

278932

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ATENOLOL ÇÖZELTİLERİNİN STABİLİTESİ
V E
GÖZ ÇÖZELTİLERİNİN ÖN FORMÜLASYONU
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. Sevda US

ANKARA 1984

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ATENOLOL ÇÖZELTİLERİNİN STABİLİTESİ
V E
GÖZ ÇÖZELTİLERİNİN ÖN FORMÜLASYONU
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. Sevda US

Rehber Öğretim Üyesi : Doç. Dr. H. Süheyla KAŞ

ANKARA 1984

Bilgi ve fikirlerinden yararlandığım rehber hocam Sayın Doç.Dr.H.Süheyla Kaş'a ve bana bu çalışma olanağını sağlayan, karşılaştığım güçlükleri aşmada ve tezimle ilgili sorunların çözümlenmesinde devamlı desteğini gördüğüm Sayın Hocam Prof. Dr.A.Atillâ Hıncal'a teşekkürü bir borç bilirim.

Araştırmamızda kullanılan atenololu sağlayan Doğu İlaç Firması yetkililerine ve deneylerim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr.Murat Şumnu'ya, Doç.Dr.İhsan Çalış'a, Doç.Dr.Tuncel Özden'e, Yard.Doç.Dr.Fethi Şahin'e, Yard.Doç.Dr. Sema Başaran'a ve İsviçrede NMR spektrumlarının alınmasını sağlayan Doç.Dr.Orhan Vaizoğlu'na ve Dr.Nur Özmelek'e ve Cumhuriyet Üniversitesi Fen fakültesinde kütle spektrumlarımı alan araştırma görevlisi Fatma Yalçın'a teşekkür ederim.

Tezimin her safhasında normal yaşantılarından fedakarlık ederek bana destek olan eşim Dr.Önder Us'a, anneme, babama ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ ve AMAÇ	1
I.GENEL BİLGİLER	3
I.1.Stabilite	3
I.1.1.Tanımlı	3
I.1.2.Kimyasal stabilite	4
I.1.2.1.Sıfır derece reaksiyon	5
I.1.2.2.Birinci derece reaksiyon	6
I.1.2.3.İkinci derece reaksiyon	7
I.1.3.Fiziksel stabilite	8
I.1.4.Stabiliteye etki eden faktörler	9
I.1.4.1.Sıcaklık	9
I.1.4.2.pH	10
I.1.4.2.1.Spesifik asit-baz katalizi	12
I.1.4.2.2.Genel asit-baz katalizi	14
I.1.4.3.Işık	14
I.1.4.4.İyonik güç	15
I.1.4.5.Dielektrik sabiti	17
I.1.5.Parçalanma yolları	18
I.1.5.1.Hidroliz	18
I.1.5.1.1. Ester hidrolizi	19
I.1.5.1.2.Amid hidrolizi	20
I.1.5.1.3.Halka değişmesi	20
I.1.5.1.4.Hidrolize etki eden faktörler	21

I.1.5.1.4.1.Solvanlar	21
I.1.5.1.4.2.pH etkisi	21
I.1.5.1.4.3.Nem	21
I.1.5.1.4.4.Kimyasal yapı	21
I.1.5.1.4.5.Kompleksleşme	22
I.1.5.1.4.6.Yüzey aktif maddeler	22
I.1.5.2.Oksidasyon-redüksiyon	22
I.1.5.2.1.Oksidasyonun önlenmesi veya azaltıl- ması	24
I.1.5.2.1.1.Çözelti pH sı	24
I.1.5.2.1.2.Atmosferik oksijen	25
I.1.5.2.1.2.1.İnert bir gaz ile değiştirme	25
I.1.5.2.1.2.2.Antioksidanlar	26
I.1.5.3.Rasemizasyon	27
I.1.5.4.Fotoliz	28
I.2.Göz çözeltileri	30
I.2.1.Tanımı	30
I.2.2.Formülasyonu	30
I.2.2.1.Etken maddeler	31
I.2.2.2.İzotoni ayarı	31
I.2.2.3.pH ayarı	31
I.2.2.4.Koruyucu maddeler	32
I.2.2.5.Viskozite artırıcı maddeler	34
I.2.3.Sterilizasyon	37
I.2.4.Ambalajlama	38
I.3.Atenolol	39
I.3.1.Yapısı ve fizikokimyasal özellikleri	39

I.3.2.Miktar tayini	40
I.3.3.Stabilitesi	41
I.3.4.Farmakolojisi	42
II.DENEYSEL KISIM	45
II.1.Araç ve gereçler	45
II.1.1.Kullanılan kimyasal maddeler	45
II.1.2.Kullanılan aletler	46
II.2.Yöntem ve deneyler	48
II.2.1.Atenolol ile ilgili çalışmalar	48
II.2.1.1.Safılık tayini	48
II.2.1.1.1.UV analizi	48
II.2.1.1.2.IR analizi	48
II.2.1.1.3.NMR analizi	48
II.2.1.1.4.Kütle analizi	49
II.2.1.1.5.İnce tabaka kromatografisi(İTK)	49
II.2.1.1.6.Erime noktası tayini	49
II.2.1.2.Miktar tayini	52
II.2.1.2.1.Standart eğri	53
II.2.1.2.1.1.İnce tabakadan elue ettikten sonra yapılan tayin için standart eğri .	53
II.2.1.2.1.2.Doğrudan doğruya çözeltiden yapılan spektrofotometrik tayin için stan- dart eğri	53
II.2.1.3.Stabilitesi	53
II.2.1.3.1.Oksijen etkisi	54
II.2.1.3.2.Işık etkisi	54
II.2.1.3.3.Sıcaklık etkisi	54

II.2.1.3.4.pH ve ışık etkisi	55
II.2.1.3.5.Oksijen ve ışık etkisi	55
II.2.2.Bozunma ürünü ile ilgili çalışmalar	56
II.2.2.1.Bozunma ürünlerinin oluşturulması	56
II.2.2.2.İzolasyonu ve saflaştırılması	56
II.2.2.2.1.Kolon kromatografisi	57
II.2.2.2.1.1.Kolon hazırlanması	58
II.2.2.2.2.Preparatif yöntem	58
II.2.2.3.Yapısının aydınlatılması	59
II.2.2.3.1.UV analizi	59
II.2.2.3.2.IR analizi	60
II.2.2.3.3.NMR analizi	60
II.2.2.3.4.Kütle analizi	60
II.2.2.3.5. İnce tabaka kromatografisi	60
II.2.3.Ön formülasyon çalışmaları	60
II.2.3.1.Formülasyona giren maddeler ve kullanı- lıkları oranlar	60
II.2.3.1.1.Etken madde	60
II.2.3.1.2.İzotoni ayarı	61
II.2.3.1.3.pH ayarı	61
II.2.3.1.4.Koruyucu maddeler	61
II.2.3.1.5.Viskozite artırıcı maddeler	61
II.2.3.2.Sterilizasyon	62
II.2.3.3.Stabilite	63
III.BULGULAR	64
III.1.Atenolole ait bulgular	64
III.1.1.UV spektrumu.....	64
III.1.2.IR spektrumu	64

III.1.3.NMR spektrumu	64
III.1.4.Kütle spektrumu	67
III.1.5.İnce tabaka kromatografisi	67
III.1.6.Erime noktası	67
III.1.7.Miktar tayini	67
III.1.7.1.İnce tabakadan elue ettikten sonra yapılan spektrofotometrik tayin için elde edilen standart eğri	71
III.1.7.2.Spektrofotometrik yöntem için stan- dart eğri	71
III.1.8.Stabilite	71
III.1.8.1.pH ve ışık etkisi	71
III.1.8.2.Oksijen etkisi	71
III.1.8.3.Işık etkisi	75
III.1.8.4.Sıcaklık etkisi	75
III.1.8.5.Oksijen ve ışık etkisi	75
III.2.Bozunma ürününe ait bulgular	75
III.2.1.UV spektrumu	75
III.2.2.IR spektrumu	79
III.2.3.NMR spektrumu	79
III.2.4.Kütle analizi	79
III.2.5.İnce tabaka kromatografisi	79
III.3.Ön formülasyon	84
III.3.1.Osmolalite	84
III.3.2.pH ayarı	84
III.3.3.Koruyucu maddeler	84
III.3.4.Viskozite artırıcı maddeler	85
III.3.5.Sterilizasyon	85

III.3.6.Stabilite	86
IV.TARTIŞMA ve SONUÇ	88
IV.1.Atenololun ince tabaka kromatografisi ...	88
IV.2.Atenololun miktar tayini	89
IV.3.Atenololun stabilitesi	91
IV.4.Bozunma ürününe ait özellikler	95
IV.5.Göz çözeltisi ön formülasyonu	96
ÖZET	99
SUMMARY	101
KAYNAKLAR	103

GİRİŞ ve AMAÇ

Atenolol, 1972'de sentezi yapılan ve son zamanlarda hipertansiyon tedavisinde yan etkilerinin az olması nedeni ile çok kullanılan bir beta reseptör blokeridir (1). Beta reseptör blokerlerinin geniş açılı glokom tedavisinde kullanımına ilk olarak propranolol ile başlanmıştır (2). Daha sonra praktolol (3), pindolol (4,5), timolol (6,7,8,9,10, 11,12,13,14), oksprenolol (15) gibi bir çok beta reseptör blokeri denenmiştir. Atenololun de oral ve topikal kullanıldığında göziçi basıncını düşürdüğü görülmüştür (15).

Türkiye'de geniş açılı glokom tedavisi için beta reseptör blokeri içeren bir müstahzar bulunmamaktadır. Bu nedenle, atenolol ile direkt olarak göze tatbik edilerek kullanılabilen bir göz çözeltisi formülasyonu geliştirmek amaçlanmıştır. Ancak atenololun çözeltideki stabilitesinin iyi olmaması nedeniyle önce stabilitesi üzerinde çalışılmıştır.

Atenolol göz çözeltileri ile daha önce yapılan klinik çalışmalarda günde 3x1 damla kullanılması önerilmiştir (16, 17). Damla şeklinde kullanılan göz çözeltileri genellikle 2.5 - 5 ml lik ambalajlarda bulunmaktadır. Buna göre preparat açıldıktan sonra yaklaşık 20 gün içinde çözeltisinin kullanılıp biteceği göz önüne alındığında, bu süre içinde oluşan bozunma ürününün yapısının ve özelliklerinin bilinmesinin gerekli olduğu düşünülmüştür. Daha önce Phillips ve arkadaşları (16) tarafından yapılan bir çalışmada,

kullanılan atenolol göz çözeltilisinde 1 ay sonunda farmakolojik cevapta hafif bir azalma olduğu bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada madde tamamen farmakolojik yönden incelenmiş olup stabilite ile ilgili bir bilgi verilmemiştir.

Bu çalışmada amacımız atenolol çözeltilerinin stabilitesini araştırmak ve stabiliteye etki eden faktörlerden ışık, pH, oksijen, sıcaklık ve bunların birlikte etkisini incelemektir. Stabilitesi ve ön formülasyonu hakkında bazı bilgiler edindikten sonra, daha ileri safhada diğer bir çalışma ile de stabil ve biyoyararlılığı iyi bir göz çözeltisi formülasyonu üzerinde in vivo çalışmalara geçilecektir.

I. GENEL BİLGİLER

I.1. Stabilité

I.1.1. Tanımı

Stabilitenin sözlük karşılığı " sabit kalabilme durumu, kararlılık, değişikliklere karşı direnç, kimyasal dekompozisyona karşı direnç " şeklindedir. Eczacılıkta ise stabilite " bir formülasyonun özel bir kapta fiziksel, kimyasal mikrobiyolojik, terapötik ve toksikolojik özelliklerinin aynı kalması"olarak tanımlanabilir. Ayrıca stabilite " bir formülasyonun üretildikten ve ambalajlandıktan sonra kimyasal ve biyolojik aktivitesinin önceden belirlenen potansiyel seviyesinin altına düşmediği ve fiziksel özelliklerinin değişmeden kaldığı süre"olarak tanımlanabilir. (18).

Bir preparatın formülasyonu sırasında birçok problemle karşılaşılmaktadır. Bunlar ; etken maddenin kimyasal stabilitesi ve stabilizasyon metodları; istenen raf-ömrünü sağlayacak saklama şartlarının saptanması; preparatın fiziksel stabilitesi; uzun süre kan düzeylerinin sürdürülmesi için çözünme, absorpsiyon ve atılma hızlarına dayanarak ilaç yararlanımının değiştirilmesi; stabiliteyi koruyabilecek ve kullanıma uygun olan bir ambalajlama; preparatla ambalaj arasındaki geçimsizlik; ekonomik yönden uygun bir üretim süreci planlanmasıdır. (19).

Farmasötik bir formülasyonu geliştiren bir üreticinin yapılan formülasyonun kullanım süresi içinde stabilitesini sağlaması gerekmektedir. Hastanın verilen dozdaki ilacı

almasını sağlayabilmek ve terapötik olarak inaktif olan bozulma ürününü almasını engelleyebilmek için bir bileşiğin stabilitesi çok iyi bilinmelidir (20).

İlaçların ve farmasötik preparatların stabilitesi ile ilgili bilgiler matematiksel ifadelerle dayanmaktadır. Sıcaklık, konsantrasyon, basınç, zaman, pH, oksijen içeriği, merkezkaç ve yerçekimi kuvveti, dalga boyu gibi faktörler için uygun matematiksel değerler kullanarak parçalanma hızları hesaplanabilmektedir.

Bu kısımda stabilite, kimyasal ve fiziksel stabilite başlıkları altında incelenecektir.

I.1.2. Kimyasal stabilite

Burada amaç maddenin maksimum stabilite gösterdiği şartları tayin etmek ve bu şartlar altında raf ömrünü hesaplamaktır.

Bir farmasötik bileşiğin kimyasal stabilitesinden söz ederken, reaksiyon derecesini bilmek şarttır. Reaksiyon derecesi, parçalanan ilacın konsantrasyonunun fonksiyonu olarak, reaksiyon hızının deneysel olarak ölçülmesi ile saptanır(20).

Farmasötik bir preparatta terapötik olarak aktif olan bileşiğin tam olarak istenen dozda veya konsantrasyonda olması gerekmektedir. Buna göre, kimyasal stabilite, parçalanma ürünlerinin oluşma hızı yönünden değil, aktif ilacın parçalanma hızına göre ele alınmalıdır.

Kimyasal kinetik kuralları kullanılarak raf-ömrü hakkında bilgi sağlanmaktadır. Raf-ömrü ilacın aktivitesinin

% 10 azaldığı süre olarak tanımlanır.

Parçalanma hızını saptayabilmek için, parçalanma ürünlerinin varlığında etken maddenin tayini yapılabilmelidir. Ayrıca kimyasal metodlar farmakolojik tayinlerle kontrol edilmelidir (19).

Farmasötik bileşiklerin büyük bir kısmının parçalanması sıfır derece, birinci derece ve psödo birinci derece ya da ikinci derece reaksiyonlar ile olmaktadır (20,21,22).

I.1.2.1. Sıfır derece reaksiyon

Kimyasal bir reaksiyon kabaca iki molekülün atomlarının çarpışıp yeniden düzenlenerek yeni moleküller oluşturma şeklinde tanımlanabilir. Buradan kimyasal bir reaksiyonun hızının bu çarpışma sayısı ile orantılı olacağı görülmektedir (23).

Reaksiyon hızı, reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonundan bağımsızsa, reaksiyon sıfır derece olarak tanımlanır. Bu tip reaksiyonlarda, sınırlayıcı faktör çözünürlük ya da belli fotokimyasal reaksiyonlarda ışık absorpsiyonu gibi, konsantrasyonun dışında bir faktördür. Faktör çözünürlük olduğunda, sadece ilacın çözünen miktarı parçalanır (20,21,24).

İlacın parçalanma reaksiyonu matematiksel olarak Eşitlik 1 deki şekilde ifade edilir :

$$-\frac{dC}{dt} = k_0 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$-\frac{dC}{dt} : \text{konsantrasyon azalma hızı}$$

C : reaksiyona giren maddenin konsantrasyonu

k : hız sabiti

Eşitlik 1, Eşitlik 2 ile de ifade edilebilir.

$$C = -kt + C_0 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

C_0 : Başlangıç konsantrasyonu

Zamana karşı konsantrasyon grafiğe geçirildiğinde, doğrunun eğimi olan k , bize reaksiyon hız sabitini verir. Hız sabitinin birimi $\text{mol litre}^{-1} \text{ saniye}^{-1}$ dir.

I.1.2.2. Birinci derece reaksiyon

Reaksiyon hızı, reaksiyona giren bir maddenin konsantrasyonuna bağlı ve bu konsantrasyonla doğru orantılı ise, reaksiyon birinci derece olarak tanımlanır (20,21,23,24) ve matematiksel olarak Eşitlik 3 ile ifade edilir :

$$-\frac{dC}{dt} = kC \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Genellikle maddenin ilk konsantrasyonu kullanıldığından Eşitlik 3, Eşitlik 4 veya 5 ' e çevrilerek kullanılır.

$$\log \frac{C_0}{C} = \frac{kt}{2.303} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

veya

$$\log C = -\frac{kt}{2.303} + \log C_0 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

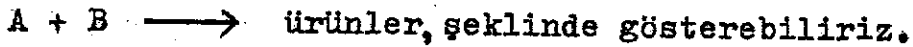
Zamana karşı konsantrasyonun logaritması grafiğe geçirildiğinde, elde edilen doğrunun eğimi $-\frac{k}{2.303}$ tür.

Hız sabitinin birimi saniye^{-1} dir.

I.1.2.3. İkinci derece reaksiyon

İki molekülün bir araya gelmesiyle oluşan bimoleküler reaksiyonların hızları ikinci derece eşitlik ile tanımlanır (19,20,21,23,24).

A ve B ' nin reaksiyona giren moleküller olduğunu düşünürsek,



Reaksiyon hızı, A ve B ' nin konsantrasyonlarına bağlı ise, A ' nin parçalanma hızı, B ' nininkine eşittir ve ikisi de konsantrasyonlarının çarpımı ile orantılıdır. Bu matematiksel olarak Eşitlik 6 ile ifade edilir :

$$-\frac{dC_A}{dt} = -\frac{dC_B}{dt} = kC_A C_B \quad (\text{Eşitlik 6})$$

a ve b, A ve B ' nin başlangıç konsantrasyonu ise ve x , t süresi aralığında A veya B ' nin reaksiyona giren mol sayısı ise reaksiyon hızı, Eşitlik 7 ile ifade edilir :

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x) (b - x) \quad (\text{Eşitlik 7})$$

A ve B , ortamda aynı konsantrasyonda bulunuyorsa reaksiyon hızı, Eşitlik 8 ile ifade edilir :

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x)^2 \quad (\text{Eşitlik 8})$$

Hız sabitinin birimi, litre saniye⁻¹ mol⁻¹ ' dir.

İkinci derece reaksiyonlara psödo birinci derece

reaksiyonlar da denmektedir. Bu tip reaksiyonlarda reaksiyona giren maddelerden biri diğer maddeye göre daha fazla miktarda ortamda bulunmakta ya da sabit konsantrasyonda kalmaktadır. Bu şartlarda ortamda iki madde mevcut olmasına rağmen reaksiyon hızını maddelerden biri belirler.

I.1.3. Fiziksel stabilite

Bir sistemin fiziksel özelliklerinin ve yapısının değişme hızını fiziksel stabilitesi yönlendirir. Hem farmasötik, hem de terapötik açıdan saklama sırasında dozaj şeklindeki fiziksel değişiklikler, etken maddenin kimyasal stabilitesi kadar, hatta bazen daha da önemli olabilir. Fiziksel değişiklikler arasına kristal büyümesi, kristal şeklin değişmesi, çözülme hızının artması ya da azalması, renklenme, rengin solması girebilir (21). Bazı durumlarda fiziksel değişiklikler uygun bir ambalajlama ile kontrol altına alınabilir. Örneğin, bir preparatta su gibi buharlaşan bir sıvının kaybı, konsantrasyonda değişikliğe neden olur ve maddenin verilen hacimdeki dozu değişir. Eğer başlangıçtaki çözeltinin konsantrasyonu doymun çözeltininkine yakınsa, kristallenme olabileceğinden, şişede kalan en son doz tehlikeli olabilir. Ayrıca buharlaşma, süspansiyonlarda partiküllerin dönüşümsüz koagülasyonuna neden olur. Yarı katı emülsiyonlarda sulu kısım üst tabakalardan buharlaşmaya başlar, buharlaşmayan yağlı faz ayrılır. Dozaj şekillerindeki bu buharlaşma, sıvı ve sıvının buharından etkilenmeyen kap ve kapaklar kullanılarak kontrol altına alınabilir (19).

I.1.4. Stabiliteye etki eden faktörler

I.1.4.1. Sıcaklık

Bölüm I.1.2.1. ' de reaksiyon hızının reaksiyona giren moleküllerin atomlarının birim zamandaki çarpışma sayısı ile orantılı olduğu belirtilmişti. Çarpışma sayısı sıcaklıkla arttığından, artan sıcaklıkla reaksiyon hızının da artması beklenir. Deneysel olarak reaksiyon hız sabitinin sıcaklığa üssel olarak bağımlı olduğu gözlenmiştir (23,25). Arrhenius, bu ilişkiyi Eşitlik 9 ile ifade etmiştir:

$$k = S e^{-E_a/RT} \quad (\text{Eşitlik 9})$$

k : reaksiyon hızı (= parçalanma hızı)

R : gaz sabiti (1.987 kal. derece⁻¹ mol⁻¹)

T : absöü sıcaklık (°K)

S : sıklık (frekans) faktörü (= reaksiyona giren moleküller arasında beklenen çarpışma sıklığı)

E_a : aktivasyon enerjisi (= molekülleri aktive ederek reaksiyon ürünlerini oluşturmak için gereken enerji)

Eşitlik 9, logaritmik olarak Eşitlik 10 ile ifade edilebilir:

$$\ln k = - \frac{E_a}{RT} + \ln S \quad (\text{Eşitlik 10})$$

Logaritma cinsinden Eşitlik 11 ile ifade edilir:

$$\log k = - \frac{E_a}{2.303RT} + \log S \quad (\text{Eşitlik 11})$$

$\frac{1}{T}$ ye karşı log k grafiğe geçirildiğinde eğim

$\frac{E_a}{2.303 R}$ ' ye eşittir. Buradan aktivasyon enerjisi, E_a hesaplanabilir.

Sıcaklık-reaksiyon hızı ilişkisi parçalanma mekanizmalarının kontrol edilmesinde kullanılır.

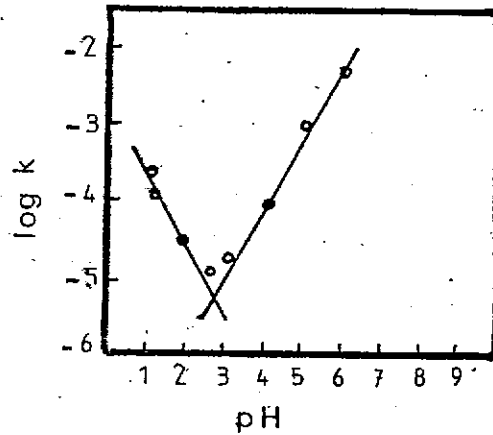
Çözeltideki reaksiyonlar genellikle 10-30 kkal/mol aktivasyon enerjisine sahiptir. Aktivasyon enerjisi, reaksiyon hızının tayini için önemli bir faktördür. Yüksek aktivasyon enerjisine sahip reaksiyonlarda hız yavaştır. İlacın parçalanmasında aktivasyon enerjisi düşük ise, hızlı bir parçalanma söz konusudur. Yüksek E_a değerlerinde stabilite sıcaklığa daha çok bağımlıdır. Ancak, fotoliz veya difüzyon, reaksiyonun hızını belirleyici basamak ise aktivasyon enerjisi 2-3 kkal /mol civarındadır ve sıcaklığın hıza etkisi küçük olduğundan hızlandırılmış stabilite deneyleriyle çok fazla bir üstünlük sağlanamaz (21,24). Denatüre olan proteinler, ısıtma ile çöken metilselüloz gibi maddeleri içeren preparatlarda ve yüksek sıcaklıklarda eriyecek olan merhem ve supozitüvarlarda hızlandırılmış stabilite deneyleri yapılamaz (24).

I.1.4.2. pH

H ve OH-iyonları ile katalize olan hidrolitik reaksiyonların hızının büyüklüğü pH ile önemli olarak değişebilir. Düşük pH larda, hidrojen iyonu katalizi, yüksek pH larda ise hidroksil iyonu katalizi daha hakimdir. Ara pH larda ise hız pH dan bağımsızdır ya da hem hidroksil hem de hidrojen iyonları tarafından katalize olabilir. Ancak bu pH bölgesinde

hız sabitleri genellikle yüksek ya da düşük pH dakilerine göre daha küçüktür (21).

pH'nın parçalanma reaksiyonuna etkisini tayin etmek için, parçalanma değişik hidrojen iyonu konsantrasyonlarında ölçülür. Optimum stabilitenin olduğu pH, pH ya karşı hız sabitinin logaritması grafiğe geçirilerek elde edilen pH - hız profillerinden tayin edilir (20,21,24,25). Şekil 1'de metil-dl-o-fenil-2 piperidil asetatın spesifik asit-baz katalizi ile olan hidrolizi için pH-hız profili örnek olarak verilmiştir (24).



Şekil 1. Metil-dl-o-fenil-2 piperidil asetatın
Spesifik Asit-Baz Katalizi ile Olan
pH - Hız Profili (24)

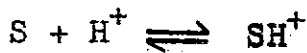
Bu tip çalışmalar yüksek sıcaklıklarda yapılarak kısa zamanda sonuç elde edilebilmektedir. Yükselen sıcaklıkla pH - hız profilinin minimum plato gösterdiği noktanın kayması, sonuçları önemli derecede etkilememektedir (20,24).

Hidrolize yatkın bir madde içeren çözelti tipi bir

preparat geliştirilirken pH'nın stabiliteye etkisi öncelikle dikkate alınmalıdır. Preparatın pH'sı, ilacın hem maksimum stabilite hem de en fazla terapötik aktivite gösterdiği ve fizyolojik olarak da kabul edildiği bir değerde olmalıdır.

I.1.4.2.1. Spesifik asit-baz katalizi

Birçok ilaç çözeltileri asit veya bazların ilavesiyle hızlandırılmış parçalanmaya uğramaktadır. Böyle bir hızlandırılmış parçalanmada hız, hidrojen iyonu veya hidroksil iyonu konsantrasyonu ile ilişkili ise, bu reaksiyon spesifik asit-baz katalizi olarak tanımlanır (24,25). Spesifik asit-baz katalizine örnek olarak, esterlerin hidrolizinin pH'ya bağımlılığı verilebilir. Bir esterin asit katalizi ile olan reaksiyonunda önce ester ve hidrojen iyonu arasında bir denge meydana gelir ve bunu takiben su, R, ile hızı tayin eden bir reaksiyon olur :



Farklı hidrojen iyonu konsantrasyonlarında asit katalizi ile olan bir ester hidrolizi takip edildiğinde yani ester farklı pH'lardaki tampon çözeltilerinde hidrolize uğratıldığında, reaksiyon için bir pH - hız profili elde edilebilir. Belli bir pH'da birinci derece reaksiyon gözlenir (Eşitlik 12).

$$\frac{dP}{dt} = k_{obs} (S) \quad (\text{Eşitlik 12})$$

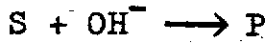
Burada,

$$k_{\text{obs}} = k_1 (H^+) \quad (\text{Eşitlik 13})$$

Eşitlik 13 ' ün logaritması alındığında, Eşitlik 14 elde edilir :

$$\log k_{\text{obs}} = - \text{pH} + \log k_1 \quad (\text{Eşitlik 14})$$

Bir esterin spesifik hidroksil iyonu katalizi ile olan parçalanmasında ise genel reaksiyon,



şeklindedir. Tampon şartlarında, birinci derece reaksiyon gözlenir (Eşitlik 12) ve burada,

$$k_{\text{obs}} = k_2 (OH^-) \quad (\text{Eşitlik 15})$$

$$k_s = (H^+)(OH^-) \quad (\text{Eşitlik 16})$$

olduğuna göre,

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_2 k_s}{(H^+)} \quad (\text{Eşitlik 17})$$

Eşitlik 17 ' nin logaritması alındığında Eşitlik 18 elde edilir :

$$\log k_{\text{obs}} = \text{pH} + \log k_2 k_s \quad (\text{Eşitlik 18})$$

Şekil 1 ' de verilen metil-dl-o-fenil-2-piperidil asetatın spesifik asit-baz katalizi ile olan hidrolizi için pH - hız profilinde pH 1 ' den 3 ' e doğru olan pH daki artış, spesifik hidrojen iyonu katalizi için verilen Eşitlik 14 ' ten beklenildiği şekilde hızda lineer bir azalmaya neden olmaktadır.

pH 3' ten 7' ye doğru artış ise, hidroksil iyonu katalizi için verilen Eşitlik 18' den beklenildiği şekilde hızda lineer bir artışa neden olmaktadır. pH 3 civarında bir minimum gözlenmektedir. Bu solvanın katalitik etkisindedir (24).

I.1.4.2.2. Genel asit-baz katalizi

Birçok farmasötik sistemlerde, çözeltiyi belli bir pH da tutabilmek için tamponlar kullanılmaktadır. pH nın reaksiyon hızına etkisine ilaveten, tampon bileşenlerinden bir veya daha fazlası tarafından da kataliz olabilir. Bu reaksiyona, katalitik bileşenlerin asidik veya bazik olmasına göre genel asit veya genel baz katalizi denir.

Genel asit veya baz katalizini araştırabilmek için, aynı pH da tampon tuzlarının oranları sabit fakat farklı konsantrasyonlarda birçok tamponda ilacın parçalanma hızı tayin edilmektedir. Eğer parçalanma reaksiyonu değişik tampon konsantrasyonlarından etkileniyorsa, reaksiyonun genel asit-baz katalizine girdiği kabul edilir. Böyle bir durumda tampon konsantrasyonu katalitik etkiyi azaltmak için mümkün olduğu kadar düşük tutulmalıdır (20,21,24,25).

Genel asit-baz katalizine hassas bir reaksiyonun pH-hız profili Eşitlik 14 ve 18 ' e göre beklenen davranışlardan sapma gösterir.

I.1.4.3. Işık

Normal bir kimyasal reaksiyonda, reaksiyon için aktivasyon enerjisi termal enerjiden sağlanır. Genellikle ter-

mal enerji moleküler çarpışmada, moleküler kinetik enerjinin vibrasyonel enerjiye transferi şeklindedir. Fotokimyasal bir reaksiyonda ise atomlar veya moleküller genellikle belli dalga boyundaki ışık absorpsiyonu ile reaksiyona girerler. Işık absorpsiyonu ile atomlar veya moleküller yüksek enerjiye veya uyarılmış duruma yükselir ve yüksek enerjili atom veya moleküller birbirleriyle ya da sistemdeki diğer uyarılmamış atom veya moleküllerle reaksiyona girer.

Bir fotokimyasal reaksiyonda birinci basamak, atom veya molekülün ışıkla aktivasyonudur. Birinci basamağın hızı atom veya molekül tarafından absorblanan ışığın şiddeti ile orantılıdır.

Bir atom veya molekül ışık absorblayabilmekte ve aktive olabilmekte ise de mutlaka kendisi bir kimyasal değişikliğe uğramayabilir. Absorblanan enerji termal enerji şeklinde tüketilebilir. Diğer bir yol ise aktive olan atom veya molekül kendisi aktive olmamış duruma dönerken sistemdeki başka bir atomu veya molekülü aktive edebilir (20,21,24,26).

Direkt ışık tarafından aktive olan atom veya moleküle " ışığa hassas molekül ", reaksiyona ise " ışığa hassas reaksiyon " denir. Belli dalga boyundaki ışıkta, oksidasyon-redüksiyon, halka modifikasyonu ve parçalanma reaksiyonları başlayabilir.

I.1.4.4. İyonik güç

Reaksiyon hızının iyonik güçten etkilenmesi Eşitlik 19

ile ifade edilebilir (21,24,25) :

$$\log k = \log k_0 + 1.02 z_a z_b \sqrt{u} \quad (\text{Eşitlik 19})$$

z_a, z_b : çözeltilerde reaksiyona giren maddelerin taşıdığı yükler

u : iyonik güç

k : parçalanma hız sabiti

k_0 : sonsuz seyreltmedeki hız sabiti

İyonik güç ($u = 1/2 \sum c_i z_i^2$), çözeltilerde bulunan her iyonik türün konsantrasyonunun, valansının karesi ile çarpımının toplamının yarısı olarak tanımlanabilir. İyonik gücün karesine karşı reaksiyon hız sabitlerinin logaritmasının grafiğe geçirilmesiyle, iyonik güçteki artışın, parçalanma hızını artırdığı veya azalttığı ya da hiç etkisi olmadığı tayin edilebilir.

Çözelti tipi bir preparatın formülasyonunda kullanılan tuzun konsantrasyonu ilacın çözeltildeki parçalanma hızını azaltabilir veya artırabilir ya da hiç etkisi olmaz. İlaç pozitif yüklü ise ve hidrojen iyonu katalizine uğrayan sodyum klorür gibi bir tuz ilavesiyle iyonik gücün artması parçalanma hızında bir artışa neden olur. İlaç hidroksil iyonu katalizine uğruyor ve iyonik güç, tuz ilavesiyle artıyorsa, parçalanma hızı azalır. İlaç nötral bir molekül ise, tuz ilavesiyle iyonik güçteki değişikliklerin parçalanma üzerinde etkisi yoktur.

I.1.4.5. Dielektrik sabiti

Bir maddenin polaritesi dielektrik sabiti ile ilişkilidir. Dielektrik sabiti, ϵ , bir madde ile dolu bir kondansatörün kapasitesinin, vakumla doldurulduğundaki kapasitesine oranıdır (20,24,25). Bu, Eşitlik 20 ile gösterilir:

$$\epsilon = \frac{C_x}{C_0} \quad (\text{Eşitlik 20})$$

C_x : madde ile dolu kondansatörün kapasitesi

C_0 : vakum ile dolu kondansatörün kapasitesi

İyonik bir reaksiyonun iyonik güç etkisinin sıfır olduğu sonsuz dilüsyona ekstrapole edilmiş hız sabiti üzerine dielektrik sabitinin etkisinin yeni bir formülasyon geliştirilirken bilinmesi gereklidir (24). Bu etkinin tayin edilebileceği eşitliklerden biri Eşitlik 21 'de verilmiştir.

$$\ln k = \ln k_{\epsilon=\infty} - \frac{N z_a z_b e^2}{RT r^*} \cdot \frac{1}{\epsilon} \quad (\text{Eşitlik 21})$$

$k_{\epsilon=\infty}$: sonsuz dielektrik sabiti ortamındaki hız sabiti

N : Avogadro sayısı

z_a ve z_b : a ve b iyonlarının yükü

e : elektriksel yük birimi

r^* : aktive edilmiş komplekste iyonlar arası mesafe

ϵ : çözeltilinin dielektrik sabiti

Zıt yüklü iyonlar arasındaki bir reaksiyon için, çözünün dielektrik sabitindeki artış, hız sabitinde azalmaya

neden olur. Aynı yüklü iyonlar için ise, dielektrik sabitindeki artış, hız sabitinde artmaya neden olur.

Bir iyon ile nötral bir molekül arasında olan reaksiyonun hızı, azalan dielektrik sabiti ile artar. Ancak bu ilişki iyonik güç etkilerinin önemli olduğu farklı çözücüler veya seyreltik çözeltiler kullanıldığında geçersizdir.

I.1.5. Parçalanma yolları

Etken maddelerin farmasötik dozaj şekillerindeki parçalanmaları hidroliz, oksidasyon-redüksiyon, rasemizasyon, fotoliz gibi yollarla olmaktadır. Maddenin kimyasal yapısı bazı muhtemel parçalanma yollarını gösterebilir. Ayrıca hazırlama tipi parçalanma yollarının sayısını sınırlayabilir. Örneğin, eğer suda hidroliz olan bir madde susuz yağda çözüldürülürse hidroliz olmayacaktır (19).

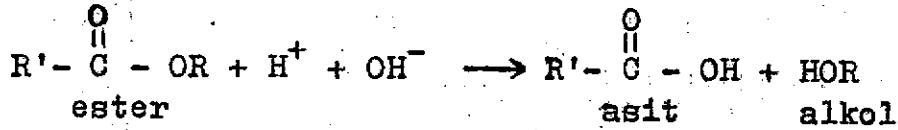
Bu kısımda parçalanma yollarından hidroliz, oksidasyon-redüksiyon, rasemizasyon ve fotoliz açıklanacaktır.

I.1.5.1. Hidroliz

Farmasötik bileşiklerin çoğu ester, amid veya laktam grubu içerdiğinden en sık görülen parçalanma tipi hidrolizdir (20,21,24,25). Hidrojen ve hidroksil iyonları, çözeltilerdeki hidrolitik parçalanmanın başlıca katalizörleridir. Çözünürlük azaltılarak hidroliz azaltılabilir. Çözünürlüğün azaltılması solvan molekülleri için ilaçla yarışan bir katkı maddesinin ilavesi; ilacın çözünmeyen türevinin kullanılması; kompleksleştirme; miseller çözüldürme gibi yollarla olur.

I.1.5.1.1. Ester hidrolizi

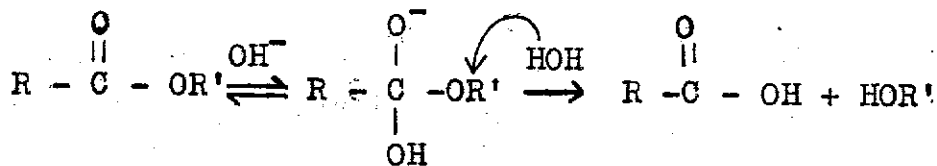
Ester yapısındaki bir madde sulu ortamda hidroliz sonucu bir asit ve bir alkele dönüşür :



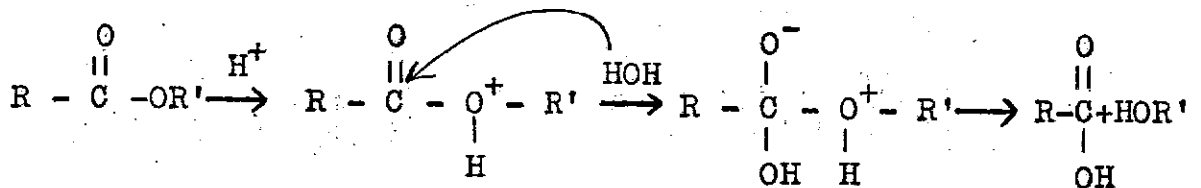
Çoğu durumlarda hidroliz reaksiyonunun ilerlemesi için bir katalizör gerekmektedir. Bu katalizörler reaksiyon ortamına hidrojen veya hidroksil iyonları sağlayabilen maddelerdir. Asit ya da baz karakterde olan ester hidrolizinde pH'nın hız üzerinde belirgin etkisi vardır. Baz katalizi ile olan reaksiyonlar normalde geri dönüşümsüzdür. Asit katalizi ile olan reaksiyonlar ise dönüşümlüdür ve bir denge meydana gelir (19,20,21,24).

Alkali katalizi ile olan hidrolizde oluşan asit ortamdaki alkali tarafından hemen nötralize edilir. Asit katalizi ile olan hidrolizde ise su ya da alkolün fazlası ile reaksiyon istenilen yönde tamamlanabilir .

Baz katalizi ile olan reaksiyon :



Asit katalizi ile olan reaksiyon :



Asit ya da baz katalizi ile olan hidrolizi ifade etmek için kullanılan kinetik eşitlikler, Eşitlik 22 ve 23 ' te verilmiştir :

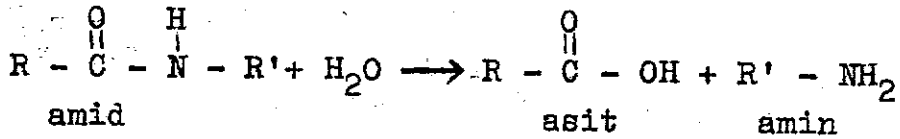
$$\frac{d(\text{ester})}{dt} = -k(\text{ester})(\text{H}^+) \quad (\text{Eşitlik 22})$$

$$\frac{d(\text{ester})}{dt} = -k(\text{ester})(\text{OH}^-) \quad (\text{Eşitlik 23})$$

Bu eşitlikler ikinci derece reaksiyonu göstermektedir. Ancak, OH^- ve H^+ konsantrasyonunu, estere göre daha yüksek konsantrasyonda tutarak ya da tampon kullanarak OH^- ve H^+ konsantrasyonlarını sabit tutarak, parçalanma reaksiyonu psödo birinci derece kabul edilir.

I.1.5.1.2 Amid hidrolizi

Amid grubu içeren bir bileşik, ester yapısındaki bileşiğe benzer şekilde hidrolize uğrar. Ester hidrolizi sonucu oluşan asit ve alkol yerine, amidin hidrolitik kopması sonucu bir asit ve bir amin oluşur :



Amidler, esterlere göre daha yüksek stabiliteye sahip olduğundan, kimyasal kinetik çalışmalar azdır (21).

I.1.5.1.3. Halka değişmesi

Hidrojen veya hidroksil iyonunun etkisiyle olan halka kopması sonucunda hidrolitik bir reaksiyon ilerleyebilir (19).

I.1.5.1.4 Hidrolize etki eden faktörler

İlaçların ester ve amid gruplarının hidrolize duyarlılığı ve dolayısıyla reaksiyon hızı solvanlar, pH, nem, kimyasal yapı, kompleksleşme ve yüzey etken maddeler gibi çok sayıda faktörlerden etkilenmektedir.

I.1.5.1.4.1. Solvanlar

Hassas bileşikler için su yerine etanol, propanol, propilen glikol gibi su miktarı minimum olan ve toksik olmayan diğer solvanlar kullanılmalıdır.

I.1.5.1.4.2. pH etkisi

Çözeltiler verilmiş yolu ile geçimli olması şartıyla stabilite için optimum pH da formüle edilmelidir. Ancak stabilite için uygun olan pH da hazırlanan çözelti fizyolojik olarak kabul edilmiyorsa, başka bir preparat şekli önerilir. Örneğin, kullanmadan önce çözülecek kuru toz şeklinde preparat. Hızlı hidroliz olan maddeler için bu genel bir işlemdir (19).

I.1.5.1.4.3. Nem

Rölatif neme bağlı olarak tozlar havadan nem absorplayacağından hassas maddelerle çalışırken rölatif nem düşük tutulmalıdır.

I.1.5.1.4.4. Kimyasal yapı

Reaksiyon merkezine yakın substitue gruplara bağlı olarak sterik ve polar (elektronik) etkiler hidroliz hızını etkiler. Büyük açil ve alkil gruplarının özellikle

dallı olanların sterik engeli genellikle hidroliz hızını azaltır (19).

I.1.5.1.4.5. Kompleksleşme

Kompleksleşme stabiliteyi iyi yöne kaydırabileceği gibi kötüleştirir de (28). Özellikle molekül büyükse, bir kompleks oluştuğunda Bölüm I.1.5.1.4.4 ' de anlatılan sterik ve polar etkiye benzer etkiler oluşmaktadır. Örneğin, benzokainin hidrolizi kafein ile kompleksi oluşturularak azaltılmaktadır (21).

I.1.5.1.4.6. Yüzey aktif maddeler

İyonik olmayan, katyonik ve anyonik yüzey aktif maddeler miseller çözeltide benzokainin hidroliz hızını azaltır. Alkali çözeltide yüzey aktif maddelerden anyonik olanlar en çok ve iyonik olmayanlar en az etkin olmalıdır. Katyonik yüzey aktif maddelerin pozitif yüklü kuaterner veya amin grupları, hidroksil iyonuna saldırır ve hidroksil iyonunun miselle penetrasyonunu engeller. İyonik olmayan yüzey aktif maddelerin etkisi açıklanamamıştır. Ancak bu etki molekülde dipolar grupların dizilmesine bağlı olabilir. Yüzey aktif maddelerin kullanımı toksisiteleri nedeniyle kısıtlıdır (19).

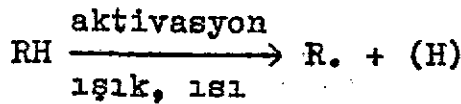
I.1.5.2. Oksidasyon - redüksiyon

Narkotikler, steroidler, vitaminler, antibiyotikler gibi birçok farmasötik bileşik oksidatif parçalanmaya uğramaktadır.

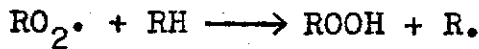
Oksidasyon molekülden elektron uzaklaşması, redüksiyon

ise moleküle elektron ilavesi olayıdır. Oksidasyonda genellikle oksijen ilavesi ya da hidrojen uzaklaşması söz konusudur. Bu reaksiyonlar serbest radikallerle veya moleküler oksijen aracılığı ile olmaktadır. Moleküler oksijenle oluşan reaksiyona otooksidasyon denmektedir. Çünkü, normal şartlarda spontan olarak oluşmaktadır (18,21,24,27). Serbest radikal zincir işlemi ile oluşan otooksidasyon reaksiyonu aşağıdaki şekilde gösterilebilir (21) :

Başlangıç,



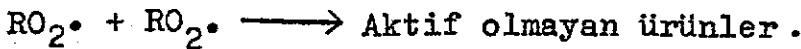
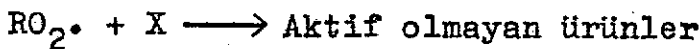
Propagasyon,



Hidroperoksit dekompozisyonu,



Bitiş,



X : Serbest radikal inhibitörü

Kovalan bağın homolitik parçalanması sonucu serbest radikaller oluşmaktadır. Bu serbest radikaller başlangıçtaki kovalan bağın elektronlarından birini üstünde tutmaktadır. Bu radikallerin doymamışlığı oldukça yüksektir ve diğer maddelerden derhal elektron alarak oksidasyona neden

olmaktadır. Otooksidatif reaksiyonlarda reaksiyonun başlaması için çok az miktarda oksijen gerektiğinden, oksijen konsantrasyonu nispeten önemsizdir. Doymamış yağ asitleri atmosferik oksijen, ışık etkisiyle serbest radikal mekanizması ile okside olmaktadır.

Demir, bakır, kobalt ve nikel gibi iki veya daha fazla valanslı ağır metaller genellikle oksidasyonu katalize etmektedir. Bu metaller indüksiyon süresini kısaltmakta ve serbest radikallerin oluşma hızını artırmaktadır. Hidrojen ve hidroksil iyonları ve ışık da oksidasyonu katalize etmektedir.

Oksidasyon reaksiyonlarının kompleks olması ve eser metaller ve diğer safsızlıklara karşı hassas olması nedeniyle yeniden oluşturmak ve reaksiyonun mekanizmasını saptamak oldukça zordur. Bu nedenle oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları ile ilgili yapılan çalışmalar kantitatif olmaktan çok kalitatifdir.

Farmasötik bileşiklerin oksidatif parçalanması birinci derece veya ikinci derece kinetiğe uymaktadır. Çoğu oksidasyon reaksiyonlarında hız, oksitleyici molekülün konsantrasyonu ile orantılı olmakta, ancak oksijen konsantrasyonundan bağımsız olabilmektedir.

I.1.5.2.1. Oksidasyonun önlenmesi veya azaltılması

I.1.5.2.1.1. Çözelti pH sı

Çoğu oksidasyon reaksiyonları hidroksil veya hidrojen iyonları ile katalize olmaktadır. Bu kısmen, birçok reaksi-

yonda redoks potansiyelinin pH ya bağımlı olması ile açıklanabilmektedir. Bu özellik zayıf asit sınıfına giren farmasötik bileşikler için geçerlidir (19,21). Oksidasyon potansiyeli, E_0 , Nernst eşitliğinin daha basitleştirilmiş şekli ile verilmektedir (Eşitlik 24) :

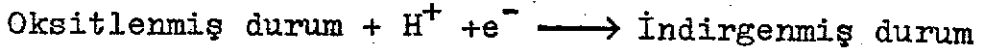
$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{H^+} a_{oks}}{a_{red}} \quad (\text{Eşitlik 24})$$

a_{oks} , a_{red} : oksitlenmiş ve redüklenmiş durumların aktivitesi

n : transfer olan elektriksel ekivalanların sayısı

F : faraday (96.500 coulomb/iyon ekiv.)

Artan H^+ konsantrasyonu ile E artacak, yani düşük pH da sistem daha az oksitleyici olacaktır :



Oksidasyona uğrayan farmasötik bileşikler genellikle redüklenmiş durumda bulunduğundan en az parçalanma pH 3-4 civarında olmaktadır.

I.1.5.2.1.2. Atmosferik oksijen

Atmosferik oksijeni ortamdaki uzaklaştırmak için aşağıdaki yollar izlenir :

I.1.5.2.1.2.1. İnert bir gaz ile değiştirme

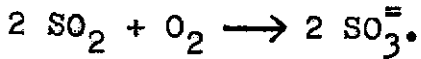
Atmosferik oksijen tek dozluk bir kaptaki inert bir gazla değiştirildikten sonra hermetik olarak kapatılır. Gaz değiştirme işleminden önce çözeltide çözünmüş olan oksijen kaynatılarak uzaklaştırılır. Azot bu amaç için çok sık kullanılmaktadır. Ancak, oksijenden daha az

yoğun olması bir dezavantajdır. Geçimsizlik olmadığı durumlarda karbondioksit kullanılabilir (19).

I.1.5.2.1.2.2. Antioksidanlar

Bu terim, indirgen maddeler ve antioksjenler olmak üzere iki grup maddeyi içermektedir :

a. İndirgen maddeler : Bu tip maddeler tercihen oksitlenmekte ve kendileri tükeninceye kadar ya da kaptaki oksijen uzaklaşınca kadar koruyucu görevi yapmaktadır. En çok pH'nın düşmesi ile sonuçlanan bir asit sülfat oluşturan sodyum meta bisülfid ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) kullanılmaktadır. Reaksiyon aşağıdaki şekilde gösterilir :



Düşük pH'lı çözeltiler enjeksiyon sırasında ağrıya neden olmaktadır. Bazı durumlarda pH düşüşü tampon kullanımını ile kısmen dengelenebilir.

Askorbik asit gibi kuvvetli indirgen maddeler pahalıdır ve sadece özel durumlarda kullanılmaktadır. Redoks değiştirici reçineler sudan oksijenin uzaklaştırılmasında kullanılır. Çünkü, hidrokinonunkine eşit redoks potansiyeline ve % 97 uzaklaştırma sağlayan 3.3 meq g^{-1} oksijen uzaklaştırma kapasitesine sahiptir. Oksitlenmiş şekil sodyum sülfat ile rejenere edilebilir (19).

b. Antioksjenler : Bu terim, serbest radikallerin oluşmasına dayanan otokatalitik oksidasyonda zincir kırıcı olarak davranan maddeler için kullanılır. Bu tip antioksidanlar, hidroperoksit oluşumunu geciktirmekte düşük

konsantrasyonlarda etkilidir ve çok yavaş tükenirler. Gıda maddeleri ve farmasötik bileşikler için düşük toksisiteli molekülde fenolik grup içeren antioksjenler kullanılmaktadır. Propil, oktil ve dodesil gallatlar, butillenmiş hidroksi anisol, butillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılanlardır.

Farmasötik preparatlar için % 0.01 - 0.05 konsantrasyonlar genellikle yeterlidir (19).

I.1.5.3. Rasemizasyon

Optikçe aktif maddeler, levo ve dekstro olmak üzere iki stereokimyasal şekilde bulunmaktadır. Rasemizasyon, optikçe aktif bir maddenin kimyasal bileşimini değışmeden, iki şekli de içeren bir karışıma dönerek optik aktivitesinin kaybolmasıdır. Biyolojik aktivite stereokimyasal şekillerin birinde daha yüksek olduğu için, rasemizasyon aktivite kaybına neden olmaktadır. Örneğın, adrenalının levo şekli, dekstro şeklinden 10 kat daha etkilidir ve rasemizasyon sonucu potansiyeli yarıya düşmektedir.

Rasemizasyon reaksiyonları birinci derece kinetiğe uymaktadır. Değışme hızı genellikle pH ve sıcaklığa bağımlıdır (19,21).

Rasemizasyon, bileşimin asimetrik karbon atomuna bağılı olan, fonksiyonel gruba bağılıdır. Aromatik gruplar rasemizasyonu hızlandırır.

I.1.5.4. Fotoliz

Işık ile olan parçalanma reaksiyonlarının tümü fotolitik reaksiyonlar olarak tanımlanır.

Fotolitik parçalanma genellikle 400 nm'den küçük dalga boylarındaki ışıkta meydana gelir. Planck teorisine göre, dalga boyu küçüldükçe, ışık fotonuna düşen enerji artmaktadır. Buna göre, çözeltide ilacın fotolitik parçalanması, UV' de görünür dalga boyundaki ışıklardan daha hızlı olur (19,27).

Fotolize uğrayan sistemlerde, aynı anda oksidasyon reaksiyonlarını başlatan, serbest radikaller oluşur. Radyasyonu absorblayan moleküllerin kendisi asıl reaksiyonda yer alıyorsa, bu reaksiyona fotokimyasal reaksiyon denir. Eğer radyasyonu absorblayan moleküller direkt reaksiyona girmiyor, fakat enerjilerini diğer moleküllere aktarıyorlarsa absorblayan madde ışığa hassas maddedir (21).

Işığın şiddeti, dalga boyu, kabın şekli ve büyüklüğü reaksiyon hızını önemli ölçüde etkiler.

Molekül tarafından absorblanan ışımının, moleküldeki fotokimyasal reaksiyonların oluşmasında etkili olduğu ilk defa Grotthus (1817) ve Draper (1843) tarafından ileri sürülmüştür. Stark (1908-1912) ve Einstein (1912-1913) ise, ışık ile oluşturulan kimyasal reaksiyonlarda rol alan her molekülün, reaksiyona neden olan ışımının bir kuantumunu absorbladığını söylemişlerdir.

Fotokimyasal reaksiyonlarda iki grup olay incelen-

bilir. Birinci olayda molekülün doğrudan fotonu absorblaması sonucu uyarılmış seviye oluşur. Bu aşamada ya doğrudan kimyasal reaksiyonlar oluşur ya da dissosiyeye olan uyarılmış parçacıklar kendi aralarında reaksiyona girerler. İkinci olayda ise serbest radikaller ve kimyasal ürünler oluşur (21,25,29).

Fotokimyasal reaksiyon, termal bir reaksiyonla birlikte olabilir. Termal reaksiyon, fotokimyasal reaksiyonla aynı ya da tam zıttı veya farklı özellikte olabilir. Fotokimyasal reaksiyon, ölçülebilecek hızla ilerleyen bir termal reaksiyona neden olan bir katalizör ortaya çıkarabilir. Termal bir reaksiyon başladığında, ışık kesildikten sonra da devam eder. Fotokimyasal reaksiyonda mevcut olan enerji, termal reaksiyona göre daha fazladır ve bu durum genellikle reaksiyon özelliğini değiştirir.

Fotolitik reaksiyonların karmaşık olması nedeniyle bu alanda stabilite araştırmaları daha çok kalitatifdir. Son yıllarda kantitatif çalışmalar başlamıştır. Fotolitik reaksiyonlarda 0. derece, 1. derece ve 2. derece reaksiyonlar mümkündür (21,24).

Fotokimyasal reaksiyonların molekülleri aktive etmesi sıcaklığa bağımlı değildir. Ancak, bir molekül radyant enerjiyi absorbladıktan sonra, diğer moleküllerle çarpışabilir ve dolayısıyla sistemin sıcaklığı artabilir. Baştaki fotokimyasal reaksiyon, termal reaksiyonlarla devam edebilir.

Fotokimyasal reaksiyonlarla ilgili çalışmalarda ışığın dalga boyu şiddetinin ve madde tarafından absorblanan fotonların sayısının kesin kontrolü gerekir (29).

Işığın etkisini azaltmak için, maddenin hassas olduğu dalga boyunu, genellikle UV bölgesini ortadan kaldırmak için koruma metodları kullanılmalıdır. Koyu kahverenkli cam kaplar ışığın şiddetini engellemede etkindir ve çeper kalınlığı yeterli derecede fazladır. Açık kahverenkli camdan yapılmış ve ince çeperli ampuller nispeten etkisizdir ve opak kutularda ambalajlanmalıdır.

I.2. Göz çözeltileri

I.2.1. Tanımı

Göz çözeltileri, steril, yabancı partiküller içermeyen göz küresi ile göz kapakları arasındaki boşluğa (=cul de sac) uygulanacak şekilde hazırlanan preparatlardır (30).

Göz çözeltileri damla (guttae) veya banyo (kolir, collyria, losyon) şeklinde kullanılır. Suni göz yaşı çözeltileri ve kontakt lens çözeltileri de göz çözeltileri olarak kabul edilir.

I.2.2. Formülasyonu

Bir göz çözeltilisinin formülasyonunda, bulaşmayı önlemek için tekniğe ve genellikle küçük miktarlarda hazırlandığından, miktarların doğruluğuna özel dikkat gösterilmesi gerekmektedir. Bu temel noktalara ilaveten etken maddeler, izotoni, pH ayarı, koruyucu ve viskozite artırıcı madde ilavesi, stabilite, süzme, sterilite, ambalajlama gibi

faktörler de önemlidir.

I.2.2.1. Etken maddeler

Kullanılan etken maddeler saf olmalı ve istenen koşullarda saklanmalıdır. Kolay çözünen etken maddeler için uygulanan konsantrasyondaki artış, terapötik cevabı artırabilir. Ancak konsantrasyonun artırılması sonucu çözelti hipertonic olabilir. Bu da gözde rahatsızlığa neden olur. Ayrıca etken madde verilen konsantrasyonda doz-cevap eğrisinde platoya ulaşıyorsa konsantrasyonu artırmanın bir anlamı yoktur (30,32).

I.2.2.2. İzotoni ayarı

İzotonik çözelti, biyolojik çeperlere, fizyolojik konsantrasyonlardaki çözeltilerin yaptığı ozmotik basınca eşit basınç yapabilen sulu çözeltilerdir. Lakrimal sıvı ile izotonik ve izoozmotik olan bir göz çözeltisi, ozmozise bağlı olan iritasyon etki engellendiğinden hipotonik ve hipertonic olana göre gözü daha az rahatsız eder. Hipertonik olan bir çözelti göz yaşı salgılanmasını artırarak ilacın korneadan derhal uzaklaşmasına neden olur ve sonuçta göz çözeltilerinden yarar sağlanamaz.

Göz banyolarında büyük hacimde sıvı kullanıldığından izotonik olmaları çok önemlidir. Çünkü göz yaşının seyreltme ile tonisiteyi uygun şekilde ayarlaması mümkün olmaz (32,33).

I.2.2.3. pH ayarı

Normal göz yaşı pH sı 7.4 olarak kabul edilmektedir.

İdeal olarak bir göz çözeltilisi lakrimal sıvı ile aynı izotonik değere sahip olduğu gibi aynı pH ya da sahip olmalıdır. pH ayarlaması ilacın çökmesine ya da bozulmasına neden olmamalıdır.

Bir göz çözeltilisi, göze uygulandığında göz yaşı akımını (lakrimasyonu) stimule eder. Göz yaşı birkaç damla olan göz çözeltilisini derhal tamponlar. Birçok ilacın pH 7.4'te çözünürlük ya da stabilite sorunu bulunduğundan bu problemleri ortadan kaldırmak için çözeltiliyi uygun bir pH ya tamponlamak gerekmektedir. Çözeltiliyi tamponlamanın diğer bir önemi, cam kaptan hidroksil iyonlarının salıverilmesi nedeniyle pH'nın artmasını engellemektir. Diğer bir önemi de oldukça asidik veya bazik çözeltilinin sıklıkla kullanımı sonucu ortaya çıkan ağrıyı kaldırmaktır. Kullanılan tamponun konsantrasyonu oftalmik biyoyararlanım yönünden önemlidir (31).

Göz çözeltileri, hastanın gözünde ağrıyı elimine etmek ya da azaltmak, çözeltilinin stabilitesini sağlamak ve tedavi edici etkiyi artırmak için tamponlanmaktadır. Yüksek pH lı göz çözeltilerinde daha kısa raf ömrü gözlenmiştir (30,32,33).

I.2.2.4. Koruyucu maddeler

Göz kamarasına damlatılacak veya enjekte edilecek (örneğin, göz içi ameliyatlarında) çözeltilerin dışındaki tüm göz çözeltileri koruyucu içermelidir (52),

Göz çözeltilerinde kullanılan ideal bir koruyucu mad-

denin aşağıda verilen özellikleri içermesi gerekmektedir
(30,32,34) :

- a. Geniş spektrumlu, bakteriostatik ve fungostatik olmalıdır,
- b. Toksik ve irritan olmamalıdır,
- c. zeltideki diğer maddelerle kimyasal ve farmakolojik geçimsizliği olmamalı, sistemin pH ve tonisitesini değiştirmemelidir,
- d. Allerjik veya hassaslaştırıcı olmamalıdır,
- e. Kullanım sırasında kontamine olan zeltiyi, bir saatten az bir sürede tekrar sterilize edebilmelidir,
- f. Otoklavlama, saklama ve kullanım sırasında aktivitesini sürdürebilmelidir,
- g. Kimyasal olarak stabil olmalıdır,
- h. Kapla geçimsiz olmamalıdır,
- i. Kullanılan sıvağlarda znebilmelidir,

Ancak henüz ideal bir koruyucu madde bulunmamaktadır (35, 36,37,38,39). Genellikle birden çok koruyucunun kombinasyonu en iyi sonucu vermektedir. Gz zeltileri için 5 tip koruyucu grubu önerilmektedir (34) :

- a. Parabenler,
- b. Organik civa bileşikleri (fenilmerkri nitrat, thiomersal),
- c. Katyonik ıslatıcılar (benzalkonyum klorür, setil piridinyum klorür),
- d. Bazı alkol türevleri (klorbutanol, feniletil alkol),

e. Diğer koruyucular (klorhekzidin, klorokrezol).

I.2.2.5. Viskozite artırıcı maddeler

Oküler ilaç biyoyararlanımı, ilacı yüksek viskoziteli bir vehikülle göze tatbik ederek artırılabilir. Yüksek viskoziteye sahip çözelti ilacın kornea ile temas süresini uzatarak ilacın daha çok absorpsiyonunu sağlamaktadır.

Artan çözelti viskozitesi ile terapötik cevap arttığından bu bir tip uzatılmış aktivite şeklinde düşünülebilmektedir (40). Böyle bir etki özellikle glokom tedavisi gibi uzun süre kullanılan göz çözeltileri için çok önemlidir. Bu amaçla göz çözeltilisinin viskozitesini artırmak için suda çözünebilir, uygun optik berraklığa ve kırılma indisine sahip polimerler kullanılmaktadır.

Göz çözeltilerinde viskozite artırmak amacıyla ilk olarak metilselüloz (MC) 1945'te Swan tarafından kullanılmıştır (41). Suda çözünen bir selüloz eteri olan metilselülözün en yüksek viskoziteye sahip tipi (4000cps) oftalmik amaç için kullanılmıştır. Böylece çok az bir miktarının ilavesiyle optik özellikleri önemli ölçüde değiştirmeden çözeltinin viskozitesini oldukça artırmaktadır. Metilselülöz çözeltileri nötral, kokusuz, tatsız ve kimyasal olarak inerttir, ayrıca gözün tolere edebildiği pH sınırları içinde stabildir. Kaynatma ile koagüle olmasına rağmen, soğutulduğunda tekrar çözüldüğünden, çözeltiler kaynatmayla sterilize edilebilmektedir.

Swan'ın metilselülözü oftalmolojiye tanıtmasından son-

ra metilselülozün oftalmik taşıyıcı olarak etkisini araştırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır (40, 42, 43,44).

Metilselüloz (4000 cps) % 0.5-1 konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Bu konsantrasyon sınırları içinde Newtonian akış gösteren metilselüloz çözeltileri şırıngayla ya da damlalıkla alınabilmektedir. %1 metilselüloz (4000 cps) konsantrasyonun üzerindeki çözeltiler ise tiksotropik ve plastik olmakta ve damlalıkla alınması mümkün olmamaktadır.

Metilselülozdan sonra hidroksipropil metilselüloz (HPMC) denenmiştir (45,46,47). Hidroksipropil metilselüloz % 0.5-1 konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Hazırlama sırasında metilselülozdan daha kolay suda çözünmesine rağmen korneadan penetrasyonu artırma yönünden bir üstünlüğü bulunmamaktadır.

1960'larda polivinil alkol (PVA) tanıtılmış ve metilselülozdan daha üstün korneal temas süresine sahip olduğu bildirilmiştir (48). Metilselülozün aksine subkonjunktival enjekte edildiğinde ya da göz içine verildiğinde polivinil alkol tavşan gözünde irritan değildir. Newtonian akış gösteren polivinil alkol %1.4 konsantrasyonda kullanılmaktadır.

İdeal polimer ve viskoziteyi ve viskozite-retansiyon süresi-biyoyararlanım ilişkisini tayin edebilmek için insanlarda ve hayvanlarda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Çalışmaların çoğu tamamlanmamış ve verilen bulgular birbirine ters düşmektedir. Bunun başlıca nedenlerinden biri araştırmaların tavşan ya da insanlarla yapılması ve bu iki cinsin

oküler anatomi ve fizyolojisinin çok farklı olmasıdır. Özellikle kırpma, drenaj, vehikül viskozitesine verilen cevap yönünden önemli farklılıklar vardır (49). Diğer bir neden bu çalışmalarda sonuçlar viskoziteden çok polimerin konsantrasyonuna dayandırılmaktadır. İki vehikül aynı akış özellikleri gösterdikleri sürece, aynı viskoziteye sahip çözeltilerin gözde aynı drenaj davranışı göstereceği açıktır. Buna göre göz önünde bulundurulması gereken en önemli faktör konsantrasyon değil vehikülün akış özellikleri ve viskozitesidir. Eşit viskozite temelinde, gözde, metilselülozun polivinil alkolden farklı davranış göstermeyeceği sonucuna ulaşılabilmektedir (44,50). İki vehikül karşılaştırılırken drenaj ve biyoyararlanım dışında hastanın kabul edebilirliği, yaranın iyileştirilmesi üzerine etkisi ve farmasötik açıdan uygunluğu gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

Newtonian davranış gösteren metilselüloz, polivinil alkol veya herhangi bir madde kullanıldığında, tavşanlarda optimum viskozite değeri 12-15 cps olarak kabul edilmiştir (50). 15 cps'in üzerinde viskozitenin yüksek olmasına karşın biyoyararlanımda düşüş gözlenmektedir. Viskozitenin çok yüksek olması nedeniyle çözeltilerin damlatılması çok zordur ve bulanık görüntüye neden olmaktadır.

Adler ve arkadaşları ise yüksek viskoziteye sahip çözeltilerin insanlarda kornea ile temas süresini büyük ölçüde uzatmadığını ve biyoyararlanımı önemli olarak artırmadığını

gözlemiştir (51).

I.2.3. Sterilizasyon

Göz çözeltilerinin hazırlanmasında sterilite çok önemlidir. Kontamine olmuş göz çözeltileri ciddi hasarlara neden olabilir. En önemli kontaminant olan *Pseudomonas aeruginosa*, distile su dahil birçok ortamda hemen üreyen bir gram negatif basildir. Bu organizma göz çözeltisinde mevcutsa, aşınmış olan korneayı sarar, ülserleşmeye ve kalıcı körlüğe neden olabilir. *Proteus*, *Bacillus subtilis* gibi diğer organizmalar da göz çözeltilerini kontamine eder. Ayrıca virüsler de göz çözeltilerini kontamine eder ve birçok hastalıklara neden olur. Virüs kontaminasyonun kontrolü çok zordur, çünkü virüsleri öldürebilen bir koruyucu mevcut değildir (30,32).

En çok kullanılan sterilizasyon yöntemleri basınç altında su buharı sterilizasyonu ve bakteri geçirmeyen filtreden süzmedir (30,32) :

- a. Basınç altında su buharı sterilizasyonu - Bu yöntemde uygulanan 121°C 'deki doymuş su buharı, ısıya dayanıklı bakteri sporlarının tümünü öldürür. Basınç altında su buharı sterilizasyonu için kullanılan alet otoklavdır. Bu yöntem ısıdan bozunmayan maddeleri içeren çözeltilerin sterilizasyonunda kullanılabilir. Bu yöntemin üstünlüğü, göz çözeltisinin en son koyulduğu kapla birlikte sterilize edilebilmesidir.
- b. Bakteri geçirmeyen filtreden süzme - Çözeltiler,

bakteri geçirmeyen filtrelerden geçirilerek, vejetatif organizmalar ve bakteri sporlarından kurtarılabilir. Bu sterilizasyon yöntemi aseptik teknik gerektirmektedir. Bir önceki yöntemden üstünlüğü oda sıcaklığında yapılabilmesi ve ısı ile ilacın parçalanmasına neden olmaması ya da hızlandırmamasıdır. Ancak, virüsleri yok edemez ve uzaklaştırılmaz. USP XX, mümkün olduğu sürece aseptik şartlarda steril zar ile süzme yönteminin göz çözeltileri için tercih edilecek yöntem olduğunu bildirmiştir ve bazı ilaçları fizyolojik pH ya yakın değerlerde tamponlamanın, bu ilaçları yüksek sıcaklıklarda oldukça dayanıksız yaptığını da belirtmektedir. Ancak, bu yöntemde, süzüldükten sonra çözeltinin kaplara aktarılması sırasında sistemde kontaminasyon olasılığı bulunmaktadır.

I.2.4. Ambalajlama

Göz çözeltileri tek dozluk veya çok dozluk kaplara koyulmaktadır. Kaza ile ya da ameliyat ile travmatize olmuş gözler için tek dozluk çözeltiler kullanılmaktadır. Göz çözeltisi hasta tarafından belli bir süre kullanılacak ve göz yüzeyi de sağlam ise çok dozluk kaplarda ambalajlanabilir.

Göz banyoları 120 ml hacimdeki kaplara koyulmaktadır. Göz banyosu kabı da ambalaja dahil edilmelidir. Göz damlaları ise hacimleri 4-60 ml olan çok dozluk kaplara koyul-

maktadır. Bu amaçla renkli cam kaplar ya da stabilite problemi yoksa alçak dansiteli polietilenden yapılan kaplar kullanılmaktadır. Kapak damlalık taşıyor ise damlalık nötr camdan ve puvarı da doğal veya sentetik kauçuktan olmalıdır. Kapaklar ise fenolik yapıdaki plastik bir maddeden olmalıdır. Damlatma takımı kapaktan ayrı ise steril olarak ambalajlanmalıdır. Kauçuk puvarlar benzalkonyum klorür ile geçimliliği denenmeden kullanılmamalıdır. Şişe, damlalıklı kapak şeklinde ise ve damlalığın kapağı silikon kauçuğundan yapılmış ise üç aydan fazla dayanmaz ve kullanılamaz. Silikon kauçuğu su buharına karşı geçirgen olup, çözeltilerden su kaybına neden olur. Kapalarda kullanılan cam, çözelti pH sınırını değiştirecek alkaliliğe sahip olmamalıdır. (30,32,33).

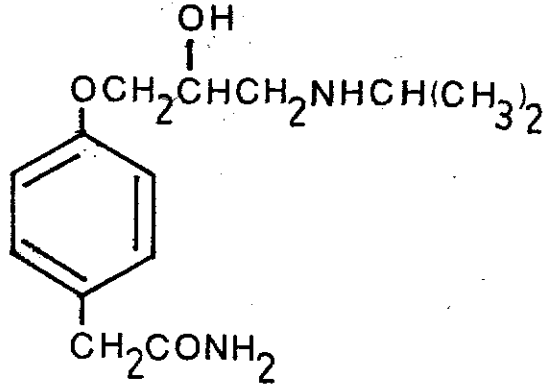
I.3. Atenolol

I.3.1. Yapısı ve fizikokimyasal özellikleri

Atenolol, molekül ağırlığı 266.3, erime noktası Merck İndeks'te (53) 146 - 148°C, maddenin patentine sahip ICI Firmasının verdiği bilgiye göre 151 - 154°C olan kokusuz, beyaz bir tozdur. pK_a sı 9.45' tir (54,55,56).

Su, dilue asitler, etanol, metanol, kloroform ve izopropanolde çözünür. Lipofobik özelliktedir. Dağılım katsayısı n-oktanol/pH 7 tamponunda, 20°C ve 37°C de sırasıyla 0.003 ve 0.008' dir. n-oktanol/pH 7.4 tamponunda 37°C de ise 0.15 'tir (57). Oktanol/su'daki partisyon katsayısı 0.17 dir (55).

4-(2 hidroksi-3-izopropil aminopropoksi) fenil asetamid yapısında olan atenololun açık formülü Şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 2. Atenololun Açık Formülü

I.3.2. Miktar tayini

Atenololun plazma ve idrarda tayini için, fluorimetrik ve gaz kromatografisi yöntemleri verilmiştir. Spektrofluorimetrik yöntemde (58) atenolol, idrar ve plazmada ortam sodyum hidroksit ile alkalileştirildikten sonra etil asetatla ekstre edilmekte ve fluoresans, sodyum dihidrojen ortofosfat içeren çözeltiyle ikinci bir ekstraksiyon yapıldıktan sonra ölçülmektedir. Teknik açıdan basit olan bu yöntemin hassasiyet limitinin yüksek olması (50 ng/ml=0.05 µg/ml) dezavantajdır. Ayrıca ortamda atenololun metabolitleri mevcutsa ölçülen fluoresansa bunlar da dahil olmaktadır.

Spektrofluorometrik yöntemin kesin ve hassas olmamasına karşın, atenolol için verilen gaz kromatografisi yöntemleri kesin ve hassastır (59,60,61). Bu metodlarda hassasiyet

limiti 10 - 20 ng/ml (0.01 - 0.02 µg/ml) dir. Terapötik dozun verilmesinden sonra yeteri kadar uzun bir sürede plazma seviyelerinin ölçülebilmesi sadece bu yöntemlerle mümkün olmasına rağmen, tayin için atenololun heptafluorobutirik asit anhidr ile türevinin hazırlanmasınınin gerekli olması dezavantajdır.

Diğer bir yöntemde ise, atenololun plazmadan elde edilen ekstratından ve idrardan ince tabaka ile ayrımı yapıldıktan sonra doğrudan fluoresansı saptanmıştır (62). Bu metotta hassasiyet limiti plazmada 5 ng/ml (0.005 µg/ml), idrarda 500 ng/ml (0.5 µg/ml) dir. Ayrıca atenololun yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kantitatif tayin yöntemi de bulunmaktadır.

1.3.3. Stabilitesi

Literatürde, atenololun stabilitesi ile ilgili özel bir çalışma bulunamamıştır. Biyolojik sıvılarda tayini ile ilgili bir çalışmada, atenololun absöü etanoldeki stok çözeltisi (1.0 mg/ml) 5°C de saklandığında ve ışıktan korunduğunda aylarca stabil olduğundan bahsedilmiştir. Ayrıca atenolol içeren (0.05 ve 0.2 µg/ml) plazma ve idrar numuneleri -10°C de saklandıklarında en az bir ay konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik olmadan stabil kalmıştır (60). İnce tabaka kromatografisinden fluorometrik tayin yapılan bir çalışmada (62), düşük konsantrasyonlarda atenololun geri kazanılmasının düşük olmasının nedeni, maddenin ışığa hassas olmasına dayandırılmıştır.

I.3.4. Farmakolojisi

Atenolol, intrinsik sempatomimetik aktivitesi (ISA) ve membran stabilize edici etkisi olmayan bir beta reseptör blokeridir. İntrinsik sempatomimetik aktivite, beta reseptör blokerinin kısmen antagonist olması, yani beta reseptörlerinin bazılarını bloke ederken, diğerlerini aktive etmesi olarak tanımlanabilir. Membran stabilize edici aktivite ise beta reseptör blokerinin lokal anestetik etki ya da kinidin benzeri etki göstermesidir. Yani hücre membranında depolarizasyon önlenmektedir.

Atenolol beta-1 reseptör blokeri olması nedeniyle kardiyoselektiftir (63). Bu nedenle kronik obstrüktif akciğer hastalığı, astması, periferik damar hastalığı olan ya da insulin gerektiren diyabetli hastalarda tercih edilmektedir. Ancak, seçiciliğin rölatif olması nedeniyle kardiyoselektif bir ilacın yukarıda sayılan hastalık durumlarında güvenilir oluşu mutlak değildir (64).

Atenolol, klinikte günde bir defa 100 mg lık dozda hipertansiyon ve angina pectoris tedavisinde kullanılır.

Hidrofilik olması nedeniyle karaciğerden ilk geçişte önemsiz derecede metabolize olur ve bu hidrofilik özelliği nedeniyle santral sinir sistemine kolay ulaşamadığı için, santral sinir sistemi kaynaklı yan etkiler en düşük düzeydedir.

Beta-blokerlerin göz-içi basıncını düşürdüğü ilk olarak 1967 'de Philips ve arkadaşları tarafından propranolol kulla-

nılarak gösterilmiştir (2). Daha sonra birçok beta-bloker denenmiş, ancak yan etkileri minimum olan timololun klinikte kullanımına geçilmiştir (6,7,8,9,10,11).

Atenololun de oral olarak glokomlu hastalara (65,66,67,68,69) ve sağlıklı gönüllülere (70,71) verildiğinde göz-içi basıncını düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca glokomlu hastalara (17,72,73,74) ve sağlıklı gönüllülere (75) topikal uygulandığında da göz içi basıncını düşürdüğü görülmüştür.

Atenolol oral olarak 50 mg , 100 mg gibi farklı dozlar da denenmiştir. Stenkula ve Wettrell,oral atenololun göz-içi basıncını doza bağlı olarak düşürdüğünü göstermişlerdir. Denenen dozlar oral olarak verildikten 2 - 5 saat içinde göz-içi basıncındaki düşme en üst düzeyde olmaktadır. 10 hasta ile yapılan bu çalışmada iki hastada hemodinamik etkiye bağlı yan etkiler bildirilmiştir (69).

Atenolol % 1, % 2 ve % 4 konsantrasyonlarda topikal denenmiştir. 2 - 3 saat sonra göz-içi basıncında düşme en üst düzeyde bulunmuştur. 7. saatten sonra ise etki kaybolmaktadır. Wettrell ve Pandolfi (72), topik uygulamada etkinin konsantrasyona çok az bağımlı olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarını hem tek dozlu,hem de çok dozlu sürdüren araştırmacılar, çok dozlu çalışmalarının sonunda ilaca karşı bir taşiflaksi eğilimi gözlemişlerdir.

Glokom tedavisinde hem oral,hem topikal kullanılan beta adrenerjik reseptör blokerlerinin etki mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır (76,77,78). Önceleri etkinin

ilaçların bloke edici özelliklerine ilaveten ya da farklı olarak membran stabilize edici etkiden veya intrinsik sempatomimetik aktiviteden geldiği sanılıyordu. Ancak intrinsik sempatomimetik aktivite ve membran stabilize edici etkiye sahip olmayan bir beta-bloker olan atenololun (1) ve beta-2 reseptör stimülatörü olan salbutamolun (15) de gözü içi basıncını düşürdüğüünün gösterilmesiyle yukarıda belirtilen varsayımlar ortadan kalkmıştır.

II. DENEYSEL

II.1. Araç ve gereç

II.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Sitrik asit. H_2O	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Amonyak	Merck
Dietilamin	Merck
Etil asetat	J.T.Baker
Butanol	Riedel
Siklohekzan	Merck
Metanol	Merck
Trietilamin	Merck
Tetrahidrofuran	Merck
Kloroform	Merck
Etanol	Tekel
Dioksan	Merck
Ninhidrin	Merck
Hidroksilamin hidroklorür	Merck
Demir(III)klorür	Merck
Hidrojen peroksit	Atabay
Nitrik asit	Merck
Sülfürik asit	Merck
Formaldehit	Merck
Sodyum nitroprussid	Merck
Asetaldehit	Merck
Bromkrezol yeşili	Merck
Bromfenol mavisi	Merck

Potasyum permanganat	Merck
İyot	Merck
Vanilin	Merck
Amonyum metavanadat	Merck
Hidroklorik asit	Merck
Silikajel HF ₂₅₄ (Typ 60) (ITK için)	Merck
Silikajel 60 (0.063-0.200mm) (kolon kromatografisi için)	Merck
Polivinil alkol	J.T.Baker
Metilselüloz 4000	Seppic
Hidroksipropilmetilselüloz	Seppic
Thiomersal	Sigma
Benzalkonyum klorür	Haver
Potasyum dihidrojen fosfat	Riedel
Sodyum hidrojen fosfat	Merck
Sephadex LH-20	BDH

II.1.2. Kullanılan aletler

UV spektrofotometresi	Bausch and Lomb Hitachi 220
IR spektrofotometresi	Perkins-Elmer
Spektrofotometre küveti	Fischer QS 1.00
NMR spektrofotometresi	Bruker - Spektro- spin H-6548
Kütle spektrofotometresi	Varian 12Mass
Densitometre	Vitatron
Osmometre	Halmikro osmo- metre

Viskometre	Ubbelohde
	(k = 0.05)
pH metre	Emaf- EM 78X
Erime noktası tayin aleti	Thomas-Hoover
Ultrasonik karıştırıcı	Bransonie 220
Rotavapor - R	Buchi
Magnetik karıştırıcı	Heidolph
Hassas terazi	Mettler
Santrifüj	Hettich Eba III
Termostat	Braun
Etüv	Elektromag,
	Kotterman
Hamilton enjektör (10 µl)	Unimetrics
UV lambası	Camag
Kromatografi tankı	Camag
Plak çekme aleti	Shandon
Piknometre	İldam
Kronometre	Park

II.2. Yöntem ve deneyler

Bu bölümde, araştırmamızda kullanılan yöntem ve yapılan deneyler, atenolol ile ilgili çalışmalar, bozunma ürünü ile ilgili çalışmalar ve ön formülasyon çalışmaları olmak üzere üç grup altında verilmektedir.

II.2.1 Atenolol ile ilgili çalışmalar

Bu kısımda atenololün bilinen özellikleri incelenmiş ve bilinmeyen özellikleri araştırılmıştır.

II.2.1.1. Safılık tayini

II.2.1.1.1. UV analizi

Atenololün UV spektrumu 200 - 500 nm arasında taranmış, 300 nm nin üzerinde bir absorbans görülmediğinden, spektrum 200 - 300 nm arasında alınmıştır. Su, metanol, 0.1 N hidroklorik asit ve farklı pH lardaki Sørensen sodyum sitrat tamponlarındaki spektrumları alınmıştır.

II.2.1.1.2. IR analizi

Atenololün IR spektrumu % 1 (a/a) potasyum bromür dispersiyonu ile hazırlanan tabletinden 4000 - 400 cm^{-1} arasında alınmıştır.

II.2.1.1.3. NMR analizi

Atenololün NMR spektrumu İsviçre ETH - Organik Kimya bölümünde 300 MHz gücünde olan Bruker - Spectrospin - NMR spektrofotometresi ile alınmıştır.

II.2.1.1.4. Kütle analizi

Atenololun kütle spektrumu Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan kütle spektrofotometresinde çekilmiştir.

II.2.1.1.5. İnce tabaka kromatografisi (İTK)

25 g silikajel HF_{254} , 60 ml su ile süspansiyon haline getirildikten sonra 250 μm kalınlığında plaklar çekilmiş ve 120°C de bir saat kurutulmuştur. Plaklar her kullanımdan önce 120°C de aktive edilmiştir. Tablo 1 ' de verilen solvan sistemleri denenmiştir. Plaklara atenololun % 2 (a/h) lik çözeltisinden 10 μl tatbik edilmiş ve solvan sistemiyle 2 saat doyurulmuş olan tanklarda sürüklenmeye bırakılmıştır. Plaklar tanktan çıkarıldıktan sonra kurutulmuş ve R_f değerleri UV lambası altında 254 nm de gözlenen lekelerden saptanmıştır. Atenolole ait lekeyi belirlemek amacıyla Tablo 2 ' de verilen reaktifler denenmiştir. Reaktiflerin duyarlılık sınırları saptanmıştır. Bunun için % 2 atenolol çözeltisinden Hamilton enjektör ile 1 den 10 μl ' ye kadar plağa tatbik edilmiş, sürüklenmeden önce ve sonra reaktifler püskürtülmüş ve duyarlı oldukları sınırlar gözlenmiştir. Çalışmalar ışıktan korunarak ve oda sıcaklığında yürütülmüştür.

II.2.1.1.6. Erime noktası tayini

Bir miktar atenolol kılcal bir tüp içine yerleştirilmiş ve Thomas-Hoover erime noktası tayin aletinde erime noktası saptanmıştır.

Table 1. Atenololun İnce Tabaka Kromatografisi için
Denenen Solvan Sistemleri

	Solvan Sistemleri
1	Etil asetat-amonyak-metanol-dietilamin (80:10:10:5)
2	Etil asetat-amonyak-metanol (80:10:10) (79)
3	Butanol-sikloheksan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5)
4	Metanol-amonyak (100:1)
5	Etil asetat-trietilamin (80:10)
6	Etil asetat-trietilamin-metanol (80:10:10)
7	Dioksan-amonyak-metanol (54-6:10)
8	Dioksan-trietilamin-metanol (54:6:10)
9	Dioksan-trietilamin (54:6)
10	Dioksan-amonyak (54:6)
11	Tetrahidrofuran-amonyak (80:10)
12	Kloroform-metanol (80:10)

Tablo 2. Atenololun İnce Tabaka Kromatografisinde
Belirlenmesi için Denenen Reaktifler

	Reaktifler (80,81)
1	% 0.1(a/h)ninhidrinin etanolik çözeltisi
2	Hidroksilamin hidroklorür-demir(III)klorür
3	% 0.3 hidrojen peroksit
4	Nitrik asit
5	Formaldehit-sülfürik asit
6	Demir(III)klorür
7	Million reaktifi
8	Sodyum nitroprussid-asetaldehit
9	Bromkrezol yeşili-bromfenol mavisi-potasyum perman- ganat
10	Konsantre sülfürik asit
11	İyot
12	Vanilin-sülfürik asit
13	Amonyum metavanadat-konsantre sülfürik asit

II.2.1.2. Miktar tayini

Miktar tayini spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Absorbansın direkt olarak çözeltilerden okunduğu spektrofotometrik yöntemin basit ve hızlı olmasına karşın, bozunma ürünlerinin de aynı dalga boylarında λ_{max} göstermeleri nedeniyle kısıtlı olmaktadır. Bu nedenle atenolol ince tabakadan kazınarak alınmış ve adsorbandan elue edildikten sonra spektrofotometrik tayini yapılmıştır. Bunun için kullanmadan önce 120°C derecede yarım saat aktive edilmiş 250 μ m kalınlığında silikajel HF₂₅₄ ile kaplı plaklar kullanılmıştır. Solvan sistemi olarak etil asetat-amonyak-metanol-di-etilamin (80:10:10:5) kullanılmış ve tank bu solvan sistemi ile 2 saat doyurulmuştur.

Atenololun çözeltilerinden 7 μ l tatbik edilmiş ve yukarıda verilen solvan sistemiyle yarım saat sürüklenmiştir. Plak tanktan çıkarıldıktan sonra leke UV lambasında 254 nm de saptanmıştır. Leke tam ortaya gelecek şekilde 1.5 cm² lik adsorban tabakası mümkün olduğu kadar kısa bir sürede kazınıp, 5 ml lik bir balonjojeye aktarılmış ve metanol ile tamamlama yapılmıştır. Karışım ultrasonik karıştırıcıda 5 dakika karıştırıldıktan sonra santrifüj tüpüne aktarılıp 5000 rpm' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak kısım pipet yardımı ile alınıp, 276 nm 'de UV spektrofotometresinde tayin yapılmıştır. Referans olarak madde içermeyen adsorban ile yukarıdaki işlemlerin takip edilmesiyle elde edilen metanol çözeltileri kullanılmıştır. Ölçümler λ_{max} olan 276 nm 'de yapılmıştır. Tüm işlemler ışıktan korunarak yapılmıştır.

II.2.1.2.1. Standart eğri

Doğrudan doğruya çözeltilerden ya da ince tabakadan elue ettikten sonra spektrofotometrik yöntemle yapılan miktar tayinleri için 2 standart eğri elde edilmiştir.

II.2.1.2.1.1. İnce tabakadan elue ettikten sonra yapılan tayin için standart eğri

Atenololun pH 5.5 tamponunda % 3, 2.5, 2, 1.5 ve 0.5 lik (a/h) çözeltileri hazırlanmıştır. Standart eğri Bölüm II.2.1.2.1. de anlatılan işlemler takip edilerek çizilmiştir. Konsantrasyonlar $\mu\text{g/ml}$ ' ye çevrilerek kullanılmıştır. Standart eğride her nokta 10 ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir.

II.2.1.2.1.2. Doğrudan doğruya çözeltilerden yapılan spektrofotometrik tayin için standart eğri

Standart eğriyi çizmek için atenololun 50×10^{-4} M lik pH 5.5 tamponundaki çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden dilüsyon ile 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 3×10^{-4} , 4×10^{-4} , 5×10^{-4} , 6×10^{-4} , 7×10^{-4} , 8×10^{-4} ve 9×10^{-4} M lik çözeltiler hazırlanmış ve absorbanları UV spektrofotometresinde okunmuştur. Standart eğride her nokta 7 ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir.

II.2.1.3. Stabilitesi

Atenololun stabilitesi üzerine pH, ışık, oksijen ve sıcaklığın etkisi incelenirken ince tabaka kromatografisi ile yapılan çalışmalarda, Tablo 1 ' de verilen solvan sistemleri içinden Solvan 1 [etil asetat-amonyak-metanol-die-

tilamin (80:10:10:5)], Solvan 4 [metanol-amonyak (100:1)] kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi Bölüm II.2.1.1.5. ' te verilen özelliklere uyularak yapılmıştır.

Tüm deneyler ışıktan korunarak yapılmıştır. Bunun için kullanılan malzeme alüminyum varakla kaplanmış ve karanlık odada çalışılmıştır.

II.2.1.3.1. Oksijen etkisi

Oksijenin stabilite üzerine etkisini incelemek amacıyla % 4 (a/h) konsantrasyonda pH 6 'da atenolol çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti ışıktan korunmuş, içinden bir gün boyunca devamlı saf oksijen gazı geçirilmiştir. Çözeltideki atenololun durumu ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir.

II.2.1.3.2. Işık etkisi

% 4 (a/h) konsantrasyonda ve pH sı 6 olan atenolol çözeltisi UV lambası altına bırakılmış ve 10 gün süre ile çözeltideki değişiklikler ince tabaka kromatografisi ile tayin edilmiştir. Ayrıca bu sürede ince tabaka kromatografisi ile ayrılan atenolol kazınarak alındıktan sonra, miktar tayini yapılmıştır.

II.2.1.3.3. Sıcaklık etkisi

Sıcaklığın farklı pH larda atenolol çözeltisine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, 30°, 50°, 70° ve 90° C derece sıcaklıklarda oksijen ve ışık etkisinden koruyarak hızlandırılmış stabilite çalışması yapılmıştır.

% 2 (a/h) konsantrasyonda farklı pH da çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltiler hazırlandıktan sonra bal renkli 2 ml lik ampullere doldurularak içlerinden azot gazı geçirilmiş ve kapatılmıştır. Hızlandırılmış stabilite çalışmaları için hazırlanan ampuller belirli süreler sonunda açılmış ve içindeki çözeltinin absorbansı okunmuştur. Ayrıca çözeltilerde değişiklik olup olmadığı ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir.

II.2.1.3.4. pH ve ışık etkisi

pH nin atenololun stabilitesi üzerine etkisini incelemek amacıyla 4,5,7,10 olmak üzere 4 ayrı pH seçilmiştir. Bir göz çözeltisi formulasyonunun hazırlanması tasarlandığı için pH ayarlanmasında göz çözeltilerinde kullanılabilen Sørensen sodyum sitrat tamponu tercih edilmiştir (32). 3 ay süreyle farklı pH lardaki çözeltiler oda sıcaklığında, ışıkta, ışıktan korunarak bekletilmiştir. Çözeltilerdeki değişiklikler ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir. Ayrıca, göz çözeltisinde kullanılacağı pH da (pH 6) atenololun stabilitesini de incelemek için % 4 (a/h) çözeltisi hazırlanmış ve oda sıcaklığında, ışıkta ve ışıktan korunarak 1 ay süreyle ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir.

II.2.1.3.5. Oksijen ve ışık etkisi

Göz çözeltisinde kullanılacağı pH da atenololun stabilitesine oksijen ve ışığın etkisini incelemek amacıyla atenololun pH 6, % 4 lük (a/h) Sørensen sodyum sitrat tamponundaki çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti

Tablo 4 ' te verildiği Şekilde dörde ayrılmıŐ ve 3 ay oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltideki değişiklikler ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir.

Tablo 4. IŞık ve Oksijenin Stabiliteye Etkisini İncelemek Amacıyla Hazırlanan Atenololun pH 6 Sørensen Sodyum Sitrat Tamponundaki % 4(a/h) Çözeltileri

ÇÖZELTİ I	IŞIKTAN KORUNMUŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMİŞ
ÇÖZELTİ II	IŞIKTAN KORUNMUŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMEMİŞ
ÇÖZELTİ III	IŞIKTAN KORUNMAMIŐ, AZOT GAZI GEÇİRİLMİŞ
ÇÖZELTİ IV	IŞIKTAN KORUNMAMIŐ, AZOT GAZI GEÇİRİLMEMİŞ

II.2.2. Bozunma ürünü ile ilgili çalışmalar

II.2.2.1. Bozunma ürünlerinin oluşturulması

IŞığa hassas olan atenolol iŐık etkisiyle ve oksijenin katalizi ile çok sayıda bozunma ürününe ayrılmaktadır. Bu bozunma ürünlerinden en çabuk ve en fazla miktarda olanı izolasyon ve yapı aydınlatılması için seđilmiŐtir. Atenololun pH 6 da % 4 (a/h) lük çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti bir petri kutusuna aktarılıp, UV lambası altına ağzı açık bir Şekilde yerleŐtirilmiŐtir. Yaklaşık 1.5 günde atenolol bozunma ürünlerine ayrılmıŐ ve bozunma ürünlerinin oluŐması ince tabaka kromatografisi ile saptanmıştır.

II.2.2.2. İzolasyonu ve saflaştırılması

Bölüm II.2.2.1. de anlatılan çözelti uğurulduktan sonra

metanol ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Atenolol ve bozunma ürünleri metanolde çözündüğünden, metanolde çözünmeyen tampon maddeleri süzülerek uzaklaştırılmıştır. Yapısı aydınlatılacak olan bozunma ürünü, kolon kromatografisi ve ardından ince tabaka kromatografisi yardımı ile izole edilmiştir.

II.2.2.2.1. Kolon kromatografisi

Kolon kromatografisi için, silikajel kolon ve butanol-sikloheksan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5) solvan sistemi kullanılmıştır. Bu kolona ait özellikler Tablo 5 te verilmiştir. Silikajel kolon ile kloroform-metanol (100:1) sistemi de denenmiş, ancak uygun bulunmamıştır. Ayrıca, Sephadex LH-20 ile hazırlanan kolonda metanol solvan olarak kullanılmış ancak tam bir elusyon olmadığı için bırakılmıştır.

Tablo 5. Kolon Kromatografisine Ait Özellikler

Adsorban	Silikajel 60 (0.063 - 0.200 mm)
Solvan sistemi	Butanol-sikloheksan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5)
Fraksiyon miktarı	10 ml
Kolon boyutları	50x2.5 cm
Elusyon hızı	0.5 ml/dak
Materyal	Atenolol ve bozunma ürünlerinin karışımı

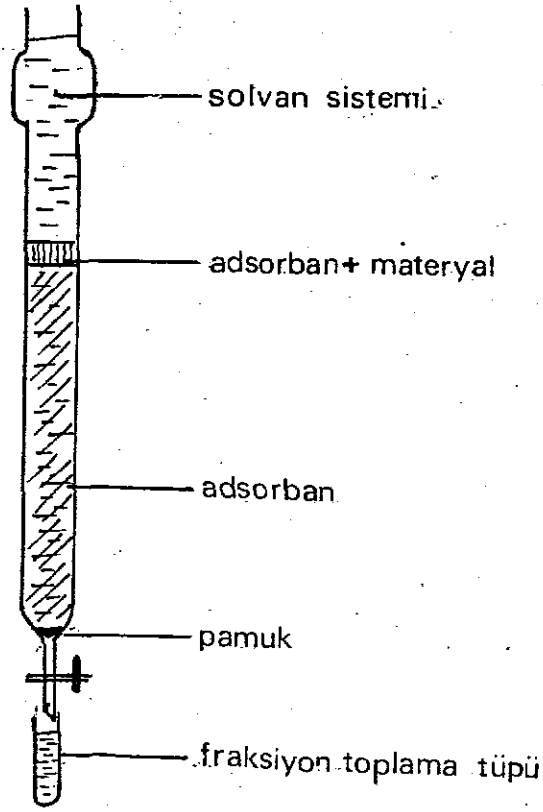
II.2.2.2.1.1. Kolon hazırlanması

60 g silikajel 60 (0.063 - 0.200 mm), butanol-siklohekzan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5) solvan sistemiyle süspande edilerek, dibine pamuk yerleştirilmiş kolona aktarılmış ve homojen bir şekilde yerleşmesi sağlanmıştır. Bölüm II.2.2.2. de elde edilen atenolol ve bozunma ürünlerini içeren metanollü çözeltiye 5 g adsorban ilave edilmiş ve düşük basınçta kuruluğa kadar uçurulmuştur.

Az miktarda solvan sistemiyle kolona tatbik edilmiş ve bu solvan sistemiyle elusyona başlanmıştır. Yapısı aydınlatılacak olan bozunma ürünü kolonda en önce ilerlemektedir. Fraksiyonlar silikajel HF₂₅₄ ile kaplı plaklarda, etil asetat-metanol-amonyak-dietilamin (80:10:10:5) solvan sisteminde, kromatografik olarak kontrol edilmiştir. Bozunma ürününü içeren fraksiyonlar birleştirilerek düşük basınçta yoğunlaştırılmış ve vakumlu etüvde kurutulmuştur. Tüm işlemler ışıktan korunarak yapılmıştır. Kolonda çalışma şematik olarak Şekil 3 ' te verilmiştir.

II.2.2.2.2. Preparatif yöntem

Bölüm II.2.2.2.1. de kolon kromatografisinden elue edilen madde tamamen saf olarak elde edilmediğinden, madde kloroformda tekrar çözülmüş ve plağa preparatif tatbik edilmiştir. Bant şeklindeki leke UV lambasında 254 nm de saptandıktan sonra, plaktan kazınarak alınmıştır. Madde kloroformla ekstre edilmiş ve cam filtreden süzülmüştür. Kloroform düşük basınçta uçurulmuştur. Bu yöntemde 600 µm kalınlığında silikajel HF₂₅₄ plaklar ve etil asetat-metanol-amonyak-



Şekil 3. Kolonun Şematik Görünüşü

dietilamin (80:10:10:5) solvan sistemi kullanılmıştır. Tüm işlemler ışıktan korunarak yapılmıştır.

II.2.2.3. Yapısının aydınlatılması

Bölüm II.2.2. de anlatılan şekilde elde edilen bozunma ürününün yapısının aydınlatılması için, aşağıdaki analizler yapılmıştır.

II.2.2.3.1. UV analizi

İzole edilen maddenin metanoldeki % 0.001 lik konsant-rasyondaki çözeltisinin UV spektrumu 200-500 nm arasında ta-ranmıştır. 310 nm nin üzerinde bir absorbands görülmediği için 200-310 nm arasında spektrumu alınmıştır.

II.2.2.3.2. IR analizi

İzole edilen maddenin IR spektrumu % 1(a/a)potasyum bromür dispersiyonu ile hazırlanan tabletinden 4000 - 400 cm^{-1} arasında alınmıştır.

II.2.2.3.3. NMR analizi

İzole edilen 2 mg maddenin NMR spektrumu İsviçre ETH-Organik Kimya Bölümünde 300 MHz gücünde olan Bruker-Spectrospin-NMR spektrofotometresiyle alınmıştır.

II.2.2.3.4. Kütle analizi

İzole edilen 3 mg maddenin kütle spektrumu Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde bulunan Kütle spektrofotometresinde alınmıştır.

II.2.2.3.5. İnce tabaka kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi için etil asetat-amonyak-metanol-dietilamin (80:10:10:5) solvan sistemi kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi bölüm II.2.1.1.5. te verilen özelliklere uyularak yapılmıştır.

II.2.3. Ön formülasyon çalışmaları

II.2.3.1. Formülasyona giren maddeler ve kullanıldıkları oranlar

Bu bölümde göz çözeltisi formülasyonunda en uygun olarak bulunan maddeler ve oranları verilmiştir.

II.2.3.1.1. Etken madde

Etken madde konsantrasyonu % 4 (a/h) olarak seçilmiştir.

II.2.3.1.2. İzotoni ayarı

% 4 (a/h) atenolol çözeltisinin tonisitesi hakkında bilgi edinmek amacıyla osmolalitesi osmometrede ölçülmüştür. Atenolol çözeltisinin osmolalitesi, kanınkinden yüksek bulunmuş ve bu nedenle izotoni ayarı gerekmemiştir.

II.2.3.1.3. pH ayarı

Formülasyonun pH sı, çözünürlük nedeniyle 6 olarak seçilmiş ve pH ayarı Sørensen sodyum sitrat tamponu ile yapılmıştır.

II.2.3.1.4. Koruyucu maddeler

Formülasyonda, koruyucu madde olarak % 0.02 oranında benzalkonyum klorür ve % 0.002 oranında thiomersal denenmiştir.

II.2.3.1.5. Viskozite artırıcı maddeler

Göz çözeltileri viskozitesinin 12 - 15 cps arası olması istendiğinden (50), bu amaçla formülasyonda viskozite artırıcı madde olarak metilselüloz, hidroksipropil metilselüloz ve polivinilalkol denenmiştir. Bu maddelerin, formülasyonun viskozitesini 12 - 15 cps civarına getirecek konsantrasyonları denenerak bulunmuştur. (22°C de).

Viskoziteler kapiler numarası la ve k sabiti 0.05120 olan Ubbelohde viskometrede ölçülmüştür. Ancak Ubbelohde viskometrede ölçülen viskozite kinematik viskozitedir ve birimi centistokes (cst) tur. Kinematik viskoziteyi hesaplamak için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$\sqrt{v} = k (t - v)$$

\sqrt{v} : kinematik viskozite

k : sabit

t : viskometrede çözeltinin başlangıç çizgisinden bitiş çizgisine kadar aktığı süre (= efflux time)

v : düzeltme faktörü

Hesaplanan kinematik viskozite değeri çözeltinin yoğunluğu ile çarpılarak absolü viskozite hesaplanmıştır :

$$\text{Kinematik viskozite (cps)} \times \text{yoğunluk} = \text{absolü viskozite (cst)}$$

Absolü viskoziteye geçiş yapabilmek için çözeltilerin yoğunlukları da ölçülmüştür. Bu amaçla 10 ml lik piknometreler kullanılmıştır. Önce piknometrenin darası alınmış ve daha sonra piknometre su ile ve polimer çözeltisi ile doldurulup tartılmıştır. Yoğunluk aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır :

$$\text{yoğunluk } (\rho) = \frac{\text{çözelti ile dolu piknometre ağırlığı} - \text{boş piknometre ağırlığı}}{\text{su ile dolu piknometre ağırlığı} - \text{boş piknometre ağırlığı}}$$

II.2.3.2. Sterilizasyon

Hazırlanan % 4 (a/h) atenolol çözeltileri otoklavda 115°C de, 1 atmosfer basınçta yarım saat süreyle sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası çözeltide herhangi bir değişiklik olup olmadığı renk kontrolü ile ve ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilmiştir.

II.2.3.3. Stabilitesi

Ön formülasyon yapıldıktan sonra viskozite artırıcı, koruyucu ve tamponlayıcı maddelerin ilavesi halinde atenolol çözeltilerinin stabilitesinin araştırılmasına geçilmiştir. % 4 (a/h) konsantrasyonda ve pH sı 6 olarak hazırlanan çözeltiler Tablo 6' da verilmiştir.

Tablo 6' da verilen çözeltiler ışıhta ve ışıktan korunarak 1 ay süreyle bekletilmiştir. Çözeltilerdeki değişiklikler ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir.

Tablo 6. Formülasyonun Stabilitesini İncelemek için Hazırlanan Çözeltiler

Çözelti No	Vizkozite artırıcı madde	Koruyucu madde	Tampon
1	HPMC	BAK*	Sitrat
2	MC	BAK	Sitrat
3	PVA	BAK	Sitrat
4	HPMC	-	Fosfat
5	MC	-	Fosfat
6	PVA	-	Fosfat
7	-	Thiomersal	Sitrat

* BAK : Benzalkonyum klorür

III. BULGULAR

III.1. Atenolole ait bulgular

III.1.1. UV spektrumu

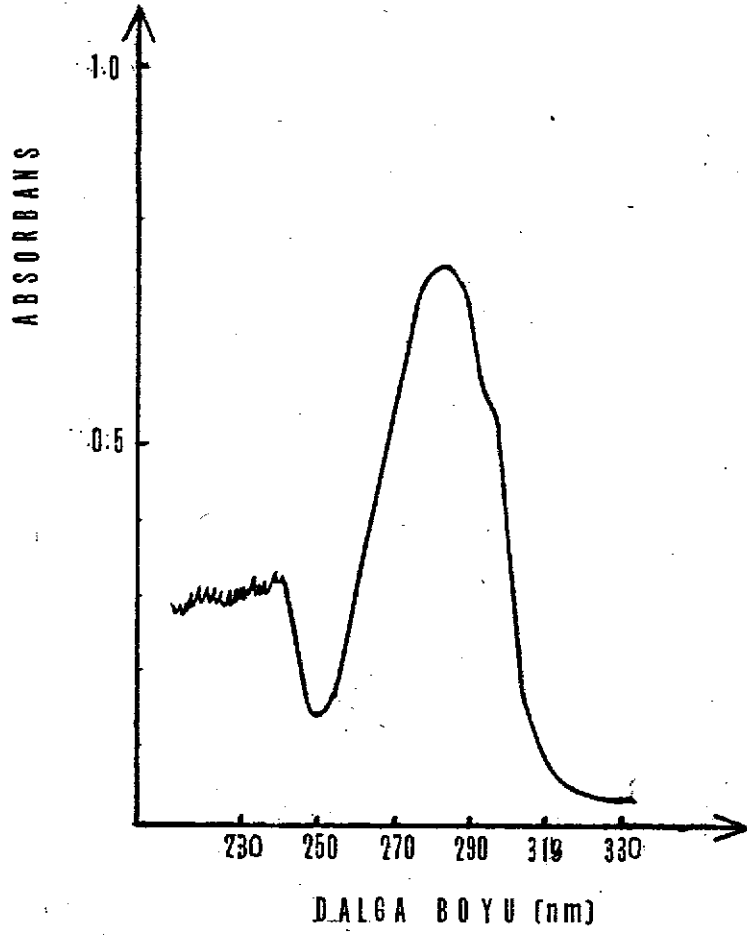
Bölüm II.2.1.1.1. 'de anlatıldığı şekilde farklı çözücülerle hazırlanan atenolol çözeltileri aynı spektrumu vermektedir. Şekil 4'te atenololun 10^{-4} M konsantrasyonda pH 5.5 Sørensen sodyum sitrat tamponundaki çözeltisi verilmiştir. $\lambda_{\max} = 276$ nm bulunmuştur.

III.1.2. IR spektrumu

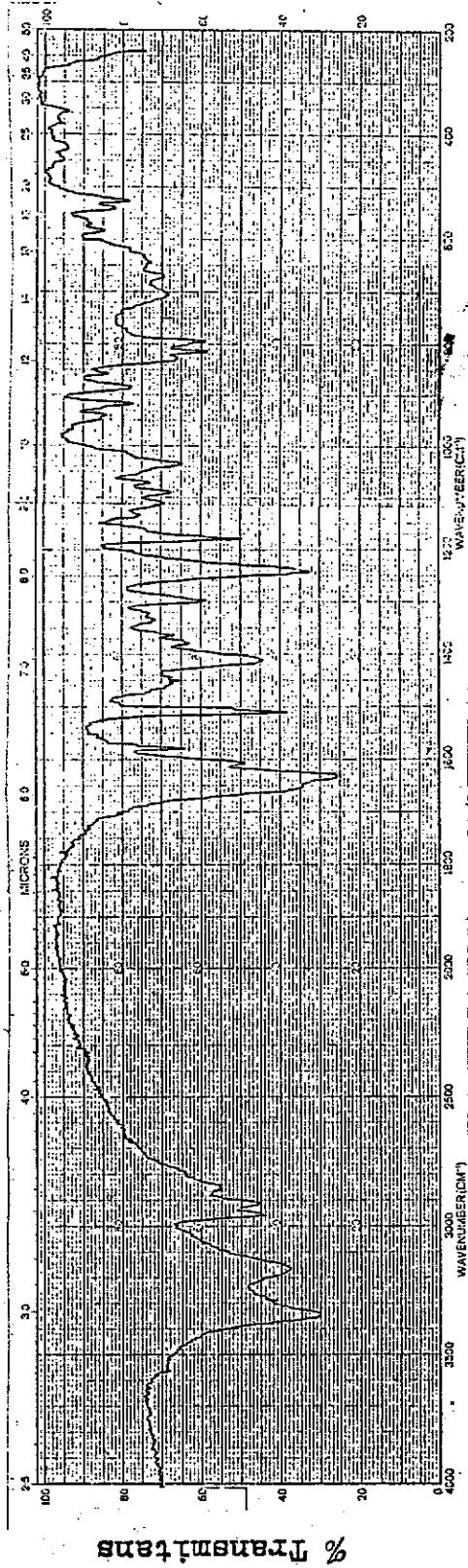
Atenololun Bölüm II.2.1.1.1. 'de anlatıldığı şekilde alınan IR spektrumunda görülen piklerin 3550 cm^{-1} de O - H gerilimi, 3350 cm^{-1} de N - H asimetrik gerilimi, 3150 cm^{-1} de N - H gerilimi, 2980 cm^{-1} de aromatik C - H gerilimi, 2850 cm^{-1} de alifatik C - H gerilimi, 1640 cm^{-1} de C=O gerilimi (Amid I bandı), $1590 - 1510 \text{ cm}^{-1}$ de N - H bükülme ve C - N gerilimi (Amid II bandı), C=C gerilimi, 1410 cm^{-1} de C-C ve C-N gerilimi, 1180 cm^{-1} de C-O gerilimi (alkole ait), 1050 cm^{-1} de C-O-C gerilimi, 920 ve 880 cm^{-1} de N-H bükülmeleri (sekonder aminlere ait), 810 cm^{-1} de C-H bükülme (p-substitue durumuna ait), $700-660 \text{ cm}^{-1}$ de N-H bükülmelerine ait pikler olduğu düşünülmektedir (Şekil 5).

III.1.3. NMR spektrumu

Çekilen NMR spektrumunda görülen piklerin 1.05 ppm de izopropil grubundaki metil protonlarına ait dublet, 1.9 ppm de O-H protonuna ait yayvan bir pik, 2.9 ppm de azota komşu



Şekil 4. Atenololun UV Spektrumu



Dalga Boyu (cm^{-1})

Şekil 5. Atenolole ait IR spektrumu

-CH ve -CH₂ protonlarına ait multiplet, 3.5 ppm de aromatik halkaya komşu -CH₂ protonlarına ait singlet, 4 ppm de Ar-O-CH₂ ve OH'a bağlı -CH ait bir pik, 5.4 ppm de amid grubunun NH₂ protonlarına ait double-dublet, 7.3 ppm de çözücüye ait piklerdir. Firmadan sağlanan NMR spektrumu ile uyum içindedir (Şekil 6).

III.1.4. Kütle spektrumu

Çekilen kütle spektrumu Şekil 7'de verilmiştir.

III.1.5. İnce tabaka kromatografisi (İTK)

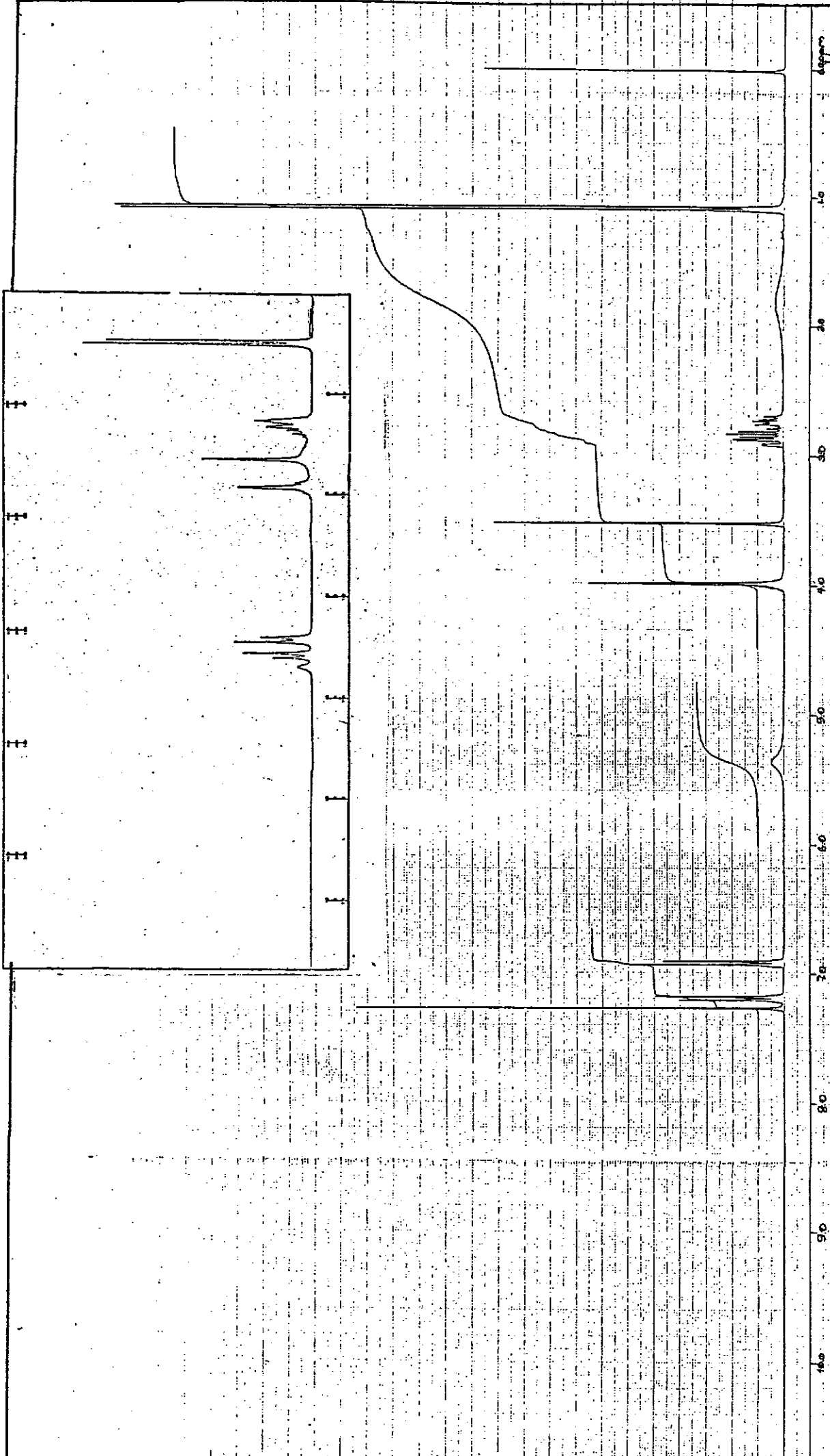
Bölüm II.2.1.1.5.'de verilen solvan sistemleri denenmiş ve en uygun olarak Solvan I [etil asetat-amonyak-metanol-dietilamin (80:10:10:5)] , Solvan 3 [butanol-sikloheksan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5:)] ve Solvan 4 [metanol-amonyak (100:1)] seçilmiştir. Bu solvan sistemlerinde sürüklemeyen sonra alınan ince tabaka kromatogramları, Kromatogram 1 a,b,c'de verilmiştir.

III.1.6. Erime noktası

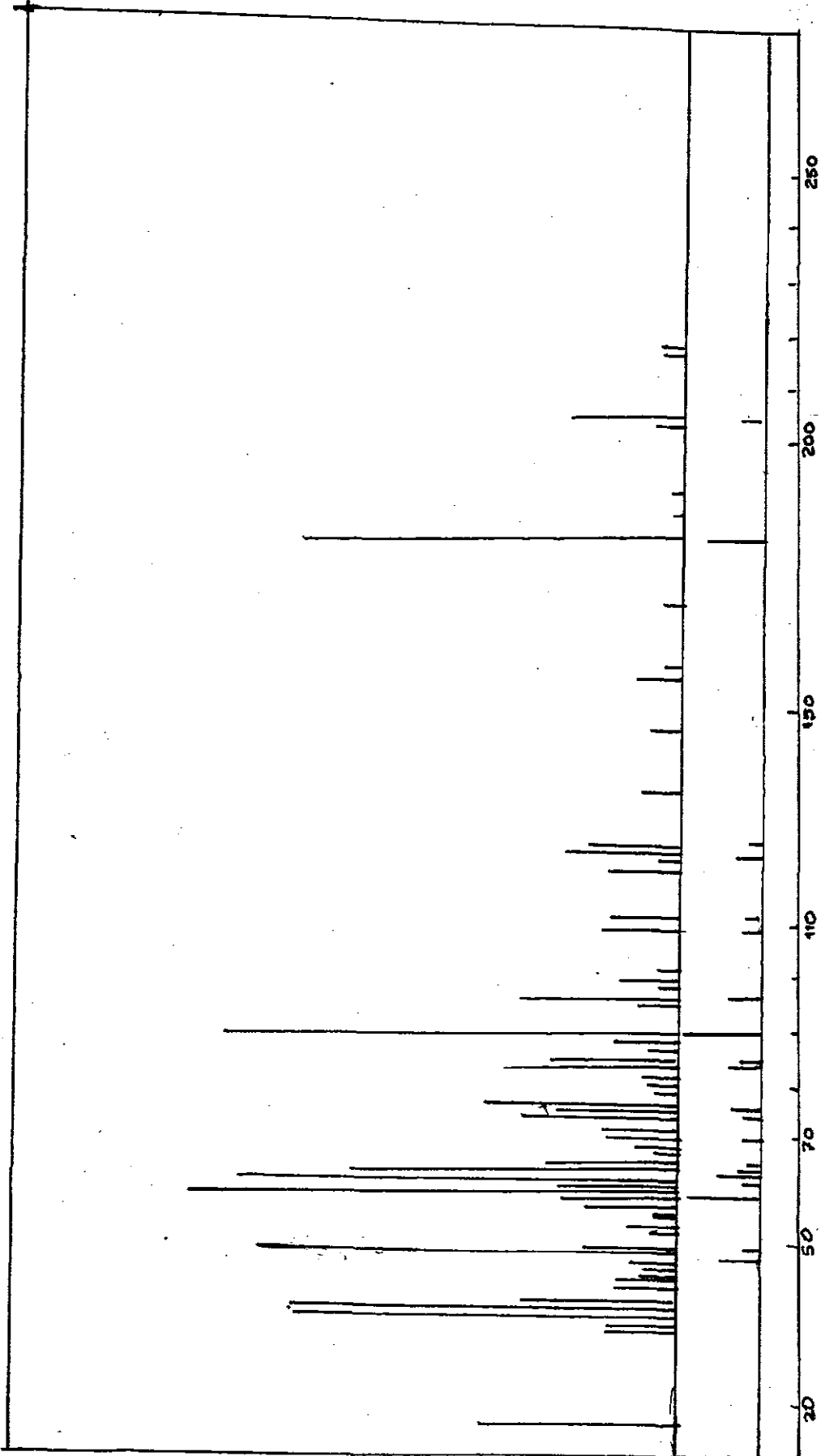
Bölüm II.2.1.1.6.'da anlatıldığı şekilde tayin edilen erime noktası 154°C olarak bulunmuştur. Bu değer Doğu İlaç Firmasının verdiği değere uymaktadır.

III.1.7. Miktar tayini

Doğrudan doğruya ya da ince tabakadan elue ettikten sonra uygulanan spektrofotometrik yöntem için iki standart eğri hazırlanmıştır.



Şekil 6. Atenololun NMR spektrumu (Küçük şekilde atenololun firma tarafından verilen spektrumu görülmektedir.)

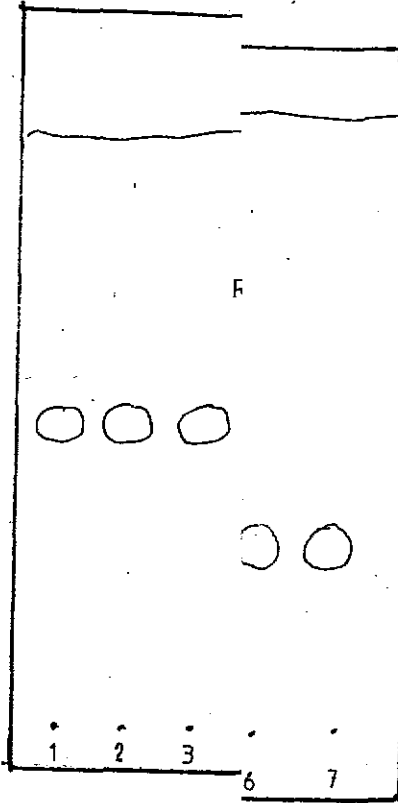


Şekil 7. Atenololun Kütle Spektrogramu

m/e

Kromatogram

a. Solvan s: etanol-
metanol
(80:10:10)



Adsorban : Silikajel HF₂₅₄

Tabaka kalınlığı: 250 μ m

Sıcaklık : 22°C

Tatbik edilen miktar : 10 μ l

Sürükleme süresi : 30 dakika

Lekelerin saptanması : UV lambası
(254 nm)

Lekelerin belirlenmesi : Ninhid-
rin reaktifi, konsantre sülfü-
rik asit reaktifi, iyot

Tatbik edilen çözeltiler :
(taze hazırlanmış)

1. %1(a/h) sudaki
2. %1(a/h) 0.1N HCl'de
3. %1(a/h) metanolde
4. %1(a/h) pH 4, tamponda
5. %1(a/h) pH 5, tamponda
6. %1(a/h) pH 7, tamponda
7. %1(a/h) pH 10, tamponda

III.1.7.1. İnce tabakadan elue ettikten sonra yapılan spektrofotometrik tayin için elde edilen standart eğri

Bölüm II.2.1.2.1.1.'de anlatıldığı şekilde çizilen standart eğri Şekil 8'de verilmiştir.

III.1.7.2. Spektrofotometrik yöntem için standart eğri

Bölüm II.2.1.2.1.2.'de anlatıldığı şekilde çizilen standart eğri Şekil 9'da verilmiştir.

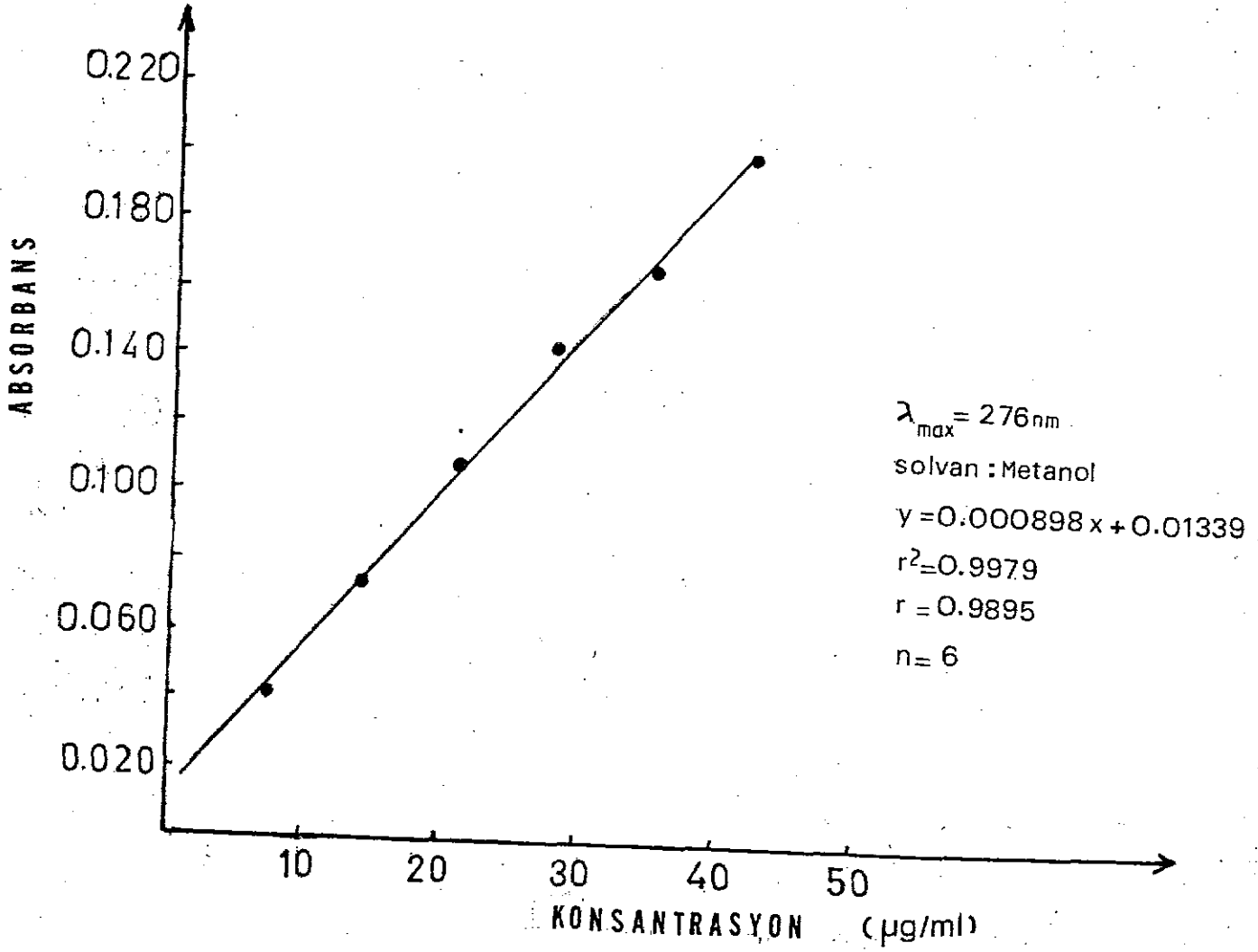
III.1.8. Stabilite

III.1.8.1. pH ve ışık etkisi

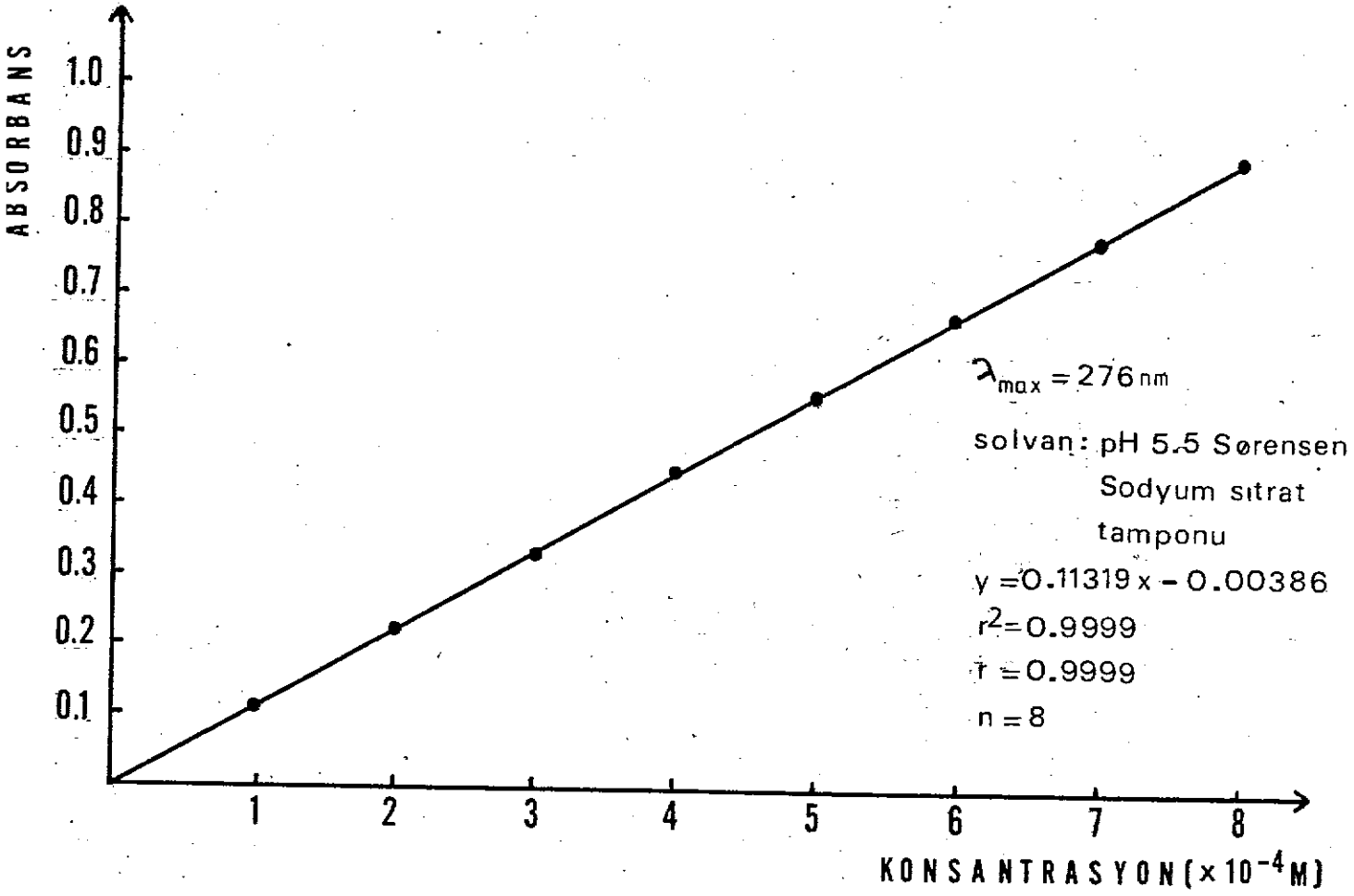
Oda sıcaklığında 3 ay süreyle bekletilen farklı pH larda hazırlanan atenolol çözeltilerine ait ince tabaka kromatografisi bulguları Kromatogram (2 a,b,c,d,e ve 3 a,b,c,d,e)' de verilmiştir. Çözeltilerin başlangıçtaki kromatogramları, Bölüm III.1.5'te verilen Kromatogram 1 a,b,c ile aynı olduğu için bu bölümde tekrar verilmemiştir. Çözeltilerde renk değişikliği izlenmiş olup, ve 10.günden itibaren ışıktaki bekletilen çözeltilerin (pH 10 daki hariç) rengi sarıya dönmüştür. Işıktan korunarak saklananlarda ise bir renk değişikliği saptanmamıştır.

III.1.8.2. Oksijen etkisi

Oksijenin stabilite üzerine etkisi Bölüm II.2.1.3.3. te anlatıldığı şekilde incelenmiş olup, çözeltide 1 gün sonunda hiç bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 8. Atenololun İnce Tabakadan Elue Ettikten Sonra Yapılan Tayini için Standart Eğri

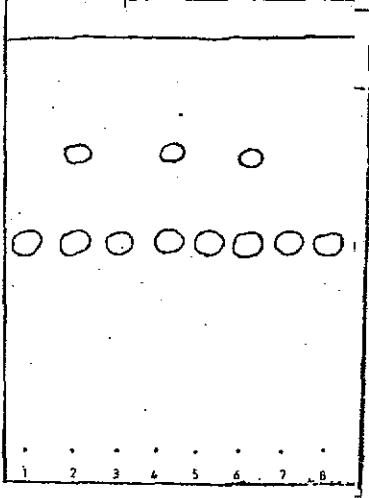


Şekil 9. Atenololun Çözeltiden Doğrudan Yapılan Tayini için Standart Eğri

Kromatogram 2. Ate

İnc

a. 7.gün



Solvan sistemi :

Adsorban : Silikajel HF₂₅₄

Tabaka kalınlığı : 250 µm

Sıcaklık : 22°C

Tatbik edilen miktar : 10 µl

Sürükleme süresi : 30 dakika

Lekelerin saptanması : UV lambası (254nm ve 366nm)

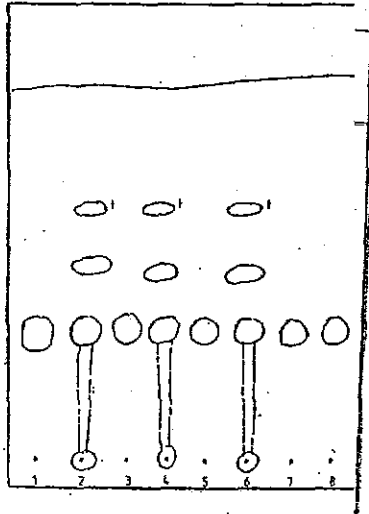
Lekelerin belirlenmesi : Sülfürik asit reaktifi püskürttükten sonra 110°C de lekeler belirinceye kadar bekleterek

Tatbik edilen çözeltiler :

Kromatogram 3. At

İr

a. 7.gün



Solvan sistemi :

Çözelti No	Atenolol %(a/h)	Çözücü	pH	Bekleme şartı
1.	1	Su	10	Taze
2.	2	Tampon	4	Işıқта
3.	2	Tampon	4	Işıktan korunarak
4.	2	Tampon	5	Işıқта
5.	2	Tampon	5	Işıktan korunarak
6.	2	Tampon	7	Işıқта
7.	2	Tampon	7	Işıktan korunarak
8.	1	Tampon	10	Işıқта
9.	1	Tampon	10	Işıktan korunarak

+ işaretli lekele

++ işaretli lekele

ITK özellikleri]

III.1.8.3. Işık etkisi

Bölüm II.2.1.3.2.'de anlatıldığı şekilde, ışığın stabilite üzerine etkisi incelenmiştir. 10.gün sonunda ışıkta bekletilen çözeltide Kromatogram 4'te görüldüğü şekilde bozunma olmuştur.

III.1.8.4. Sıcaklık etkisi

Farklı pH larda sıcaklığın stabiliteye etkisi Bölüm II.2.1.3.3.'te anlatıldığı şekilde incelenmiştir. 30°,50°, 70°C sıcaklıkta farklı pH lardaki çözeltilerle yapılan deneyler sonucunda çözeltinin renginde ve konsantrasyonunda bir değişiklik olmamıştır. 90°C de ise sadece pH 10 da hazırlanan çözeltide 24.saat sonunda Kromatogram 5'te görüldüğü şekilde bir bozunma saptanmıştır.

III.1.8.5. Oksijen ve ışık etkisi

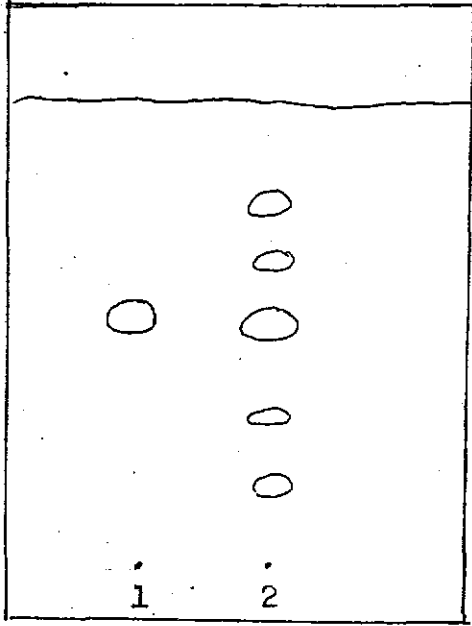
Oksijen ve ışığın stabiliteye etkisi Bölüm II.2.1.3.5'te anlatıldığı şekilde incelenmiş olup, sonuçlar Tablo 7'de ve ince tabaka kromatografisi bulguları Kromatogram 6'da verilmiştir.

III.2. Bozunma ürününe ait bulgular

III.2.1. UV spektrumu

Bölüm II.2.3.1.'de anlatıldığı şekilde alınan UV spektrumu atenololun spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 10'da verilmiştir.

Kromatogram 4. Atenololun Stabilitesi Üzerine Işık Etkisinin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi



Solvan sistemi : Etil asetat-
amonyak-metanol-diethylamin (80:
10:10:10)
Adsorban : Silkajel HF²⁵⁴
Tabaka kalınlığı : 250 µm

Sıcaklık : 22°C

Tatbik edilen miktar : 10 µl

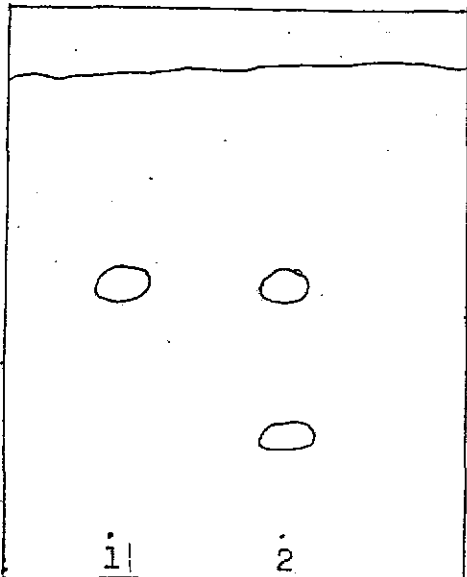
Sürüklenme süresi : 30 dakika

Lekelerin saptanması : UV lambası (254 nm)

Tatbik edilen çözeltiler :

1. Taze hazırlanmış %1(a/h) atenolol çözeltisi (sudaki)
2. 10 gün ışıktaki bekletilen %4(a/h) pH atenolol çözeltisi (tamponda)

Kromatogram 5. Atenololun Stabilitesi Üzerine Sıcaklık Etkisinin İnce Tabaka Kromatografisiyle İncelenmesi

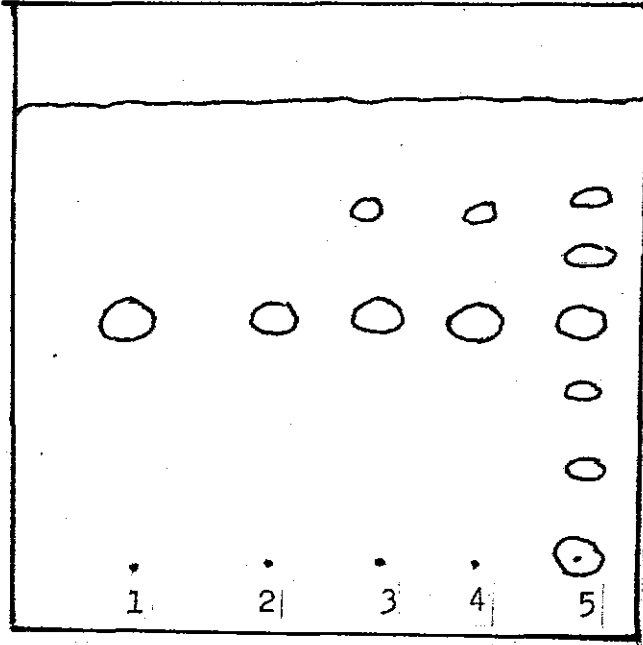


Tatbik edilen çözeltiler :

1. Taze hazırlanmış %1(a/h) atenolol çözeltisi (sudaki)
2. 90°C de 24 saat tutulan %2 atenolol çözeltisi (pH 10)

İnce tabaka kromatografisine ait diğer özellikler Kromatogram 4 de verilenlerle aynıdır.

Kromatogram 6. Atenololun Stabilitesi Üzerine Oksijen ve Işık Etkisinin İnce Tabaka Kromatografisiyle İncelenmesi



Tatbik edilen çözeltiler :

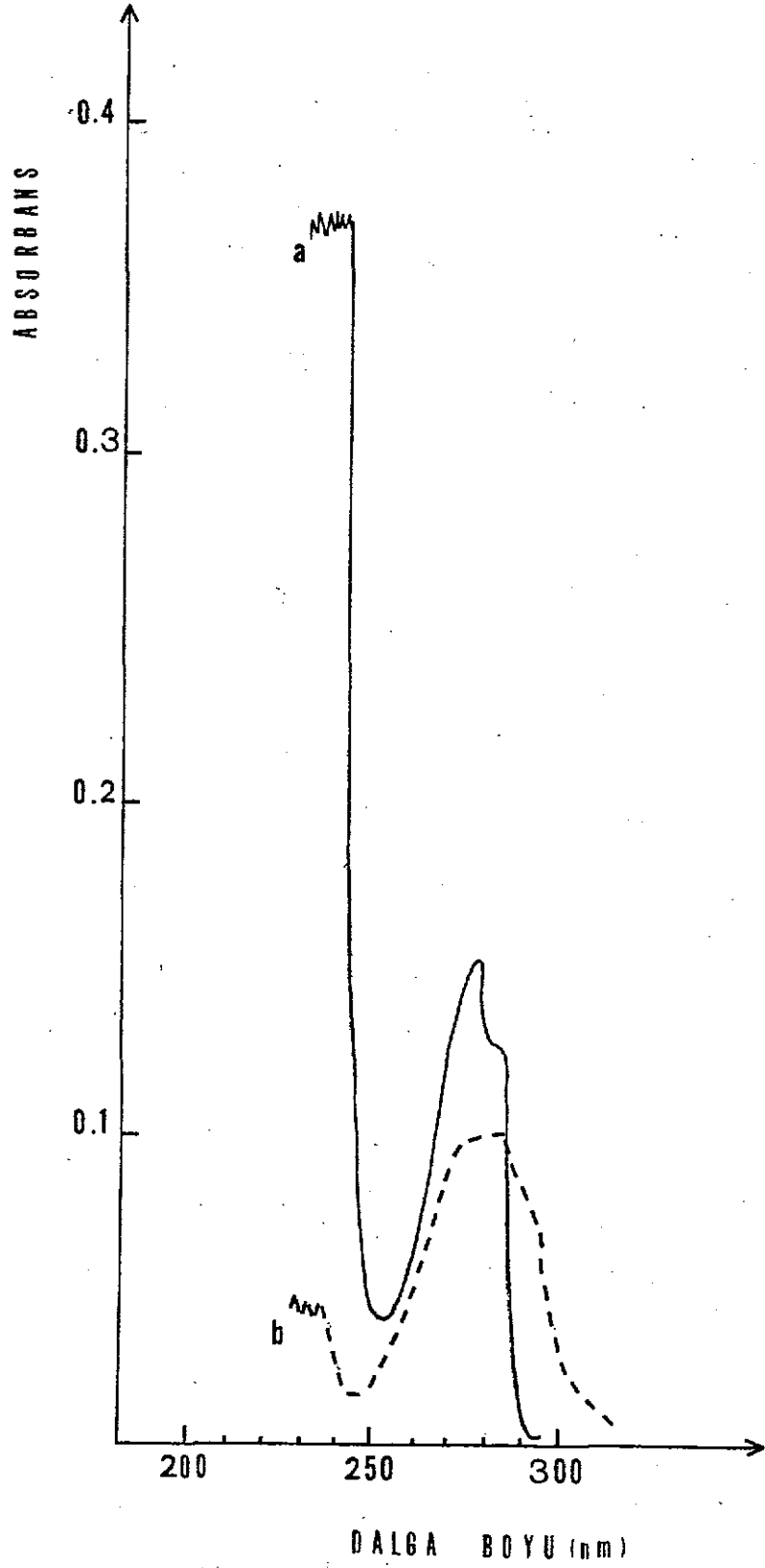
1. Taze hazırlanmış %1(a/h) atenolol çözeltisi (sudaki)

2-5. çözeltiler Tablo 7'de verilen sıradadır.

Diğer İTK özellikleri Kromatogram 4'te verilenlerle aynıdır.

Tablo 7. Atenololun pH 6 %2(a/h) Çözeltisinin Stabilitesi Üzerine Oksijen ve Işık Etkisinin İncelenmesine ait Bulgular

	Çözelti	Çözelti Görünümü	
		Başlangıç	3 ay sonra
1	İŞIKTAN KORUNMUŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMİŞ	Berrak, renksiz	Berrak, renksiz
2	İŞIKTAN KORUNMUŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMEMİŞ	Berrak, renksiz	Berrak renksiz
3	İŞIKTA BEKLEMİŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMİŞ	Berrak, renksiz	Berrak, renksiz
4	İŞIKTA BEKLEMİŞ, AZOT GAZI GEÇİRİLMEMİŞ	Berrak, renksiz	Berrak, sarı



Sekil 10. Bozunma Ürününün, Atenolol ile Karşılaştırılmalı Olarak UV Spektrumu (a. atenolole ait, b. bozunma ürününe ait)

III.2.2. IR spektrumu

Bölüm II.2.3.2.'de anlatıldığı şekilde alınan IR spektrumu Şekil 11'de verilmiştir. IR spektrumunda görülen piklerin; 3300 cm^{-1} civarında yayvan bir pik, 2900 cm^{-1} de aromatik C-H gerilim, 2850 cm^{-1} de alifatik C-H gerilim, 1670 cm^{-1} de C=O gerilimi (amid I bandı), 1600 cm^{-1} de N-H bükülme ve C-N gerilme (amid II bandı) 1380 cm^{-1} de C-C gerilimi, 1300 cm^{-1} de asimetrik C-O-C gerilimi, 1150 cm^{-1} de alkole ait C-O gerilimi, 1050 cm^{-1} de simetrik C-O-C gerilimi, 820 cm^{-1} de C-H bükülmelere (para-substitüsyonu göstermekte) ait olduğu düşünülmektedir.

III.2.3. NMR spektrumu

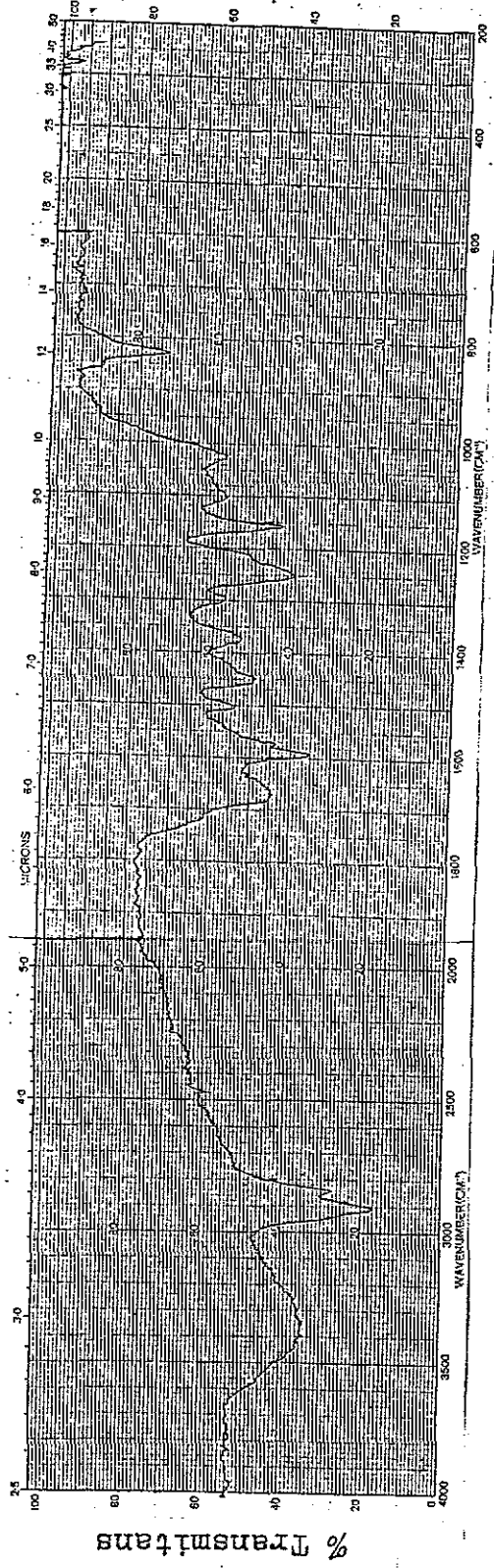
Bölüm II.2.3.3.'te anlatıldığı şekilde alınan NMR spektrumu Şekil 12'de verilmiştir. Ancak spektrumda kuvvetli CH_3 pikleri görülmekte ve bunların muhtemelen maddenin izolasyonu sırasında ortamda mevcut olan ve madde tarafından tutulduğu düşünülen silikajele ait olduğu sanılmaktadır. Bu nedenle spektrumun yorumu yapılamamıştır.

III.2.4. Kütle analizi

Bölüm II.2.3.4.'te anlatıldığı şekilde alınan kütle spektrumu Şekil 13'te verilmiştir. Spektrumda moleküler pik saptanamadığından bir yorum yapılamamıştır.

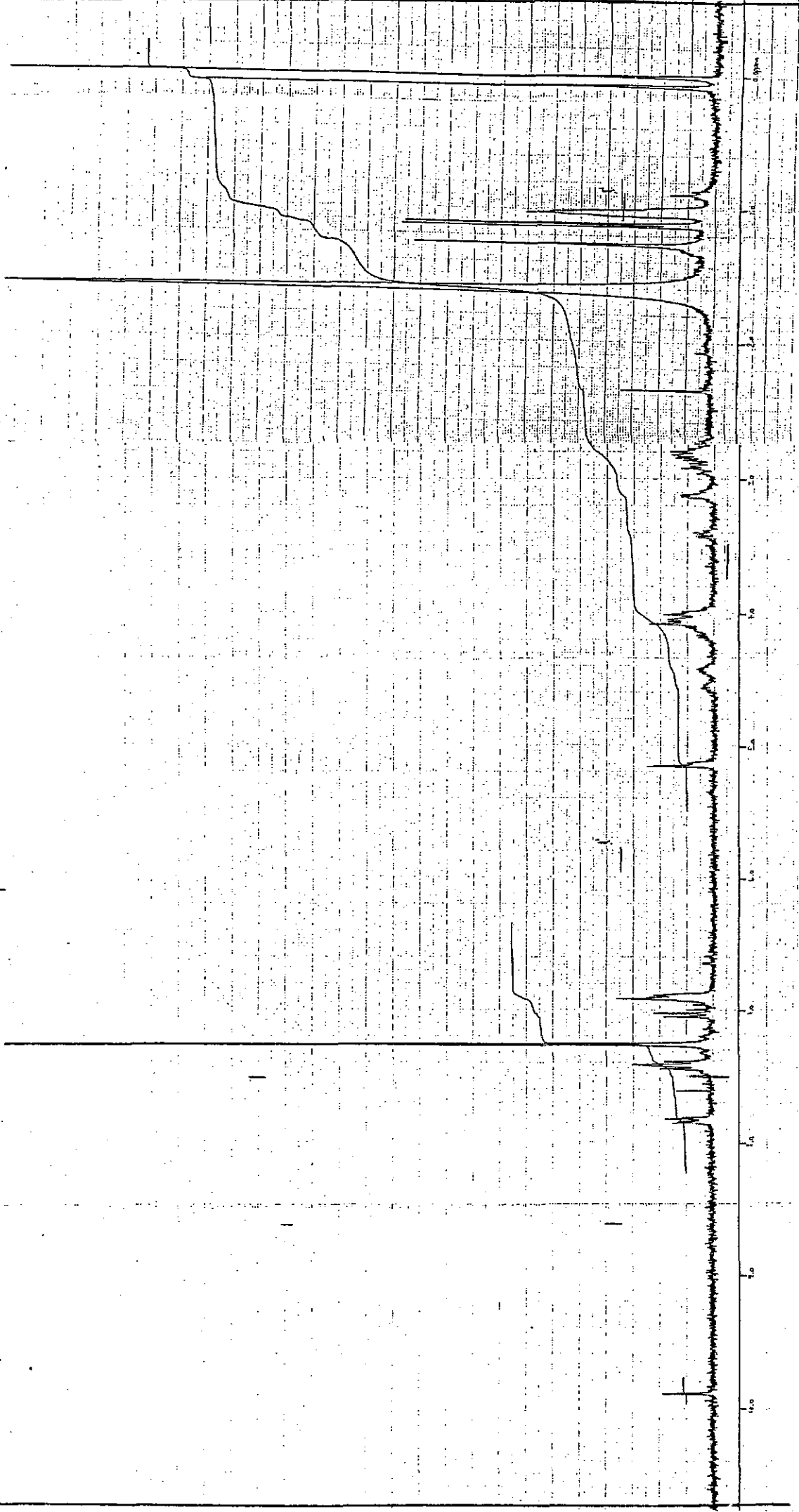
III.2.5. İnce tabaka kromatografisi

Bölüm II.2.3.5.'te anlatıldığı şekilde yapılan ince

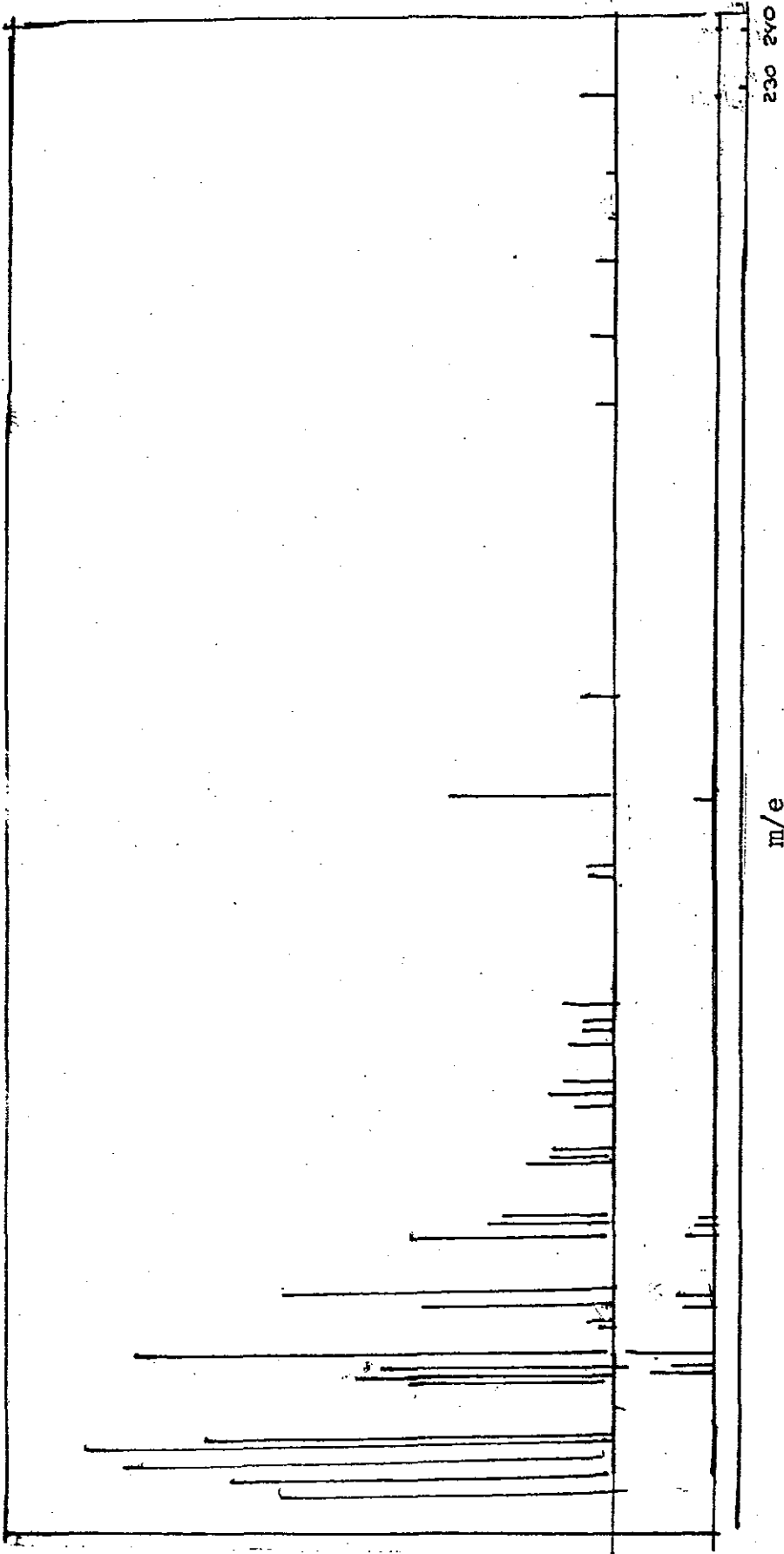


Dalga Boyu (cm^{-1})

Şekil 11. Bozunma Ürünine Ait IR Spektrumu



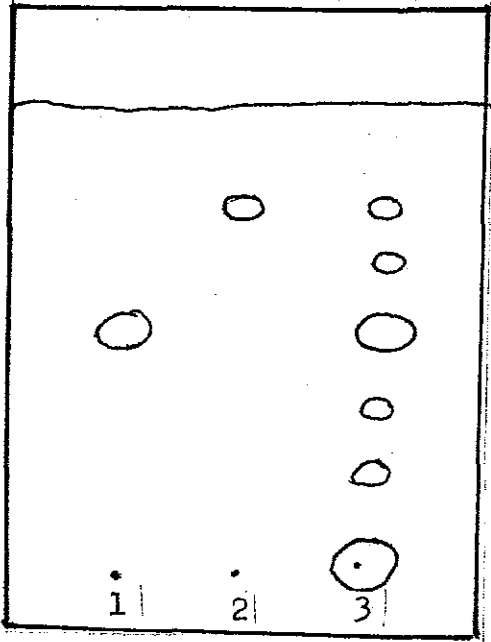
Şekil 12. Bozunma Ürününe Ait NMR Spektrumu



Şekil 13. Bozunma Ürününe Ait Kütle Spektrumu

tabaka kromatografisine ait bulgular Kromatogram 7'de verilmiştir.

Kromatogram 7. Bozunma Ürününün İnce Tabaka Kromatografisi



Solvan sistemi : etil asetat-
amonyak-metanol-dietilamin
(80:10:10:5)

Adsorban : Silikajel HF²⁵⁴

Tabaka kalınlığı : 250 μ m

Tatbik edilen miktar : 10 μ l

Lekelerin saptanması : UV lambası (254)

Lekelerin belirlenmesi : Ninhidrin reaktifi, konsantre sülik asit reaktifi, iyot

Tatbik edilen çözeltiler :

1. %1(a/h) taze hazırlanmış atenolol çözeltisi(sudaki)
2. Metanolde çözülmüş bozunma ürününün çözeltisi
3. %2(a/h) ışıktta bekletilmiş atenolol çözeltisi (pH 5.5 tamponunda)

III.3. Ön formülasyon

% 4 (a/h) atenolol içeren bir çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltinin göz preparatı olarak hazırlanmasında dikkate alınan faktörler aşağıda verilmiştir.

III.3.1. Osmolalite

% 4 (a/h) çözeltinin osmolalitesi, osmometrede ölçülmüş ve 610 mosm/kg. H₂O olarak bulunmuştur. Lâkrimal sıvının plazma ile izoosmotik olduğu ve plazmanın osmolalitesinin 280-310 mosm/kg.H₂O olduğuna göre, % 4 konsantrasyonda hazırlanan atenolol göz çözeltisi hipertoniktir ve ayrıca bir izotoni ayarı gerekmemiştir.

III.3.2. pH ayarı

Formülasyonun pH sı, göz pH sı olarak kabul edilen pH 7.4 'e ayarlanmak istenmiş, ancak bu pH da atenolol % 4 konsantrasyonda çözünmediği için formülasyonun pH sı 6 olarak seçilmiştir. pH ayarı için Sørensen sodyum sitrat tamponu kullanılmıştır. Atenolol ile bir geçimsizliği olmaması ve bu madde için uygun tamponlama kapasitesine sahip olması nedeniyle bu tampon seçilmiştir.

III.3.3. Koruyucu maddeler

Formülasyonda koruyucu madde olarak, göze yan etkisinin az olması ve atenololle geçimsizliği bulunmaması nedeniyle, benzalkonyum klorür seçilmiş ve % 0.02 konsantrasyonda kullanılmıştır.

III.3.4. Viskozite artırıcı maddeler

Çözeltinin viskozitesini 12-15 cps arasına getirmek amacıyla Bölüm II.2.3.1.5.'te anlatıldığı şekilde metil-selüloz, hidroksipropil metilselüloz ve polivinil alkol kullanılmıştır. Bulgular Tablo 8'de verilmiştir. Düşük konsantrasyonu nedeniyle göze tatbikte rahatsızlık veremeyeceği göz önüne alınarak, ön formülasyonda % 0.45 (a/h) metilselüloz kullanılmıştır.

Tablo 8. Kullanılan Viskozite Artırıcı Maddelere Ait Bulgular (22°C de)

Viskozite artırıcı maddeler	Konsantrasyon % (a/h)	Kinematik Viskozite (cst)	Yoğunluk	Absolü Viskozite (csp)
Metil-selüloz	0.45	12.20	1.046	12.760
Hidroksi-propil metil selüloz	3.5	11.82	1.049	12.399
Polivinil alkol	2.5	12.15	1.050	12.750

III.3.5. Sterilizasyon

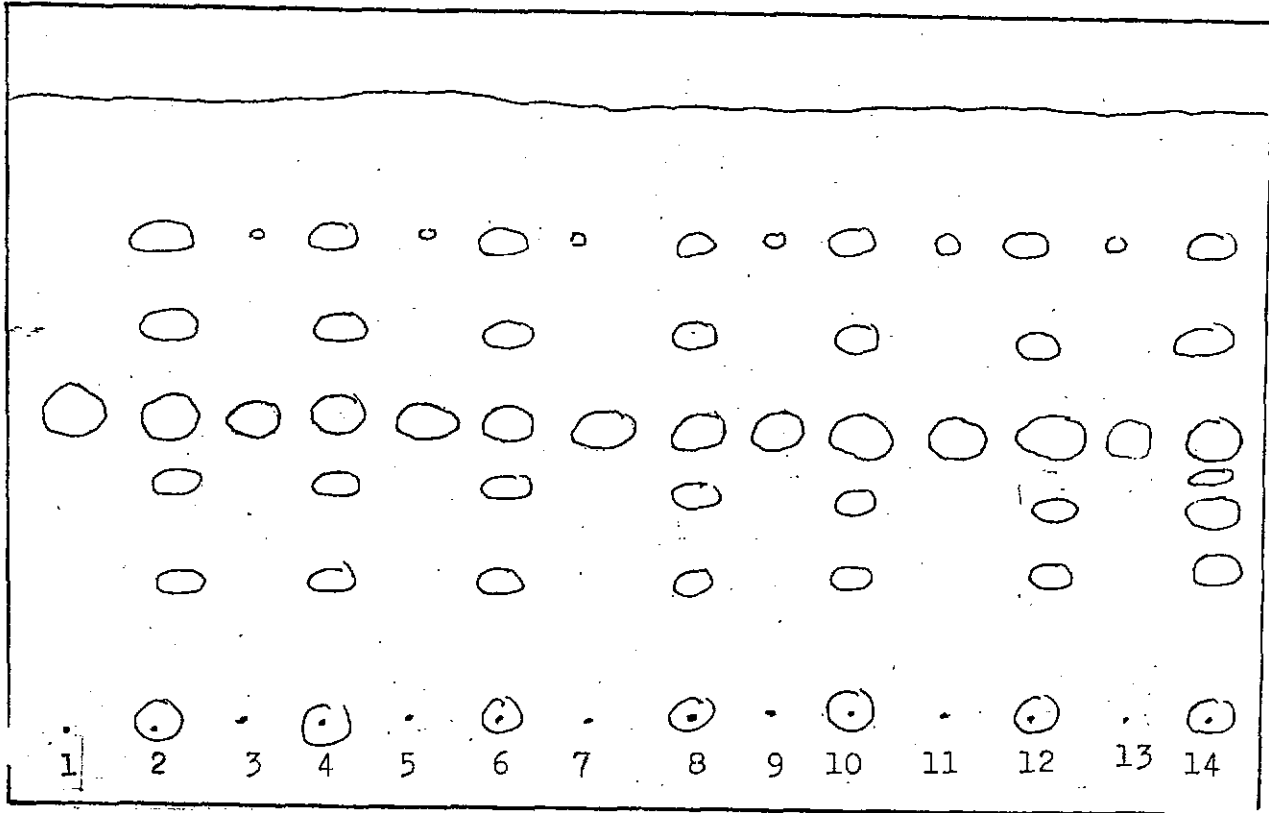
Hazırlanan göz çözeltisi Bölüm II.2.3.2.'de anlatıldığı şekilde sterilize edilmiş ve sterilizasyon sonunda çözelti-

tide bir değişiklik saptanmamıştır.

III.3.6. Stabilite

Bölüm II.2.3.3.'te anlatılan ön formülasyona ait stabilite çalışmalarına ait bulgular Kromatogram 8 'de verilmiştir.

Kromatogram 8. Ön formülasyonun Stabilitesinin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelemesi



Tatbik edilen gözeltiiler Tablo 9'da verilmiştir.

Solvan sistemi : Etil asetat-amonyak-metanol-diätılamin

(80:10:10:5)

Diğer İTK özellikleri Kromatogram 7'de verilenlerle aynıdır.

IV. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çok sayıda beta reseptör blokleri glokom tedavisinde denenmiştir (2,3,4,5,15). Bunların içinden timolol şu anda geniş açılı glokom tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (6,7,8,9,10,11,12,13,14).

Türkiyede ise içinde henüz beta reseptörü taşıyan bir göz çözeltisi müstahzarı bulunmamaktadır. Bu nedenle beta reseptör blokleri taşıyan bir göz çözeltisinin hazırlanması düşünülmüş ve bu amaçla bir beta reseptör blokleri olan atenolol seçilmiştir. Atenololu seçme nedeni diğer beta reseptör blokerlerine göre yan etkilerinin az olması ve çözünürlük sorununun bulunmaması, stabilitesine ilişkin çalışmalara rastlanmamış olmasıdır.

En stabil çözeltisi halinde bir göz formülasyonu geliştirilmesi planlanan atenololun ön çalışmalar sırasında stabilite sorunu olduğu görülmüş ve formülasyon çalışmasına girmeden önce, çalışmalar özellikle stabilite üzerinde yoğunlaştırılmıştır.

IV.1. Atenololun ince tabaka kromatografisi

Bu araştırmada atenolol çözeltilerinin stabilitesi ile ilgili çalışmalar daha çok kalitatif olarak ince tabaka kromatografisi ile yapılmıştır. Atenololun ince tabaka kromatografisine ait bir çalışmada, idrardan ekstraksiyonu yapılan atenolol ince tabaka kromatografisi ile saptanmıştır. Bu çalışmada etil asetat-metanol-amonyak(40:5:5) solvan sistemi kullanılmıştır. Ancak atenololun stabilitesi

ile ilgili bir ince tabaka kromatografisi çalışması yoktur.

İnce tabaka kromatografisi ile yapılan çalışmalarımızda ilk olarak atenolol ve bozunma ürünlerini iyi sürükleyen ve birbirinden yeterince ayıran bir solvan sistemi araştırılmıştır. Bu amaçla çok sayıda solvan sistemi denenmiş (Tablo 1) ve en iyi olarak Solvan 1 etil asetat-amonyak-metanol-dietilamin (80:10:10:5) bulunmuştur. Ayrıca Solvan 3 butanol-sikloheksan-amonyak-dietilamin (40:50:5:1.5) ve Solvan 4 metanol-amonyak (100:1) bulguları karşılaştırmak amacı ile kullanılmıştır.

Atenolol ve bozunma ürünlerine ait lekeler fluoresan indikatörlü plaklarda UV lambasında 254 ve 366 nm de saptanmıştır. Atenolol ve bozunma ürünlerine ait lekeleri, kromatogramda kalitatif olarak tayin etmek amacıyla, çok sayıda reaktif denenmiş (Tablo 2) ve ninhidrin, konsantre sülfirik asit ve iyot reaktifleri uygun bulunmuştur. Uygun oldukları gözlenerek seçilen bu reaktiflerin sürüklemeden önce ve sonraki duyarlık sınırları saptanmıştır. (Bölüm II.2.1.1.5.). Atenololun gözeltlerinde bozunma başladıktan sonra Solvan 1 ve Solvan 4 sistemi ile lekeler takip edilerek aynı süre sonunda kaç maddenin ortaya çıktığı karşılaştırmalı olarak takip edilmiştir (Kromatogram 2a,b,c,d,e ve Kromatogram 3a,b,c,d,e).

IV.2. Atenololun miktar tayini

Literatürde atenololun spektrofotometrik (58),

gaz kromatografisi ile (59,60,61) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile kantitatif (82) tayini verilmiştir. Ayrıca bir çalışmada atenolol, plazma ve idrardan ince tabaka kromatografisi ile tespit edildikten sonra fluorimetrik miktar tayinine geçilmiştir. Atenololun % 10'u idrarla hidroksi atenolol şeklinde atıldığından, bu metabolitin ince tabakadan fluorimetrik yöntemle atenololun tayininde bir etkileşme yapıp yapmadığını araştırmak amacıyla bir çok solvan sistemi denenmiş ve sonuçta metabolitin, atenololun bu yöntemle tayinini etkilemediği görülmüştür (62).

Çalışmalarımızın başlangıcında atenololun kantitatif tayini için, kolaylığı ve hızlı olması nedeniyle spektrofotometrik yöntem seçilmiş ancak bozunma ürünleri oluştuğunda atenolole ait ölçülen absorbansın azalması beklenirken belirgin bir artma gözlenmiştir. Buna göre bozunma ürünlerinin varlığında doğrudan atenololun miktar tayininin spektrofotometrik yöntemle mümkün olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumda kantitatif bir tayinin, atenololu bozunma ürünlerinden ayırdıktan sonra mümkün olacağı anlaşılmıştır. Bunun üzerine atenololu ince tabaka kromatografisinde bozunma ürünlerinden ayırdıktan sonra, densitometre ile direkt plak üzerinden tayini denenmiş, ancak kullanılan densitometre ile düşünülen hassaslıkla çalışma yapılamamıştır. Sonuçta bozunma ürünlerinin varlığında kantitatif tayinin yapılabilmesi için atenolol ince tabaka kromatografisi ile ayrılıp kazandıktan sonra adsorbandan elue edilmiş ve buradan spektrofotometrik tayine geçilmiştir (Bölüm II, 2.1.2.).

IV.3. Atenololun stabilitesi

Atenololun stabilitesi üzerine pH, ışık, oksijen ve sıcaklığın etkisi incelenmiştir.

pH'nin etkisini araştırmak amacıyla 4,5,7,10 olmak üzere dört farklı pH daki çözeltiler 3 ay süreyle oda sıcaklığında, gün ışığında ve ışıktan korunarak bekletilmiş ve çözeltilerdeki değişiklikler ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiştir (Kromatogram 2 a,b,c,d,e ve Kromatogram 3a,b,c,d,e). Ayrıca pH 6 da atenolol çözeltisi hazırlanmış ve 1 ay süreyle ışıhta ve ışıktan korunarak bekletilmiştir. Süre olarak 1 ay seçilmesinin nedeni göz çözeltisi olarak düşünüldüğünde çözeltinin açıldıktan sonra bu süre sonunda bitmiş olacağıdır. Işıhta bekletilen çözeltide çok sayıda bozunma ürününe ait leke, ışıktan korunarak bekletilen atenolol çözeltisinde ise tam olarak belirgin olmayan bir leke daha ince tabaka kromatografisinde saptanmıştır (Kromatogram 6).

Işıktan korunarak bekletilen ve pH sı 10 olan atenolol çözeltisinde hiç bir değişiklik gözlenmemiştir. pH sı 10 olan çözelti ışıhta bekletildiğinde maddenin lekesine ilaveten pH 6 daki çözeltide de görülen leke ile aynı R_f değerine sahip bir leke daha saptanmıştır. Diğer pH lar-daki çözeltiler ise ışıhta bekletildiklerinde çok sayıda bozunma ürünü meydana gelmektedir. Bu bulgulardan atenololun stabilitesinin pH 10 da en iyi olduğu görülmektedir.

Amin grubu içeren ilaçların çözeltilerinin asitliği

alkali bölgelere kaydırıldığında farmakolojik ve toksikolojik yönden etkiler etki daha büyük olmaktadır. Glokom tedavisinde kullanılan epinefrin, pilokarpin gibi amin grubu içeren ilaçların göz çözeltileri kimyasal stabilite ve/veya çözünürlük nedeniyle asidik formülasyon gerektirmektedir. Ancak bu fizikokimyasal gereklilik, bu amin grubu içeren ilaçların absorpsiyonu ve biyoyararlanımını olumsuz yönde etkilemektedir (31). Çünkü aminler tamamen iyonize durumda taşınacaktır. İyonize olmuş durumdaki bir ilaç ise kornea epitelinin (83) geçirgenliğine bağlı olarak iyonize olmamış durumdakinden çok daha düşük oranda absorbe olmaktadır. Her ne kadar pH 10 un, atenololun stabilitesi yönünden uygun olduğu tespit edilmişse de, göze tatbik için bu pH da bir çözeltinin kullanılabilmesine imkan olmadığı ortadadır. Amin grubu içeren bir madde olan atenololun çözünürlüğü nedeniyle, yukarıda belirtildiği gibi çözelti pH sınırın aside kaydırılması gerekmektedir. Ancak asit pH larda atenololun çözünürlüğünün artmasına karşılık kimyasal stabilitesinin azaldığına dikkati çekmek gerekir. Alkali pH ya kayma sonucu stabil bir preparat hazırlanabilme şansı artmakta ancak bu preparatın göze tatbik şansı kalmamaktadır. Bu nedenle stabilitesi çok iyi olmamasına rağmen çözünürlüğün fazla olması ve göze tatbik edilebilecek bir pH alanı içinde olması nedeniyle atenolol ile geliştirilen ön formülasyonun pH sı 6 olarak seçilmiştir.

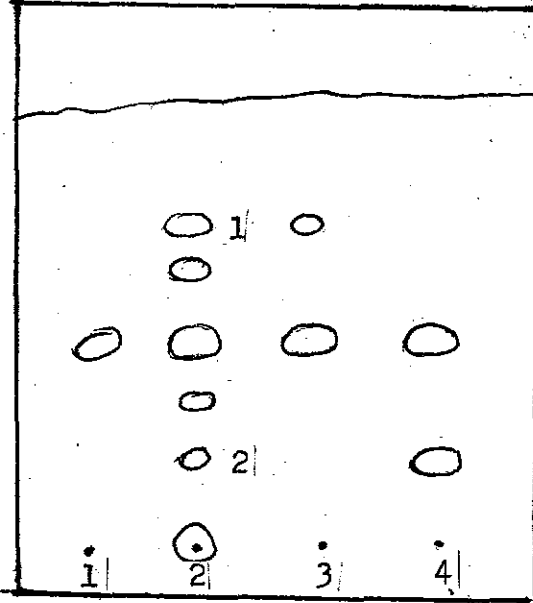
Atenololun çözeltilerinde oluşan bozunma ürünlerine ait özellikle 366 nm de görülen lekeler belli bir süre

takip edildiğinde, bazı belirgin olan lekelerin dışındaki-
lerin sürekli değiştiği gözlenmiştir. Buradan bozunmanın
radikalik olduğu düşünülebilir. pH 6 da hazırlanan % 4
(a/h) atenolol çözeltisi azot gazı geçirilerek ortamda-
ki atmosferik oksijen uzaklaştırılıp, ışıktan korunarak
3 ay bekletildiğinde hiç bir bozunma olmamıştır. Azot ga-
zı geçirilmiş ve ışıhta bekletilmiş çözeltide ise ince ta-
baka kromatografisinde atenololun lekesine ilaveten bir le-
ke daha gözlenmiştir. Ayrıca ışıktan korunan % 4 (a/h) ate-
nolol çözeltisinden bir gün süre ile oksijen geçirilip, in-
ce tabaka kromatografisi ile takip edildiğinde bozunma sap-
tanmamıştır. Bu bulgular da atenololun ışığın etkisi ile
bozunmaya uğradığını ve atmosferik oksijenin bu bozunmayı
katalize ettiği görüşünü sağlamlaştırmaktadır.

Farklı pH larda 30,50 ve 70° C sıcaklıklarda yapılan
hızlandırılmış stabilite deneyleri sonucunda, çözeltilerde
bir bozunma saptanmamıştır. 90° C sıcaklıkta yapılan sta-
bilite deneyleri sonucunda ise pH 10 hazırlanan çözeltide
atenololun lekesine ilaveten ikinci bir leke gözlenmiştir.
Kromatogram 9'da 90°C de pH sı 10 olan atenolol çözeltisi-
nin ışıhta bozunması ile karşılaştırmalı olarak görülmekte-
dir. pH sı 10 olan ve 90°C sıcaklıkta 24 saat tutulan ate-
nolol çözeltisinde, pH 7 de hazırlanan, ışıhta bekletilen
leke (Kromatogram 9'da görülen 2 no'lu leke) ile aynı R_f
değerine sahip bir leke saptanmıştır. Oysa pH sı 10 olan ve
ışıhta bekletilen atenolol çözeltisinde, maddenin-
kine ilaveten Kromatogram 9'da görülen 1 no'lu leke ile aynı

R_f değerine sahip bir leke saptanmıştır. pH 10 da sıcaklık ve ışık etkisiyle farklı bozunma ürününün oluşmasının nedeni açıklanamamıştır.

Kromatogram 9. pH 10 daki Atenolol Çözeltisinin
Işık ve Sıcaklıkta Bozunmasının
İnce Tabaka Kromatografisi ile
Karşılaştırılması



Tatbik edilen çözeltiler :

1. Taze hazırlanmış %1(a/h) atenolol çözeltisi
2. %2(a/h) pH 6 atenolol çözeltisi (ışıkta beklemiş)
3. %2(a/h) pH 10 atenolol çözeltisi (ışıkta beklemiş)
4. %2(a/h) pH 10 atenolol çözeltisi (90°C de tutulmuş)

İnce tabaka kromatogramına ait diğer özellikler Kromatogram 7'de verilen özelliklerle aynıdır.

IV.4. Bozunma ürününe ait özellikler

İzole ettiğimiz bozunma ürününün ışık etkisiyle oluştuğu ve oksijenin bunu katalize ettiği saptanmış ve bu nedenle atenolol çözeltisi UV lambası altında bekletilerek, hızlandırılmış olarak bozunma ürünün elde edilmesi mümkün olmuştur.

Yapısını aydınlatmaya amaçladığımız bozunma ürünü, denediğimiz pH lardan 4-7 'de, ışıkta hızla oluşmaktadır. pH 10 da ise ışıkta ancak 2 ay sonunda çok az bir miktarda oluşmaktadır.

İzolasyon işlemleri ilk önce ışıktan korunmadan yapılmış ancak tek leke olarak saptanan maddenin ışıkta bekletildiğinde ve ısı uygulandığında tekrar bozunmaya uğradığı gözlenmiştir. Bunun üzerine tüm işlemler ışıktan korunarak ve 40°C nin altında yapılmıştır.

İzole edilen bozunma ürününün miktarı, elde edilişi sırasında kayıp olması nedeniyle çok az olmaktadır. UV, IR ve kütle spektrumlarının alınması için bir sorun olmamasına karşın 2 mg gibi çok küçük miktardan NMR spektrumunun alınabilmesi için güçlü bir NMR spektrofotometresi gerekmiştir. Bu nedenle bozunma ürününün NMR analizi İsviçre ETH-Organik Kimya Enstitüsünde bulunan 300 MHz lik NMR spektrofotometresinde yapılmıştır.

Ancak, bozunma ürününe ait elde edilen kütle ve NMR spektrumlarından yapıyı aydınlatmak mümkün olmamıştır. IR spektrumunda ise bazı belirgin pikler olmakla beraber

(Bölüm III.2.2.) kesin bir yoruma gitmek mümkün değildir. Muhtemelen bozunma ürünü elde edildikten bir süre sonra tekrar parçalanmaya uğramaktadır. İzolasyonu sırasında kloroform ile alınmasına ve cam filtreden süzülmesine rağmen NMR spektrumlarında silikajele ait çok sayıda metil grubu pikleri görülmektedir. Buradan maddenin silikajeli tuttuğu söylenebilir. Bu da spektrumu bozmaktadır.

IV.5. Göz çözeltisi ön formülasyonu

Atenololun % 4 (a/h) konsantrasyonunda bir göz çözeltisi formüle edilmiştir. Literatürde pH sı 6 olan atenolol göz çözeltileri kullanılmıştır(74). Bazik bir madde olan (pH=10) atenololun çözünürlüğü pH yükseldikçe azalmaktadır. pH 7'nin üzerinde atenololun çözünürlüğü % 1 (a/h)tır. Yapılan bir çalışmada % 1,2 ve 4 konsantrasyonlar denenmiş (72) ve etkinin konsantrasyona çok az bağımlı olduğu belirtilmiştir. Ancak, diğer tüm çalışmalarda atenolol % 4 (a/h) konsantrasyonda kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada formülasyon sırasında viskozite artırmak amacıyla gözde en çok kullanılan viskozite artırıcı maddeler olmaları nedeniyle metilselüloz, hidroksipropil metilselüloz, polivinil alkol denenmiştir. Korneal penetrasyonu artırması nedeniyle göz çözeltilerinin vizkozitesinin 12-15 cps arasında olması istenmektedir (50). Bu nedenle hazırladığımız formülasyonun viskozitesi bu aralığa getirilmiştir. (II.2.3.1.5). Yüksek konsantrasyonlarında, kullanılan vizkozite artırıcı maddeler gözde iritasyon, bulanık görmeye neden olmaktadır (41, 45,46,48). Bu nedenle denenilen viskozite artırıcı maddelerden

konsantrasyonunun düşük olması nedeniyle ön formülasyonda % 0.45 (a/h) konsantrasyonda metilselüloz kullanılmıştır.

% 4 (a/h) atenolol çözeltisinin osmolalitesi ölçülmüş ve plazmadan hipertonic bulunmuştur. Buna göre, bir izotoni ayarına gerek kalmamıştır. Viskozite artırıcı maddenin ilavesi de zaten çözeltiyi hipertonic yapmaktadır.

Koruyucu madde olarak % 0.02 konsantrasyonunda benzalkonyum klorür kullanılmıştır.

Ön formülasyonda kullanılan maddelerin, atenololun stabilitesi üzerine etkisi incelenmiş, olumlu veya olumsuz yönde etkileri bulunmamıştır (Bölüm III.3.6.).

SONUÇ

Atenololun stabilitesi en iyi pH 10 da olmaktadır. Ancak bir göz çözeltisi formülasyonu için bu pH mümkün değildir. Gözün tolere edebildiği pH 5.5-8 arasındadır (30). Çözünürlüğü nedeniyle göz pH sı olarak kabul edilen pH 7.4 te atenololun % 4 (a/h) lük çözeltisinin hazırlanması mümkün değildir. Stabilite çalışmalarımızın sonucunda atenolol için seçilen pH 6 da hazırlanan çözelti 1 ay süreyle ışıktan korunarak bekletildiğinde maddenin lekelenme ilaveten bir leke daha oluşmaktadır. Bunun nedeni muhtemelen bir miktar ışığın çözeltiye ulaştığı ve oksijen katalizi ile oluştuğu olabilir. Zira bu oluşan lekenin ışık etkisiyle oluştuğu düşünülmektedir.

Bulgularımızın sonucunda atenololun göz çözeltisi için

aşağıda verilen bir ön formülasyon önerilebilir :

Atenolol	% 4 (a/h)
Benzalkonyum klorür	% 0.02 (a/h)
Metilselüloz	% 0.45 (a/h)
Sørensen sodyum sit- rat tamponu	qs 5 ml

pH si 6 olan atenolol çözeltileri ışıkta bekletildiğinde bozunmaya uğradığından, yukarıda verilen ön formülasyonun ışıktan korunarak ve ağız sıkı kapalı kaplarda ambalajlanması gerekmektedir. Bu takdirde stabilite sorunu bir ölçüde çözümlenebilecektir.

İllerdeki çalışmalarda, atenolol çözeltilerinde oluşan bozunma ürünlerinin yapılarını aydınlatacak uygun bir yöntem geliştirmek ve yapıları aydınlatıldıktan sonra bu maddelerin, atenololun farmakolojik ve toksikolojik etkilerini ne ölçüde etkilediğini görmek için in vivo çalışmalar gerekli olabilir.

Ö Z E T

Bu çalışmada, atenolol çözeltilerinin stabilitesi araştırılmış ve elde edilen stabilite bulgularının ışığında, bir göz çözeltisi ön formülasyonu geliştirilmiştir.

Stabiliteye etki eden faktörlerden ışık, pH, oksijen, sıcaklık ve bunların birlikte etkisi incelenmiştir.

Atenolol çözeltileri sıcaklıkla belirgin bir bozunmaya uğramamıştır. Denenen beş pH içinden 4,5,6,7 de hazırlanan atenolol çözeltileri ışıkta bekletildiğinde birinci hafta sonunda bozunmakta ve çok sayıda bozunma ürünü meydana gelmektedir. Işıktan korunarak bekletilenlerde ise yavaş ve daha az bir bozunma olmaktadır. pH 10 da hazırlanan ve ışıktan korunarak bekletilen çözeltilerse, takip edildikleri üç ay süre boyunca stabil kalmıştır. Atenolol çözeltilerinde, ışık etkisi ile olan bozunmayı katalize eden atmosferik oksijenin tek başına direkt bir etkisi bulunmamıştır.

Meydana gelen bozunma ürünlerinden, göz çözeltisinin kullanım süresi içinde ve en çok miktarda oluşmasının yapı-sı aydınlatılmak istenmiş, ancak bozunma ürününün kendisinin de stabil olmaması nedeniyle alınan UV, IR, NMR ve kütle spektrumlarından bir sonuca ulaşılamamıştır.

% 4 (a/h) konsantrasyonda ve pH sı göz yaşı pH sı olan 7.4 civarında olan bir göz çözeltisi formülasyonu geliştirilmesi planlanmış, ancak çözünürlük ve stabilite nedeniyle pH 6 seçilmiştir. pH ayarı Sørensen sodyum sitrat

tamponu ile yapılmıştır. Hazırlanan göz çözeltilisinin viskozitesini yükselterek korneadan penetrasyonunu artırmak amacıyla, viskozite artırıcı maddeler olan metilselüloz, hidroksipropil metilselüloz, polivinilalkol denenmiştir. Formülasyonda % 0.5 konsantrasyonda metilselüloz ve koruyucu olarak ise % 0.02 konsantrasyonda benzalkonyum klorür kullanılmıştır. Ayrıca hazırlanan bu ön formülasyonun da stabilitesine bakılmıştır. Işıktan korunarak yani renkli cam kaplarda veya plastik kaplarda ambalajlandığında ve kaplar ağzı sıkı kapalı tutulduğunda kullanım süresi olarak düşünülen 1 ay içinde hazırlanan formülasyonun stabil kaldığı söylenebilir.

S U M M A R Y

In this study, the stability of atenolol solutions is investigated and a preformulation of an ophthalmic solution is developed in the light of the stability findings.

The effect of factors such as light, pH, oxygen and temperature as well as their combined effects on the stability is studied.

It is found that temperature has no significant effect on the stability of atenolol solutions when stored under day-light, atenolol solutions prepared at pH 4 - 7 degrade at the end of the first week forming numerous degradation products. A slower degradation process is observed when the atenolol solutions are protected from light. The stability lasted during the three month follow-up period when the atenolol solution is prepared at pH 10 and protected from light. Atmospheric oxygen has a catalytic effect on the degradation of atenolol solutions caused by light but has no direct effect.

Among the degradation products, identification of the one which forms first is tried but UV, IR, NMR and Mass spectrums were insufficient because the degradation product itself is unstable too.

To develop a preformulation of an ophthalmic solution of atenolol at 4 % (w/v) concentration and pH almost 7.4

which is the pH of the lacrimal fluid is planned, however pH 6 is selected for solubility and stability reasons. pH is adjusted by Sørensen sodium citrate buffer. In order to increase the penetration of the ophthalmic solution through the cornea, thickening agents such as methylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose and polyvinylalcohol are evaluated to increase the viscosity. Methylcellulose at 0.5 % (w/v) concentration which is non-irritant at this concentration is selected and as the preservative agent benzalkonium chloride at 0.02 % (w/v) concentration is used. The stability of this preformulation is also studied.

The developed preformulation could be said to be stable during the administration period (which is thought to be one month) when the solution is packed in brown glass or plastic containers which are light-resistant and the containers tightly closed.

KAYNAKLAR

1. Barrett, A.M., Carter, J., Fitzgerald, J.D., Hull, R., A new type of cardioselective adrenoceptive blocking drug, *Brit.J.Pharmacol.* 48, 340P (1973).
2. Phillips, C.I., Howitt, G., Rowlands, D.J., Propranolol as ocular hypotensive agent, *Brit.J.Ophthalmol.*, 51, 222 (1967).
3. Vale, J., Phillips, C.I., Practolol (Eraldin) eye drops as an ocular hypotensive agent, *Brit.J.Ophthalmol.*, 57, 210, (1973).
4. Tsukahara, S., et al., Application of a beta-blocker pindolol in the treatment of glaucoma, *Ganka Rinsho Iho* 10, 1214 (1975).
5. Bonomi, L., Steindler, P., Effect of pindolol on intra-ocular pressure, *Brit.J.Ophthalmol.*, 59, 301 (1975).
6. Zimmerman, T.J., Kaufman, H.M., Timolol, a beta-adrenergic blocking agent for the treatment of glaucoma, *Arch. Ophthalmol.*, 95, 601 (1977).
7. Idem, Timolol, dose response and duration of action, *Arch.Ophthalmol.*, 95, 605 (1977).
8. Katz, I.M., Berger, E.T., Effects of iris pigmentation on response of ocular pressure to timolol, *Surv.Ophthalmol.* 23, 395 (1979).
9. Boger, W., Timolol, Short time escape and long term drift, *Ann.Ophthalmol.*, 11, 1239 (1979).
10. Heel, R.C., Brogden, R.N., Speigh, T.M., Timolol : A review of its therapeutic efficacy in the topical treatment of glaucoma, *Drugs*, 17, 38 (1979).

11. Schmitt, C.J., Lott, V.J., Penetration of timolol into the rabbit eye, *Arch.Ophthalmol.*, 98, 547 (1980).
12. Wilson, R.P., Spaeth, G.L., Poryzees, E., The place of timolol in the practice of ophthalmology, *Ophthalmology*, 87, 451 (1980).
13. Salminen, L., Urtti, A., Disposition of ophthalmic timolol in treated and untreated rabbit eyes, a multiple and single dose study, *Exp.Eye Res.*, 38, 203 (1984).
14. Buskirk, E.M., Adverse reactions from timolol administration, *Ophthalmology*, 87, 447 (1980).
15. Bonomi, L., Perfetti, S., Comparison of the effect of nine beta-adrenergic blocking agents on intraocular pressure in rabbits, *Albrecht V.Graefes Arch.Klin.exp. Ophthalm.*, 210, 1 (1979).
16. Phillips, C.I., Gore, S.M., Macdonald, M.J., Cullen, M.C., Atenolol eye drops in glaucoma : a double-masked, controlled study, *Brit.J.Ophthalm.*, 61, 349 (1977).
17. Dhir, S.P., Sharma, P.L., Jain, I.S., Treatment of glaucoma with atenolol eye drops, *Indian Journal of Ophthalmology*, 29, 229 (1981).
18. Lintner, C.J., Stability of pharmaceutical products, in Osol, A. (ed) : *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16. baski, Mack Publishing Co., Easton, 1980.

19. Shatton, E., Ridgway, K., Physical Pharmaceutics, Clarendon Press, Oxford, 1974.
20. Parrot, E.L., Pharmaceutical Technology, Fundamental Pharmaceutics, Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1971.
21. Lachman, L., de Luca, P., Kinetic Principles and Stability Testing, in Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L., (eds) Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 2. baskı, Lea and Febiger, Philadelphia, 1976.
22. Mollica, J.A., Ahuja, S., Cohen, J., Stability of pharmaceuticals, J.Pharm.Sci., 67, 443 (1978).
23. Connors, K.A., Amidon, G.L., Kenyon, L., Chemical Stability of Pharmaceuticals, John Wiley and Sons, Inc., N.Y., 1979.
24. Martin, A.N., Swarbrick, J., Cammarata, A., Physical Pharmacy, 2. baskı, Lea and Febiger, Philadelphia, 1973.
25. Garret, E.R., Prediction of stability of drugs and pharmaceutical preparations, J.Pharm.Sci., 51, 811 (1962).
26. Barrante, J.R., Physical Chemistry for the Life Sciences, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1977.
27. Newton, D.W., Physicochemical determinants of incompatibility and instability in injectable drug solutions and admixtures, Am.J.Hosp.Pharm., 35, 1213 (1978).
28. Garstensen, J.T., Theory of Pharmaceutical Systems, Volume I, Academic Press, London, 1972.
29. Temizer, A., Derişik tiyonin çözeltilisinin fotokimyası, Doktora tezi, H.Ü.Sağ.Bil.Fak., Ankara, 1976.
30. Deardorff, D.L., Ophthalmic preparation in Osol, A.,

- Remington's Pharmaceutical Sciences, 16. baskı, Mack Publishing Co., Boston, PA, 1980.
31. Mitra, A.K., Mikkelsen, T.J., Ophthalmic solution buffer systems I : The effect of buffer concentration on the ocular absorption of pilocarpine, International Journal of Pharmaceutics, 10, 219 (1982).
 32. Jenkins, G.L., Sperandio, G.J., Latiolais, C.J., Clinical Pharmacy, A text for Dispensing Pharmacy, Mc Graw-Hill Inc., New York, 1966.
 33. İzgü, E., Farmasötik Teknoloji II, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1983.
 34. Mullen, W., Shepherd, W., Labowitz, J., Ophthalmic preservatives and vehicles, Surv. Ophthalmol., 17, 469 (1973).
 35. Wazniak-Parnowska, W., New approach to preserving eye drops, Pharmacy International, 1, 91 (1981).
 36. Burstein, N.L., Kramer, S.G., Corneal cytotoxicity of applied drugs, vehicles, and preservatives, Surv. Ophthalmol., 25, 15 (1980).
 37. Davies, D.J.G., Agents as preservatives in eye drops and contact lens solutions, J. Appl. Bacteriology, 44, Sxix (1978).
 38. Lawrence, C.A., An evaluation of chemical preservatives for ophthalmic solutions, J. Amer. Pharm. Assoc., 44, 457 (1955).
 39. Hobbs, R.J., Sasi, S.A., Davies, D.J.G., The testing of preservatives for ophthalmic preparations, J. Pharm.

- Pharmacol., 31, Suppl. (1979).
40. Blaug, S., Canada, T.A., Relationship of viscosity, contact time and prolongation of action methylcellulose containing ophthalmic solutions, Amer. J. Hosp. Pharm., 22, 662 (1965).
 41. Swan, C.K., Use of methylcellulose in ophthalmology, Arch. Ophthalmol., 33, 378 (1945).
 42. Mueller, W.H., Deardorff, D.L., Ophthalmic vehicles : The effect of methylcellulose on the penetration of Homatropin hydrobromide through the cornea, J. Amer. Pharm. Assoc., 45, 334 (1956).
 43. Haas, J.S., Merrill, D.L., The effect of methylcellulose on responses to solutions of pilocarpine, Amer. J. Ophthalmol., 54, 21 (1962).
 44. Chrai, S.S., Robinson, J.R., Ocular evaluation of methylcellulose vehicle in albino rabbits, J. Pharm. Sci., 63, 1218 (1974).
 45. Linn, L.M., Jones, T.L., Rate of lacrimal excretion of ophthalmic vehicles, Amer. J. Ophthalmol., 65, 76 (1976).
 46. Trueblood, J.H., Rossomondo, R.M., Carton, W.H., Wilson, L.A., Corneal contact times of ophthalmic vehicles, Arch. Ophthalmol., 93, 127 (1975).
 47. Benedetto, D.A., Shah, D.O., Kaufman, H.E., The instilled fluid dynamics and surface chemistry of polymers in precocular tear film, Invest. Ophthalm., 14, 887 (1975).

48. Krishna, N., Mitchell, B., Polyvinyl alcohol as an ophthalmic vehicle, *Amer. J. Ophthalmol.*, 59, 860 (1965).
49. Saettone, M.F., Savigni, P., Vehicle effects on ophthalmic bioavailability: the influence of various vehicles on the activity of pilocarpine in rabbit and man, C.- R.- Congr. Eur. Biopharm. Pharmacocinet., 1st. , 151-5 edited by Aiache, J.M., Hirtz, J., Tech. Documentation, Paris, 1981.
50. Patton, T.F., Robinson, J.R., Ocular evaluation of polyvinyl alcohol vehicle in rabbits, *J. Pharm. Sci.*, 64, 1312 (1975).
51. Adler, C.A., Maurice, D.M., Paterson, M.E., Effect of viscosity of the vehicle on the penetration of fluorescein in to the human eye, *CA* 74: 123572y (1971).
52. The United States Pharmacopeia (USP XX) 20. baskı-National Formulary (NF XV) 15. baskı, Mack Printing Comp., Easton (1980).
53. The Merck Index, 9. baskı, Merck and Co. Inc., Rahway (1976).
54. Wang, P., Lien, E.J., Effect of different buffer species on partition coefficients of drugs used in quantitative structure-activity relationships, *J. Pharm. Sci.*, 69, 662 (1980).
55. Lullman, H., Wehling, M., The binding of drugs to different polar lipids in vitro, *Biochemical Pharmacology*, 28 (Part 3) 3409, 1979.
56. Martindale The Extra Pharmacopeia, 27. baskı, The Pharmaceutical Press, London, 1978 .
57. Woods, P.B., Robinson, M.L., An investigation of the comparative liposolubilities of β - adrenoceptor blocking agents, *J. Pharm. Pharmacol.*, 33, 172 (1981).

58. Kaye, C.M., A simple spectrophotofluorometric method for the measurement of ICI 66082 in plasma and urine, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, 1, 84 (1974).
59. Scales, B., Copsey, P.B., Gas chromatographic determination of atenolol in biological samples, *J. Pharm. Pharmacol.*, 27, 430 (1975).
60. Malbica, J.O., Monson, K.R., New and expedient determination of atenolol in biological samples, *J. Pharm. Sci.*, 64, 1992 (1975).
61. Wan, S., Maronde, R.F., Matin, S.R., GLC determination of atenolol and β -blocking agent in biological fluids, *J. Pharm. Sci.*, 67, 1340 (1978).
62. Schäfer, M., Mutschler, E., Fluorometric determination of atenolol in plasma and urine by direct evaluation of TLC, *J. Chrom.*, 169, 477 (1979).
63. Cruickshank, J.M., The clinical importance of cardioselectivity and lipophilicity in beta-blockers, *American Heart Journal* 100, 160 (1980).
64. Kayaalp, O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt II, 2. baskı, Nüve Matbaası, Ankara, 1982.
65. Elliot, M.J., Cullen, P.M., Phillips, C.I., Ocular hypotensive effect of atenolol (Tenormin, ICI), A new beta-adrenergic blocker, *Brit. J. Ophthal.*, 59, 296 (1975).
66. Dhir, S.P., Sharma, P.L., Chopra, M.L., Jain, I.S., Effect of single oral dose of atenolol (ICI 66082) on IOP, *Bull. P.G.I.*, 10, 206 (1976).

67. Macdonald, M.J., Cullen, P.M., Phillips, C.J., Atenolol versus propranolol, *Brit.J. Ophthalmol.*, 60, 789 (1976).
68. Macdonald, M.J., Gore, S.M., Cullen, P.M., Phillips, C.I., Comparison of ocular hypotensive effects of acetazolamide and atenolol, *Brit.J.Ophthal.*, 61, 345, (1977).
69. Stenkula, E., Wettrell, K.A., A dose-response study of oral atenolol administered once daily in patients with raised IOP, *Graefe's Arch.Clin.Exp.Ophthal.*, 218, 96 (1982).
70. Öhrström, A., Pandolfi, M., Regulation of IOP and pupil size by beta-blockers and epinephrine, *Arch.Ophthal.*, 98, 2182 (1980).
71. Wettrell, K., Pandolfi, M., Effects of oral administration of various beta-blocking agents on the intraocular pressure in the healthy volunteers, *Exp.Eye Res.*, 21, 451, (1975).
72. Wettrell, K., Pandolfi, M., Effect of topical atenolol on IOP, *Brit.J.Ophthal.*, 61, 334, (1977).
73. Phillips, C.I., Gore, S.M., Gunn, P.M., Atenolol versus adrenaline eye drops and an evaluation of these two combined, *Brit.J.Ophthal.*, 62, 296 (1978).
74. Wettrell, K., Wilke, K., Pandolfi, M., Topical atenolol versus pilocarpine: A double blind study of the effect on ocular tension, *Brit.J.Ophthal.*, 62, 292 (1978).
75. Hill, S.E.W., Lewis, K., Stewart Jones, J.H., Wadsworth, J.,

- Turner, P., Effect of local atenolol on IOP in normal subjects using a non-invasive method, *Pharmatherapeutica*, 2, 136 (1979).
76. Zimmerman, T.J., Boger, W.P., The beta-adrenergic blocking agents and the treatment of glaucoma, *Surv. Ophthalmol.*, 23, 347 (1979).
77. Weekers, R., Brach-Collignon, J., Beta stimulants et bloquants, *J. Fr. Ophthalmol.*, 4, 149 (1981).
78. Wettrell, K., Pandolfi, M., Beta-adrenergic blocking agents in the management of glaucoma in Below, J.G. (ed): *Glaucoma Manual*, NY Masson, 367 (1979).
79. Jack, D.B., Dean, S., Laughler, S., Kendall, M.J., Detection of some antihypertensive drugs and their metabolites in urine by thin-layer chromatography, II A further five beta blockers and dihydralazine, *J. Chrom.*, 196, 189 (1980).
80. Stahl, E., *Thin-layer Chromatography, A Laboratory Handbook*, Springer-Verlag, Berlin, 1969.
81. *Dyeing Reagents for Thin-layer and Paper Chromatography*, E. Merck, Darmstad, 1976.
82. Gillion, R.B. et al., Revised HPLC determination of atenolol in plasma and urine, *Anal. Lett.*, 16, 941 (1983)
83. Cogan, D.G., Hirsch, O., The cornea, *Arch. Ophthalmol.*, 32, 276 (1944).

1959 yılında Ankara'da doğdum. İlkokulu T.E.D.Ankara Koleji, Ortaokulu SHAPE High School, Mons-Belçika'da okuduktan sonra liseyi Samsun Anadolu Lisesinde bitirdim. Aynı yıl A.Ü.Eczacılık Fakültesine girdim. 1980 yılında öğrenimimi tamamladım ve halen çalışmakta olduğum H.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak girdim.