kuinalizarinin etilalkol içindeki çözeltisi) 1) 0,0 M, 2) 1.66×10^{-4} M, 3) 2.86×10^{-4} M, 4) 3.2×10^{-4} M, 5) 3.42×10^{-4} M, 6) 3.75×10^{-4} M simetidin.



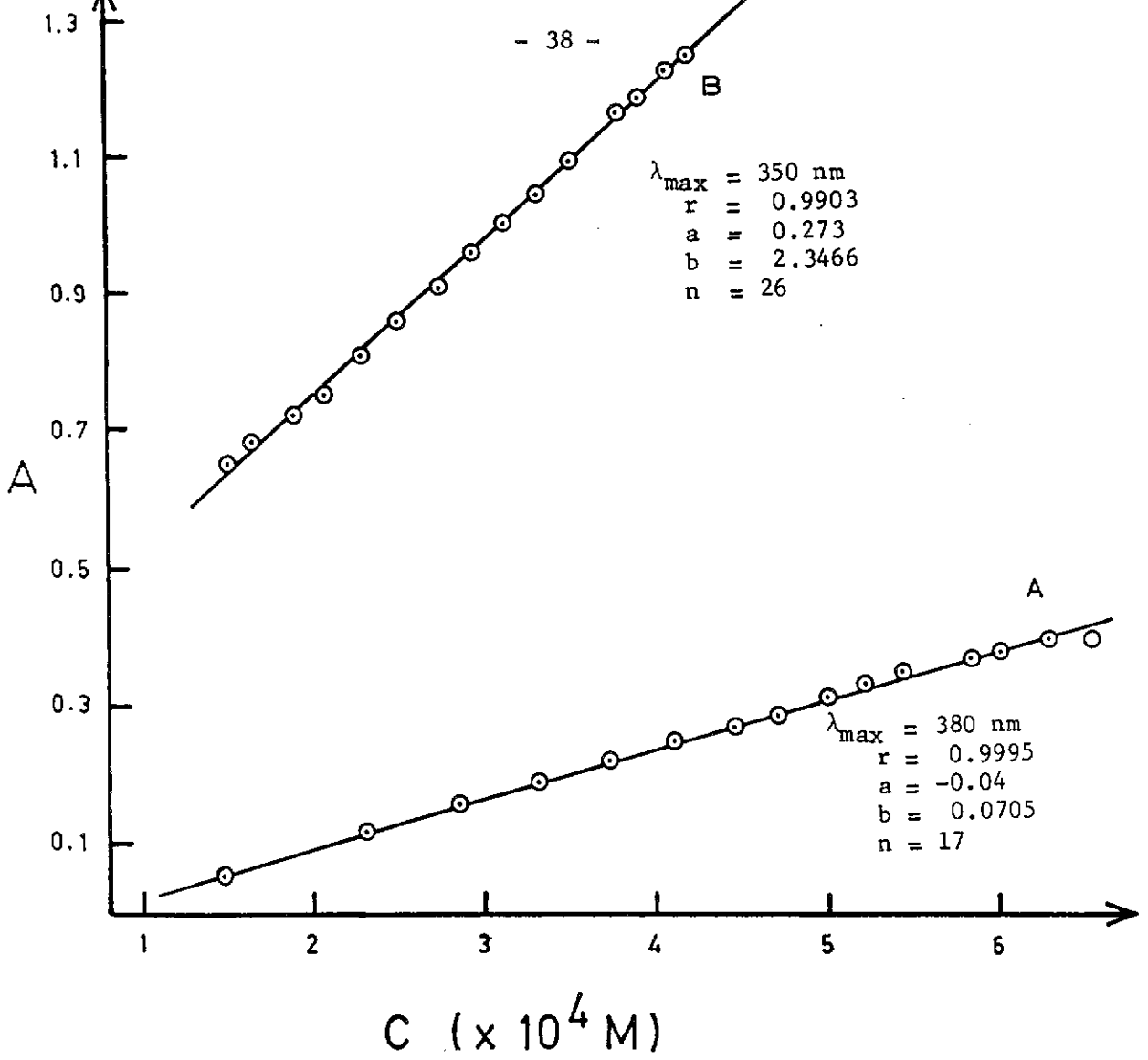
Şekil-8. Sulu ortamda Cu(II) ve simetidin izomolar karışımlarının absorbans ile değişimi. ($\lambda_{\max} = 380$ nm, $M = 10^{-3}$ M Cu(II), $L = 10^{-3}$ M simetidin).



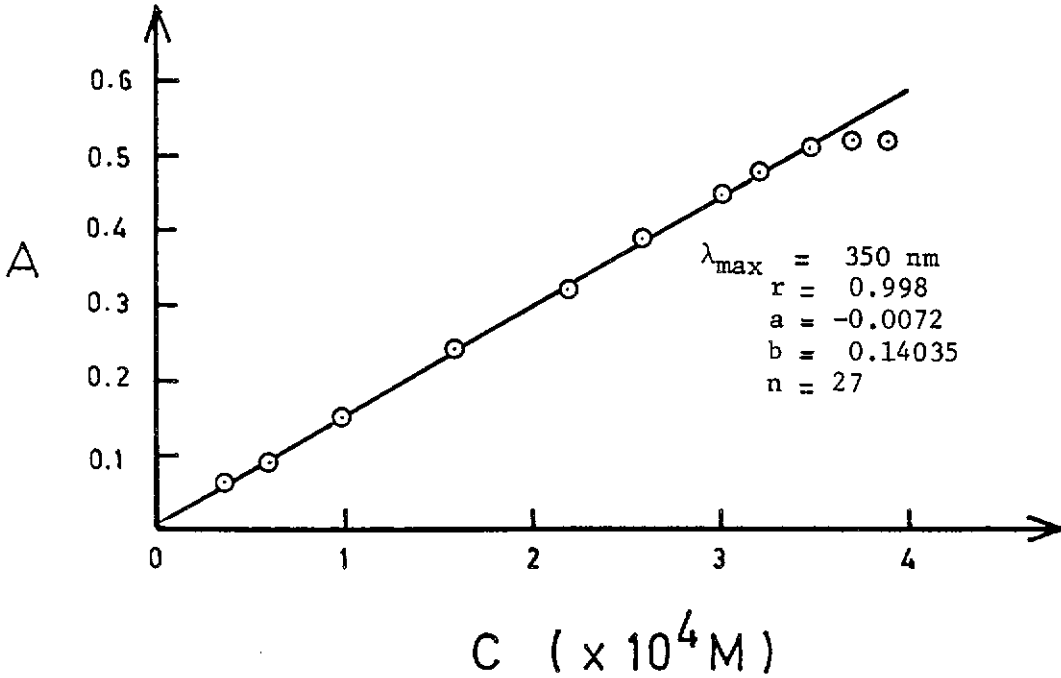
Şekil-9. Etilalkollü ortamda Cu(II) ve simetidin izomolar karışımlarının absorbans ile değişimi. ($\lambda_{\max} = 350$ nm, $M = 10^{-3}$ M Cu(II), $L = 10^{-3}$ M simetidin).



Şekil-10. Etilalkollü ortamda Cu(II) ve kuinalizarinin izomolar karışımlarının absorbans ile değişimi ($\lambda_{\max} = 580 \text{ nm}$, $M = 10^{-4} \text{ M Cu(II)}$, $L = 10^{-4} \text{ M kuinalizarin}$).



Şekil-11. Cu(II)-simetidin kompleksinin A) sulu ortamda, B) etilalkollü ortamda kalibrasyon eğrileri. (Şekildeki noktalar 6 deneyin ortalamasıdır).



Şekil-12. Kuinalizarin varlığında Cu(II)-simetidin kompleksinin kalibrasyon eğrisi. (Şekildeki noktalar 6 deneyin ortalamasıdır).

TABLO-4. Tagamet^(R) Tablet İçin Değişik Miktarlar Alınarak Yapılan Analiz Bulguları.

Adet	Belirtilen Miktar mg/Tablet	Bulunan Miktar mg/Tablet
5	200	200.12
10	200	199.98
20	200	200.66

TABLO-5. Tagamet^(R) Tablet Analiz Bulguları.

Numune No	Simetidin mg/tablet	Belirtilen miktar: 200 mg/tab.
1	199.43	\bar{x} : 200.15 mg \pm 0.23 (n= 7) Standart sapma : 0.609 Belirtilenin yüzdesi: %100.08
2	200.60	
3	201.12	
4	200.28	
5	200.56	
6	199.62	
7	199.46	
Susuz ortam titrasyonu :		\bar{x} : 199.89 mg \pm 0.27 (n= 6)

TABLO-6. Ulkamet Tablet Analiz Bulguları.

Numune No	Simetidin mg/tablet	Belirtilen miktar: 200 mg/tab.
1	200.55	\bar{x} : 200.49 mg \pm 0.237 (n= 7) Standart sapma : 0.628 Belirtilenin yüzdesi: %100.25
2	201.65	
3	200.15	
4	200.03	
5	199.83	
6	200.06	
7	201.17	
Susuz ortam titrasyonu :		\bar{x} : 199.57 mg \pm 0.23 (n= 6)

TABLO-7. Tagamet^(R) Ampul Analiz Bulguları.

Numune No	Simetidin mg/2 ml	Belirtilen miktar : 200 mg/2 ml
1	199.37	\bar{x} : 199.84 mg \pm 0.222 (n= 7) Standart sapma : 0.59 Belirtilenin yüzdesi: % 99.92
2	199.43	
3	199.21	
4	200.53	
5	199.30	
6	200.53	
7	200.48	
Susuz ortam titrasyonu :		\bar{x} : 198.91 mg \pm 0.20 (n= 6)

TABLO-8. Simetidin Tablet Analiz Bulguları.

Numune No	Simetidin mg/tablet	Belirtilen miktar: 200 mg/tab.
1	200.07	$\bar{x} : 200.71 \text{ mg} \pm 0.27 \quad (n= 7)$ Standart sapma : 0.73 Belirtilenin yüzdesi: % 100.57
2	201.45	
3	200.57	
4	200.12	
5	202.14	
6	200.05	
7	200.58	
Susuz ortam titrasyonu : $\bar{x} : 199.73 \text{ mg} \pm 0.29 \quad (n= 6)$		

TABLO-9. Cu(II)-Simetidin Kompleksinin UV Spektrofotometresi ile Yapılan Miktar Tayininde Alt ve Üst Konsantrasyon Sınırları.

Kompleksin Adı	Alt Tayin Sınırı		Üst Tayin Sınırı	
	mmol/ml	$\mu\text{g/ml}$	mmol/ml	$\mu\text{g/ml}$
Sulu ortamda Cu(II)-Simetidin	1.5×10^{-4}	37.86	6.295×10^{-4}	158.91
Etilalkollü ortamda Cu(II)-Simetidin	1.525×10^{-4}	38.50	4.047×10^{-4}	102.15
Önerilen yöntemde Kuinalizarin varlığında Cu(II)-Simetidin	1.00×10^{-6}	0.24	3.96×10^{-3}	1000

TABLO-11. Cu(II)-Simetidin Komplekslerinin UV Spektrofotometrik Kalibrasyon Eğrilerinin Korelasyon ve Regresyon Katsayıları ile Doğrusallıktan Ayrılışın Önem Kontrolü için Yapılan Hesaplamaların Sonuçları.

STANDART EĞRİ	n	b	r	S _r	t _H	t _T	OAKT	RKT	RAKT	OAKO	RAKO	F _H	F _T
Cu(II)-Simetidin (Sulu ortam) 380 nm	16	0.0705	0.9994	0.0119	83.60	2.14	0.1527	0.1525	0.0001	0.0102	8x10 ⁻⁶	0.0008	2.485
Cu(II)-Simetidin (etilalkollü ortam) 350 nm	25	2.3466	0.9903	0.0294	33.67	2.07	0.7079	0.6944	0.0136	0.0295	0.0006	0.02	2.00
Cu(II)-Simetidin (etilalkollü ortam) önerilen yöntemde 350 nm	27	0.1404	0.9980	0.0126	79.21	2.06	0.8653	0.8619	0.0033	0.0331	0.0001	0.004	1.96

BÖLÜM V

TARTIŞMA ve SONUÇ

V.1. UYGULANAN YÖNTEM ÜZERİNDE TARTIŞMA

Simetidin miktar tayini için kullanılan ve literatüre geçmiş olan yöntemlere Bölüm II.3.'de ayrıntılı olarak yer verilmiştir. Bu çalışmada laboratuvar olanaklarımız ile uygulanabilecek spektrofotometrik bir yöntemin geliştirilmesi düşünülmüştür. Simetidin imidazol halkası içerdiği ve imidazol halkasının ise Cu(II) (73), Ni(II) (74), Zn(II) (75), Hg(II) (76), Ag(I) (77) gibi çeşitli metallerle kompleks yapma özelliği gözönüne alınarak, simetidin'in metallerle kompleks yapma özelliğine dayanan spektrofotometrik bir yöntem üzerinde çalışılmıştır. 1981 yılında simetidin'in Cu(II) iyonu ile kompleks oluşturmasına dayanan spektrofotometrik bir yöntem yayınlanmış bulunmaktadır (2). Seçtiğimiz yöntemde de simetidin'in Cu(II) iyonu ile yaptığı kompleks esas alınmakla beraber suku ortamda çalışıldığı bildirilen yayınlanmış yöntemden farklı olarak çalışmalarımızda Cu(II)-kuinalizarin kompleksi / etilalkol ortamı kullanılmıştır.

Bu yöntem seçilirken alt tayin sınırı literatürde verilenlerden daha düşük değere indirilmeye ve çabuk sonuç veren, ekonomik aynı zamanda kolay uygulanabilen bir yöntem olmasına özen gösterilmiştir.

Geliştirilen yöntemin üstünlükleri şöyle sıralanabilir :

a) Yöntemde kullanılan madde sayısı ve miktarı az olup, kolay temin edilebilen bileşiklerdir. Bu açıdan ekonomik bir yöntem olarak değerlendirilebilir.

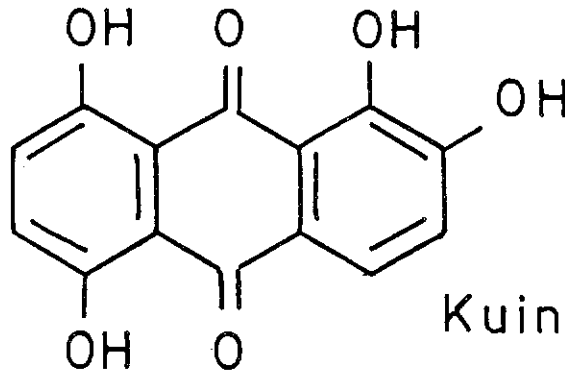
b) Boş numune olarak Cu(II)-Kuinalizarin kompleksi kullanıldığından bu kompleksin kendi kendine zamanla bozunması olasılığından gelecek hata en aza indirilmiştir.

c) Seçilen yöntemle oldukça iyi tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmiştir.

d) Yöntem müstahzarlarla çalışıldığında kısa sürede sonuç verebilmektedir. Tabletlerin etilalkolde çözülmesi ile elde edilen çözeltiler herhangi bir ön ayırma işlemine gerek duyulmadan kullanılabilir. Müstahzarlarda yer alan dolgu ve katkı maddeleri yöntemi etkilememektedir.

V.2. SEÇİLEN YÖNTEMİN, SULU ve ETİALKOLLÜ ORTAMDA DOĞRUDAN Cu(II)-SİMETİDİN KOMPLEKSİ OLUŞTURULMASINA DAYANAN YÖNTEM İLE KARŞILAŞTIRILMASI ÜZERİNDE TARTIŞMA :

Etilalkollü ortamda doğrudan Cu(II)-simetidin kompleksi oluşturulmasına dayanan yöntemde kompleks pikinin gözleendiği dalga boyunda (350 nm), ligand eklemesi yapılmadan önce bir absorbans gözlenmektedir. Seçilen yöntemde ise boş numune olarak Cu(II)-Kuinalizarin kompleksi kullanıldığı için kalibrasyon eğrisi sıfırdan geçmektedir.

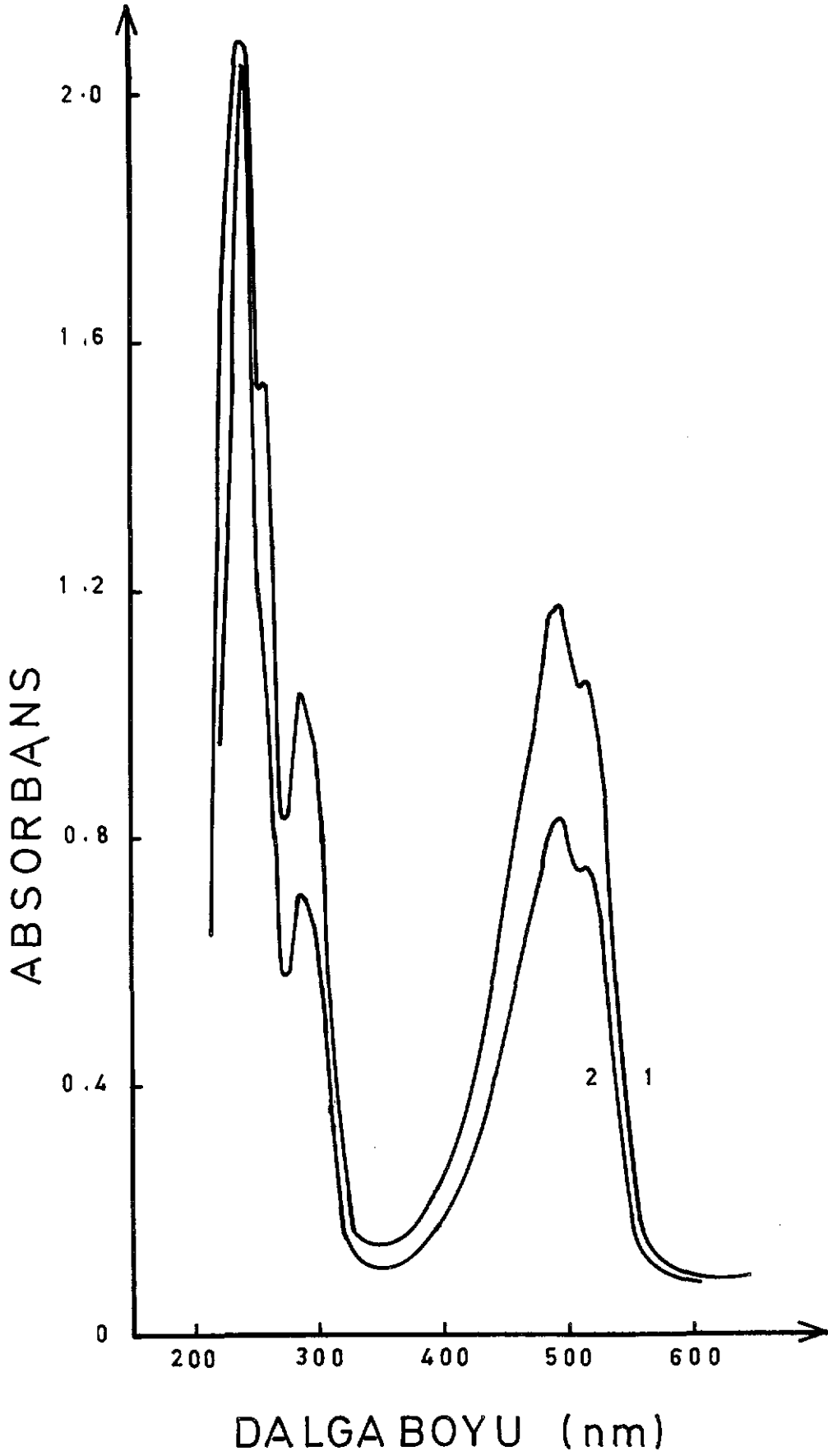


Kuinalizarin

(1,2,5,8-Tetrahidroksiantrakinon)

Doğrudan Cu(II)-simetidin kompleksi oluşturulmasına dayanan yöntemde kompleks pikinin görüldüğü ligand (simetidin) konsantrasyonundan sonraki eklemelerde absorbanın ligand konsantrasyonu ile arttığı gözlenmiştir. Bu durum şöyle açıklanabilir: Sulu ve etilalkollü ortamda eklenen her ligand ortamda aşırı miktarda bulunan metal iyonu ile hemen kompleks oluşturmakta ve bu nedenle gözlenen kompleksin piki giderek büyümektedir. Absorbans eklenen ligand konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildiğinde belli sınırlarda doğrusal olduğu gözlenmiş ve simetidin miktar tayini yapılmıştır. Bu yöntem denendiğinde alt tayin sınırı 38 µg/ml olarak bulunmuştur (Tablo 9).

Seçilen yöntemde ise (Job yöntemi ile bulunan 3:2 mol oranında), 10^{-3} M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ile 10^{-3} M kuinalizarin çözeltisinin oluşturduğu Cu(II)-kuinalizarin kompleksi boş numune olarak kullanıldığından eklenen her ligand ortamdaki Cu(II)-kuinalizarin kompleksini bozup açığa çıkan metal iyonu ile Cu(II)-simetidin kompleksini oluşturmaktadır. Bu sırada Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin 580 nm dalga boyundaki absorbanı azalmakta, buna karşılık Cu(II)-simetidin kompleksinin 350 nm dalga boyundaki absorbanı artmaktadır (Şekil 7). Bu dalga boyunda eklenen ligand konsantrasyonuna karşı gözlenen absorban değerleri grafiğe geçirildiğinde 0.24-1000 µg/ml arasında doğrusal olduğu Tablo 9'da gösterilmiştir. Bu yöntemde hem alt tayin sınırı daha düşük hem de doğrusallık sınırı daha büyük bulunmuştur. Bu yöntemde simetidin ile kuinalizarin arasındaki herhangi bir reaksiyon olabilir düşüncesiyle kuinalizarin üzerine simetidin eklenmiştir. Ultraviyole spektrumu çekildiğinde gözlenen pikler kuinalizarinin kendi pikleri olduğu görülmüş ve simetidin ile kuinalizarin arasında herhangi bir reaksiyon olmadığı sonucuna varılmıştır (Şekil 13).



Şekil 13. 1) 10^{-4} M kuinalizarinin UV spektrumu ,
2) 10^{-4} M kuinalizarin üzerine 3.3×10^{-4} M simetidin eklenmesi
sonunda çözeltinin UV spektrumu .

Seçilen yöntemde alt tayin sınırının düşük olma nedeni şu şekilde açıklanabilir :

Kompleks oluşumlarında iyonik şiddet çok önemli bir etkidir. İyonik şiddet (μ), çözeltideki iyonların konsantrasyonları ve yükleri ile ilişkilidir.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad (22) \text{ formülü ile gösterilir.}$$

C : iyonların konsantrasyonu
Z : iyonların yükü

Çözelti ancak belli bir iyonik şiddete eriştiği zaman kompleksin absorbansı gözlenebilmektedir. Ortamda kuinalizarin bulunması gerekli iyonik şiddete daha az simetidin konsantrasyonunda erişilmesini sağlayabilir.

V.3. Cu(II)-SİMETİDİN KOMPLEKSİNİN YAPISI İLE İLGİLİ TARTIŞMA

V.3.1. Cu(II)-simetidin kompleksinin metal-ligand oranının Job ve eğim oranı yöntemi ile bulunması üzerinde tartışma :

Deneyler Bölüm III.3.3'de anlatıldığı gibi yapılarak metal-ligand oranları saptanmıştır. Bu oran Cu(II)-simetidin kompleksi için sulu ortamda 1:2, etilalkollü ortamda ise 1:1 olarak bulunmuştur. Buna göre kompleksin ampirik formülü sulu ortamda ML_2 , etilalkollü ortamda ise ML şeklinde gösterilebilir. Sulu ortamda metal-ligand oranının 1:2 olduğu, madde nin ultraviyole spektrumundan da görülmektedir. Etilalkollü ortamda oluşan kompleksin UV spektrumunda (Şekil 4) 350 nm'de tek pik gözlenirken sulu ortamda (Şekil 3) 340 ve 380 nm'de iki ayrı pik gözlenmektedir. Burada 380 nm'deki absorbans daha fazla olduğundan miktar tayini çalışmalarında bu dalga boyu seçilmiştir. Ayrıca sulu ve etilalkollü ortamda oluşan Cu(II)-simetidin komplekslerinin ergime dereceleri sırası ile 125, 190°C dir.

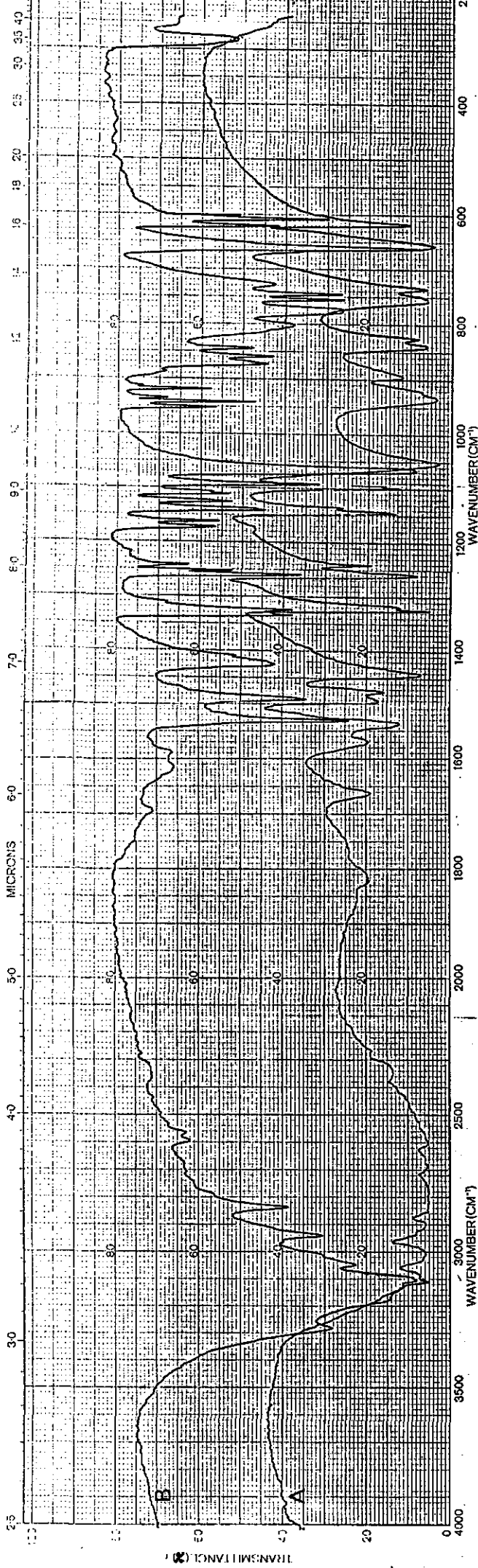
V.3.2. Kompleks yapıları ile IR spektrumları arasındaki bağıntılar üzerinde tartışma :

Çalışmalara ışık tutması amacıyla literatürde Cu(II)-imidazol kompleksinin yapısının IR spektroskopisi ile aydınlatılması üzerinde bir çalışmayı (78) verilen şartlarda yaparak IR spektrumu çekildi (Şekil 14).

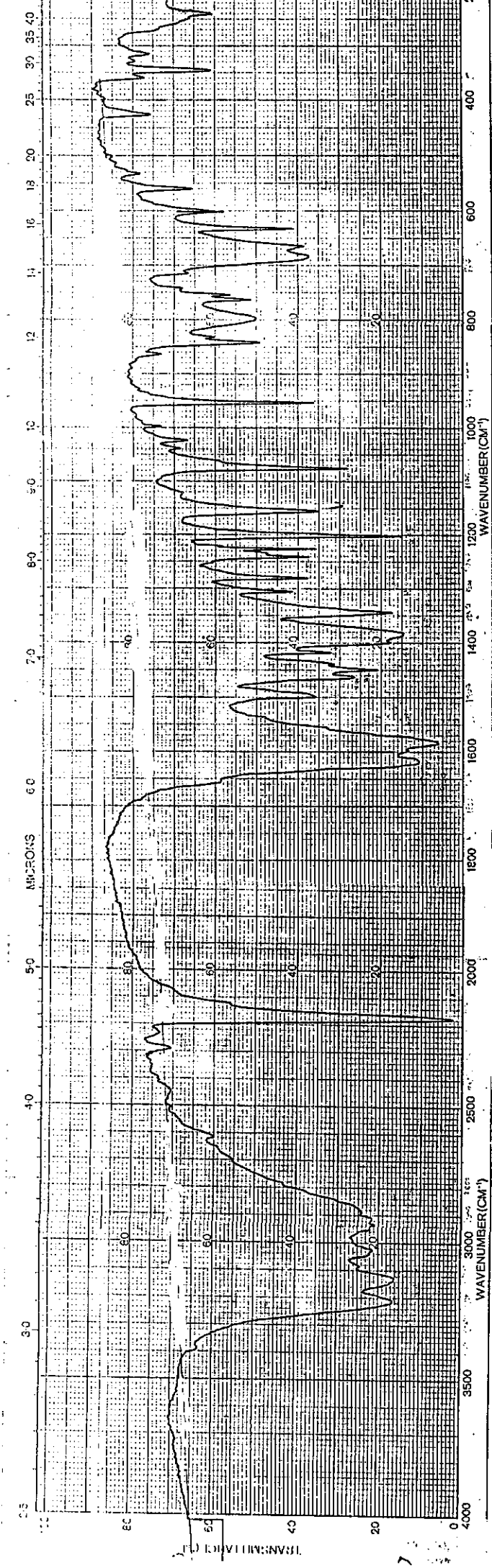
İmidazol halkası taşıyan simetidin (Şekil 15) Job yöntemi ile bulunan oranlarda sulu ve etilalkollü ortamlarda Cu(II)-simetidin katı kompleksleri oluşturulup bunların IR spektrumları çekildi (Şekil 16,17).

Cu(II)-imidazol ve Cu(II)-simetidin komplekslerinin spektrumları karşılaştırıldığında imidazol halkasındaki serbest elektron çifti taşıyan azot ile bakır atomunun arasında bir bağ ($>N-Cu$) olduğu gözlemlendi. N-H bağlarının gerilim piklerini imidazol ve simetidin molekülünde ve Cu(II) ile kompleksleşmiş hallerinde de $3340-2500\text{ cm}^{-1}$ de kuvvetli geniş bir alanda görüldüğünden kompleksleşmenin imidazol halkasındaki hidrojen içeren azot atomundan değil serbest elektron çifti içeren azottan olduğu sanılmaktadır. Ayrıca Cu(II)-simetidin kompleksinin IR spektrumunda $650-700\text{ cm}^{-1}$ arasında C-S gerilim piklerinde azalmalar gözlenmektedir. İki değerlikli (serbest elektron çifti içeren) kükürt elektron alıcısı Cu(II) ile kompleks yapma eğilimindedir ve sülfürün elektron verici olarak davranış

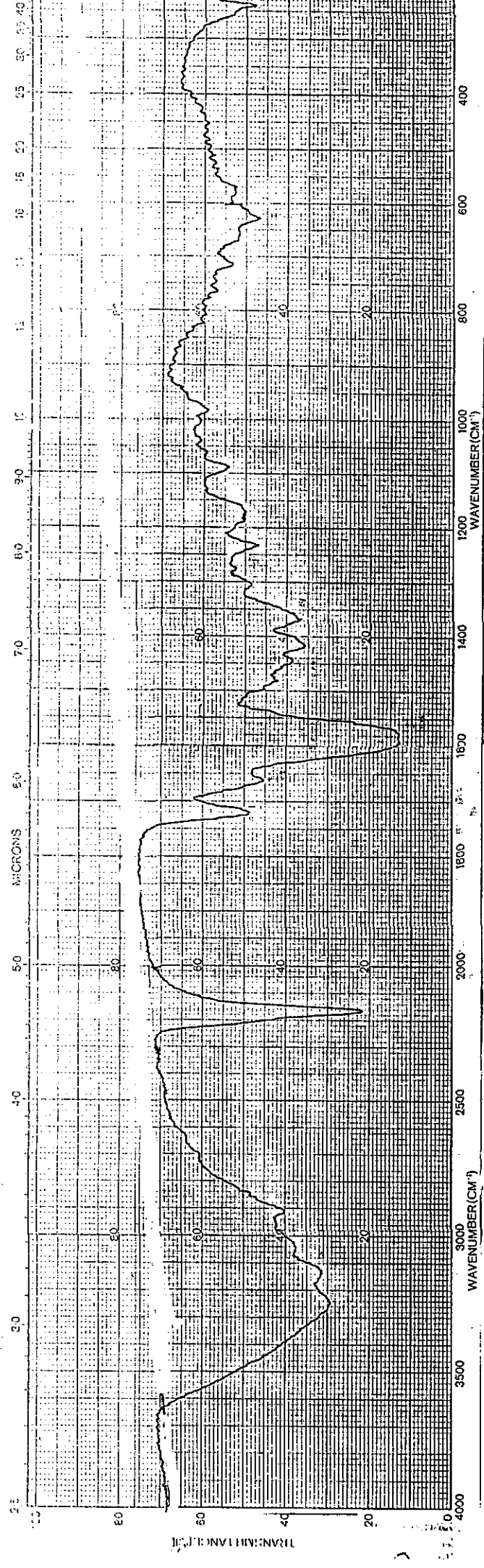
mevli, S Alk₂ de en fazladır (63). Bu bulgular gözönüne alındığında kompleksleşmenin hem imidazol halkasındaki serbest elektron çifti taşıyan üç numaralı azot atomundan, hem de imidazol halkasının dördüncü karbonunda taşıdığı yan zincirdeki metilen grubuna bağlı kükürt atomu üzerinden olduğu düşünülebilir. Bu durum, bir şelatın söz konusu olabileceğini ve simetidin molekülünün bidentat bir ligand gibi davranarak Cu(II) iyonu ile birleşebileceğini telkin etmektedir. 2190 cm^{-1} civarında $C \equiv N$ gerilim



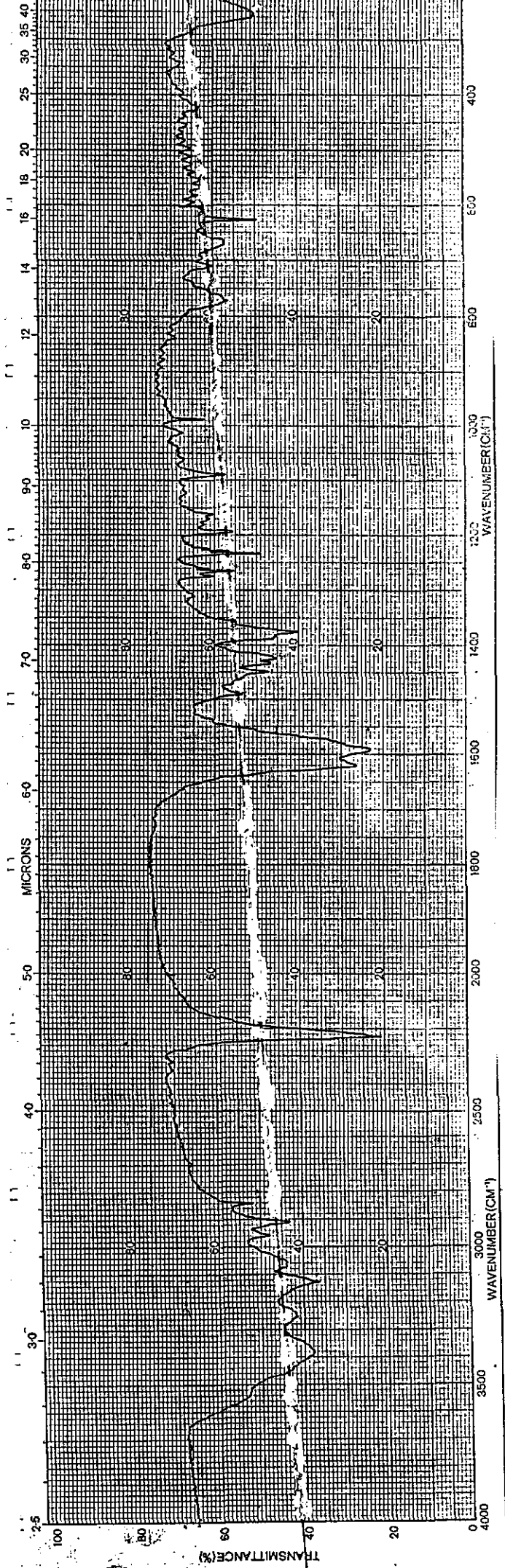
Şekil-14. A) İmidazolün IR spektrumu,
B) Cu(II)-imidazol kompleksinin IR spektrumu.
(KBr disk içinde).



Sekil-15. Simetidin'in IR spektrumu.. (KBr disk içinde).



Şekil-16. Sulu ortamda oluşturulan Cu(II)-simehidin kompleksinin IR spektrumu (KBr disk içinde).



Şekil-17. Etilalkollü ortamda oluşturulan Cu(II)-sümetidin kompleksinin IR spektrumu. (KBr disk içinde).

pikleri değişmediği için bu grubun molekülde olduğu gibi kalmakta olduğu düşünölmektedir.

V.3.3. Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin metal-ligand oranınının Job ve eğim oranı yöntemi ile bulunması üzerinde tartışma :

Deneyler Bölüm III.3.3'de anlatıldığı gibi yapılarak metal-ligand oranı etilalkollü ortamda Cu(II)-kuinalizarin kompleksi için 3:2 olarak bulunmuştur (Şekil 10). Buna göre kompleksin ampirik formölü M_3L_2 şeklinde gösterilebilir.

V.3.4. Job yöntemi ile Cu(II)-simetidin ve Cu(II)-kuinalizarin komplekslerinin oluşum sabitlerinin tayini üzerinde tartışma :

Spektrofotometrik veriler bir kompleksin bileşen oranını ve kararlılığını tayin etmekte sıklıkla kullanılır. Komplekslerin çözeltilerdeki ayrışma sabitleri tayin edilebilir. Bunun için Job yönteminin uygulanması ile elde edilen mol kesrine karşı absorbands eğrilerinden yararlanılır (Şekil 2). Bu amaçla eğrilerin ekstrapolasyonu ile elde edilen maksimum (A_0), daha düşük bir absorbands değeri (A_x) eşitlik 20'de yerine konularak α değeri bulunmuş, α değeri 19 eşitliğinde yerine konularak bulunan kompleks oluşum sabitleri Tablo 10'da verilmiştir (Ek: 3).

TABLO 10. Simetidin ve Kuinalizarinin Cu(II) İyonu ile Oluşturduğu Komplekslerin Ligand Sayıları ve Kompleks Oluşum Sabitleri.

Kompleksin adı	Ligand Sayısı	Ayrışma derecesi (α)	K_{01}	$\text{Log}K_{01}$
Sulu ortamda Cu(II)-simetidin	2	0.0625	3.429×10^5	5.535
Etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin	1	0.03614	1.480×10^6	6.17
Önerilen yöntemde etilalkollü ortamda Cu(II)-kuinalizarin	2	0.2894	2.120×10^5	5.326

Kompleks oluşum sabitleri incelendiğinde Cu(II)-simetidin kompleksinin oluşum sabiti, Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin oluşum sabitinden büyük olduğu görülmektedir. Bu ilkedan hareketle Cu(II)-kuinalizarin kompleksi üzerine simetidin eklenmesi ile Cu(II)-kuinalizarin kompleksi bozunarak açığa çıkan Cu(II) iyonu, eklenen simetidin ile kompleks oluşturduğu düşünülmektedir.

V.4. YÖNTEMİN UYGULANABİLİRLİĞİ ÜZERİNDE TARTIŞMA :

Sulu ve etilalkollü ortamda doğrudan oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksleri ve önerilen yöntemle oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksinin UV spektrofotometrik kalibrasyon eğrileri için doğrusal regresyon analizi, doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapıлып, korelasyon katsayıları hesaplanarak Tablo 9'da gösterilen sınırlar arasında yöntemin analitik olarak kullanılabilir nitelikte bir yöntem olup olmadığı istatistiksel yolla araştırılmıştır (79).

Regresyon doğrusunun eğimi (b), korelasyon katsayısının (r) değeri Ek-1'de verilen formüller yardımıyla hesaplanmıştır.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü için Ek-1'de verilen varyans analiz tablosu kurularak her türev için hesaplanan F_H değerleri ile seçilen yanılma olasılığındaki ($p = 0.05$) F_T değerleri tablolardan bulunup bu iki değer karşılaştırılmıştır.

Tablo 11'de görüldüğü gibi sulu ortamda Cu(II)-simetidin, etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin ve önerilen yöntemde Cu(II)-simetidin komplekslerinin belirtilen doğrusal konsantrasyon bölgesinde UV spektrofotometrik absorban-konsantrasyon doğruları deneysel noktaları temsil etmektedir ($F_H < F_T$). Her üç türev için, yöntemin analitik olarak kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir.

Sulu ve etilalkollü ortamda doğrudan oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksinin kalibrasyon eğrisinde doğrusallık sınırının önerilen yöntemden çok kısa olduğu görülmektedir (Şekil 11,12). Bu nedenle önerdiğimiz kuinalizarin varlığında Cu(II)-simetidin kompleksi oluşumuna dayanan yöntemin üstünlüğü söz konusudur.

V.5. SİMETİDİN İÇEREN MÜSTAHZARLARIN SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZLERİ İLE İLGİLİ TARTIŞMA :

Simetidin içeren müstahzarların analizleri için geliştirdiğimiz yöntemin güvenilirliğini saptamak üzere sonuçlarımızın aynı müstahzarların bir yöntemle yapılan analiz sonuçları ile karşılaştırılması yapılmıştır. Bu amaçla Mehta ve Chainani (36) simetidin analizi için kullandıkları ve BP 1973'de yer alan susuz ortam titrasyonu yöntemi seçilmiştir. Tablo 5-8'de sonuçları verilen susuz ortam titrasyonu değerleri ile yöntemimizin sonuçları karşılaştırıldığında her iki yöntemin sonuçları arasında belirgin bir fark olmadığı görülmektedir. Bu durum yöntemimizin güvenilir olduğunu göstermektedir.

İncelediğimiz müstahzarlar için matriks etkisi de gözlenmemiştir. Zira aynı konsantrasyonlarda hazırlanan standart madde ve ilaç çözeltilerinin spektrumları alındığında absorbanslarının aynı olduğu gözlenmiştir.

Bu yöntem madde tüketme ile ön ayırma işlemlerine gerek göstermediğinden, olası madde kayıpları ve ayrıca zaman kaybına yol açmamaktadır. İlaç bileşiminde bulunan katkı maddeleri yöntemi etkilememektedir. Bu nedenle toz edilen tabletin doğrudan etilalkol ile çözülmesiyle, ampulün ise istenilen konsantrasyona etilalkol ile seyreltilmesiyle hazırlanan çözeltiler hiç bir ön işleme gerek göstermeden analiz edilebilmektedir.

Geliştirdiğimiz bu yöntem ile Türkiye'de bulunan ve analizini yaptığımız üç ayrı firmaya ait simetidin içeren müstahzarların içindeki etken madde miktarlarının belirtilen sınırlar içinde olduğu saptanmıştır (Tablo 5-8).

Ö Z E T

Bu çalışmada H_2 -reseptör antagonisti olan simetidin'in Cu(II) iyonu ile oluşturduğu kompleksin absorbansının ölçümüne dayanan bir miktar tayini yöntemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Sulu (380 nm), etilalkollü (350 nm) ortamlarda doğrudan oluşturulan Cu(II)-simetidin komplekslerinde alt tayin sınırı 38 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Alt tayin sınırını düşürebilmek amacıyla yapılan çalışmalar sırasında kuinalizarin varlığında oluşturulan Cu(II)-simetidin kompleksinin 350 nm dalga boyunda alt tayin sınırı 0.24 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda önerdiğimiz yöntemin 0.24-1000 $\mu\text{g/ml}$ arasında uygulanabilir olduğu saptandığından kuinalizarin varlığında Cu(II)-simetidin kompleksi oluşmasına dayanan miktar tayin yöntemi tercih edilmiştir.

Cu(II)-simetidin kompleksinin oluşum sabitinin Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin oluşum sabitinden büyük olduğu saptandığından, Cu(II)-simetidin kompleksi esas alınmıştır. Cu(II)-kuinalizarin kompleksine simetidin eklenmesi ile bozulan kompleksten açığa çıkan Cu(II) iyonu simetidin ile kompleks yapmaktadır. Bu kompleksin 350 nm'de verdiği maksimum absorbansın eklenen simetidin miktarı ile değişimi grafiğe geçirilmiş ve eğrinin 0.24-1000 $\mu\text{g/ml}$ arasında doğrusal olduğu bulunmuştur.

Geliştirilen bu yöntem Türkiye'de bulunan simetidin içeren müstahzarların tablet ve ampul farmasötik şekillerine uygulanmış ve elde edilen sonuçlar susuz ortam titrasyonu yönteminin sonuçları ile karşılaştırılarak, belirtilen sınırlar içinde olduğu bulunmuştur.

S U M M A R Y

In this study, it is planned to develop a quantitative method for cimetidine, an H_2 -receptor antagonist, based on the measurement of absorbance of the cimetidine complex which is formed with Cu(II) ion. Lower limit of the complex which is formed directly in the aqueous (380 nm) and ethyl alcoholic (350 nm) solutions was determined as 38 $\mu\text{g/ml}$. The lower limit of the same complex at 350 nm formed in presence of quinalizarin was lowered as 0.24 $\mu\text{g/ml}$ during the further studies. Since our suggested method was found applicable between the limits of 0.24–1000 $\mu\text{g/ml}$ as a result of statistical analysis, the quantitative method based on the formation of Cu(II)-cimetidine complex in presence of quinalizarin was preferred.

Since the stability constant of Cu(II)-cimetidine complex was found greater than the stability constant of Cu(II)-quinalizarin complex, Cu(II)-cimetidine complex was accepted as essential. Cu(II) ion which is formed from the destroyed Cu(II)-quinalizarin complex by addition of cimetidine gives a complex with cimetidine.

The variation in maximum absorbance of this complex at 350 nm was graphed against the cimetidine concentrations and the curve was found to be linear between 0.24–1000 $\mu\text{g/ml}$.

This modified method was applied to the tablet and injectable forms of cimetidine and the results were found to be in the limits by comparing them with those based on the method of non-aqueous titration.

K A Y N A K L A R

1. Pounder, R.E., Williams, J.G., Hunt, R.H., Vincent, S.H., Milton-Thompson, G.J., Misiewicz, J.J., The effects of oral cimetidine on food-stimulated gastric acid secretion and 24-hour intragastric acidity, Ed: Burland, W.L., Simkins, M.A., Cimetidine - Proc. Sec. Int. Symp. of Histamine H₂-receptor Antagonist, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).
2. Patel, R.B., Gandhi, T.P., Shah, G.F., Patel, P.R., Patel, M.R., Patel, V.C., Gilbert, R.N., Estimation of cimetidine in dosage form and biological fluids, Indian Drugs, 18, 177 (1981).
3. British Pharmacopoeia 1973, Her Majesty's Stationary Office University Printing House, Cambridge (1973).
4. Kayaalp, O., Tıbbi Farmakoloji, Nüve Matbaası, Ankara, Cilt 3 (1983).
5. Bovet, D., Staub, A.M., Protective action of some phenolic esters in histamin intoxication, Compt. Rend. Soc. Biol., 124, 547 (1937).
6. Folkow, B., Haeger, K., Kahlson, G., Observations on reactive hyperaemia as related to histamine, on drugs antagonising vasodilatation induced by histamin and on vasodilator properties of adenosine triphosphate, Acta Physiol. Scand., 15, 264 (1948).
7. Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., The chemical origin and properties of histamine H₂-receptor antagonist cimetidine, Ed :

- Burland, W.L., Simkins, M.A., Cimetidine - Proc. Sec. Int. Symp. of Histamine H₂-receptor Antagonist, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).
8. Black, J.W., Duncan, W.A.M., Durant, G.J., Ganellin, C.R., Parsons, M.E., Definition and antagonism of histamine H₂-receptors, Nature, Lond., 236, 385 (1972).
 9. Brimblecombe, R.W., Parsons, M.E., Histamine H₂-receptor antagonist, Ed: Goldberg, M.E., Pharmacological and Biochemical Properties of Drug Substances, Am. Pharm. Assoc., Washington, D.C., (1977).
 10. Forrest, J.A.H., Shearman, D.J.C., Spence, R., Cellestin, L.R., Neutropenia associated with metiamide, Lancet, 1, 392 (1975).
 11. Brimblecombe, R.W., Duncan, W.A.M., Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., Parsons, M.E., Cimetidine a non-thiourea H₂-receptor antagonist, J. Int. Med. Res., 3, 86 (1975).
 12. Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., Miles, P.D., Parsons, M.E., Prain, H.D., White, G.R., Cyanoquanidine-thiourea equivalence in the development of the histamine H₂-receptor antagonist, Cimetidine, J. Med. Chem., 20, 901 (1977).
 13. Brimblecombe, R.W., Duncan, W.A.M., Durant, G.J., Emmett, J.C., Ganellin, C.R., Leslie, G.B., Parsons, M.E., Characterization and development of cimetidine as a histamine H₂-receptor antagonist, Gastroenterology, 74, 339 (1978).
 14. Parsons, M.E., The antagonism of histamine H₂-receptors in vitro and in vivo with particular reference to the action of cimetidine, Ed: Burland, W.L., Simkins, M.A., Cimetidine Proc. Sec. Int. Symp. of Histamin H₂-receptor Antagonist, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).

15. Burland, W.L., Duncan, W.A.M., Hesselbo, T., Mills, J.G., Sharpe, P.C., Haggie, S.J., Wylie, J.H., Pharmacological evaluation of cimetidine, a new histamine H₂-receptor antagonist in healthy man, Brit. J. Clin. Pharmacol., 2, 481 (1975).
16. Carter, D.C., Forrest, J.A.H., Logan, R.A., Ansell, I., Lidgard, G., Heading, R.C., Sherman, D.J.C., Effect of the histamine H₂-receptor antagonist, cimetidine on gastric secretion and serum gastrin during insulin infusion in man, Scand. J. Gastroenterol., 11, 565 (1976).
17. Blackwood, W.S., Northfield, T.C., Nocturnal gastric acid secretion : Effect of cimetidine and interaction with anticholinergics, Ed : Burland, W.L., Simkins, M.A., Cimetidine Proc. Sec. Int. Symp. of Histamine H₂-receptor Antagonist, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).
18. Longstreth, G.F., Go, V.L.W., Malagelada, J.R., Postprandial gastric, pancreatic and biliary response to histamine H₂-receptor antagonist in active duodenal ulcer, Gastroenterology, 72, 9 (1977).
19. Brimblecombe, R.W., Duncan, W.A.M., Relevance to man of preclinical data for cimetidine, Ed : Burland, W.L., Simkins, M.A., Cimetidine - Proc. Sec. Int. Symp. of Histamine H₂-receptor Antagonist, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).
20. Walkenstein, S.S., Dubb, J.W., Randolph, W.C., Westlake, W.J., Stote, R.M., Intoccia, A.P., Bioavailability of cimetidine in man, Gastroenterology, 74, 360 (1978).
21. Henn, R.M., Isenberg, J.I., Maxwell, V., Sturdevant, R.A.L., Inhibition of gastric acid secretion by cimetidine in patients with duodenal ulcer, N. Eng. J. Med., 293, 371 (1975).

22. Burland, W.L., Darkin, D.W., Mills, M.W., Effect of antacid on absorption of cimetidine, *Lancet*, 2, 965 (1976).
23. Spence, R.W., Creak, D.R., Celestin, L.R., Influence of a Cimetidine, *Digestion*, 14, 127 (1976).
24. Pounder, R.E., Williams, J.G., Russell, R.C.G., Milton-Thompson, G.J., Misiewicz, J.J., Inhibition of food stimulated gastric acid secretion by cimetidine, *Gut*, 17, 161 (1976).
25. Griffiths, R., Lee, R.M., Taylor, D.C., Kinetics of cimetidine in man and experimental animals, Ed : Burland, W.L., Simkins, M.A., *Cimetidine - Proc. Sec. Int. Symp. of Histamine H₂-receptor Antagonist*, Excerpta Medica, Amsterdam (1977).
26. Kruss, D.M., Littman, A., Safety of cimetidine, *Gastroenterology*, 74, 478 (1978).
27. Gill, G.V., Cimetidine overdose, *Lancet*, 2, 99 (1978).
28. Van, R., Thaven, A.W.A.M., Cimetidine intoxication, *Lancet*, 2, 370 (1979).
29. Illinworth, R.N., Jarvie, D.R., Absence of toxicity in cimetidine overdosage, *Brit.Med. J.*, 1, 453 (1979).
30. Wilson, J.B., Cimetidine overdose, *Brit. Med. J.*, 1, 955 (1979).
31. Davis, T.G., Pickett, D.L., Schlosser, J.H., Evaluation of a worldwide spontaneous reporting system with cimetidine, *JAMA* , 243, 1912 (1980).
32. Bodemar, G., Walan, A., Cimetidine in the treatment of active duodenal and prepyloric ulcers, *Lancet*, 2, 161 (1976).

33. Misiewicz, J.J., Role of cimetidine in gastrointestinal disease :
Presents status and future potential, *Drugs*, 15, 89 (1978).
34. Burland, W.L., Hunt, R.H., Mills, J.G., Milton-Thomson, G.J., 1970-79
Cimetidine, *J. Pharmacotherapy*, 2, 24 (1979).
35. Kajfez, F., Lisini, A., Toso, R., Belin, B., Sunjic, V., Study of
physico-chemical properties of 1-cyano-2-methyl-3- [2-(5-methyl-
imidazol-4-yl) methylthio] -ethyl-guanidin and its S-oxyde, *Acta
Pharm. Jugoslav*, 27, 199 (1977).
36. Mehta, H.K., Chainani, M.L., Estimation of cimetidine in pharmaceutical
preparations, *Indian J. Pharm. Sci.*, 42, 58 (1980).
37. Mazza, P., Gianelli, P., Rosai, A., Pecori Vettori, L., Chromatographic
study and spectrofotometric determination of cimetidine in the most
common pharmaceutical forms, urine and blood, *G. Med. Mil.*, 130,
121 (1980). Ref.: *C.A.* 94, 20496K (1981).
38. Larsen, N.E., Hesselfeldt, P., Rume, S.J., Hvidberg, E.F., Cimetidine
assay in human plasma by liquid chromatography, *J. Chromatog.*, 163,
57 (1979).
39. Ziemniak, J.A., Chiaromonte, D.A., Schentog, J.J., Liquid-chromato-
graphic determination of cimetidine, its known metabolites and
creatinine in serum and urine, *Clin. Chem.*, 27, 272 (1981).
40. Randolph, W.C., Osborne, V.L., Walkenstein, S.S., Intoccia, A.P., High-
pressure liquid chromatographic analysis of cimetidine, a histamine
H₂-receptor antagonist in blood and urine, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1148
(1977).

41. Gaetani, E., Laureri, C.F., Ronchini, F., High-pressure liquid-liquid chromatography. Quantitative determination of H₂-antagonists of histamine, *Farmaco, Ed. Prat.*, 33, 484 (1978).
42. Chiaromonte, D.A., Schentog, J.J., A specific and sensitive high-pressure liquid chromatographic procedure for cimetidine and creatine, *Ther. Drug Monit.*, 1, 545 (1979). Ref.: C.A. 93: 230454a (1980).
43. Soldin, S.J., Fingold, D.R., Fanje, P.C., Mahon, W.A., High-performance liquid chromatographic analysis of cimetidine in serum, *Ther. Drug Monit.*, 1, 371 (1979). Ref.: C.A. 93: 215175s (1980).
44. Kunitani, M.G., Johnson, D.A., Upton, R.A., Reigelman, S., Convenient and sensitive high-performance liquid chromatography assay for cimetidine in plasma or urine, *J. Chromatogr.*, 224, 156 (1981).
45. Fleitman, J., Torosian, G., Perrin, J.G., Improved high-performance liquid chromatographic assay for cimetidine using ranitidine as an internal standart, *J. Chromatogr.*, 229, 255 (1982).
46. La Rotonda, M.I., Cozzolino, S., Schettino, O., Analysis of active ingredient in pharmaceuticals by high-pressure liquid chromatograph-cimetidine and zolimidine, *Boll.-Soc. Ital. Biol. Sper.*, 56, 1394 (1980). Ref.: C.A. 94: 20502j (1981).
47. Lorenzo, B., Drayer, D.E., Improved method for the measurement of cimetidine in human serum by reverse-phase high-pressure liquid chromatography, *J. Lab. Clin. Med.*, 97, 545 (1981).
48. Mihaly, G.W., Cockbain, S., Jones, D.B., Hanson, R.G., Smallwood, R.A.,

- High-pressure liquid chromatographic determination of cimetidine in plasma and urine, *J. Pharm. Sci.*, 71, 590 (1982).
49. Gouillet, D., Aulagner, G., Miellet, C.C., Bouletreau, P., Delafosse, B., Determination of cimetidine in biological media., *Lyon Pharm.*, 33, 321 (1982). Ref. : C.A. 97: 192657s (1982).
50. Apffel, J.A., Brinkman, U.A.T., Frei, R.W., Analysis of cimetidine in biological fluids by high performance liquid chromatography, *J. Liq. Chromatogr.*, 5, 2413 (1982). Ref. : C.A. 98: 65008b (1983).
51. Bartlett, J.M., Segelman, A.B., Bioanalysis of cimetidine by high-performance liquid chromatogr., *J. Chromatogr.*, 255, 239 (1983).
52. Kozma, M., Vereczkey, L., Rapid method for determination of cimetidine in biological fluid by high-performance liquid chromatography using extrelut extraction, *J. Chromatogr.*, 273, 223 (1983).
53. Nitsche, V., Mascher, H., New rapid assay of cimetidine in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, 273, 449 (1983).
54. Gagliardi, L., Andreucci, G., Lauderer, E., Cavazzuti, G., Amato, A., Method for the colorimetric determination of cimetidine, *Riv. Tossicol. Sper. Clin.*, 9, 225 (1979), Ref. : C.A. 94: 197613x (1981).
55. Sabins, D.S., Kunde, S.U.S., Estimation of cimetidine in pharmaceutical dosage forms, *Indian Drugs*, 19, 410 (1982). Ref. : C.A. 97: 223087n (1982).
56. Ramana, R.G., Raghuveer, S., A note on the colorimetric estimation of

- cimetidine in pharmaceutical dosage forms, *Indian Drugs*, 18, 408 (1981). Ref. : C.A. 96: 11744d (1982).
57. Ramana, R.G., Raghuvver, S., Pulla, R.Y., Spectrofotometric estimation of cimetidine in pharmaceutical dosage forms, *J. Inst. Chem.*, 54, 146 (1982).
58. Sane, R.T., Nadkarni, A.D., Joshi, S.K., A simple colorimetric method for the determination of cimetidine in pharmaceutical preparations, *Indian Drugs*, 20, 333 (1983). Ref.: C.A. 99: 28100a (1983).
59. Emmanuel, J., Naik, P.N., A note on the colorimetric estimation of cimetidine and its dosage forms, *Indian Drugs*, 20, 33 (1982). Ref.: C.A. 98: 95758p (1983).
60. Shingbal, D.M, Sawant, K.V., Colorimetric determination of cimetidine, *Indian Drugs*, 20, 104 (1982). Ref.: C.A. 97: 223087n (1982).
61. Güven, K.C., Güvener, B., Sunam, G., Özdemir, O., Investigations of cimetidine, 1. A method for the spectrophotometric determination of cimetidine, *Eczacılık Bul.*, 24, 30 (1982).
62. Cotton, A.F., Wilkinson, G., *Advanced Inorganic Chemistry*, 3rd Edn. Interscience Publishers, New York (1972).
63. Bekaroğlu, Ö., *Koordinasyon Kimyası*, Kutulmuş Matbaası, İstanbul (1972).
64. Mahan, B.H. (Çev. Ed.: Şenvar, C., Edgüer, E.). *Üniversite Kimyası*, Cilt 2 Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara (1972).
65. Chawla, I.D., Andrews, A.C., Coordination complexes of Beryllium(II) with various antihistaminic substances : Their stabilities and thermodynamic values, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 31, 3809 (1969).

66. Rao, C.N.R., Ultra-violet and Visible Spectroscopy, Butterworths, London (1967).
67. Beck, M.T., Chemistry of Complex Equilibria, Van Nostrand, London (1970).
68. Pasto, D.J., Johnson, C.R., Organic Structure Determination, Prentice-Hall, London (1969).
69. Skoog, A.D., West, M.D., Principles of Instrumental Analysis, Holt, Rinehart and Winston Inc., New York (1971).
70. Babko, A.K., Pilipenko, A.T., Photometric Analysis, Mir. Publishers, Moscow, (1971).
71. Türk Farmakopesi 1974, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul (1974).
72. Temizer, A., Kanser kemoterapisinde kullanılan vinca alkaloidlerinin elektroanalitik tayin yöntemleri üzerinde bir çalışma, Doçentlik tezi, H.Ü., Ankara (1981).
73. Sjöberg, S., Metal complexes with mixed ligands.13. A combined potentiometric and spectrophotometric study of the system Cu^{+2} -imidazole, Cu^{+2} - OH^- -imidazole, and Cu^{+2} - Cl^- -imidazole in 3.0 M (Na) ClO_4 , Cl^- media, Acta Chem. Scand., Ser. A., 31, 729 (1977).
74. Forsling, W., Sjöberg, S., Metal complexes with mixed ligands.10. A potentiometric study of Nickel(II)-imidazoles and Nickel(II)-hydroxo-imidazoles in 3.0 M (Na) ClO_4 and 3.0 M (Na) Cl , Acta Chem. Scand., Ser. A., 29, 569 (1975).
75. Forsling, W., Metal complexes with mixed ligands. 14. A potentiometric study of the systems Zn^{+2} -imidazole and Zn^{+2} - OH^- -imidazole in 3 M

- (Na) ClO_4 and 3 M NaCl, Acta Chem. Scand., Ser. A., 31, 759 (1977).
76. Sjöberg, S., Metal complexes with mixed ligands. 12. A potentiometric study of systems Hg^{+2} -imidazole, Hg^{+2} - OH^- -imidazole and Hg^{+2} - Cl^- -imidazole in 3 M (Na) ClO_4 , Cl^- media, Acta Chem. Scand., Ser. A., 31, 718 (1977).
77. Granberg, I., Sjöberg, S., Metal complexes with mixed ligands 20. A potentiometric study of Ag^+ -imidazoles and Ag^+ - OH^- -imidazoles in 3 M (Na) ClO_4 , Acta Chem. Scand., Ser. A., 33, 531 (1979).
78. Hodgson, J.B., Percy, G.C., Thornton, D.A., The infrared spectra of imidazole complexes of first transition series metal(II) nitrates and perchlorates, J. Mol. Struct., 66, 81 (1980).
79. Sumbüloğlu, K., Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Çağ Matbaası, Ankara (1978).

EK 1 : Standart Eğrilerin Çizilmesinde Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar:

Korelasyon katsayısı (r) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (79).

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

x : konsantrasyon (mmol/ml)
y : absorbans

Korelasyon katsayısının önem kontrolü için H_0 hipotezi "korelasyon katsayısı tesadüfi bir değerdir" şeklinde kurulmuştur. Bu hipotezi sınamak amacıyla korelasyon katsayısının standart hatası (S_r) bulunarak t_H değeri hesaplanmıştır.

$$t_H = \frac{r}{S_r}$$

Bundan sonra t tablosuna başvurularak 0.05 yanılma olasılığında, $n-2$ serbestlik derecesinde t_T değeri saptanmıştır. t_H değeri t_T değerinden büyük olduğu için H_0 hipotezi reddedilerek korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünü yapmak için H_0 hipotezi, "doğrusallıktan ayrılış önemsizdir", şeklinde kurulmuş bu hipotezi sınamak amacıyla regresyon varyans analiz tablosu düzenlenmiştir.

TABLO 12. Regresyon Varyans Analiz Tablosu.

Varyans kaynağı	Serbestlik derecesi (S D)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F _H
OA	n-1	OAKT	OAKO	$\frac{RAKO}{OAKO}$
R	1	b x XYÇT	RKO	
RA	n-2	OAKT-RKT	RAKO	

Tablo 12'de ortalamadan ayrılış OA, regresyon R, regresyondan ayrılış RA, x ve y'nin çarpımlar toplamı XYÇT, ölçüm sayısı n olarak kısaltılmıştır. Bu tablodan yararlanılarak F_H değeri hesaplanmıştır. F tablosundan 0.05 yanılma olasılığında (n-2) serbestlik derecesinde F_T değeri bulunmuştur. F_H < F_T olduğundan Ho hipotezi kabul edilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğuna karar verilmiştir.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünde kullanılan çeşitli terimler aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

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

$$XYÇT = \sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}$$

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

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

$$RAKT = OAKT - RKT$$

$$RKT = b \cdot XYÇT$$

$$OAKO = \frac{OAKT}{OASD}$$

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

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

EK 2 : Eğim Oranı Yöntemi ile Metal-Ligand Oranının Bulunması:

($M_x L_y$ Kompleksi için)

1) Etilalkollü ortamda Cu(II)-simetidin kompleksinin metal-ligand oranı :

1 ml $10^{-3}M$ simetidin'in etilalkollü çözeltisi + 9 ml $10^{-3}M$ $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 'un etilalkollü çözeltisinin absorbanası 0.15

$$C_L = \frac{1 \times 10^{-3}}{10} = 10^{-4}M \quad A_2 = 0.15$$

7 ml $10^{-3}M$ simetidin'in etilalkollü çözeltisi + 3 ml $10^{-3}M$ $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 'un etilalkollü çözeltisinin absorbanası 0.46

$$C_M = \frac{3 \times 10^{-3}}{10} = 3 \times 10^{-4}M \quad A_1 = 0.46$$

$$\frac{y}{x} = \frac{A_1/C_M}{A_2/C_L} = \frac{0.46 / 3 \times 10^{-4}}{0.15 / 10^{-4}} = \frac{0.15 \times 10^4}{0.15 \times 10^4} = \frac{1}{1}$$

$M_L =$ Cu(II)-simetidin

Sulu ortamda Cu(II)-simetidin ve etilalkollü ortamda Cu(II)-kuinalizarin kompleksinin metal-ligand oranı da aynı şekilde hesaplanmıştır.

EK 3 : Spektrofotometrik Olarak Job Yöntemi ile Cu(II)-kuinalizarin ve Cu(II)-simetidin Komplekslerinin Oluşum Sabitlerinin Hesaplanması :

(1) Cu(II)-Kuinalizarin Kompleksinin Oluşum Sabiti : (Şekil 10)

$$A_x : 0.27$$

$$A_o : 0.38$$

$$C : 4 \times 10^{-5}$$

$$\alpha = \frac{A_o - A_x}{A_o} = \frac{0.38 - 0.27}{0.38} = \frac{0.11}{0.38} = 0.2894$$

$$K_{dis} = \frac{\alpha \cdot C}{1 - \alpha} = \frac{(0.2894)^2 \cdot 4 \times 10^{-5}}{1 - 0.2894}$$

$$K_{dis} = \frac{0.335 \times 10^{-5}}{0.7106} = 0.4714 \times 10^{-5}$$

$$K_{ol} = \frac{1}{K_{dis}} = \frac{1}{0.4714 \times 10^{-5}} = 2.12 \times 10^5$$

$$K_{ol} = 2.12 \times 10^5$$

(2) Etilalkollü ortamda Cu(II)-Simetidin Kompleksinin Oluşum Sabiti :

(Şekil 9)

$$A_x : 0.80$$

$$A_o : 0.83$$

$$C : 5 \times 10^{-4}$$

$$\alpha = \frac{0.83 - 0.80}{0.83} = \frac{0.03}{0.83} = 0.03614$$

$$K_{dis} = \frac{0.0013 \times 5 \times 10^{-4}}{1 - 0.03614} = \frac{0.0065 \times 10^{-4}}{0.9638}$$

$$K_{dis} = 0.006744 \times 10^{-4}$$

$$K_{ol} = \frac{1}{K_{dis}} = \frac{1}{0.006744 \times 10^{-4}} = 148.276 \times 10^4$$

$$K_{ol} = 1.48 \times 10^6$$

(3) Sulu ortamda Cu(II)-simetidin kompleksinin oluşum sabiti :

(Şekil 8)

$$A_x : 0.45$$

$$A_o : 0.48$$

$$C : 7 \times 10^{-4}$$

$$\alpha = \frac{0.48 - 0.45}{0.48} = \frac{0.03}{0.48} = 0.0625$$

$$K_{dis} = \frac{0.0039 \times 7 \times 10^{-4}}{1 - 0.0625} = \frac{0.02734 \times 10^{-4}}{0.9375}$$

$$K_{dis} = 0.02916 \times 10^{-4}$$

$$K_{ol} = \frac{1}{K_{dis}} = \frac{1}{0.02916 \times 10^{-4}} = 34.29 \times 10^4$$

$$K_{ol} = 3.429 \times 10^5$$

Ö Z G E Ç M İ Ş

1951 yılında Ankara'da doğdum. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1979 yılında mezun oldum. 1981 yılı Ocak ayında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Bilim Dalında Doktora öğrencisi olarak göreve başladım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmalarımı sürdürmekteyim.

