

176530

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**TÜRKİYE'DE KULLANILAN
PARENTERAL AMPİSİLİN
PREPARATLARININ KONTROLÜ**

Farmasötik Kimya Programı
Bilim Uzmanlığı Tezi

Ecz. SARE PEKCAN

Ankara - 1980

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ**

**TÜRKİYE'DE KULLANILAN
PARENTERAL AMPİSİLİN
PREPARATLARININ KONTROLÜ**

**Farmasötik Kimya Programı
Bilim Uzmanlığı Tezi**

Ecz. SARE PEKCAN

**Rehber Öğretim Üyesi
Doç.Dr.A.ALTAN BİLGİN**

Ankara – 1980

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

GİRİŞ

GENEL BİLGİLER

Ampisilin	4
Penisilinlerin Kimyasal Özellikleri	5
Ampisilin Miktar Tayini Yöntemleri	10

DENEYSEL KISIM

Araç ve Gereçler	19
Yöntem	34
İlâçların Analizi	41
İyodometrik Analizler	44

BULGULAR	45
----------------	----

SONUÇ ve TARTIŞMA	63
-------------------------	----

ÖZET	74
------------	----

ÖZGEÇMİŞİM	77
------------------	----

EK I	78
------------	----

LİTERATÜR	79
-----------------	----

G İ R İ Ő

İngiliz araştırıcı Alexander Fleming, 1929 yılında Penicillium notatum suğu olan bir mantarın, g¼c¼l¼ antibakteriyel etki g¼steren bir madde yaptığını g¼zledi. Bu buluştan uzunca bir s¼re sonra, Oxford Üniversitesi'nden Chain ve Florey, bir penisilin tuzunun izolasyonunu başarıp hayvandaki (1940), Abraham ve arkadaşları ise insandaki antibakteriyel etkisini kanıtladılar (1941).

Bunu izleyen yıllarda, penisilin yapısının aydınlatılması konusunda yoğun çalışmalar başladı. Bu iř pek çok araştırma grubunun ortak çalışması sonucu başarıldıysa da bu konuda en ¼nemli katkı, Abraham, Baker, Chain ve Robinson'dan oluşan Oxford araştırma grubunundur. İkinci D¼nya Savaşı'nın bitiminde, yapısının aydınlatılıp, gerekli farmakolojik deneylerin tamamlanmasından sonra, penisilin klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlandı.

Kullanılan mantar cinsine ve fermentasyon ortamının bileşimine bağlı olarak, yapısal farklılıklar g¼steren penisilinlerin elde edilebileceği bulgusu, o g¼ne dek bilinen penisilin G, penisilin K, penisilin N, penisilin F, penisilindihidro F ve penisilin X gibi doğal penisilinlerden başka, biosentetik penisilinlerin elde edilmesine yol açtı. Biosentez, penisilinlerin biyolojik ve farmakolojik ¼zelliklerinde istenen değişikliklerin yapılmasına, sınırlı olmakla birlikte, olanak vermekteydi. Bu yolla elde edilen penisilinler, penisilin V, penisilin S, penisilin O, Penisilin T v.s. dir.

Penisilin molekülünün 6-aminopenisillanik asit kısmının izolasyonundan sonra, bu bileşiği farklı yapıda asit bileşenleriyle açılme yoluyla yarı sentetik penisilinler elde edildi. Böylece asit ortamda kararlılık, penisilinaz enzimine karşı dayanıklılık ve antibakteriyel spektrum açısından istenen özellikte penisilin yapımı sağlandı (fenetisilin, propisilin, fenbenisilin, metisilin, nafsilin, oksasilin, kloksasilin, dikloksasilin, ampisilin v.s.).

Bu çalışmaya konu olan ampisilin, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere etkin, geniş spektrumlu, aside dayanıklı bir yarı sentetik penisilin olması nedeniyle ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bilindiği gibi antibiotikler, uygun seçim, yeterli doz ve süreyle kullanılmaları halinde, kesin sonuç veren kemoterapötiklerdir. İlacın yanlış seçimi, yeterli doz ve sürelerle kullanılmamasının sakıncaları ise büyüktür.

1974 Türk Farmakopesi'nin ampisilin sodyum için vermiş olduğu % etken madde alt sınırı, % 90 dır.(1). Preparasyonların içindeki etken madde miktarının, ilacın ambalajında belirtilenden az olması, antibiotiğin tedavi değerini düşürür. Ayrıca gerekli dozun altında antibiotik kullanılması, bakteri direncine neden olan etkenlerden biridir. Preparasyonlarda, ambalajlarında belirtilenden fazla etken madde bulunması, istenen dozun üstünde antibiotik kullanılmasına neden olur. Aşırı dozda ampisilin kullanımının ise bazı toksik belirtilere yol açabileceği bilinmektedir.

Görüldüğü gibi, Türk Farmakopesi, ampisilin sodyum preparasyonlarında % 10 oranında yabancı maddeye izin vermektedir. Bu oran prepa-

rasyonlara konması gerekebilen tampon, stabilizan ve bakterisid maddeler kadar, ilacın yapım tekniğinden ileri gelebilecek veya yapımından kullanılışına kadar geçen bekleme süresi içinde oluşabilecek safsızlıklar için de öngörülmüş olmalıdır.

Bu çalışmada, Türkiye'de kullanılan ve beş ayrı firma tarafından yapılmakta olan injektabl ampisilin preparasyonlarının kontrolü amaçlanarak;

a- Her firmanın preparasyonlarından beşer örnek (toplam 25 örnek) Ankara'nın değişik eczanelerinden toplanmış,

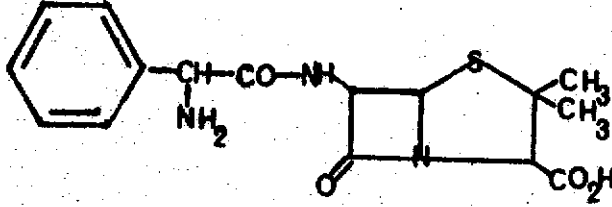
b- İçerdikleri kuru toz madde miktarı tartımla saptanmış,

c- İçerdikleri % etken madde miktarı, 1974 Türk Farmakopesi'nin verdiği spektrofotometrik yöntemle benzeyen ve farmakolojik etkinlik için gerekli olan, tiyazolidin- β -laktam halkasını tam olarak taşıyan yapılara özgül olan bir yöntemle belirlenmiş,

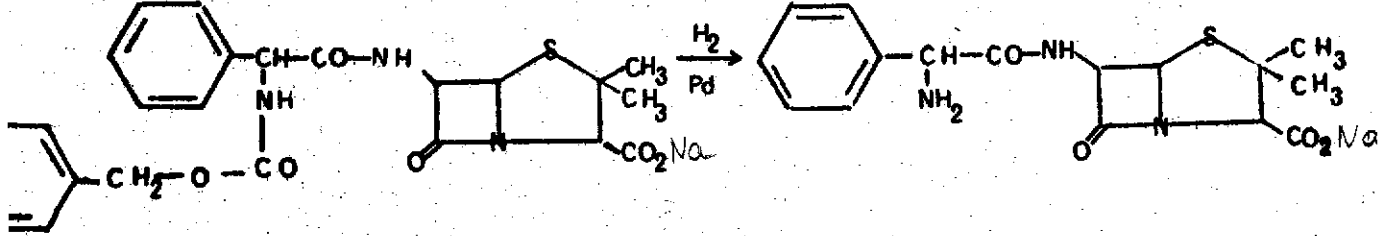
d- Ayrıca bu preparasyonların içerdiği aşırı ve eksik dozların, F.D.A.nın (2) izin verdiği aşırı-eksik doz sınırları dışına çıkıp çıkmadığı kontrol edilmiştir.

GENEL BİLGİLER

AMPİSİLİN



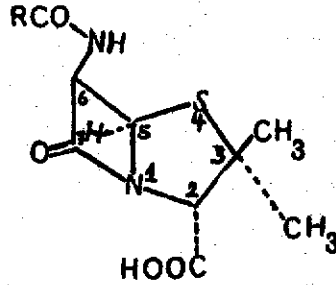
Ampisilin, 6- [D-(2-amino-2-fenilasetamido)] -3,3-dimetil-7-okso-4-tiya-1-azabisiklo [3.2.0] heptan-2-karboksilik asit, ilk kez 1961 yılında Doyle ve arkadaşları tarafından, *o*-benziloksikarbonilaminobenzilpenisilin sodyumun, palladyum katalizörler üstünde hidrojenlenmesi ile elde edilmiştir (3).



Bileşik, beyaz, kristalize, kokusuz, acı bir toz olup, e.d.(dek.) 199-202°C dir. Ampisilinin sodyum tuzu, beyaz, kristalize, kokusuz, acı bir toz olup higroskopik özelliktedir. Ampisilinin anhidr şekli ve sodyum tuzu dışında, ampisilin trihidrat, ampisilin monohidrat, ampisilin seskihidrat adlı, farklı oranda kristal suyu içeren şekilleri tanımlanmıştır (4).

Bileşimin D (-) şekli, Gram (+) bakterilere karşı L (+) epi-
merinden daha etkindir. Gram (+) bakteriler üstündeki etkisi, benzil-
penisilininkine yakındır. Gram (-) bakteriler üstündeki bakterisid
etkisi nedeniyle ise bu tür bakteriler üstünde bakteriostatik etkisi
olan geniş spektrumlu antibiotiklerden kloramfenikol ve tetrasiklinlere
yeğ tutulmaktadır. Bunun dışında, yan zincir α - karbon atomunda, asit
ortamda negatif indüktif etkisi olan bir amino grubunun bulunması, bu
antibiyotigi asit ortamda kararlı kıldığından, parenteral yolla olduğu
kadar, oral yolla da yaygın olarak kullanımına neden olmuştur.

Günümüzde, bütün penisilinlerin, hepsinde ortak olarak bulunan
ve 6-aminopenisillanik asit adıyla bilinen bir çekirdek ve bu çekirde-
ğin 6 No.lu karbon atomu üstündeki amino grubuna bağlı, bir penisilin-
den diğerine farklılık gösteren bir karboksilik asit artığından (R) oluş-
tuğu bilinmektedir.



Ampisilinde bu asit bileşeni, α -aminofenilasetik asittir.

6-Aminopenisillanik asit çekirdeğini oluşturan, tiyazolidin- β -laktam
yapısındaki kondanze halka sistemi N_1-C_5 eksenini boyunca katlanmıştır.
Amid grubunun bağlı olduğu karbon atomu (C_6), L-konfigürasyonunda olup,
biosentetik olarak L-sisteinden türemiştir. Karboksil grubunu taşıyan
karbon atomu da asimetric olup (C_2), D-konfigürasyonuna sahiptir. Bu
nedenle karboksil grubu, halka sisteminde, amid grubuna ters olacak şe-
kilde düzenlenmiştir.

PENİSİLİNLERİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ (5-10)

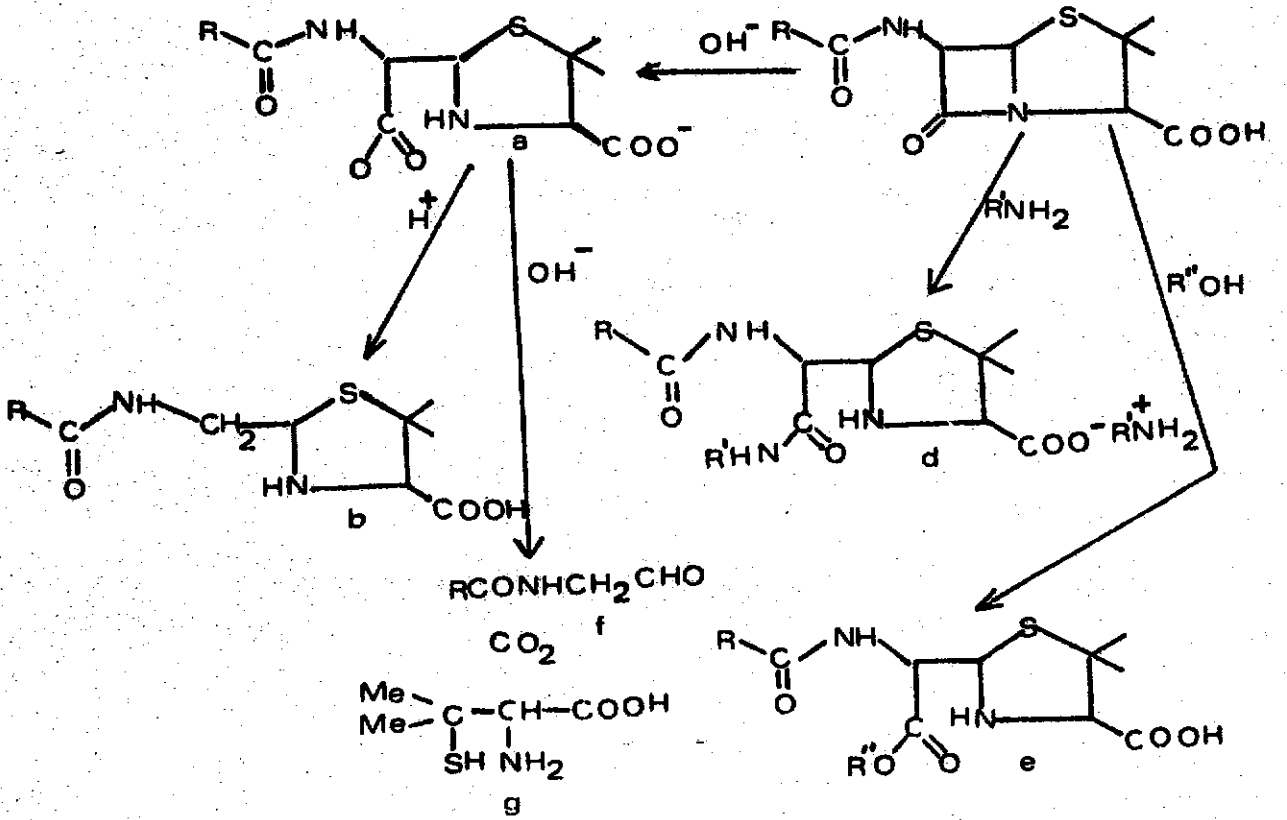
Tiyazolidin- β -laktam yapısının biyolojik etkinlik için gerekli olması nedeniyle, ampisilinin çeşitli ortam ve koşullardaki reaksiyonlarını bilmekte yarar vardır.

Burada, penisilinlerin kimyasal özelliklerinin, ufak tefek ayrıntılar dışında ortak olması nedeniyle, ampisilinin kimyasal özellikleri, penisilinler genelinde anlatılacak, ampisilinin gösterdiği farklı davranışlar ise ayrıca belirtilecektir.

Penisilin çekirdeği, bisiklik tiyazolidin- β -laktam halkası, nükleofilik ve elektrofilik maddelerle nükleofilik özelliği olan su moleküllerine karşı duyarlıdır. Penisilinlerin önemli bir reaksiyonu olan β -laktam bölünmesi, bu basamağı izleyen diğer basamaklardan sorumlu tutulmaktadır. β -Laktam yapısı düzlemsel olmayan bir kondanze halka sistemi üstünde olduğu için, amid rezonansı engellenir. Bu da maddenin nükleofillerle parçalanması için gerekli aktivasyon enerjisinin düşük olmasına ve yapının kararsızlığına neden olur.

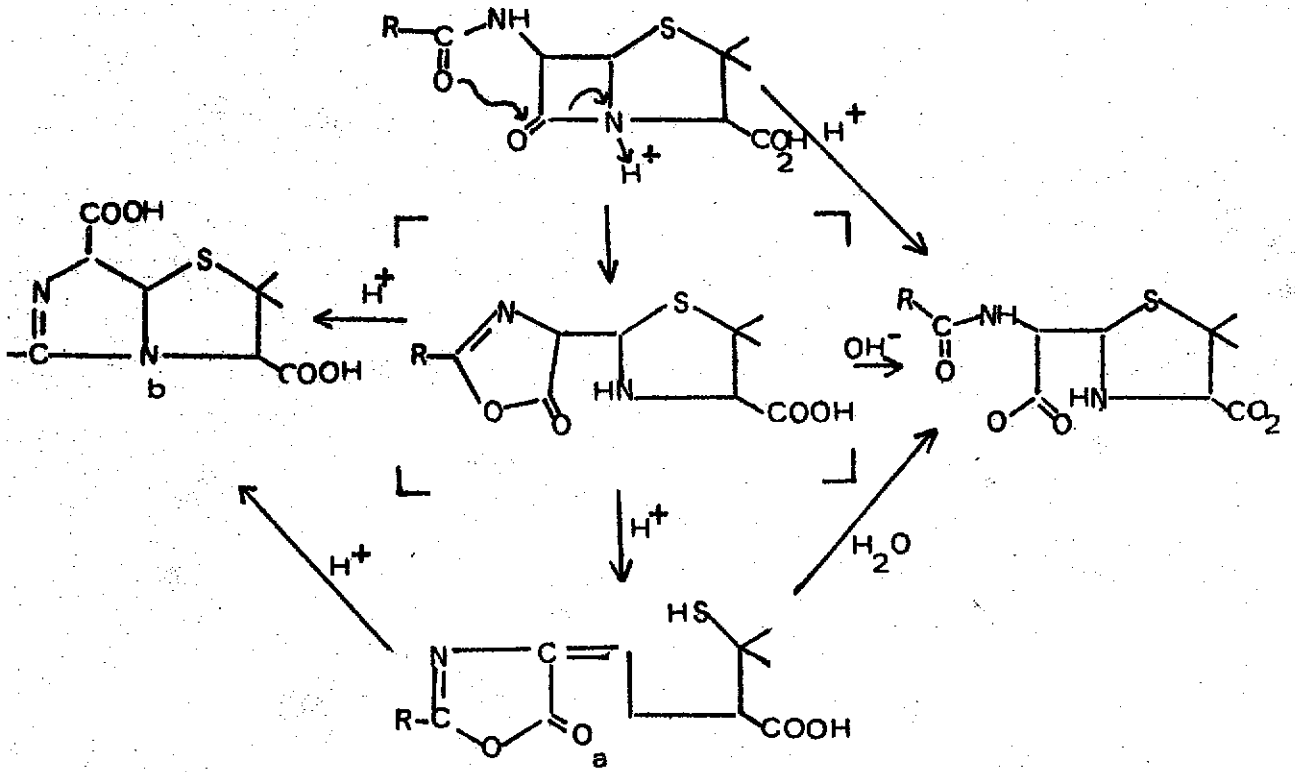
Bütün penisilinler, hidroksil iyonları, primer ve sekonder aminler ve benzeri nükleofillere karşı aşırı duyarlıdırlar. Penisilinlerin alkali hidroliz ürünü, biyolojik etkinliği olmayan penisilloik asittir (a),

Penisilloik asit, tuzları ve esterleri halinde sulu çözeltide kararlı olup, asitlendirildiğinde 1 mol karbon dioksit kaybederek penilloik aside (b) dönüşür. Enerjik şartlarda, penisilloik asit tautomeri olan penamaldik aside geçiş söz konusudur (c). Aminlerle (örneğin alkilaminler), alkilamonyum penisilloilalkilaminler (d), alkol ve karbohidratlarla penisilloik asit esterlerini vererek reaksiyona girerler (e). β -Laktamazlar, penisilinleri penisilloik asitlere dönüştürecek yapıda enzimlerdir. Penisilinlerin en son parçalanma ürünleri, penilloaldehid (f), karbon dioksit ve penisillamindir (g).



Penisilinlerin kondanze halka sistemindeki kükürt ve azot, elektrofollere karşı duyarlıdırlar. Kuvvetli asit ortamda oksazolon yapısında bir madde olan penisillenik asit (a) üzerinden penillik asit (b),

zayıf asit veya nötr ortamda, penisillenik asit oluşur. Penisillenik asitler genellikle çok kararsız olup, ortamın pH değerinden bağımlı olarak penillik ve penisilloik asitlere dönüşürler. Tiyazolidin halkasının kükürt atomu, metal iyonlarına karşı duyarlı olup, nötr ortamda, bu halkanın açılmasıyla sonlanan reaksiyonlara neden olur.

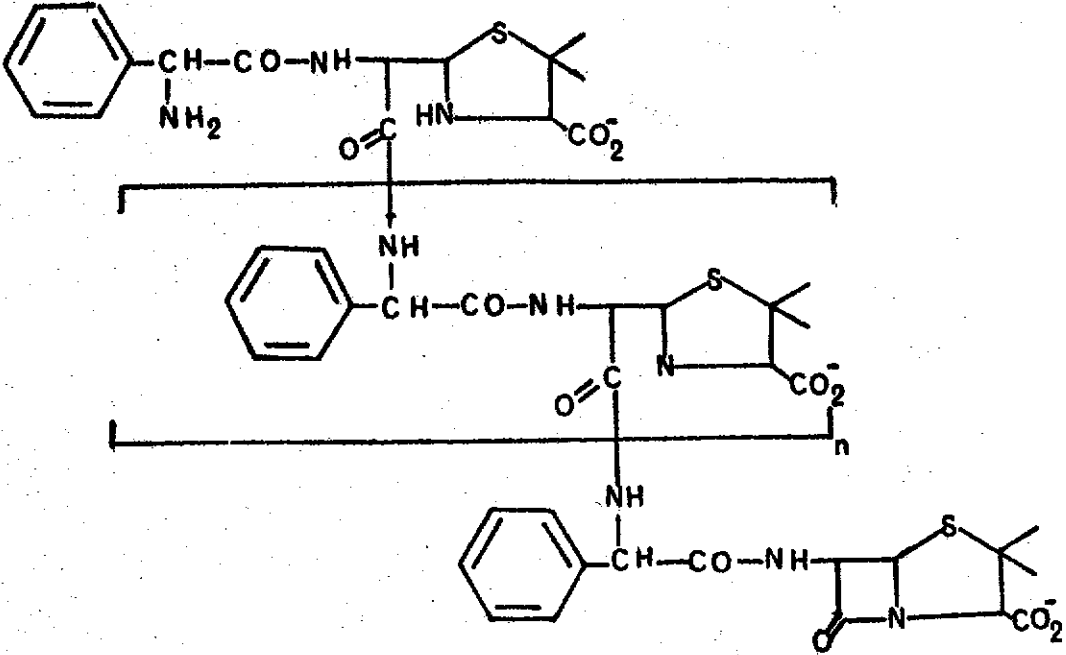


Penisilin-penisillenik asit dönüşümünde yan zincirin yapısının rol oynadığı açıktır. α -Karbon atomunda güçlü elektron çekici bir grupla süstitüsyonun, penisilinin asit çözeltideki kararlılığını önemli ölçüde etkilediği görülür. Yan zincir asidinin pK_a değeri ile bunlardan türeyen penisilinlerin asit ortamdaki kararlılıkları arasında bağıntı olduğu saptanmıştır (Tablo I)

TABLO I: Penisilinlerin sulu çözeltide, asit ortamdaki kararlılıkları ile yan zincir asitlerinin pK_a -değerleri arasındaki bağıntı (3)

Yan zincir α -karbon atomu süstitüenti	Penisilin % 50 sulu etanolde pH 1 ve 35 C deki yarılanma ömrü	Yan zincir asidinin % 50 sulu etanol için-deki pK_a değeri
R - H	3.5 dak	5.6
R - OCH_3	77 dak	4.6
R - Cl	300 dak	4.0
R - NH_3^+	660 dak	3.2

Ampisilin de yukarıda sözedilen koşullarda aynı reaksiyonları verir. Ancak yan zincir α -karbon atomu üstündeki amino grubu, parçalanma yolunu etkilememekle birlikte, hızını etkiler. Bundan başka, ampisilin, % 1 den düşük konsantrasyonlarda, sulu çözeltide bekleme sonucu, β -laktam halkası içermiyen, % 1 in üstündeki konsantrasyonlarda ise β -laktam halkası içeren dimer ve polimerler verdiği bildirilmiştir.



AMPİSİLİN MİKTAR TAYİNİ YÖNTEMLERİ

Mikrobiyolojik Yöntemler

Antibiotiğin D (-) ve L (+) olmak üzere iki enantiomerinin bulunması ve bunlardan birincisinin daha güçlü antibakteriyel etkisinin olması nedeniyle, tedavi değerini en iyi şekilde belirleyen yöntemler, mikrobiyolojik yöntemlerdir.

Literatürde, F.D.A. nın diğer penisilinler yanında ampisilin için de vermiş olduğu, test organizma olarak *Sarcina lutea* üstündeki inhibitör etkinin belirlenmesine dayanan agar difuzyon tekniği (11) ve türbidimetrik yöntemlerden (12), başka, Platt ve arkadaşlarınca geliştirilmiş olan, test organizma olarak *Streptococcus faecalis* kullanılan otomatize bir türbidimetrik yöntem (13), Jones ve Palmer (14) ile Grimshaw ve Jones'un (15) ampisilin ve karbenisilin karışımlarına uyguladıkları, test organizma olarak *Escherichia coli* kullanılan ve ortamın karbon dioksit basıncı değişikliklerinin ölçülmesi esasına dayanan otomatize mikrobiyolojik yöntemler geçer.

Kimyasal ve Fizikokimyasal

Yöntemler

I. İyodometrik Miktar Tayini Yöntemleri

Ampisilin miktar tayininde kullanılan geleneksel iyodometrik yöntemde ayarlı çözelti olarak 0.01 N iyot ve 0.01 N sodyum tiosülfat çözeltileri, endikatör olarak nişasta iyodür patı kullanılır. Ampisilin, alkali hidrolizle penisilloik asit türevine dönüştürüldükten sonra, iyot çözeltisinin aşarısıyla muamele edilip, iyodun fazlası

0.01 N sodyum tiyosülfat çözeltisiyle geri titre edilir. Sonuca, hidrolize edilmeksizin titre edilen ampisilin çözeltileriyle ilk çözeltiler için harcanan 0.01 N iyot çözeltisi hacimleri arasındaki farktan gidilir (16).

Ampisilin miktar tayini için, bahsedilen geleneksel yöntemin dışında, başka iyodometrik yöntemler de geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri, ampisilin ve 5 farklı β -laktam antibiotiği için tanımlanmış olup, antibiotik çözeltisinin asit ortamda iyot monoklorürle muamelesi sonucu açığa çıkan iyodun, ayarlı potasyum iyodat çözeltisiyle titrasyonu şeklinde uygulanır (17).

Alicino (18), ampisilin ve diğer 5 β -laktam antibiotiğini, dimetilformamid-su karışımında, N-bromosüksinimid ve potasyum iyodürle muamele ettikten sonra, açığa çıkan iyodu, nişasta endikatörü karşısında, ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre ederek, sonuca gitmiştir. Bu yöntemde önceden alkali hidrolize gerek yoktur.

II. Asidimetrik ve Alkalimetrik Miktar Tayini Yöntemleri

Lee Wang Kyn ve Sim Chang Koo (19), ampisilin % 80 lik sulu aseton içinde, 0.02 N potasyum hidroksit çözeltisiyle, bromtimol mavi si endikatörü karşısında titre edilebilirliğini göstermişlerdir.

Casalini ve arkadaşları (20), ampisilini, dietilamin/piridin/metanol/dimetilformamid (0.1:1:1:1) çözücü sisteminde, benzen-metanol karışımında hazırlanmış 0.1 N tetrabutylamonyum hidroksit çözeltisiyle ve asetik asit/metanol (2:3) çözücü sisteminde glasyal asetik asit içinde hazırlanmış 0.1 N p-toluensülfonik asit çözeltisiyle titre edip, eşdeğerlik noktasını potansiyometrik olarak belirlemişler-

dir. Bu tayinlerden birincisi, ampisilinin 2 No.lu karbon atomu üstündeki karboksil grubunun asit fonksiyonuna, ikincisi ise yan zincir α -karbon atomu üstündeki amino grubunun bazik karakterine dayanmaktadır. Zayıf bazik ve zayıf asidik karakter gösteren ampisilinin asit ve baz dissosiasyon sabitini arttırma amacıyla susuz ortamlarda çalışılmış ve titrasyon eğrisinin eşdeğerlik noktasındaki pH sıçramasının kesin olması için de susuz ortamlarda dissosiasyon sabitleri yüksek olan güçlü asit ve baz kullanılmıştır.

Moll ve Döker (21), antibiotik çözeltisini, fenolftaleine karşı nötralize edilmiş formaldehid çözeltisiyle muamele ettikten sonra, oluşan asidik yapıdaki maddeyi, 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisiyle titre edip ampisilin miktarına geçmişlerdir.

III. Merkürimetrik Yöntemler

Forsmann (22), ampisilin ve başka penisilinlerin, hidrolizden sonra, ayarlı cıva(II) klorür çözeltisiyle miktar tayinini yapmışlardır.

Paal ve Molnar ise (23) yine aynı prensipten yararlanıp, bitiş noktasını potansiyometrik olarak belirlemişlerdir.

IV. Kompleksometrik Yöntem

Tawakkal ve İsmail (24) bakır(II) iyonunun ampisilinle 1:1 oranında bir kelat yapması özelliğinden yararlanarak, antibiotiğin, parçalanma ürünleri yanında, ayarlı bakır(II) tuzu çözeltisiyle miktar tayininin yapılabileceğini göstermişlerdir.

V. Elektrokimyasal Yöntemler

Grafnetterova'nın geliştirdiği bir yöntemde (25), sulu çözeltide ve biyolojik sıvılarda, diğer bazı penisilinler yanında, ampisilin

de penisillamin basamağına kadar parçalanıp bu ürün amperometrik olarak titre edilir ve penisillamin miktarından ampisilin miktarına geçilir.

Araştırmacı, bu yöntemde, ampisilin parçalanma ürünlerinin sonucu etkileyecek şekilde girişim yapmadıklarını bildirmiştir.

Siegermann ve arkadaşları (26), diğer bazı antibiotikler yanında ampisilin de diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle teşhis ve miktar tayininin yapılabilirliğini bildirmişlerdir.

VI. Spektral Yöntemler

a. Spektropolarimetrik Yöntem

Rasmussen ve Higuchi (27), ORD ve CD yöntemleriyle, diğer bazı penisilinlerden başka ampisilin trihidrat, anhidr ampisilin ve anhidr ampisilinle kloksasilin sodyum karışımlarında, penisillinaz emzimiyle β -laktam halkasını açtıktan sonra görülen optik çevirme değişikliğini 255, 247, ve 231 nm de ölçerek miktar tayinine geçmişlerdir. Ortamda bulunması olasılığı söz konusu olan diğer optikçe aktif maddelerin, yöntemin yalnız β -laktam halkasının açılmasından doğan optik çevirme farkını, penisilin konsantrasyonuna oranlaması nedeniyle sonuçları etkileyecek şekilde girişim yapmadıkları belirtilmiştir.

b. Fluorometrik Yöntemler

Jusko (28), ampisilin asit ortamda (pH 2) 75°C de 24 saat süreyle ısıtma sonucu güçlü fluoresans veren sarı renkli bir madde verdiğini, bu oluşumun, formaldehid ilavesiyle hem hızının hem de miktarının arttığını, fluoresan maddenin alkali çözeltide 346 nm de eksitasyon, 422 nm de emisyon maksimumları verdiğini gözlemiş ve bulgularından ampisilin ve α -aminobenzilpenisilloik asidin biyolojik sıvılardaki miktar tayininde yararlanmışır.

Barbhaiya ve Turner (29), ampisilinin 2 N sodyum hidroksit çözeltisiyle 100°C de ısıtma sonucu verdiği fluoresan maddenin 345 nm deki eksitasyon ve 420 nm deki emisyon maksimumlarından yararlanarak fluorometrik bir miktar tayini yöntemi geliştirmişlerdir.

Nightingale ve Flanagan da (30) ampisilin ve sefaleksinin 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisiyle 100°C de ısıtılması sonucu oluşan fluoresan maddelerden yararlanarak 0.01 mcg/ml gibi düşük konsantrasyonlarda, fluorometrik miktar tayinlerinin yapılabileceğini bildirmişlerdir.

c.Kolorimetrik Yöntemler

Ampisilin miktar tayini için, F.D.A. nın uyguladığı bir yöntemde (31), ampisilinin nötral sulu çözeltide, hidroksilamin hidroklorürle oluşturduğu hidroksamik asit türevinin, sülfürik asitli ferri amonyum sülfat belirteciyle muamelesi sonucu oluşan kompleksin 480 nm deki absorbansından yararlanılır. Bu yöntem çok eskiden beri çeşitli penisilinlerin miktar tayinleri için kullanılmıştır.

Choudhurry'nin (32), ampisilinin amino asit karakterinden yararlanarak geliştirmiş olduğu yöntemde, ampisilinin hidroklorik asitli ortamda ninhidrinle verdiği bileşiğin, 480 nm deki absorbansı ölçülerek miktar tayini yapılır.

Lee ve Yoo tarafından geliştirilmiş olan bir yöntemde ise ampisilinin fosfomolibdik asidi indirgemesi sonucu oluşan bileşiğin, 770 nm deki absorbansından yararlanılarak miktar tayini yapıldığı bildirilmektedir (33).

Rao ve arkadaşlarının bir çalışmasında (34) ampisilin 4-dimetil-aminosinnamaldehidle oluşturduğu şif bazının 480 nm deki absorbansından miktarına geçilir.

İbrahim ve arkadaşlarının bir araştırmasında da (35) penisilinlerin, pH = 6.8 olan fosfat tamponu içindeki çözeltilerinin, 1 M amonyum vanadat çözeltisi ve derişik sülfirik asit çözeltisiyle kaynatılması sonucu oluşan bileşigin, 750 nm deki absorbansından yararlanılarak analizi yapılır.

c. Kırmızı Ötesi Alandaki Işık Absorpsiyonunun Ölçülmesine Dayanan Yöntemler

Casu ve Ventura (36), diğer bazı penisilinler ve bunların alkali metal tuzları yanında, ampisilin ve ampisilin sodyumun, IR-spektrofotometrik olarak döteryum oksit (1760 cm^{-1}), döteryum klorür (1770 cm^{-1} ve 1760 cm^{-1}) ve dimetil sülfoksitteki (1770 cm^{-1} ve 1760 cm^{-1}) keskin β -laktam karbonil absorpsiyonundan yararlanılarak miktar tayini yapılabileceğini ve belli sınırlar içinde, kotsantrasyonu-absorbans bağıntısının Beer kuramına uyduğunu göstermişlerdir. Çözücü olarak döteryum oksit, döteryum klorür ve dimetil sülfoksit seçilmesinin nedeni, bu çözücülerin sudan farklı olarak, β -laktam karbonili ile girişim yapacak absorpsiyon bandı vermemeleridir.

Weithkamp ve Barth (37), sodyum klorür kuvetler içinde çalışmayı sağlamak amacıyla, ampisilin sodyum ve oksasilin karışımının miktar tayini için çözücü olarak etilen glikol monometil eter/karbon tetraklorür (4:1) içinde, ampisilin trihidrat ve 6-aminopenisillanik asidin analizi

için trietilamin/metilen klorür (1:50) içinde çalışıp, 1780 cm^{-1} deki β -laktam karbonil absorpsiyonundan yararlanarak miktar tayini yapmışlardır.

d. Mor. Ötesi . Bölgedeki Işık Absorpsiyonunun Ölçülmesine Dayanan Yöntemler

İlk kez Herriot (38) tarafından penisilinlerin, asit ortamda, ($\text{pH} = 4.6$) 100°C de 15 dakika ısıtma sonunda oluşan türevlerinin, 322 nm deki absorpsiyonlarının ölçülerek miktar tayinlerinin yapılabileceği ortaya atılmıştır. Bu araştırmacı, aynı dalga boyunda, penisilinlerin içinde bulunan safsızlıkların da absorpsiyon verdiğini, ancak absorpsiyon artışına yalnız penisilin molekülünün kendisinin verdiği bir reaksiyon ürününün neden olduğunu belirtmiş, sonuca da bu absorpsiyon farkından gitmiştir. Herriott yine aynı çalışmada, absorpsiyon farkı konsantrasyon bağıntısının Beer kuramından sapma gösterdiğini bildirmiştir.

Stock (39), bir başka araştırmacı, absorpsiyon artışına neden olan ürünün penisillenik asit olduğunu gözleyip, eser miktarda bakır(II)

tuzu ile penisilin-penisillenik asit reaksiyonunun daha iyi yürüdüğünü göstermiş ve yöntemi bu yönde geliştirip, o sırada kullanılan bazı penisilin preparatlarının miktar tayininde kullanmıştır. Holbrook (40), yöntemi, pomadlar, injektabl preparatlar ve süspansiyonlardaki benzilpenisilin tuzlarının, Weaver ve Reschke (41) metisilinin, Smith ve arkadaşları (42) ampisilinin miktar tayinine uygulamışlardır. 1974 Türk Farmakopesinin (1) ampisilin miktar tayini için verdiği yöntem, Smith ve arkadaşlarının geliştirmiş oldukları yöntemdir.

Ancak mor ötesi bölgedeki ışık absorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanan bütün bu spektrofotometrik yöntemlerin sakıncalı yanı, reaksiyonun, asit ortamda yapıyor olmasıdır. Ampisilin gibi asit ortamda kararlı olan penisilinlerin analizinde, miktar tayininin temeli olan penisillenik asitlerin oluşumu reaksiyonu, bunların parçalanma reaksiyonlarından yavaştır (43). Bu da ampisilinin sulu çözeltideki en düşük parçalanma hızının, izoelektrik noktası olan pH 4.96 da olduğu gözönünde bulundurulacak olursa, doğaldır (44).

Bundgaard nötral sulu çözeltide, imidazolün katalitik etkisi ve cıva(II) klorürle kantitatif olarak yürüyen bir reaksiyonun penisillenik asit merkür merkaptidini verdiğini göstermiş ve yöntemi, penisilin G, oksasilin, kloksasilin, dikloksasilin, metisilin ve karbenisilin sodyum tuzları ile penisilin V, fenetisilin ve propisilin potasyum tuzlarının miktar tayinine uygulamıştır (43). Bu çalışmada, yöntemin, absorpsiyon maksimumu 311 nm de olan kararsız bir penisillenik asit türevi vermesi nedeniyle, ampisiline uygulanamadığı bildirilmiştir.

Aynı araştırmacı (45), bir süre sonra, yan zincirdeki amino grubunu açilleyerek oluşan α -asetamidobenzilpenisillenik asit merkür merkaptidinin 24 saatten daha uzun süre kararlı olduğunu gözlemiş ve bundan hareketle, ampisilin konsantrasyonuyla absorbans arasında 0-10 mcg/ml konsantrasyon aralığında doğrusal bağıntı veren bir spektrofotometrik yöntem geliştirmiştir. Bizim çalışmamızda da bu yöntemden yararlanılmıştır.

Yukarıda sayılmış olan yöntemlerden başka, literatürde Thomas'ın (46),

ve Siba ve arkadaşlarının (47) geliştirmiş oldukları yöntemlere rastlanır.

Bunlardan birincisinde ampisilinin asetik anhidrid içinde malonik asitle verdiği kondenzasyon ürününün, ikincisinde α -dikarbonil bileşikleriyle verdiği ketopirazinlerin mor ötesi bölgedeki absorbanlarından yararlanılarak miktar tayini yapılır.

VI. Kromatografik Yöntemler

Kromatografik Yöntemlerden Hartmann ve Roediger tarafından geliştirilmiş olan yüksek basınçta sıvı kromatografisi (48) ile We ve arkadaşlarının geliştirilmiş olan gaz kromatografik ve gaz kromatografik-kütle spektrofotometrik yöntemler (49) bilinmektedir.

DENEYSEL KISIM

ARAÇ VE GEREÇLER

Kontrol Edilen İlaçlar

I- A İnjektasyon Preparasyonu (Z Firması)

Örnek 1: Kullanılacağı zaman 2 ml injektasyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injektasyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Ekim 1978

Son kullanma tarihi: Kasım 1980

Kontrol No. : 24324

Eklenecek bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı : -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi : 14 ay

Örnek 2: Kullanılacağı zaman 2 ml injektasyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injektasyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Temmuz 1978

Son kullanma tarihi : Temmuz 1980

Kontrol No. : 23962

Eklenecek bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı : -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi : 10 ay

Örnek 3: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Şubat 1979

Son kullanma tarihi: Şubat 1981

Kontrol No. : 24798

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi : 17 ay

Örnek 4: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Kasım 1978

Son kullanma tarihi: Kasım 1980

Kontrol No, : 24270

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 13 ay

Örnek 5: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Nisan 1978

Son kullanma tarihi : Nisan 1980

Kontrol No. : 23628

Eklene bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi : 7 ay

II- B İnjesiyon Preparasyonu (Y Firması)

Örnek 1: Kullanılacağı zaman 2 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlamıştır.

İmal tarihi : Kasım 1977

Son kullanma tarihi : Aralık 1979

Kontrol No. : 7.E.07

Eklene bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 3 ay

Örnek 2: Kullanılacağı zaman 2 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum tuzu içeren, tek dozluk flakon halinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlamıştır.

İmal tarihi : Ekim 1978

Son kullanma tarihi: Kasım 1980

Kontrol No.: 8K 19

Eklene bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı :

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 14 ay

Örnek 3: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Ekim 1977

Son kullanma tarihi: Kasım 1979

Kontrol No.: 7K 09

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 2 ay

Örnek 4: Kullanılacağı zaman 4 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Aralık 1978

Son kullanma tarihi: Ocak 1981

Kontrol No.: 8M 08

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi : 16 ay

Örnek 5: Kullanılacağı zaman 4 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Eylül 1978

Son kullanma tarihi: Ekim 1980

Kontrol No.: 8İ 13

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı:-

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 13 ay

III- C İnjesiyon Preparasyonu (V Firması)

Örnek 1: Kullanılacağı zaman 5 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Aralık 1977

Son kullanma tarihi: Aralık 1980

Kontrol No.: 721026

Eklenen bakterisid madde adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan madde adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 15 ay

Örnek 2: Kullanılacağı zaman 5 ml distile suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren tek dozluk flakon halinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Ocak 1979

Son kullanma tarihi: Ocak 1982

Kontrol No.: 901039

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 28 ay

Örnek 3: Kullanılacağı zaman 5 ml. injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Kasım 1978

Son kullanma tarihi: Kasım 1981

Kontrol No.: 811036

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 25 ay

Örnek 4: Kullanılacağı zaman 20 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 2000 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Ocak 1977

Son kullanma tarihi: Ocak 1980

Kontrol No.: 701001

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 4 ay

Örnek 5: Kullanılacağı zaman 20 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 2000 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal Tarihi: Temmuz 1977

Son kullanma tarihi: Temmuz 1980

Kontrol No.: 707003

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 10 ay

IV- D İnjesiyon Preparasyonu (U Firması)

Örnek 1: Kullanılacağı zaman 2 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 250 mg ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon şeklinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: 30.12.1977

Son kullanma tarihi: 30.12.1980

Kontrol No.: 736421

Eklene bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 16 ay

Örnek 2: Kullanılacağı zaman 2 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde 250 mg ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon şeklinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: 31.3.1978

Son kullanma tarihi: 31.3.1980

Kontrol No.: 808601

Eklene bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 6 ay

Örnek 3: Kullanılacağı zaman 2 ml injesiyonluk suda çözülmek üzere, hazırlanmış kuru toz halinde, 250 mg ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon şeklinde injesiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: 6.12.1976

Son kullanma tarihi: 6.12.1979

Kontrol No.: 633401

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 3 ay

Örnek 4: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon şeklinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlamıştır.

İmal tarihi : 2.2.1978

Son kullanma tarihi: 2.2.1980

Kontrol No: 803111

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 4 ay

Örnek 5: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde 500 mg ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon şeklinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlamıştır.

İmal tarihi : 15.5.1978

Son kullanma tarihi: 15.5.1980

Kontrol No.: 812807

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı : -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 6 ay 15 gün

V- E İnjesiyon Preparasyonu (T Firması)

Örnek 1: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 125 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon ha-

linde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmış-
tır.

İmal tarihi: Ekim 1978

Son kullanma tarihi : Ekim 1980

Kontrol No.: 8K 354

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 13 ay

Örnek 2: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek
üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 125 mg anhidr ampisilin aktivite-
sine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren tek dozluk flakon halinde
injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Nisan 1978

Son kullanma tarihi : Nisan 1980

Kontrol No.: 8D 113

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 7 ay

Örnek 3: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek
üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivite-
sine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halin-
de injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi : Ekim 1978

Son kullanma tarihi : Ekim 1980

Kontrol No.: 8K 356

Eklenen bakterisid maddenin adı ve oranı : -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 13 ay

Örnek 4: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Temmuz 1978

Son kullanma tarihi: Temmuz 1980

Kontrol No. 8G 229

Örnek 5: Kullanılacağı zaman 2 ml injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde, 500 mg anhidr ampisilin aktivitesine eşdeğer miktarda ampisilin sodyum içeren, tek dozluk flakon halinde injeksiyon preparasyonu, Ankara eczanelerinin birinden sağlanmıştır.

İmal tarihi: Ocak 1978

Son kullanma tarihi: Ocak 1980

Kontrol No.: 8A 016

Eklenecek bakterisid maddenin adı ve oranı: -

İçerdiği tampon veya stabilizan maddenin adı ve oranı: -

Analiz tarihinde kullanılabilirlik süresi: 4 ay

S t a n d a r t İ l a ç l a r

Çalışmamızda, "Dünya Sağlık Örgütü, Kimyasal Referans Maddeler Merkezi-İsveç"ten sağlanan, üç farklı standart ampisilin örneği kullanıldı. Bu örnekler, kendilerini tanımlayan birer analiz raporuyla birlikte elimize geçtiler. Örneklerin farklı yöntemlere göre belirlenmiş % etken madde miktarlarından, hepsinde ortak olarak bulunan bir yöntemle

göre yapılmış olanları esas olarak alınıp, yapılan değerlendirmelerde bu veriler kullanıldı.

I- Anhidr ampisilin (Spektrum No. I)

Kontrol No.: 274001

British Pharmacopœia 1973 e göre tayin edilmiş % etken madde miktarı: % 100,3

Kullanıldığı yer: Absorbans-konsantrasyon bağıntısının incelenmesi ve yöntemin analitik kullanılabilirliğinin denenmesi için yapılan ölçümlerde kullanıldı.

II- Ampisilin trihidrat (Spektrum No.II)

Kontrol No.: 274003

British Pharmacopœia 1973 e göre tayin edilmiş % etken madde miktarı: % 99.6

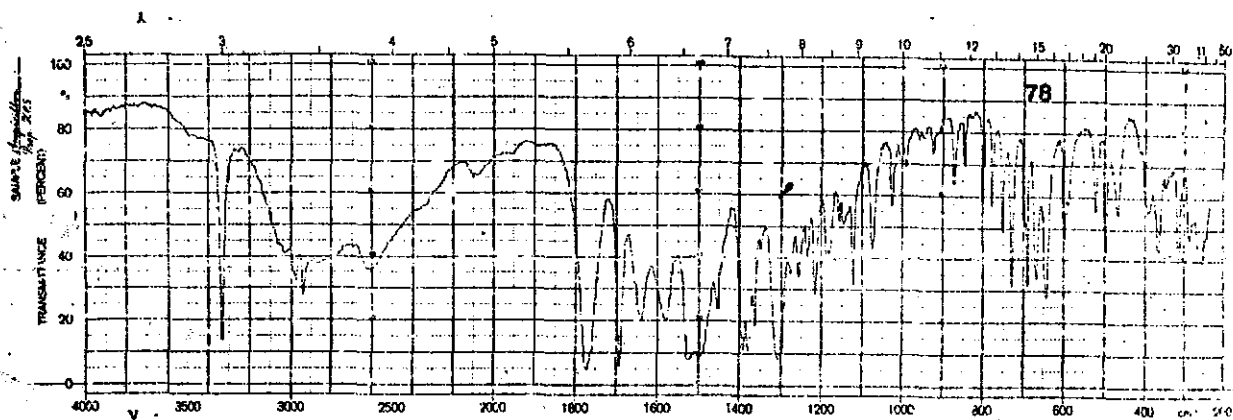
Kullanıldığı yer: Ticari ampisilin preparasyonlarının spektrofotometrik analizlerinde çalışma standardı olarak kullanıldı.

III- Ampisilin sodyum (Spektrum No.III)

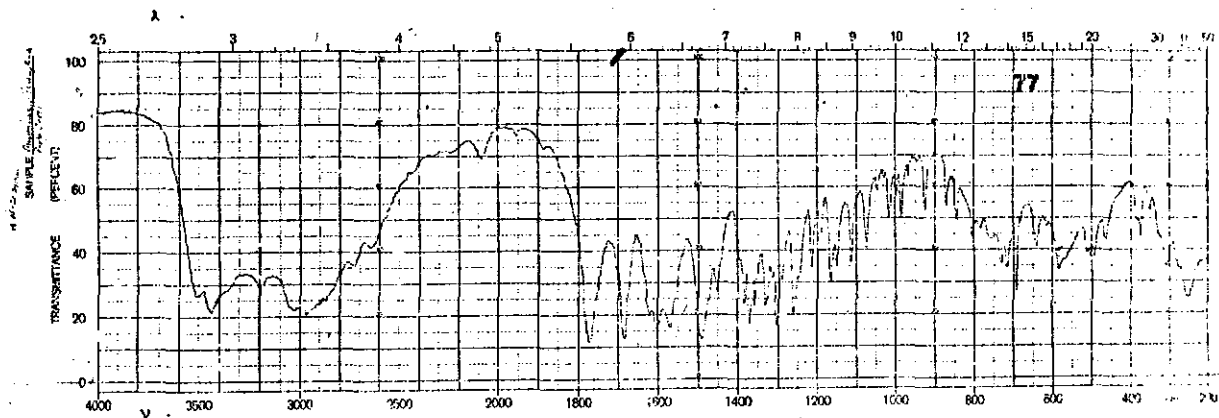
Kontrol No.: 274002

British Pharmacopœia 1973 e göre tayin edilmiş % etken madde miktarı: % 96.2

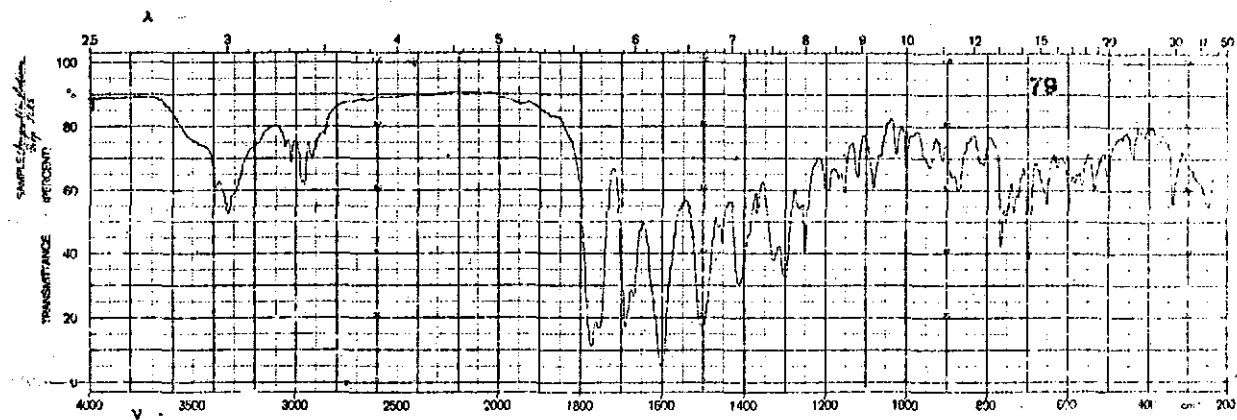
Kullanıldığı yer: Spektrofotometrik yönteme göre yapılan analizlerden elde edilen sonuçların, geleneksel bir yöntemle karşılaştırılması amacıyla yapılan iyodometrik analizlerde çalışma standardı olarak kullanıldı.



SPEKTRUM I: Standart anhidr ampisilin IR spektrumu (KBr)



SPEKTRUM II: Standart ampisilin trihidratın IR spektrumu (KBr)



SPEKTRUM III: Standart ampisilin sodyumun IR spektrumu (KBr)

B e l i r t e  l e r i n H a z ı r l a n m a s ı n d a
K u l l a n ı l a n
K i m y a s a l M a d d e l e r

İmidazol: İmidazol (Merck), iki kez benzenden kristallendirilip, eterle yıkandıktan sonra alçak basınçta kurutulularak temizlendi. e.d.
89-90°C

Cıva (II) klorür: Cıva (II) klorür (Merck), alçak basınçta iki kez süblime edilerek saflaştırıldı.

Asetik anhidrid (Hopkin and Willams); $n_{DD}^{20} = 1,3904$

Asetonitril (Merck); $n_D^{20} = 1,3442$

Borik asit: Borik asit (Etibank), iki kez sudan kristallendirildikten sonra, alçak basınçta kurutulularak temizlendi.

Sodyum hidroksit (Merck)

Derişik hidroklorik asit (Merck)

Bisüblime iyot (Etablissement Roques)

Sodyum tiyosülfat. 5 H₂O: (Montplet Esteban SL)

Susuz inko klorür (Merck)

Patates nişastası

Potasyum iyodür (G. Amphray Laboratories)

Dibazik sodyum fosfat. 12H₂O (Riedel de Haen)

Monobazik potasyum fosfat p.a. (Merck)

B e l i r t e  l e r

1.2 M İmidazol özeltisi: 8.25 g imidazol, 60 ml distile suda özölüp, 10 ml 5 M hidroklorik asit ve 10 ml 10⁻³ M cıva (II) klorür çözeltisi eklendikten sonra, pH, 5 M hidroklorik asitle 6.80 ± 0.05 e ayarlandı. Çözelti distile suyla 100 ml ye tamamlandı.

0.2 M Asetik anhidrid çözeltisi: 1 ml asetik anhidrid, asetonitrille 50 ml ye tamamlandı.

0.1 M Borat tampon çözeltisi (pH 9): 0.62 g borik asit 4.15 ml N sodyum hidroksit çözeltisinde çözülüp, distile suyla 100 ml ye tamamlandıktan sonra, otoklavda 120°C de 15 dakika süreyle sterilize edildi.

0.01 N İyot çözeltisi: 0.1 N iyot çözeltisinden alınan 100 ml lik hacmin, balon jojede, distile suyla 1000 ml ye seyreltilmesiyle hazırlandı.

0.1 N İyot çözeltisi: 14 g iyot, 36 g potasyum iyodürün 100 ml distile sudaki çözeltisinde çözüldü, üç damla derişik hidroklorik asit eklendi ve distile suyla 1000 ml ye tamamlandı.

0.01 N Sodyum tiyosülfat çözeltisi: 0.1 N sodyum tiyosülfat çözeltisinden alınan 100 ml lik bir hacmin, bir balon jojede, distile suyla 1000 ml ye tamamlanmasıyla hazırlandı.

0.1 N Sodyum tiyosülfat çözeltisi: 26 g sodyum tiyosülfat ve 200 mg sodyum karbonat, yeni kaynatılıp soğutulmuş distile suda çözülüp, balon jojede distile suyla 1000 ml ye tamamlandı.

Nişasta iyodür patı: 100 ml distile su kaynama temperaturüne kadar ısıtıldıktan sonra, üstüne 0.75 g potasyum iyodürün 5 ml, 2 g çinko klorürün 10 ml distile sudaki çözeltileri eklendi. Çözelti kaynarken üzerine 5 g patates nişastasınının 30 ml sudaki bir bulamacı karıştırılarak kondu. İşlem tamamlandıktan sonra karışım 2 dakika daha kaynatıldı.

N Sodyum hidroksit çözeltisi: 4 g sodyum hidroksit distile suda çözülüp suyla 100 ml'ye tamamlandı.

1.2 N Hidroklorik asit: 11.5 ml derişik hidroklorik asit, distile suyla 100 ml ye tamamlandı.

Fosfat tampon çözeltilisi (pH6): 4.11 gr dibazik sodyum fosfat ve 8.0 gr monobazik potasyum fosfat bir balon jode distile suda çözümlü, çözeltili suyla 1000 ml ye tamamlandı ve 15 dakika süreyle 120°C de sterilize edildi.

A r a ç l a r

Çözeltilerin hazırlanma ve seyreltilme işlemleri için çeşitli tipte cam araçlar kullanıldı. Küçük miktarlardaki hacimlerin ölçülmesi için 50 mcl lik bir Hamilton enjektör ile 1000 mcl lik bir pipetten yararlanıldı.

Analiz numunelerinin tartımı, Mettler H 20 tipi, 10^{-2} mg a kadar duyarlı olan bir hassas terazide yapıldı.

Çeşitli tipteki tampon çözeltilerin ve 0.1 N imidazol belirtecinin pH larının ayarlanması için, cam elektrodlu Coleman marka bir pH metre, ısıtma işlemleri için, suyla doldurulmuş bir cam kabın içine daldırılan, Heidolph marka mekanik karıştırıcılı bir termostat kullanıldı.

Spektrofotometrik ölçümler, Carl-Zeiss PMQ II tipi bir spektrofotometrede, 1 cm lik kuars küvetlerde yapıldı.

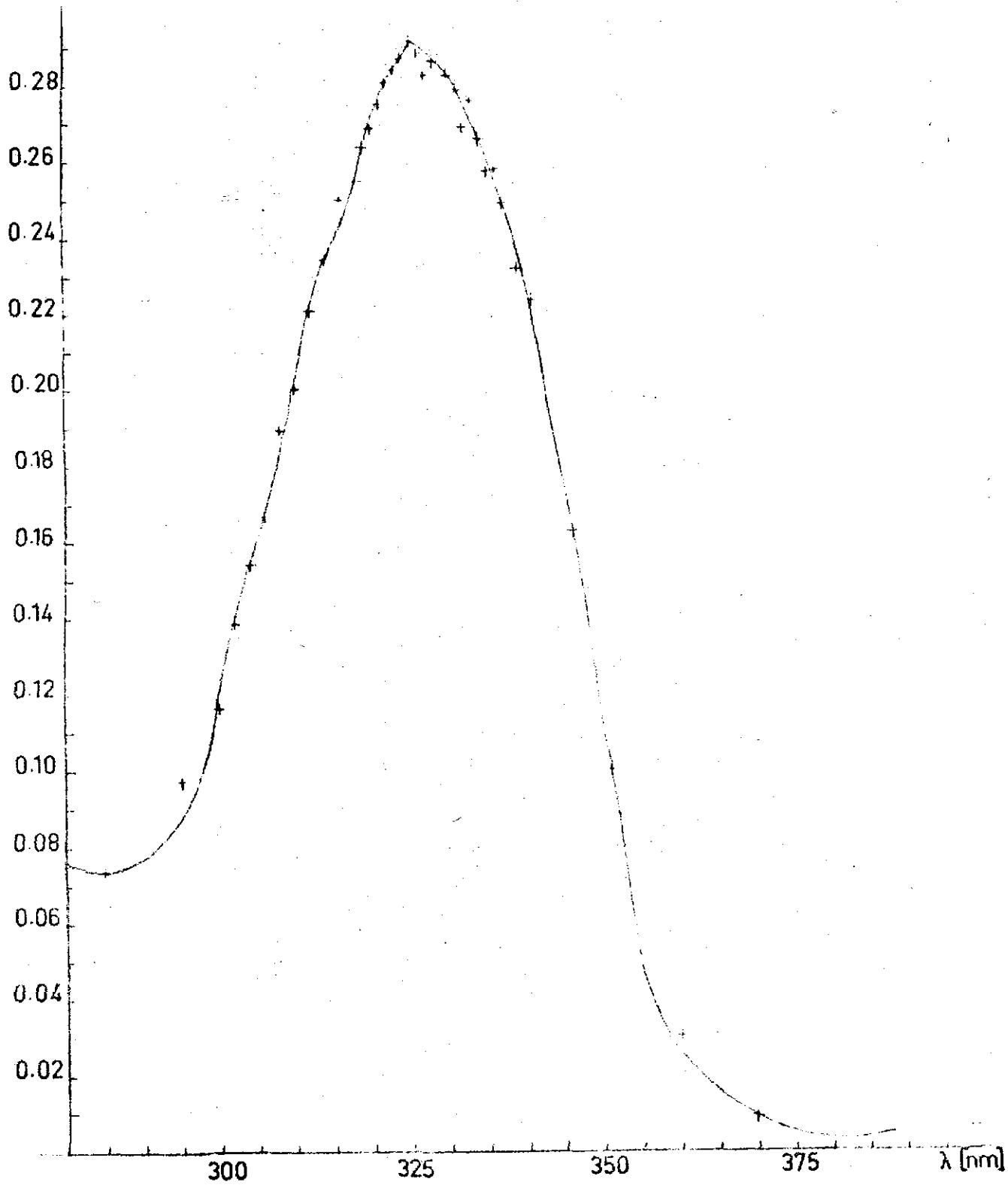
Sonuçların hesaplanmasında ise Texas marka SR-51-II tipi bir elektronik hesap makinesinden yararlanıldı.

Y Ö N T E M

~~α~~ - A s e t o m i d o b e n z i l p e n i s i l l e n i k A s i t . M e r k ü r i M e r k a p t i d i n U V - S p e k t r u m u n u n T a r a n m a s ı

Standart: anhidr ampisilin örneğinden tartılan 4.89 mg lık bir miktar 100 ml distile suda çözüldü. Bu çözeltiden alınan 3x500 mcl lik hacimler, üç ayrı cam kapaklı tüpe alınıp, üzerlerine 500 mcl borat tampon çözeltisi eklendi. Çözeltiler önce 50 mcl 0.2 M asetik anhidrid çözeltisiyle, 1-5 dakika sonra da 5 ml imidazol belirteciyle muamele edilip, tüpler 30 dakika süreyle, 60°C de termostatlı bir su banyosunda ısıtıldılar. Bu sürenin bitiminde, su banyosundan alınıp suyla oda sıcaklığına soğutuldu. Çözeltilerin uv-bölgedeki absorpsiyon spektrumları 250-400 nm aralığında 1 k su 5 k imidazol belirteci içeren bir şahit çözelti karşısında (spektrum No. IV) tarandı. Oluşan penisillanik asit türevinin 325 nm de bir absorpsiyon maksimumu verdiğini gözlemlendi.

Bundan böyle, yapılan spektrofotometrik ölçümlerde, yararlanılan literatür kaynağında olduğu gibi, bu dalga boyu kullanıldı.



SPEKTRUM IV: Penisillenik asit merkürü merkaptidinin uv-spektrumu,
 $c = 1.157 \times 10^{-5} \text{ Mol/l}$

Ç e ş i t l i K o n s a n t r a s y o n l a r d a k i
A m p i s i l i n Ç ö z e l t i l e r i n i n
A b s o r b a n s D e ğ e r l e r i n i n
Ö l ç ü m ü

Standart anhidr ampisilin örneğinden 10-100 mcg/ml konsantrasyon aralığında, hepsi farklı konsantrasyonda olmak üzere, tek tek altı ayrı çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerin her birinden alınan 3x500 mcl lik hacimler cam kapaklı tüplere alındı. Üzerlerine 500 mcl 0.1 M borat tampon çözeltisi eklendi. Çözeltiler önce 50 mcl 0.2 M asetik anhidrid çözeltisiyle, 1-5 dakika sonra da 5 ml 1.2 M imidazol belirteciyle muamele edilip 30 dakika süreyle, 60°C de su banyosunda ısıtıldılar. Bu sürenin sonunda su banyosundan alınan tüpler, suyla oda sıcaklığına soğutulup 325 nm deki absorbanları 1 cm lik kuars küvetlerde, 1 k su 5 k imidazol belirteci içeren bir şahit çözelti karşısında ölçüldü.

Bu çözeltilerin molar konsantrasyonları ve karşılık gelen absorban değerleri (eşit konsantrasyonlardaki çözeltilerde yapılmış olan üç ayrı ölçümün ortalaması alınmış olarak) tablo II'de gösterilmiştir.

TABLO II: Standart anhidr ampisilin örneği ile hazırlanan reaksiyon çözeltilerinin molar konsantrasyonları ve 325 nm de ölçülen absorban değerleri

Molar konsantrasyon	Absorbans
2.356×10^{-5}	0.584
1.679×10^{-5}	0.426
1.338×10^{-5}	0.334
0.945×10^{-5}	0.246
0.741×10^{-5}	0.191
0.495×10^{-5}	0.115

Y ö n t e m i n
A n a l i t i k K u l l a n ı l a b i l i r l i ğ i n i n
K o n t r o l ü

I-Doğrusal Regresyon Eşitliğinin Kurulması

x : Molar konsantrasyon(bağımsız değişken)

y : Absorbans(bağımlı değişken)

$y = a + bx$ eşitliği, tablo II de gösterilen değerlerden,

$y = 0.00247 + 24903.516x$ olarak, eşitliğin korelasyon

katsayısı, $r_{(xy)}$ ise

$r_{(xy)} = 0.99911$ olarak hesaplandı.

II - Doğrusallıktan Ayrılışın Önem Kontrolü (50)

TABLO III: Çeşitli kareler toplamları, serbestlik dereceleri,kareler Ortalamaları ve F değeri

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F
YOA	5	0.14517	0.02903	
R	1	0.14492	0.14497	2415.33
RA	4	0.00025	0.00006	

Tabloda, y ortalamadan ayrılış YOA, regresyon R, regresyondan ayrılış RA şeklinde, kısaltılmış olarak gösterildi.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünü yapma amacıyla, deneysel noktaların doğrusal regresyona uyumu önemsizdir şeklinde bir olumsuzluk hipotezi kuruldu.

Regresyon kareler ortalaması ve regresyondan ayrılış kareler ortalaması değerleri üzerinden F değeri hesaplandı.

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

$$F_{\text{hesap}} = 2415,33$$

$$F_{\text{tablo}} = 7,71 \text{ (} p = 0,05 \text{)}$$

$$F_{\text{hesap}} > F_{\text{tablo}}$$

Hesapla bulunan F değerinin, tablodan ($p = 0,05$) bulunan F değerinden daha büyük olduğu görüldü ve daha önce kurulmuş olan hipotez reddedildi.

Şu halde deneysel noktaların doğrusal regresyona uyumu önemlidir. Doğrumuz deneysel noktaları temsil edebilmektedir.

III-Regresyon Katsayısının Standart Hatası ve Önem Kontrolü (51)

Regresyon katsayısının önemsiz bir değer olduğu şeklinde bir olumsuzluk hipotezi kuruldu.

Regresyon değerlerinin standart hatası, S_b

$$S_b = \sqrt{\frac{RAKO}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}}} \quad \text{formülünden,}$$

$S_b = 0,05067$ olarak hesaplandı.

Regresyon katsayısının önem kontrolünü yapma amacıyla t testi uygulandı.

Bunun için önce $t = \frac{b}{S_b}$ bağıntısından

$t = 491484.42$ olarak hesaplandı,

t tablosundan,

$t_{\text{tablo}} = 4.303$ ($p = 0.05$) olarak bulundu.

$t_{\text{hesap}} > t_{\text{tablo}}$

Hesapla bulunan t değerinin, tablodan bulunan t değerinden büyük olduğu görüldü ve kurulmuş olan hipotez reddedildi. Buna göre regresyon katsayısı önemli bir değerdir.

IV- Aynı Çözeltiden Yapılan Bir Seri Analizde Standart Sapma

Değerinin Hesaplanması

Ticari bir injektabl ampisilin preparasyonunun bir çözeltisinden hazırlanan altı ayrı reaksiyon ortamında yapılan spektrofotometrik analizler sonunda % etken madde oranı, % 89.06, % 86.53, % 88.26, % 88.62, % 88.99 ve % 87.53 lük değerlerin ortalaması alınarak % 88.17 olarak bulundu. Bu değerlerin standart sapması ise

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

eşitliği üstünden % 0.98 olarak hesaplandı.

Yapılan bütün kontroller sonunda, 0-10 mcg/ml konsantrasyon aralığında Beer kuramına uyum görüldü. Böylece yöntemin analitik olarak kullanılabilir nitelikte bir yöntem olduğuna karar verildi..

İLAÇLARIN ANALİZİ

İncelenen her örnekteki % etken madde oranı, flakonun içindeki tozdan alınan iki tartımla hazırlanan iki ayrı çözeltiden yapılan üç spektrofotometrik ölçüm (toplam altı ölçüm) üzerinden hesaplanmıştır. Ortalamadan çok fazla sapma gösteren değerler değerlendirmeye katılmamış, bu nedenle bazı preparasyonlardaki % etken madde oranı, altıdan daha az sayıda analiz sonucunun ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Analizlerde sonuca, hesaplanan kalibrasyon eğrisinin eğimi üstünden gitmenin yanlış sonuçlara neden olabileceği gözlemlendiği için değerlendirmeler, analizlere paralel olarak yürütülen ve konsantrasyonu bilinen standart ilaç çözeltilerinden hazırlanan reaksiyon ortamlarının absorbans değerleri üzerinden yapılmıştır. Bu değerlendirme şekli "referans örnek yöntemi" adıyla literatürde geçmektedir (52).

Ölçümlerde analizi yapılan ilaç çözeltisi konsantrasyonu, c_0 , standart ilaç çözeltisinde okunan absorbans, A_s , standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu, c_s ve analiz çözeltisinde okunan absorbans, A_0 , üzerinden şu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$c_0 = \frac{c_s \times A_0}{A_s}$$

% Etken madde oranı ise analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon, c_0 ve analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu, c_t , üzerinden şu bağıntı yardımıyla hesaplanmıştır:

$$x = \frac{c_0}{c_t} \times 100$$

Spektrofotometrik analiz verileri ve sonuçları "Bulgular" kısmında toplu olarak verilmiştir.

Tablolarda ortalama % etken madde oranları, \bar{x} , tek sonuçların ortalaması alınarak, hesaplanmış ve parantezler içindeki verilerle birlikte % 95 güvenilirlikle güven aralığını (G_a) verecek şekilde gösterilmiştir. Güven aralığının hesaplanması aşağıdaki bağıntı yardımıyla yapılabilir (53).

$$G_a = \bar{x} \pm \frac{t \times S}{\sqrt{n}}$$

Bağıntıda S, standart sapma, t, % 95 güvenilirlikle ve n-1 serbestlik derecesindeki t tablo değeri, n, analiz sayısıdır. Tablolarda parantezler içinde gösterilmiş olan değerler, $\frac{t \times S}{\sqrt{n}}$ bağıntısından hesaplanmış olan değerlerdir.

Tablolarda verilen anhidr ampisilin eşdeğerleri, x_a , % etken madde oranı, x, anhidr ampisilin mol ağırlığıyla ampisilin sodyumun mol ağırlığı oranı olan dönüşüm katsayısı, k(= 0.941) ve flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı m, üstünden şu bağıntı yardımıyla hesaplanmıştır:

$$x_a = m \times k \times \bar{x}$$

İncelenen preparasyonların patent adlarıyla imalatçı firma adları, bilimsel geleneklere uyularak tablolarda belirtilmemiş preparas-

yonlar ve firma adları A,B,C... gibi harflerle simgelenmiştir. Bu preparasyonların patent ve firma adları Ek I de toplu halde bildirilmiştir.

İYODOMETRİK ANALİZLER

Spektrofometrik analiz sonuçlarının klasik bir miktar tayini yöntemine göre yapılmış analiz sonuçlarıyla karşılaştırılması amacıyla üç ampisilin preparasyonunun % etken madde oranı, F.D.A.'nın(16) verdiği iyodometrik yöntemle göre saptandı.

I- Faktörün Belirlenmesi

Penisilinlerin iyodometrik analizinde iyot eşdeğerliği şartlarından bağımlı olarak değişkenlik gösterdiği için kullanılan ayarlı çözeltilerin faktörü, analizi yapılacak penisilin yanısıra, aynı şartlarda titre edilen bir standart penisilin örneğinin ayarlı çözelti harcaması üzerinden belirlenir.

Bu amaçla % 96.2 oranında etken madde içeren standart ampisilin sodyum örneğinden, fosfat tampon çözeltisinde çözülerek ml de yaklaşık olarak 1.25 mg madde içeren bir çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden alınan 2 ml lik hacimler altı ayrı cam kapaklı erlene alındı. Bu altı çözeltiden üçünün üstüne 2.00 ml N sodyum hidroksit çözeltisi eklenip 15 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi. Diğer üç çözelti ise 10 ml 0.01 N iyot çözeltisiyle muamele edilip, hemen 0.01 N sodyum tiyosülfat çözeltisiyle nişasta iyodür patı karşısında titre edildiler.

Farklı işlemlerden sonra titre edilen bu iki çözelti için harcanan 0.01 N sodyum tiyosülfat hacimleri arasındaki fark, 2 ml çözelti içinde bulunan ampisilin sodyum miktarına eşdeğerdir.

Yapılan bu titrasyonların sonunda, kullanılan 0.01 N sodyum tiyosülfat çözeltisinin 1 ml sinin eşdeğer olduğu ampisilinin mcg/ml cinsinden miktarını veren faktör F, şu bağıntı yardımıyla hesaplandı:

$$F = \frac{W_s \times P}{V_s}$$

Burada W_s , titre edilen 2 ml çözelti içinde bulunan standardın mg olarak ağırlığı, P, standardın mcg/mg cinsinden aktivitesi, V_s boş denemede kullanılan 0.01 N sodyum tiyosülfat ile hidroliz sonrası titrasyonlarda harcanan 0.01 N sodyum tiyosülfat hacimleri arasındaki farktır.

II- İlaçların Analizi

Analizi yapılmak istenen örneklerden hazırlanan çözeltilerde de yukarıda anlatılan işlemler aynen tekrarlanarak bir seri titrasyon yapıldı ve bu örneklerin aktivitesi şu eşitlik üstünden hesaplandı:

$$P_x = \frac{V_u \times F}{W_u}$$

Bu bağıntıda P_x , analizi yapılan örneğin mcg/mg cinsinden aktivitesi, V_u boş deneme için harcanan 0.01 N sodyum tiyosülfat hacmi ile hidrolize edilen çözeltiler için harcanan 0.01 N sodyum tiyosülfat hacmi arasındaki fark, F faktör, W_u titre edilen 2 ml çözelti içinde bulunması gereken ampisilin sodyumun mg olarak ağırlığıdır.

Bulunan aktivite değeri P_x den şu bağintı yardımıyla örnekteki % etken madde miktarına geçildi:

$$x = \frac{P_x}{940.77} \times 100$$

Bu bağintıdaki sabit değer, 940.77, % 100 oranında etken madde içeren ampisilin sodyumun aktivitesidir (teorik aktivite).

İyodometrik olarak miktarları belirlenmiş olan üç injektabl ampisilin preparasyonunun analiz verileri ve sonuçları, "Bulgular" kısmında, tablo XXX-XXXIII de gösterilmiştir.

B U L G U L A R

TABLO IV: A injeksiyon preparasyonu 250 mg (Z firması), Örnek 1 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.326	1.229×10^{-5}	0.302	1.139×10^{-5}	1.224×10^{-5}	93.01
2	0.326	1.229×10^{-5}	0.300	1.131×10^{-5}	1.225×10^{-5}	92.43
3	0.327	1.229×10^{-5}	0.301	1.131×10^{-5}	1.225×10^{-5}	92.43
4	0.279	1.104×10^{-5}	0.276	1.092×10^{-5}	1.153×10^{-5}	94.72
5	0.279	1.104×10^{-5}	0.273	1.080×10^{-5}	1.153×10^{-5}	93.69
6	0.279	1.104×10^{-5}	0.268	1.060×10^{-5}	1.153×10^{-5}	91.98
<p>n = 6 $\bar{x} = 93.04 (\pm 1.07)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 250 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 295.34 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 258.51 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +3.40

TABLO V: A injeksiyon preparasyonu 250 mg (Z firması), Örnek 2 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.284	1.124×10^{-5}	0.268	1.061×10^{-5}	1.130×10^{-5}	93.87
2	0.284	1.124×10^{-5}	0.261	1.033×10^{-5}	1.130×10^{-5}	91.41
3	0.284	1.124×10^{-5}	0.260	1.029×10^{-5}	1.130×10^{-5}	91.06
4	0.283	1.124×10^{-5}	0.311	1.235×10^{-5}	1.387×10^{-5}	89.06
5	0.283	1.124×10^{-5}	0.314	1.247×10^{-5}	1.387×10^{-5}	89.92
6	0.283	1.124×10^{-5}	0.311	1.235×10^{-5}	1.387×10^{-5}	89.06
<p>n = 6 $\bar{x} = 90.73 (\pm 1.92)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 250 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 313.53 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 267.62 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +7.05

TABLO VI: A injeksiyon preparasyonu 500 mg (Z firması), Örnek 3 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.278	1.151×10^{-5}	0.260	1.076×10^{-5}	1.119×10^{-5}	96.16
2	0.284	1.151×10^{-5}	0.265	1.074×10^{-5}	1.119×10^{-5}	95.98
3	0.284	1.151×10^{-5}	0.261	1.058×10^{-5}	1.119×10^{-5}	94.55
4	0.284	1.151×10^{-5}	0.312	1.265×10^{-5}	1.284×10^{-5}	98.52
5	0.282	1.151×10^{-5}	0.304	1.241×10^{-5}	1.284×10^{-5}	96.65
6	0.283	1.151×10^{-5}	0.305	1.241×10^{-5}	1.284×10^{-5}	96.65
n = 6						
$\bar{x} = 96.42 (\pm 1.35)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 596.67 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 541.23 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +8.25

TABLO VII: A injeksiyon preparasyonu 500 mg (Z firması), Örnek 4 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.262	1.028×10^{-5}	0.279	1.095×10^{-5}	1.195×10^{-5}	91.61
2	0.262	1.028×10^{-5}	0.279	1.095×10^{-5}	1.195×10^{-5}	91.61
3	0.262	1.028×10^{-5}	0.279	1.095×10^{-5}	1.195×10^{-5}	91.61
4	0.264	1.028×10^{-5}	0.301	1.172×10^{-5}	1.253×10^{-5}	93.54
5	0.264	1.028×10^{-5}	0.295	1.148×10^{-5}	1.253×10^{-5}	91.68
6	0.263	1.028×10^{-5}	0.301	1.177×10^{-5}	1.253×10^{-5}	93.93
n = 6						
$\bar{x} = 92.33 (\pm 1.15)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 602.98 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 523.76 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +4.75

TABLO VIII: A injeksiyon preparasyonu 500 mg (Z firması), Örnek 5 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorban	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorban	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.317	1.323×10^{-5}	0.302	1.260×10^{-5}	1.402×10^{-5}	89.90
2	0.317	1.323×10^{-5}	0.304	1.269×10^{-5}	1.402×10^{-5}	90.50
3	0.317	1.323×10^{-5}	0.308	1.287×10^{-5}	1.402×10^{-5}	91.78
4	0.317	1.323×10^{-5}	0.294	1.227×10^{-5}	1.342×10^{-5}	91.43
5	0.317	1.323×10^{-5}	0.295	1.231×10^{-5}	1.342×10^{-5}	91.74
6	0.317	1.323×10^{-5}	0.294	1.227×10^{-5}	1.342×10^{-5}	91.43
n = 6						
$\bar{x} = 91.13 (\pm 0.80)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 640.95 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 549.50 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +9.90

TABLO IX: B injeksiyon preparasyonu 250 mg (Y firması), Örnek 1 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorban	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorban	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.263	1.159×10^{-5}	0.293	1.291×10^{-5}	1.416×10^{-5}	91.19
2	0.262	1.159×10^{-5}	0.291	1.287×10^{-5}	1.416×10^{-5}	90.91
3	0.273	1.098×10^{-5}	0.264	1.062×10^{-5}	1.157×10^{-5}	91.77
4	0.273	1.098×10^{-5}	0.258	1.038×10^{-5}	1.157×10^{-5}	89.69
5	0.273	1.098×10^{-5}	0.264	1.062×10^{-5}	1.157×10^{-5}	91.77
n = 5						
$\bar{x} = 91.07 (\pm 1.06)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 250 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 300.80 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 257.71 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +3.09

TABLO X: B injeksiyon preparasyonu 250 mg (Y firması), örnek 2 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.263	1.159×10^{-5}	0.272	1.199×10^{-5}	1.358×10^{-5}	88.33
2	0.263	1.159×10^{-5}	0.271	1.194×10^{-5}	1.358×10^{-5}	87.95
3	0.263	1.159×10^{-5}	0.269	1.185×10^{-5}	1.358×10^{-5}	87.29
4	0.277	1.098×10^{-5}	0.271	1.074×10^{-5}	1.253×10^{-5}	85.73
5	0.277	1.098×10^{-5}	0.273	1.082×10^{-5}	1.253×10^{-5}	86.36
6	0.271	1.098×10^{-5}	0.271	1.098×10^{-5}	1.253×10^{-5}	87.63
n=6						
$\bar{x} = 87,22 (\pm 1.04)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 250 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 331.89 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 272.33 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: + 8.93

TABLO XI: B injeksiyon preparasyonu 250 mg (Y firması), örnek 3 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.263	1.159×10^{-5}	0.186	0.819×10^{-5}	0.934×10^{-5}	87.69
2	0.263	1.159×10^{-5}	0.182	0.802×10^{-5}	0.934×10^{-5}	85.77
3	0.263	1.159×10^{-5}	0.185	0.815×10^{-5}	0.934×10^{-5}	87.29
4	0.263	1.159×10^{-5}	0.204	0.899×10^{-5}	1.008×10^{-5}	89.19
5	0.263	1.159×10^{-5}	0.197	0.868×10^{-5}	1.008×10^{-5}	86.13
6	0.263	1.159×10^{-5}	0.199	0.877×10^{-5}	1.008×10^{-5}	87.00
n=6						
$\bar{x} = 87,18 (\pm 1.28)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 250 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 313.84 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 257.40 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: + 2.96

TABLO XII: B injeksiyon preparasyonu 500 mg (Y firması), örnek 4 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.268	1.159×10^{-5}	0.254	1.098×10^{-5}	1.246×10^{-5}	88.12
2	0.263	1.159×10^{-5}	0.252	1.111×10^{-5}	1.246×10^{-5}	89.13
3	0.263	1.159×10^{-5}	0.246	1.084×10^{-5}	1.246×10^{-5}	87.01
4	0.263	1.159×10^{-5}	0.259	1.141×10^{-5}	1.278×10^{-5}	89.31
5	0.263	1.159×10^{-5}	0.254	1.119×10^{-5}	1.278×10^{-5}	87.59
6	0.263	1.159×10^{-5}	0.256	1.128×10^{-5}	1.278×10^{-5}	88.27
<p>n = 6 $\bar{x} = 88.24 (\pm 0.93)$</p>						

Etikette belirtilen anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 655.05 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 543.78 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +8.76

TABLO XIII: B injeksiyon preparasyonu 500 mg (Y firması), örnek 5 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.274	1.241×10^{-5}	0.246	1.114×10^{-5}	1.251×10^{-5}	89.06
2	0.274	1.241×10^{-5}	0.239	1.082×10^{-5}	1.251×10^{-5}	86.53
3	0.272	1.241×10^{-5}	0.242	1.104×10^{-5}	1.251×10^{-5}	88.26
4	0.272	1.241×10^{-5}	0.243	1.109×10^{-5}	1.251×10^{-5}	88.62
5	0.272	1.241×10^{-5}	0.244	1.113×10^{-5}	1.251×10^{-5}	88.99
6	0.272	1.241×10^{-5}	0.240	1.095×10^{-5}	1.251×10^{-5}	87.53
<p>n = 6 $\bar{x} = 88.17 (\pm 1.03)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 618.59 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 513.10 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: + 2.62

TABLO XIV: C injeksiyon preparasyonu 500 mg (V firması), örnek 1 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.290	1.123×10^{-5}	0.296	1.146×10^{-5}	1.215×10^{-5}	94.34
2	0.289	1.123×10^{-5}	0.287	1.115×10^{-5}	1.215×10^{-5}	91.79
3	0.288	1.123×10^{-5}	0.285	1.111×10^{-5}	1.215×10^{-5}	91.47
4	0.287	1.123×10^{-5}	0.268	1.049×10^{-5}	1.142×10^{-5}	91.83
5	0.287	1.123×10^{-5}	0.260	1.017×10^{-5}	1.142×10^{-5}	89.09
6	0.287	1.123×10^{-5}	0.263	1.029×10^{-5}	1.142×10^{-5}	90.11
<p>n = 5 $\bar{x} = 91.44 (\pm 1.88)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 455.68

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 391.99

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: -21.60

TABLO XV: C injeksiyon preparasyonu 500 mg (V firması), örnek 2 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.263	1.059×10^{-5}	0.317	1.276×10^{-5}	1.304×10^{-5}	97.89
2	0.282	1.053×10^{-5}	0.300	1.120×10^{-5}	1.130×10^{-5}	99.13
3	0.282	1.053×10^{-5}	0.296	1.105×10^{-5}	1.130×10^{-5}	97.81
4	0.260	1.004×10^{-5}	0.343	1.325×10^{-5}	1.353×10^{-5}	97.89
5	0.260	1.004×10^{-5}	0.338	1.305×10^{-5}	1.353×10^{-5}	96.47
6	0.257	1.004×10^{-5}	0.337	1.317×10^{-5}	1.353×10^{-5}	97.30
<p>n = 6 $\bar{x} = 97.75 (\pm 0.91)$</p>						

Etiketle belirtilen anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg

Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 624.38 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 574.18 mg

Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +14.84

TABLO XVI: C injeksiyon preparasyonu 500 mg (V firması), örnek 3 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.306	1.088×10^{-5}	0.336	1.195×10^{-5}	1.284×10^{-5}	93.04
2	0.306	1.088×10^{-5}	0.327	1.163×10^{-5}	1.284×10^{-5}	90.55
3	0.306	1.088×10^{-5}	0.323	1.148×10^{-5}	1.284×10^{-5}	89.44
4	0.328	1.229×10^{-5}	0.327	1.225×10^{-5}	1.307×10^{-5}	93.75
5	0.328	1.229×10^{-5}	0.326	1.222×10^{-5}	1.307×10^{-5}	93.46
<p>n = 5 $\bar{x} = 92.05 (\pm 2.40)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 560.78 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 485.62 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: -2.88

TABLO XVII: C injeksiyon preparasyonu 2000 mg (V firması), örnek 4 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.334	1.214×10^{-5}	0.312	1.134×10^{-5}	1.231×10^{-5}	92.12
2	0.334	1.214×10^{-5}	0.314	1.141×10^{-5}	1.231×10^{-5}	92.71
3	0.333	1.214×10^{-5}	0.314	1.145×10^{-5}	1.231×10^{-5}	92.99
4	0.333	1.214×10^{-5}	0.319	1.163×10^{-5}	1.255×10^{-5}	92.67
5	0.333	1.214×10^{-5}	0.315	1.148×10^{-5}	1.255×10^{-5}	91.50
6	0.333	1.214×10^{-5}	0.317	1.156×10^{-5}	1.255×10^{-5}	92.09
<p>n = 6 $\bar{x} = 92.35 (\pm 0.57)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 2000 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 2103.19 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 1827.25 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: -8.64

TABLO XVIII: C injeksiyon preparasyonu 2000 mg (V firması), örnek 5 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.276	1.117×10^{-5}	0.299	1.210×10^{-5}	1.258×10^{-5}	96.19
2	0.276	1.117×10^{-5}	0.299	1.210×10^{-5}	1.258×10^{-5}	96.19
3	0.276	1.117×10^{-5}	0.294	1.190×10^{-5}	1.244×10^{-5}	95.65
n = 4 $\bar{x} = 96.01 (\pm 0.78)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 2000 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 2136.57 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 1929.82 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: -3.51

TABLO XIX: D injeksiyon preparasyonu 250 mg (U firması), örnek 1 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.292	1.177×10^{-5}	0.268	1.080×10^{-5}	1.180×10^{-5}	91.55
2	0.292	1.177×10^{-5}	0.275	1.108×10^{-5}	1.180×10^{-5}	93.94
3	0.292	1.177×10^{-5}	0.271	1.092×10^{-5}	1.180×10^{-5}	92.57
4	0.296	1.177×10^{-5}	0.310	1.233×10^{-5}	1.324×10^{-5}	93.10
5	0.296	1.177×10^{-5}	0.309	1.229×10^{-5}	1.324×10^{-5}	92.80
6	0.296	1.177×10^{-5}	0.309	1.229×10^{-5}	1.324×10^{-5}	92.80
n = 6 $\bar{x} = 92.79 (\pm 0.81)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 235.19 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 337.40 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 294.53 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +25.23

TABLO XX: D injeksiyon preparasyonu 250 mg (U firması), Örnek 2 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.295	1.177×10^{-5}	0.293	1.169×10^{-5}	1.206×10^{-5}	96.93
2	0.295	1.177×10^{-5}	0.291	1.161×10^{-5}	1.206×10^{-5}	96.27
3	0.296	1.177×10^{-5}	0.298	1.185×10^{-5}	1.206×10^{-5}	98.25
4	0.296	1.177×10^{-5}	0.323	1.284×10^{-5}	1.362×10^{-5}	94.30
5	0.296	1.177×10^{-5}	0.329	1.308×10^{-5}	1.362×10^{-5}	96.05
6	0.297	1.177×10^{-5}	0.334	1.328×10^{-5}	1.362×10^{-5}	97.57
<p>n = 6 $\bar{x} = 96.56 (\pm 1.44)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 235.19 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı: 314.46 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri: 285.66 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı: +21.46

TABLO XXI : D injeksiyon preparasyonu 250 mg (U firması), Örnek 3 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Ekten madde oranı
1	0.276	1.090×10^{-5}	0.268	1.058×10^{-5}	1.111×10^{-5}	95.27
2	0.276	1.090×10^{-5}	0.271	1.070×10^{-5}	1.111×10^{-5}	96.33
3	0.277	1.090×10^{-5}	0.270	1.062×10^{-5}	1.111×10^{-5}	95.63
4	0.276	1.090×10^{-5}	0.263	1.039×10^{-5}	1.111×10^{-5}	93.49
5	0.276	1.090×10^{-5}	0.264	1.043×10^{-5}	1.111×10^{-5}	93.84
6	0.277	1.090×10^{-5}	0.264	1.043×10^{-5}	1.111×10^{-5}	93.84
<p>n = 6 $\bar{x} = 94.73 (\pm 1.22)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 235.19 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 358.19 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 319.22
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 35.73

TABLO XXII : D injeksiyon preparasyonu 500 mg (U firması), örnek 4 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.273	1.122×10^{-5}	0.293	1.204×10^{-5}	1.215×10^{-5}	99.11
2	0.273	1.122×10^{-5}	0.295	1.212×10^{-5}	1.215×10^{-5}	99.79
3	0.273	1.122×10^{-5}	0.296	1.217×10^{-5}	1.215×10^{-5}	100.10
4	0.275	1.122×10^{-5}	0.305	1.244×10^{-5}	1.295×10^{-5}	96.09
5	0.275	1.122×10^{-5}	0.305	1.244×10^{-5}	1.295×10^{-5}	96.09
6	0.273	1.122×10^{-5}	0.301	1.237×10^{-5}	1.295×10^{-5}	95.53
<p>n = 6 $\bar{x} = 97.79 (\pm 2.20)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 470.38 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 635.43 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 584.58 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 24.28

TABLO XXIII : D injeksiyon preparasyonu 500 mg (U firması), örnek 5 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
	0.276	1.090×10^{-5}	0.272	1.074×10^{-5}	1.100×10^{-5}	97.64
	0.273	1.090×10^{-5}	0.274	1.094×10^{-5}	1.124×10^{-5}	97.33
	0.273	1.090×10^{-5}	0.281	1.122×10^{-5}	1.124×10^{-5}	99.82
	0.273	1.090×10^{-5}	0.280	1.118×10^{-5}	1.124×10^{-5}	99.47
<p>n = 4 $\bar{x} = 98.57 (\pm 2.01)$</p>						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 470.38 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 570.02 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 528.59 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 12.38

TABLO XXIV : E injeksiyon preparasyonu 125 mg (T firması), Örnek 1 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
	0.256	1.028×10^{-5}	0.241	0.968×10^{-5}	1.110×10^{-5}	87.19
	0.256	1.028×10^{-5}	0.247	0.992×10^{-5}	1.110×10^{-5}	89.36
	0.256	1.028×10^{-5}	0.242	0.972×10^{-5}	1.110×10^{-5}	87.55
	0.277	1.120×10^{-5}	0.275	1.112×10^{-5}	1.269×10^{-5}	87.62
	0.277	1.120×10^{-5}	0.271	1.096×10^{-5}	1.269×10^{-5}	86.35
n = 5						
$\bar{x} = 87.61 (\pm 1.36)$						

lakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 125 mg
 lakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 174.63 mg
 lakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 143.93 mg
 lakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : +15.15

TABLO XXV : E injeksiyon preparasyonu 125 mg (T firması), Örnek 2 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.256	1.028×10^{-5}	0.265	1.064×10^{-5}	1.168×10^{-5}	91.11
2	0.256	1.028×10^{-5}	0.266	1.068×10^{-5}	1.168×10^{-5}	91.45
3	0.277	1.120×10^{-5}	0.319	1.290×10^{-5}	1.405×10^{-5}	91.80
4	0.277	1.120×10^{-5}	0.315	1.274×10^{-5}	1.405×10^{-5}	90.65
5	0.276	1.120×10^{-5}	0.317	1.286×10^{-5}	1.405×10^{-5}	91.56
n = 5						
$\bar{x} = 91.31 (\pm 0.55)$						

lakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 125 mg
 lakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 164.54 mg
 lakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 141.34 mg
 lakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : +13.07

TABLO XXVI : E injeksiyon preparasyonu 125 mg (T firması), örnek 3 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/ l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.256	1.028×10^{-5}	0.260	1.044×10^{-5}	1.195×10^{-5}	87.37
2	0.256	1.028×10^{-5}	0.263	1.056×10^{-5}	1.195×10^{-5}	88.38
3	0.256	1.028×10^{-5}	0.264	1.060×10^{-5}	1.195×10^{-5}	88.71
4	0.256	1.028×10^{-5}	0.249	1.000×10^{-5}	1.133×10^{-5}	88.25
5	0.256	1.028×10^{-5}	0.255	1.024×10^{-5}	1.133×10^{-5}	90.38
6	0.256	1.028×10^{-5}	0.251	1.008×10^{-5}	1.133×10^{-5}	88.96
n = 6						
$\bar{x} = 88.68 (\pm 1.05)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 624.67 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 521.15 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 4.23

TABLO XXVII : E injeksiyon preparasyonu 500 mg (T firması), örnek 4 analiz sonuçları

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol /l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.318	1.323×10^{-5}	0.282	1.173×10^{-5}	1.302×10^{-5}	90.11
2	0.318	1.323×10^{-5}	0.282	1.173×10^{-5}	1.302×10^{-5}	90.11
3	0.317	1.323×10^{-5}	0.283	1.181×10^{-5}	1.302×10^{-5}	90.71
4	0.276	1.120×10^{-5}	0.257	1.043×10^{-5}	1.180×10^{-5}	88.38
5	0.276	1.120×10^{-5}	0.266	1.079×10^{-5}	1.180×10^{-5}	91.48
6	0.275	1.120×10^{-5}	0.264	1.075×10^{-5}	1.180×10^{-5}	91.12
n = 6						
$\bar{x} = 90.32 (\pm 1.15)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri : 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 539.58 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğeri : 500.97 mg
 Flakonda bulunan anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 0.19

TABLO XXVIII : E injeksiyon preparasyonu 500 mg (T firması), örnek 5 analiz sonuçları .

Deney No.	Standart ilaç çözeltisinde okunan absorbens	Standart ilaç çözeltisi konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde okunan absorbers	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
1	0.317	1.323×10^{-5}	0.301	1.256×10^{-5}	1.316×10^{-5}	95.46
2	0.316	1.323×10^{-5}	0.304	1.273×10^{-5}	1.316×10^{-5}	96.71
3	0.315	1.323×10^{-5}	0.299	1.256×10^{-5}	1.316×10^{-5}	95.7
4	0.316	1.323×10^{-5}	0.285	1.193×10^{-5}	1.229×10^{-5}	97.09
5	0.316	1.323×10^{-5}	0.277	1.160×10^{-5}	1.229×10^{-5}	94.36
6	0.316	1.323×10^{-5}	0.278	1.164×10^{-5}	1.229×10^{-5}	94.70
n = 6						
$\bar{x} = 95.63 (\pm 1.14)$						

Flakonda bulunması gereken anhidr ampisilin eşdeğeri: 500 mg
 Flakonun içerdiği kuru toz madde miktarı : 599.52 mg
 Flakonun içerdiği anhidr ampisilin eşdeğeri : 539.36 mg
 Flakonun içerdiği anhidr ampisilin eşdeğerinin bulunması gerekenden % farkı : + 7.87

TABLO XXIX : Standart bir ampisilin çözeltisinden hazırlanan reaksiyon ortamında 4 °C de 90 dakika içinde gözlenen % etken madde kaybının belirlenmesi.

ekleme üresi [dak.]	Analiz çözeltisinde okunan absorbens	Şahit çözeltide okunan absorbens	Şahit çözelti konsantrasyonu [Mol/l]	Analiz çözeltisinde bulunan konsantrasyon [Mol/l]	Analiz çözeltisi teorik konsantrasyonu [Mol/l]	% Etken madde oranı
30	0.274	0.281	1.262×10^{-5}	1.231×10^{-5}	1.236×10^{-5}	99.56
60	0.280	0.275	1.207×10^{-5}	1.229×10^{-5}	1.236×10^{-5}	99.43
90	0.274	0.257	1.149×10^{-5}	1.225×10^{-5}	1.236×10^{-5}	99.11

TABLO XXX : Yapılan iyodometrik analizlerde kullanılan ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltilerinin faktörlerinin belirlenmesi

Deney No.	Çözeltideki standart ampisilin sodyum miktarı = W_s [mg]	Kullanılan standart ampisilin sodyumun aktivitesi = P [mcg/mg]	Kullanılan ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi hacmi = V_s [ml]	Faktör = F [mcg/ml]
1	2.52	905.02	5.06	450.56
2	2.52	905.02	5.18	440.28
3	2.52	905.02	5.10	447.19

$n = 3$

$\bar{F}_1 = 446.01$

Deney No.	Çözeltideki standart ampisilin sodyum miktarı = W_s [mg]	Kullanılan standart ampisilin sodyumun aktivitesi = P [mcg/mg]	Kullanılan ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi hacmi = V_s [ml]	Faktör = F [mcg/ml]
1	2.69	905.02	5.32	457.61
2	2.69	905.02	5.28	461.08
3	2.69	905.02	5.40	450.83

$n = 3$

$\bar{F}_2 = 456.51$

TABLO XXXI: B injeksiyon preparasyonu, örnek 5 iyodometrik analiz sonuçları

Deney No.	Analiz çözeltisindeki madde miktarı = W_u [mg]	Faktör = F [mcg/ml]	Kullanılan ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi hacmi = V_s [ml]	Bulunan aktivite değeri = P_x [mcg/mg]	% Etken madde oranı
1	2.61	446.01	4.91	839.05	89.19
2	2.61	446.01	4.94	844.17	89.73
3	2.61	446.01	5.00	854.43	90.82
4	2.72	446.01	5.13	841.18	89.41
5	2.72	446.01	5.18	849.39	90.29
6	2.72	446.01	5.16	846.11	89.94

$n = 6$

$\bar{X} = \% 89.90 (\pm 0.63)$

TABLO XXXII: C İnjeksiyon preparasyonu, örnek 5 iyodometrik analiz sonuçları

Deney No.	Analiz çözeltisindeki madde miktarı=Wu[mg]	Faktör = F [mcg/ml]	Kullanılan ayarlı sodyum tiosülfat çözeltisi hacmi= Vs[ml]	Bulunan aktivite değeri=Px [mcg/ml]	% Etken madde oranı
1	2.74	456.51	5.45	908.02	96.51
2	2.74	456.51	5.53	921.35	97.94
3	2.74	456.51	5.38	896.36	95.28
n = 3					
$\bar{x} = 96.58 (\pm 3.31)$					

TABLO :XXXIII: D İnjeksiyon preparasyonu, örnek 5 iyodometrik analiz sonuçları

Deney No.	Analiz çözeltisindeki madde miktarı=Wu[mg]	Faktör = F [mcg/ml]	Kullanılan ayarlı sodyum tiosülfat çözeltisi hacmi= Vs[ml]	Bulunan aktivite değeri=Px [mcg/ml]	% Etken madde oranı
1	2.71	446.01	5.62	924.94	98.32
2	2.71	446.01	5.64	928.22	98.67
3	2.60	456.51	5.30	930.58	98.92
4	2.60	456.51	5.35	939.36	99.85
n = 4					
$\bar{x} = 98.94 (\pm 1.04)$					

TABLO XXIV :

Preparasyon	Etikette belirtilen anhidr ampisilin eğdeğeri [mg]	Ambalajın iğerdiği kuru 502 madde miktarı [mg]	Preparasyonun Z etken madde oranı	Flakondaki anhidr ampisilin eğdeğeri	Flakondaki anhidr ampisilin eğdeğerinin etikette belirtilenden % farkı
A injeksiyon preparasyonu (Z firması)					
Örnek 1	250	295.34	93.04	258.51	+ 3.40
Örnek 2	250	313.53	90.73	267.62	+ 7.05
Örnek 3	500	596.67	96.42	541.23	+ 8.25
Örnek 4	500	602.98	92.33	523.76	+ 4.75
Örnek 5	500	640.85	91.13	549.50	+ 9.90
B injeksiyon preparasyonu (Y firması)					
Örnek 1	250	300.80	91.07	257.71	+ 3.09
Örnek 2	250	331.89	87.22	272.33	+ 8.93
Örnek 3	250	313.84	87.18	257.40	+ 2.96
Örnek 4	500	655.05	88.24	543.78	+ 8.76
Örnek 5	500	618.59	88.17	513.10	+ 2.62
C injeksiyon Preparasyonu (V firması)					
Örnek 1	500	455.68	91.44	391.99	- 21.60
Örnek 2	500	624.38	97.75	574.18	+ 14.84
Örnek 3	500	560.78	92.05	485.62	- 2.88
Örnek 4	2000	2103.19	92.35	1827.25	- 8.64
Örnek 5	2000	2136.57	96.01	1929.82	- 3.51
D injeksiyon preparasyonu (U firması)					
Örnek 1	235.19	337.40	92.79	294.53	+ 25.23
Örnek 2	235.19	314.46	96.56	285.66	+ 21.46
Örnek 3	235.19	358.19	94.73	319.22	+ 35.73
Örnek 4	470.38	635.43	97.79	584.58	+ 24.28
Örnek 5	470.38	570.02	98.57	528.59	+ 12.38
E injeksiyon preparasyonu (T firması)					
Örnek 1	125	174.63	87.61	143.93	+ 15.15
Örnek 2	125	164.54	91.31	141.34	+ 13.07
Örnek 3	500	624.67	88.68	521.15	+ 4.23
Örnek 4	500	589.58	90.32	500.97	+ 0.19
Örnek 5	500	599.52	95.63	539.36	+ 7.87

SONUÇ v e TARTIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye'de kullanılmakta olan beş çeşit injektabl ampisilin preparasyonundan beşer örnek incelenmiştir. Bu örnekler, Ankara'nın değişik eczanelerinden, ilaçları kullanması gereken herhangi bir hastanın koşulları içinde satın alınmıştır. Çalışmada, farklı firmalarca hazırlanmış preparasyonların karşılaştırılması amaçlanmadığı için, örnek seçiminde zaman etkeni gözönünde bulundurulmamış, yalnız ilaçların, üzerlerinde yazılan kullanılabilirlik süreleri içinde olmalarına özen gösterilmiştir.

Çalışma, iki aşamada yürütülmüştür.

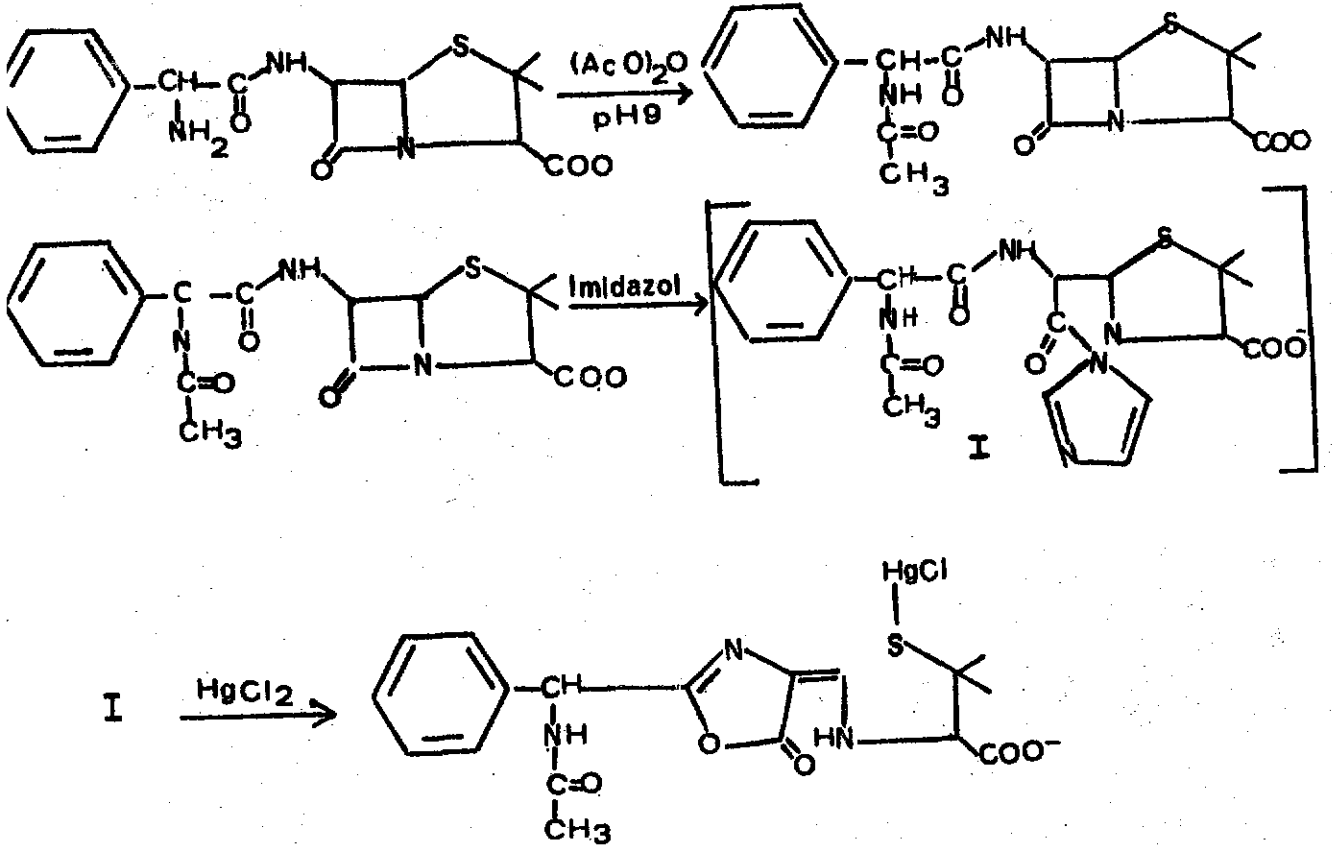
1- Preparasyonların içerdiği kuru toz madde miktarının tartılması

2- Bunların içerdiği % etken madde miktarının spektrofotometrik olarak belirlenmesi.

Kolay bir tartım işleminden başka bir şey olmayan birinci kısımda yöntem bakımından bir tartışma gereksizdir.

Spektrofotometrik analizde yararlanılan yöntem ise Bundgaard(44) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde, ampisilin'in yan zincirdeki amino grubu, asetik anhidrid ile asetillendikten sonra, madde katalizör olarak imidazol karşısında, cıva (II) klorürle reaksiyona sokularak kararlı bir penisillenik asit türevi olan α -asetamidobenzil penisillenik asit merkürü merkaptid hazırlanır. Türevin, 325 nm deki absorbansından yararlanılarak ampisilin miktarına geçilir. Bu bileşiğin

oluşumuna neden olan kimyasal reaksiyon şu şekilde gösterilebilir.



Çalışmamızda yararlanmış olduğumuz bu yöntem, 1974 Türk Farmakopesi'nin (1) ampisilin preparasyonlarının miktar tayini için vermiş olduğu, penisillenik asit bakır merkaptid üzerinden yapılan spektrofotometrik analizi yöntemiyle benzerlik gösterir. Türk Farmakopesi'nin verdiği bu yöntem, Smith ve arkadaşlarının bir çalışmasından kaynaklanmaktadır (42). Bu kaynak çalışmada, hangi şartlarda tayin edildiği belirtilmemiş olmakla birlikte, standart sapmanın, %1 den biraz düşük olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Yararlandığımız çalışmada ise aynı çözeltilerden yapılan analiz sonuçlarının değerlendirilmesiyle standart sapmanın, % 0.47 olarak hesaplandığı bildirilmiştir.

Bundgaard ayrıca oluşan penisillenik asit türevinin kararlılığını incelemiş olduğunu bildirip, bu türevin, oda sıcaklığında 24 saat-ten daha uzun süre kararlı olduğunu belirtmiştir. Türk Farmakopesi yönteminde, penisillenik asidin oluşumu için gerekli reaksiyon 75°C de 30 dakikada tamamlanabilmektedir. Bundgaard ise bu konudaki bir başka çalışmasında (43), ısının yüksek tutulmasının, reaksiyon hızını arttırmakla birlikte, reaksiyonu izleyen aşamada, ölçümde yararlanılan penisillenik asit türevinin kararlılığını olumsuz yönde etkilediğini bildirmiştir. Smith ve arkadaşlarının bu reaksiyonun yürümesi için gerekli buldukları ısının yüksek oluşunun nedeni, daha önce "Ampisilin Miktar Tayini Yöntemleri" kısmında belirtildiği gibi, reaksiyonun, ampisilin çok kararlı olduğu bir pH da yapılıyor olması ve gerekli aktivasyon enerjisinin daha yüksek olması olmalıdır. Bundgaard'ın çalışmasında, penisillenik asit türevinin oluşmasını kolaylaştıran ve bu türevi daha kararlı kılan koşullar sağlanmıştır. (imidazol belirteci ile kataliz, nötr ortamda çalışma, daha düşük reaksiyon sıcaklığı).

Her iki yöntemi geliştiren araştırmacılar, ayrı ayrı, penisillenik asit üzerinden yapılan penisilin miktar tayinlerinin, β -laktam halkasını parçalanmamış olarak taşıyan yapılara özgül olmaları nedeniyle seçici olduklarını belirtmişlerdir.

Bu şu şekilde açıklanabilir:

Daha önce de sözedildiği gibi, penisillenik asit, penisilin molekülünden oluşan bir ara üründür. Kararsızlığı nedeniyle kısa zamanda başka yapılara dönüşür (54). Penisillenik asit üzerinden başka yapılara geçişten sözedildiği halde, başka parçalanma ürünlerinden penisillenik aside geçişten sözedildiğine hiç rastlanmamıştır. Şu halde

penisillenik asit türevi ancak açılmamış β -laktam yapılarından oluşabilmektedir. Dolayısıyla penisillenik asidin preparasyonlarda daha önceden safsızlık olarak bulunması ve analiz sonuçlarını etkileyecek şekilde girişim yapması bu türevin kararsızlığı nedeniyle olanaksızdır. Preparasyonlarda safsızlık olarak bulunabilecek 6-aminopenisillenik asit de sonuçları etkilemez. Çünkü penisillenik asitlerde bulunan oksazolon yapısını oluşturacak yan zincir süstitüentine sahip değildir.

Yöntemin seçiciliği, çalışmada sağladığı işlem kolaylığı, 1974 Türk Farmakopesi'nin ampisilin preparasyonları için verdiği analiz yöntemiyle benzerlik göstermesi ve Türk Farmakopesi yönteminden farklı olarak daha kararlı bir penisillenik asit türevi üstünden değerlendirme yapma olanağı vermesi, bizim çalışmalarımızda bu yöntemi seçmemize neden olmuştur.

Penisillenik asitlerin kararsızlığının, yöntemin seçiciliğine neden olduğunu vurgulamamız, ilk bakışta, Bundgaard'ın analizde yararlanılan penisillenik asit türevinin kararlılığı konusundaki bulgularıyla çelişiyor gibi gözükabilir. Ancak araştırmacının sözünü ettiği türev, özel koşullarda hazırlanan α -asetamidobenzilpenisillenik asit merkürü merkaptiddir. Bunun dışında, Bundgaard'ın bu türevin kararlılığı ile ilgili olarak verdiği çelişkili bilgiler nedeniyle (43) türevin kararlılığını deneysel olarak görme amacıyla yaptığımız deneylerde, standart bir ampisilin çözeltisinden hazırlanan α -asetamidobenzilpenisillenik asit merkürü merkaptid çözeltisinin 4°C de 1 saat 30 dakika içinde % 0.43 oranında % etken madde kaybına uğradığı gözlenmiştir. Bu nedenle standart ilaç çözeltileri 4°C de saklanmak suretiyle 1 saat 30 dakikadan

daha uzun süre kullanılmamıştır (Tablo XXIX).

Reaksiyonun analitik kullanılabilirliğinin kontrolü amacıyla "Deneysel Kısım'da gösterildiği gibi doğrusal regresyon eşitliği kurulmuş, korelasyon katsayısı, standart sapma ve regresyon değerlerinin standart hatası hesaplanıp doğrusallıktan ayrılışın ve regresyon katsayısının önem kontrolü yapılmıştır. Elde edilen veriler, yöntemin analitik olarak kullanılabilir nitelikte olduğunu göstermiştir. Yalnız farklı zamanlarda hazırlanan kalibrasyon eğrilerinin farklı eğimler aldığı gözlenmiş, bu gözlemlerden hareketler reaksiyonun tekrarlanabilirliğinin düşük olduğu ve analizlerin kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak değerlendirilmesinin yanlış sonuçlara neden olabileceğine karar verilmiştir. Bu nedenle değerlendirmeler, analize paralel olarak yürütülen ve konsantrasyonu bilinen standart ampisilin çözeltilerinden hazırlanan reaksiyon ortamlarının absorbans değerleri üstünden yapılmıştır. Referans örnek yöntemi olarak bilinen bu yöntem, yapısı belirsiz, tekrarlanabilirliği düşük reaksiyonlarla oluşan ve absorptivitesi saptanamayan maddelerin spektrofotometrik analizi için tavsiye edilmekte ve başarıyla kullanılmaktadır (52).

Spektrofotometrik analiz sonuçlarının bir başka yöntemle doğrulanması amacıyla üç ampisilin preparasyonunun iyodometrik miktar tayinleri yapılmıştır. Bu preparasyonlarda spektrofotometrik olarak % 98.57, % 96.01 ve % 88.17 olarak bulunan % etken madde oranları, iyodometrik olarak sırasıyla % 98.94 , % 96.58 ve % 89.90 olarak belirlenmiştir. İki farklı yöntemle göre saptanmış % etken madde oranları arasındaki fark, çalışma ve hacim ölçmede kullanılan araçlardan ileri gelebileceği gibi

yöntem farkından da ileri gelebilir.

Yöntem farkı şu şekilde açıklanabilir:

Iyodometrik analiz yöntemi de spektrofotometrik yöntem gibi β -laktam yapısına özgüdür (55). Ancak iyodometrik analizde sonuca penisillenik asit türevi üstünden gidilmediği için 6-aminopenisillanik asidin sonuçları etkileyecek şekilde girişim yapması söz konusudur. Yapılan çalışmalardan birinde, iyodometrik analizde, penisilinlerin ve 6-aminopenisillanik asidin iyot eşdeğerlikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada, aynı şartlarda titre edilen penisilinlerin 9,6-aminopenisillanik asidin 8 eşdeğer iyot hacadıkları belirtilmiştir (56). İki bileşiğin mol ağırlıkları ve iyot eşdeğerlikleri üzerinden eşdeğer ağırlıkları hesaplandığı zaman 6-aminopenisillanik asidin eşdeğer ağırlığının, penisilinlerin eşdeğer ağırlığından daha küçük olduğu görülür. Bu da preparasyonlarda safsızlık olarak bulunabilecek 6-aminopenisillanik asidin, iyodometrik analiz sonuçlarının, spektrofotometrik analiz sonuçlarından daha yüksek çıkmasına neden olacak şekilde girişim yapabileceğini gösterir. Her iki yönteme göre yapılmış analizler arasındaki % farkın (1.96, 0.59 ve 0.38) preparasyonların % etken madde oranıyla ters orantılı olması da bu görüşü güçlendirmektedir.

Bütün yapılmış olan kontroller bir yana, bu çalışmanın deneysel kısmının bitişinden kısa bir süre sonra, yöntemi seçişimizdeki isabeti doğrularcasına British Pharmacopoeia 1973 de (57) Smith ve arkadaşlarının çalışmasından kaynaklanan ampisilin miktar tayini yönteminin, aynı farmakopenin 1978 ekinde (58) Bundgaard'ın yöntemiyle yer değiştirdiği

görülür.

Ampisilinin iki optik izomerinin bulunması ve bunlardan birinin diğerine oranla daha fazla antibakteriyel etkinlik göstermesi nedeniyle, çalışmada kullanılan yöntem, ilacın tedavi değerini tam olarak belirlemez. Ancak Rasmussen ve Higuchi'nin geliştirmiş oldukları spektropolarimetrik yöntem dışındaki kimyasal yöntemler (27) ilacın yalnız bir enantiomerinin analizini sağlayacak nitelikte değildir. Sözü geçen yöntem de henüz yeterli kesinlikte sonuçlar verecek kadar geliştirilmemiştir.

Bu çalışmada, spektrofotometrik analizlerde sonuca, altı ayrı reaksiyon ortamında yapılan ölçümler üzerinden gidilmiş, böylece tartım, reaksiyon ve spektrofotometrik okumalardan ileri gelebilecek hatalar koşulların olanak verdiğiince indirgenmeğe çalışılmıştır. Gruptan çok büyük sapma gösteren değerler ortalamaya katılmamış, bu nedenle bazı analizlerde sonuçlar, altıdan daha az sayıda analizin ortalaması olarak verilmiştir. Sonuçlar tablo XXXIV de toplu olarak gösterilmiştir.

Bulgular şöyle değerlendirilebilir:

1- Preparasyonlardan 19 tanesi 1974 Türk Farmakopesi'nin ampisilin sodyum için verdiği % 90 lık alt sınır ve üstünde, altı tanesi ise bu sınırın altında % etken madde içermektedir. Türk Farmakopesi'ne uygun oranda % etken madde içeren preparasyonların sayısı incelenen toplam flakon sayısına oranlandığı zaman % 76 lık bir değer elde edilir. Flakonlardaki % etken madde oranları % 87.20-98.57 aralığında değişmektedir. İncelenen örneklerden bir firmaya ait olanların, % etken madde oranı diğer firma örneklerinden

daha düşük olan ampisilin sodyum içerdigi gözlenmiştir. (Y firması örnekleri). Ayrıca bu sonuncular da, flakonlardaki ampisilin sodyumun % etken madde oranlarının birbirlerine çok yakın oldukları da göze çarpmaktadır. Bir başka firma örnekleri (U firması örnekleri), diğer dört firma örneklerinden daha yüksek oranda % etken madde içermektedirler. Hemen hemen her firma preparasyonlarındaki % etken madde oranları arasında yakınlık görülmektedir.

2- İncelenen örneklerden % etken madde oranı 1974 Türk Farmakopesi koşuluna uyanlardan 15 tanesi ambalajın üstünde bildirilen anhidr ampisiline eşdeğer olandan daha fazla, dört tanesi ise daha az ampisilin sodyum içermektedir.

Türk Farmakopesinde kullanılacağı zaman injeksiyonluk suda çözülmek üzere hazırlanmış, kuru toz halinde injektabl ampisilin preparasyonlarının içerebilecekleri aşırı ve eksik dozlar konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Ampisilin miktar tayininin yararlandığımız yöntemle göre yapılmasını isteyen British Pharmacopoeia 1973, doza bağlı olarak değişen doz sapması sınırları vermektedir (59). Bu farmakope, preparasyonlardaki anhidr ampisilin miktarının 10 flakonun içindeki kuru toz madde miktarı üstünden ortalama anhidr ampisilin miktarı olarak hesaplanmasını istemekte ve seri içindeki tek flakonların içerebilecekleri aşırı ve eksik dozlar için sınırlamalar koymaktadır. Aynı seri No. sından bu sayıda preparasyon bulma gücü nedeniyle doz sapması değerlendirilmelerimiz bu farmakopenin istediği şekilde yapılamamıştır.

Bu arada, Türkiye'de kullanılan ilaçları denetleme yetkisine sahip resmi bir kuruluştaki yapılan kontrollerde, ampisilin ve diğer

penisilinlerin doz sapmalarının değerlendirilmesinde, F.D.A.'nın (2) verdiği aşırı ve eksik doz sınırlarının göz önünde bulundurulduğu öğrenilmiştir. F.D.A., preparasyonlardaki ampisilin sodyumun eşdeğer olduğu anhidr ampisilin miktarının, flakonun üstünde belirtilen anhidr ampisilin miktarının % 90'ından az % 115'inden fazla olmamasını şart koşturmaktadır. Bu oran % fark olarak ifade edildiğinde -% 10 ve +% 15'dir. F.D.A.'nın vermiş olduğu sınırlar, B.Ph. 1973'ün vermiş olduğu doz sapması sınırlarından daha geniştir. Bunun nedeninin F.D.A.'nın penisilinlerin analizinde kesin sonuca kesinliği daha az olan mikrobiyolojik analiz sonuçları üzerinden gidilmesini istemesi olmalıdır (60). Ayrıca flakonlardaki doz sapmasının F.D.A. koşullarına göre de sağlıklı bir şekilde belirlenmesi için istatistik değerlendirme olanağı sağlayacak şekilde, aynı kontrol No.'sundan en az altı flakon gerekmektedir. Ancak F.D.A., British Pharmacopoeia 1973'den farklı olarak seri içindeki tek flakonlar için bir doz sınırlaması yapmamaktadır. F.D.A.'nın sağladığı bu kolaylık nedeniyle biz % etken madde oranını belirlemiş olduğumuz tek flakonlardaki doz sapmalarını belirledik. Ancak varılan sonuçlar, değerlendirmelerin tek bir flakonun içindeki kuru toz madde miktarı üstünden yapılmış olması, F.D.A.'nın analiz yönteminin farklı olması ve 1974 Türk Farmakopesinin bu konuda bir sınırlama koymaması nedeniyle karar verdirici nitelikte olmayıp yalnız preparasyonlardaki aşırı ve eksik dozlar konusunda bir fikir vermektedirler.

Preparasyonlar, % etken madde oranları ve doz sapmaları açısından incelendikleri zaman (tablo XXXIV) içlerinden 13 tanesinin hem Türk

Farmakopesinin en az % etken madde koşuluna hem de F.D.A. nın doz sapması koşuluna uydukları görülür. Bu sayının dışında kalan preparasyonlardan altı tanesi Türk Farmakopesinin izin verdiği oranın altında % etken madde içermekte, geri kalan altı örnek uygun oranda madde içerdikleri halde F.D.A. nın izin verdiği sınırların dışına taşacak şekilde doz sapması göstermektedirler.

Preparasyonlar bu iki nokta dışında, Türk Farmakopesi'nin istediği etiketleme koşulu açısından incelendiği zaman, incelenen 25 preparasyondan 20 tanesinin uygun şekilde etiketlenmiş olduğu, bir firmaya ait beş flakonun (U firması örnekleri) ise uygun şekilde etiketlenmemiş olduğu görülür. Bu firma flakonlarında, kap içindeki ampisilin sodyumun eşdeğer olduğu anhidr ampisilin miktarı, Türk Farmakopesi'nin istediği şekilde etikette belirtilmemiş, yalnız flakonun içerdiği ampisilin sodyumun miktarı verilmekle yetinilmiştir. Bu nedenle bu firma preparasyonlarındaki doz sapmaları, ambalajda bildirilen ampisilin sodyuma eşdeğer anhidr ampisilin miktarına göre yapılmıştır. Bu firma preparasyonları, % etken madde oranı yüksek ampisilin sodyum içerdikleri halde F.D.A. nın izin verdiği oranın dışına taşacak miktarda aşırı doz içermektedirler.

Sonuç olarak incelenen 25 preparasyondan 13 tanesi hem Türk Farmakopesi'nin en az % etken madde koşuluna hem de F.D.A. nın doz sapması koşuluna uygunluk göstermektedir. Bu sayı oransal olarak verildiğinde % 52 dir.

Daha önce de bildirildiği gibi, aynı firma preparasyonları,

kendi aralarında % etken madde oranı bakımından yakınlık göstermektedirler. Bu yakınlığın iki firma preparasyonlarında çok belirgin olması (Y ve U firması), preparasyonların % etken madde oranlarının firmadan firmaya değişen bir farklılık gösterdiğini düşündürür. Bunun nedeni de firmaların uyguladıkları imalat tekniğinin farklı oluşu olabilir. % etken madde oranı daha düşük olan firma preparasyonlarındaki maddenin daha iri kristalli ve sarımsı renkli olması, farkın imalat tekniğinden ileri geldiği görüşünü güçlendirmektedir.

Bu araştırmada, çalışmaya ayrılacak sürenin ve teknik olanakların sınırlılığı nedeniyle Türkiye'de kullanılmakta olan bütün injektabl ampisilin preparasyonlarını temsil edecek sayıda örnekle çalışılamamıştır. Çalışma, yalnız etiketlerine göre kullanma süreleri içinde olmalarına rağmen 1974 Türk Farmakopesi'nin izin verdiği oranın altında % etken madde içeren, etiketlerinde bildirilen anhidr ampisilin miktarından aşırı oranda sapma gösteren veya hekimi yanıltacak şekilde etiketlenmiş preparasyonların bulunabileceğini ortaya koyma bakımından önem taşımaktadır.

Ö Z E T

Bu çalışmada, günümüzde Türkiye'de kullanılmakta olan beş çeşit ticari injektabl ampisilin preparasyonundan beşer örnek toplanmış (toplam 25 örnek), içlerindeki kuru toz madde miktarı tartımla saptanmış ve içerdikleri % etken madde oranı β -laktam yapısına özgül olan bir yöntemle belirlenmiştir.

İncelenen preparasyonların % etken madde oranlarının 1974 Türk Farmakopesinin belirlediği oranın altında olup olmadıkları kontrol edilip bunların içerdikleri ampisilin sodyum miktarına eşdeğer olan anhidr ampisilin miktarının etikette belirtilenden sapmasının, F.D.A. nın izin verdiği oranlardan fazla olup olmadığı konusunda bir fikir edinilmiştir.

Preparasyonların 19 tanesi, 1974 Türk Farmakopesinin verdiği % 90 lık en az % etken madde koşuluna uymaktadır. Bu sayı, incelenen toplam flakon sayısına oranlandığı zaman % 76 lık bir değer elde edilir.

13 preparasyon ise, Türk Farmakopesi'nin % 90 lık en az % etken madde koşuluna ve F.D.A. nın -10 , $+15$ doz sapması koşuluna uymaktadır. Bu sayı, incelenen toplam flakon sayısına oranlandığı zaman elde edilen değer % 52 dir.

Flakonların doz sapması değerlendirmesi, Türk Farmakopesi'nin injektabl ampisilin preparasyonlarının doz sapmaları ile ilgili bir sınırlama yapmaması nedeniyle karar verdirici nitelikte değildir.

Ayrıca incelenen preparasyonlardan bir firmaya ait beş tanesinin Türk Farmakopesi'nin istediği şekilde etiketlenmemiş olduğu saptanmıştır.

Z U S A M M E N F A S S U N G

In der vorliegenden Arbeit wurden von den parenteralen Ampicillinpräparaten, die zur Zeit in der Türkei handelsüblich sind, je fünf Proben gesammelt (insgesamt 25 Präparate), deren Inhalt gewogen und deren Prozentgehalt an Ampicillin Natrium mit Hilfe eines auf die β -Laktamstruktur spezifischen spektralphotometrischen Verfahrens bestimmt.

Es wurde geprüft, ob es welche Präparate gibt, deren Prozentgehalt an Ampicillin Natrium unter der von dem Türkischen Arzneibuch 1974 vorgeschriebenen unteren Grenze liegen. Es wurden auch die Abweichungen der in den Präparaten enthaltenen Ampicillin Natrium entsprechenden Ampicillingehältern von den auf den Packungen angegebenen bestimmt.

19 (76 %) von den untersuchten Präparaten erfüllen die Bedingung der minimalen Prozentgehalt von 90 % an Ampicillin Natrium des Türkischen Arzneibuches.

13 (52 %) von den untersuchten Präparaten erfüllen die Bedingung der minimalen Prozentgehalt von 90 % an Ampicillin Natrium des Türkischen Arzneibuches und der minimalen Dosisabweichung von -10 %, +15 % des F.D.A..

Da das Türkische Arzneibuch 1974 bezüglich der Dosisabweichungen der parenteralen Ampicillinpräparate keine Vorschriften macht, ist dieser Teil der Bewertungen nicht schlüssig.

Es wurde auch festgestellt, daß fünf von den untersuchten Präparaten, die alle von derselben Firma hergestellt werden, nicht der Vorschrift des Türkischen Arzneibuches entsprechend beschriftet sind.

ÖZGEÇMİŞİM

1945 yılında Ankara'nın Çubuk ilçesinde dünyaya geldim.

İlköğrenimimi 1951-56 yıllarında İstanbul Hobyarlı Ahmet Paşa İlkokulunda, orta öğrenimimi 1956-64 yıllarında İstanbul Alman Lisesinde yaptım.

1964 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde eczacılık öğrenimine başlayıp 1970 ekiminde mezun oldum.

Bir süre, mesleğimle ilgili çeşitli yerlerinde çalıştıktan sonra, Almanya'nın Marburg kentindeki Philipps-Üniversitesi Eczacılık ve Gıda Kimyası Enstitüsünde doktora öncesi kurs ve pratiklere, 1974 ocağında ise, sözü geçen enstitüde yardımcı araştırmacı olarak göreve başladım.

Ancak tez çalışmamın çıkmaza girmesi ve çevresel koşulların zorlayıcılığı nedeniyle nisan 1976'da Türkiye'ye döndüm. Aynı yılın ekim ayında Ankara'da Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Bilim Dalına asistan olarak atandım. Bugün bu görevimi sürdürmekteyim.

EK 2: İncelenen Preparasyonlar

Alfasilin Enjektabl Flakon [®](Fako)

Ampisina Enjektabl [®](Mustafa Nevzat)

Binotal Flakon [®](Bayer)

Pentrexyl Parenteral [®](Bristol Eczacıbaşı)

Principen injektabl [®](Squibb)

LİTERATÜR

- 1- Türk Farmakopesi 1974, Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Sayı 425, 51, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul (1974).
- 2- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations, 440. 9a, 289, U.S Government Printing Office, Washington DC (1977).
- 3- Doyle, F.P., Nayler, J.H.C., Smith, H., Stove, E.R., Some novel acid-stable penicillins, Nature 191, 1091 (1961).
- 4- Austin, K.W., Marshall, A.C., Smith H., Crystalline modifications of ampicillin, Nature 208, 999 (1965).
- 5- Doyle, F.P., Nayler, J.H.C., Advances in Drug Research (N.J. Harper, A.B. Simmonds) 1, 25, Academic Press Inc., New York (1964).
- 6- Johnson, J.R., Woodward, R.B., Robinson, R., The Chemistry of Penicillin (H.T. Clarke, J.R. Johnson), 440, Princeton University Press, Princeton-New York (1949).
- 7- Peck, R.L., Folkers, K., *ibid.* 144
- 8- Hou, J.P., Poole, J.W., β -lactam antibiotics: their physicochemical properties in relation to structure, J. Pharm. Sci. 60, 503 (1971).
- 9- Hou, J.P., Poole, J.W., Kinetics and mechanism of degradation of ampicillin in solution, *ibid.* 58(4), 447 (1969).
- 10- Smith, H., Marshall, A.C., Polymers formed by some β -lactam antibiotics, Nature 232, 45 (1971).

- 11- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations, 436. 105, 246 U S Government Printing Office, Washington DC (1977).
- 12- Ibid., 436. 106, 253.
- 13- Platt, T.B., Gentile, J., George, M.J., An automated turbidimetric system for antibiotic assay, Ann.N.Y.Acad.Sci.130, 664 (1965).
- 14- Jones, A., Palmer, G., Automated microbiological assay, Analyst 95, 463 (1970).
- 15- Grimshaw, J.J., Jones, A., Automated microbiological assay, ibid. 465.
- 16- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations, 436. 204, 261, U S Government Printing Office, Washington DC (1977).
- 17- El Sebai, A.J., Rida, S.M., Beltagy, Y.A., Abd El Khalek, M.M., Iodometric determination of penicillins using iodine monochloride, Pharmazie 29, 143 (1974).
- 18- Alicino, J.N., N-Bromosuccinimid assay of penicillins and cephalosporins, J.Pharm.Sci.65, 300 (1976).
- 19- Kyn, L.W., Koo, S.C., Studies on acid base indicators in mixtures of some solvents (I) Determination of ampicillin, amoxicillin, and cephalexin in aqueous organic solvents, Yakhak Hoe Chi 20, 32 (1976), ref.C.A.85, 14917U (1976).
- 20- Casalini, C., Montechi, I., Baccali, D., Cesarano, G., Sulla titolazione potenziometrica in ambiente non acqueo di antibiotici β -lattamici, Boll, Chim. Farm. 114, 651 (1975).

- 21- Moll, F., Döcker, H., Bestimmung von Ampicillin, Cephalexin und verwandten Verbindungen durch Formol-Titration, Arch. Pharm. 305, 548 (1972).
- 22- Forsmann, U., The determination of penicillins by titration with mercury(II) solution, Anal. Chim. Acta 83, 309 (1976).
- 23- Paal, T., Molnar, M., Selective determination of the penicillin structure by the mercurimetric method, Gyogyszereszet 20, 8 (1976), ref.C.A. 85, 73302 f (1976).
- 24- Tawakkal, M.S., Ismaiel, S.A., Chelatometric determination of ampicillin in some pharmaceutical preparations, Pharmazie 30, 542 (1975), ref.C.A. 83, 168528 r (1975).
- 25- Grafnetterova, J., Amperometric titration of ampicillin, Clin.Chim. Acta 11, 128 (1965).
- 26- Siegermann, H.D., Flato, J.B., O'Dom, J.W., Detection and quantitation of antibiotics by differential pulse polarography, Autom. Microbiol. Immunol. [Rap.Symp.] (C.G.Heden, T.Illeni) Wiley, New York (1975).
- 27- Rasmussen, C.E., Higuchi, T., Spectropolarimetric and circular dichroism methods for determining the activity of penicillin, J.Pharm.Sci., 60, 1609 (1971).
- 28- Jusco, W.J., Fluorometric analysis of ampicillin in biological fluids, J.Pharm.Sci. 60, 728 (1971).
- 29- Barbhaiya, R., Turner, P., Fluorometric determination of ampicillin and cephalixin, Br.J.Pharmacol. 58, 473 p (1976).

- 30- Nightingale B.C., Flanagan,D.R., Rapid sensitive fluorometric analysis of cephalosporin antibiotics, J.Pharm.Sci.66, 213 (1977).
- 31- Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations, 436. 205, 263, U S Government Printing Office, Washington DC (1977).
- 32- Choudhurry,C., Colorimetric estimation of ampicillin, Indian J.Pharm.38, 124 (1976).
- 33- Lee,W.K., Yoo,B.T., Colorimetric determination of drugs with phosphomolibdic acid, Yakhak Hoe Chi.18, 190 (1974), ref.C.A.82, 116152 y (1975).
- 34- Rao,G.R., Kaujilal,G , Mohan,K.R., A colorimetric estimation of ampicillin, Curr.Sci.46, 636 (1977).
- 35- El Sebai,A.I., Beltagy Y.A., Abd El-Khalek,M.M., Spectrometric determination of some penicillins with ammonium vanadate, Talanta 24, 328 (1977).
- 36- Casu,B., Ventura,P., Simple and specific assay of penicillins by IR-spectrophotometry in deuterium oxide and dimethylsulphoxide solutions, J.Pharm.Sci.63, 211 (1974).
- 37- Weithkamp,H., Barth,R., Die IR-Spektrophotometrie als universelle Methode zur quantitativen Analyse von Penicillinen, Arch.Pharm.307, 426 (1974).
- 38- Herriott,R.M., A spectrophotometric method for the determination of penicillins, J.Biol.Chem.164, 725 (1946).

- 39- Stock, F.G., The spectrophotometric estimation of total penicillins by conversion to penicillenic acid and the importance of copper in controlling the reaction, *Analyst* 79, 662 (1954).
- 40- Holbrook, A., Application of a spectrophotometric method to the determination of potassium penicillin, procain penicillin, and benzathine penicillin in pharmaceutical preparations, *J. Pharm. Pharmacol.* 10, 762 (1958).
- 41- Weaver, W.J., Reschke, R.F., Spectrophotometric determination of sodium 2,6 - dimethoxyphenylpenicillin monohydrate, *J. Pharm. Sci.*, 52, 362 (1963).
- 42- Smith, J.W., De Grey, G.E., Patel, V.J., The spectrophotometric determination of ampicillin, *Analyst* 92, 247 (1967).
- 43- Bundgaard, H., Ilver, K., A new spectrophotometric method for the determination of some penicillins, *J. Pharm. Pharmacol.* 24, 790 (1972).
- 44- Hou, J.P., Poole, J.W., The amino acid nature of ampicillin and related penicillins, *J. Pharm. Sci.* 58, 1510 (1969).
- 45- Bundgaard, H., Spectrophotometric determination of ampicillin sodium in the presence of its degradation and polymerization products, *J. Pharm. Pharmacol.* 26, 385 (1974).
- 46- Thomas, A.D., Spectrophotometric determination of some drugs containing a tertiary amine group, *J. Pharm. Pharmacol.* 26, 385 (1974).

- 39- Stock, F.G., The spectrophotometric estimation of total penicillins by conversion to penicillenic acid and the importance of copper in controlling the reaction, *Analyst* 79, 662 (1954).
- 40- Holbrook, A., Application of a spectrophotometric method to the determination of potassium penicillin, procain penicillin, and benzathine penicillin in pharmaceutical preparations, *J. Pharm. Pharmacol.* 10, 762 (1958).
- 41- Weaver, W.J., Reschke, R.F., Spectrophotometric determination of sodium 2,6 - dimethoxyphenylpenicillin monohydrate, *J. Pharm. Sci.*, 52, 362 (1963).
- 42- Smith, J.W., De Grey, G.E., Patel, V.J., The spectrophotometric determination of ampicillin, *Analyst* 92, 247 (1967).
- 43- Bundgaard, H., Ilver, K., A new spectrophotometric method for the determination of some penicillins, *J. Pharm. Pharmacol.* 24, 790 (1972).
- 44- Hou, J.P., Poole, J.W., The amino acid nature of ampicillin and related penicillins, *J. Pharm. Sci.* 58, 1510 (1969).
- 45- Bundgaard, H., Spectrophotometric determination of ampicillin sodium in the presence of its degradation and polymerization products, *J. Pharm. Pharmacol.* 26, 385 (1974).
- 46- Thomas, A.D., Spectrophotometric determination of some drugs containing a tertiary amine group, *J. Pharm. Pharmacol.* 26, 385 (1974).

- 47- Siba,A., Graber,H., Spectrophotometric determination of α -(-amino-acetamido)-penicillanic acid with α -dicarbonyl compounds, Magy.Kem. Foly 83, 504 (1977), ref.C.A. 88, 83256 p (1978).
- 48- Hartmann,V., Roediger,M., Application of high pressure liquid chromatography to the analysis of penicillins and cephalosporins, Chromatographia 9, 266 (1976).
- 49- Wu,H.L., Masada,M., Uno,T., Gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrophotometric analysis of ampicillin, J.Chromatogr.137, 127 (1977).
- 50- Kutsal,A., Muluk,F.Z., Uygulamalı Temel İstatistik, 73, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara (1972).
- 51- Ibid. 78.
- 52- Conors,K.A., A Textbook of Pharmaceutical Analysis, 165, John Wiley and Sons Inc., New York (1967).
- 53- Gündüz,T., Kantitatif Analiz Ders Kitabı, 42, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Ankara (1975).
- 54- Longridge,J.L., Timms,D., Penicillenic acid, the mechanism of acid and base catalyzed hydrolysis reactions, J.Chem.Soc.B., 855 (1971).
- 55- Seitzinger,R.W., De bepaling van ontledingsprodukten van penicillinen, Pharmaceutisch Weekblad 108, 961 (1973).
- 56- Alicino,J.F., Iodometric assay of natural and synthetic penicillins, 6-aminopenicillanic acid, and cephalosporin C, Anal.Chem.33, 649 (1961).

- 57- British Pharmacopoeia 1973, Her Majesty's Stationary Office, 31,
University Printing House, Cambridge (1973).
- 58- Ibid. Addendum 1978, 5.
59. Ibid., Addendum 1977, 25.
- 60- Hewitt, William, Microbiological Assay, 177, Academic Press,
New York (1977).