

278986

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
GALENİK FARMASİ BİLİM DALI

**ENJEKTABL ÇÖZELTİLERDE PROKAIN HİDROKLORÜR
STABİLİTESİ ÜZERİNE
SODYUM NOVAMİNSÜLFONAT IN ETKİSİ**

Ecz. Emel Altunkurt

DOKTORA TEZİ

Ankara, 1976

Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi Galenik Farmasi Bilim Dalı

ENJEKTABL ÇÖZELTİLERDE PROKAIN HİDROKLORÜR
STABİLİTESİ ÜZERİNE
SODYUM NOVAMİNSÜLFONAT'IN ETKİSİ

Ecz. Emel Altinkurt

Doktora Tezi

Ankara, 1976

Tezin yazılmasına yön veren Prof.Dr.S.Oğuz Kayaalp'e kıymetli yardımlarından; çalışmalarımı yöneten, bana her bakımdan yardımcı olan, kıymetli bilgi ve fikirlerinden yararlandığım, Dr.Sci.Pharm. Turan Altinkurt'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Spektrumların alım ve değerlendirilmesi esnasında, bana ayırarak vakti daima bulan ve yardımlarını esirgemeyen Dr.Sci. Pharm. Altan Bilgin'e Dr.Sci.Pharm. Ekrem Sezik'e, Dr.Sci.Pharm. Mevlüt Ertan'a, Dr.Sci. Pharm. Tarık Veysoğlu'na; çalışmalarım esnasında gösterdiği alaka ve yardımlardan dolayı Ass.Ecz. Sema Öney'a, tezin daktilo edilmesi sırasında gayretli ve devamlı mesaisiyle desteğini gördüğüm Serpil Doğanay'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEORİK KISIM

I- GİRİŞ

A- Prokain hidroklorür'ün genel özellikleri.....	2
B- Stabilitenin gözden geçirilmesi.....	5
C- Parçalanma ürünlerinin genel özellikleri.....	31
1- 4-Aminobenzoik asid.....	31
2- 2-Dietilaminoetanol.....	33
D- Teşhis metodlarının gözden geçirilmesi.....	34
1- Kimyasal renk reaksiyonu ile teşhisi.....	34
2- İnce tabaka kromatografisi ile teşhisi.....	40
3- Kağıt kromatografisi ile teşhisi.....	51
4- Gaz kromatografisi ile teşhisi.....	59
5- Test tüp kromatografisi ile teşhisi.....	61
6- İyon değiştirme kromatografisi ile teşhisi.....	61
7- N.M.E spektroskopisi ile teşhisi.....	63
8- Kütle spektroskopisi ile teşhisi.....	63
9- Infrared spektroskopisi ile teşhisi.....	64
10- X-Ray spektroskopisi ile teşhisi.....	64
11- Radyokristallografik teşhisi.....	64
12- Ultraviyole spektroskopisi ile teşhisi.....	65
E- Miktar tayini metodlarının gözden geçirilmesi.....	66
1- Gravimetrik metod.....	67
2- Titrimetrik metodlar.....	67
3- İnterferometrik metod.....	77

4-	Polarografik metod.....	78
5-	Kulometrik metod.....	78
6-	Fotonefelometrik metodlar.....	79
7-	Gaz kromatografik metodlar.....	80
8-	Fluorometrik ve fosforometrik metodlar.....	80
9-	Spektrofotometrik metodlar.....	81
10-	Kolorimetrik metodlar.....	85
F-	Farmakolojisi ve farmakokinetiği.....	96
G-	Sodyum novaminsülfonat'ın genel özellikleri ve kimyası.....	104
H-	Sodyum novaminsülfonat'ın stabilitesi.....	108
I-	Çalışmanın amacı.....	114

II- GİRİŞ

DENEYSEL KISIM

II-	MATERYELLER ve METODLAR.....	115
A-	Materyeller.....	115
1-	Kimyasal maddeler.....	115
2-	Aletler.....	117
B-	Metodlar.....	119
1-	Prokain hidroklorür ve sodyum novaminsülfonat-prokain hidroklorür enjeksiyonluk çözeltilerinin hazırlanması.....	119
2-	Teşhis ve tayin metodları.....	128
a-	Kromatografi sisteminin seçimi.....	128
b-	Reaktif seçimi ve çeşitli reaktiflerin hassasiyetinin tayini.....	135

c- Adsorban tabakalarının hazırlanması.....	142
3- Miktar tayini metodunun seçimi.....	143
4- Miktar tayini metodunda kurbun çizimi ve standart sapması.....	146
5- Teşekkül eden maddelerin sentezi.....	149
III- BULGULAR	
A- Miktar tayini sonuçları ve ince tabaka kromatografisinde gözlenen neticeler...	151
B- Teşekkül eden maddelerin ince tabaka kromatografi- sinden elüsyonla elde edilişi.....	193
C- Teşekkül eden maddelerin spektral analizi.....	194
IV- TARTIŞMA VE HÜKÜM.....	211
ÖZET..	215
KAYNAKLAR.....	216

TEORIK

KISIM

I- GİRİŞ

Prehistorik ve antik devirden beri anestezi olarak kullanılan kokain'in yapısının aydınlatılması sırasında etkinin hangi fonksiyonel gruptan ileri geldiği de gözlenmiş ve daha sonra benzer etkide maddelerin sentezinin yapılmasına çalışılmıştır. Sentezi yapılan çeşitli maddelerle daha yüksek anestezi etki sağlanmış olmakla beraber, toksisitede aynı oranda artmıştır. Ancak sentetik lokal anesteziyelerden en eski ve çok kullanılan prokain'in sentezi ile bu durum düzelmiştir (Einhorn, 1909).

Bu maddenin toksisitesi düşük ve doku tarafından iyi tolere edilmektedir. Çözeltilerindeki stabilitesi ideal olmamakla beraber pratik olarak yeterlidir. ve bu sebeple yerel anestezi haricinde, son 50 senedir en önde gelen lokal anesteziyektir. Prokain'in genel ve lokal toksik özellikleri iyi olmasına rağmen tek başına tesirli bir ajan değildir. Braun(1903) lokal anesteziyelere epinefrin ilavesi ile tesir süresinin uzadığını belirtmiş idi, bugün prokain bu kadar önemli bir ajan olmaya caktı.

Prokain'in bu kadar başarı kazanması, daha iyi özellikte

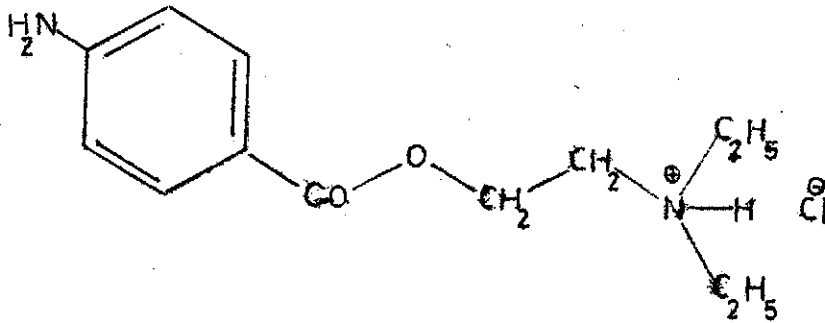
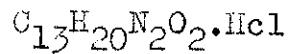
maddeler elde etmek için büyük bir gayret sarf edilmesine sebep olmuş ve yüzlerce amino alkol esterleri hazırlanmıştır.

Bunların bir kısmı prokain'e oranla tesir,uzun anestezik etki ve daha iyi yüzey anestezik özellik göstermektedir. Ancak hiçbiri tam olarak bu madde ile kıyaslanabilecek özellikte değildir.

Bu gün prokain başlangıç maddesi kullanılmak şartı ile daha iyi özellikte amino alkol ester tipi maddelerin hazırlanmasına çalışılmaktadır (Burger,1970).

A- Prokain hidroklorür'ün genel özellikleri

2(Dietilamino) etil p-aminobenzoat monohidroklorür



E.D.153-156°C

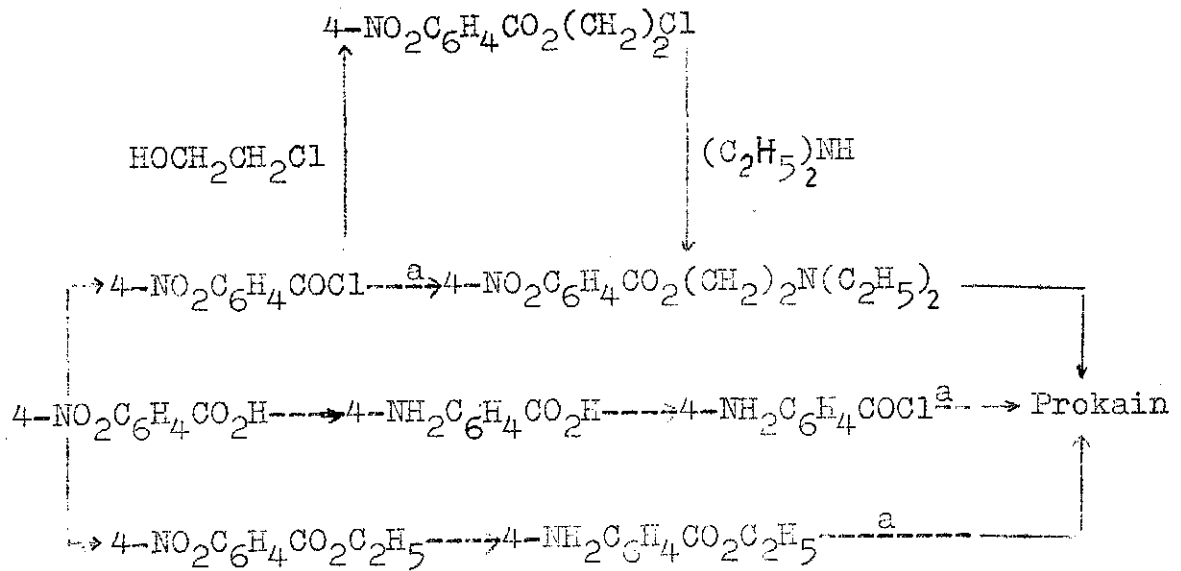
Bütün farmakopelerde kayıtlı olan bu maddenin birçok patent isimleri bulunmaktadır. Bunlardan bir kısmı;Novokain,

Ethokain, Neokain, Sinkain, Anestil, Alokain, Parakain vb.

Molekül ağırlığı: 272.77

C,H,N,O yüzdeleri: C:%57.24 ; H:%7.39 ; N:%10.27 ; O:%11.73 ;
prokain baz:%86.63 ; Hcl:%13.37.

Prokain'in en belirgin sentez yöntemleri şu şekilde şematize edilebilir (Burger,1970).



a: KO(CH₂)₂N(C₂H₅)₂

Fiziksel özellikleri: Monoklinik veya triklinik, altı kenarlı yüzeylerden oluşan, iğne veya diken şeklinde kristallerdir. Renksiz, kokusuz, hafif acı lezzetlidir, dil üzerinde geçici uyuşukluk meydana getirir. Sudaki %1(a/h) çözeltisinin pH'sı 5-6.5'tur. (Türk Farmakopesi, 1974); taze kaynatılmış soğutulmuş sudaki (1+19) çözeltisi hafif asid karakterdedir (Macar Farmakopesi, 1970).

Maddenin erirliği hakkında çeşitli kayıtlar bulunmaktadır. Bu değerler tablo halinde şu şekilde şematize edilebilir.

Tablo 1 : P r o k a i n h i d r o k l o r ü r ' ü n
ç ö z ü n ü r l ü ğ ü (l k)

	su	alkol	absolü alkol	kloroform	organik çözücü
T.F. 1974	lk	erir	-	güç erir	çok güç erir
S.P.1961	çok çözü- nür	çözünür	-	-	-
Pharm.Hung 1970	lk	7k	-	450k	pratikte çözünmez
Pharm.Franç 1970	lk	25k	-	az erir	pratikte çözünmez
Extra Ph. 1973	lk	15k	30k	az erir	çözünmez
B.P.1968	lk	15k	-	-	-
U.S.P.XVIII 1970	çok çözü nür	çözünür	-	az çözünür	pratikte çözünmez
B.P.C.1968	lk	15k	-	az çözünür	çözünmez
D.A.B.VII 1968	çok çözü nür	çözünür	-	-	-

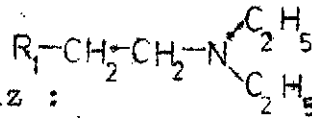
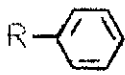
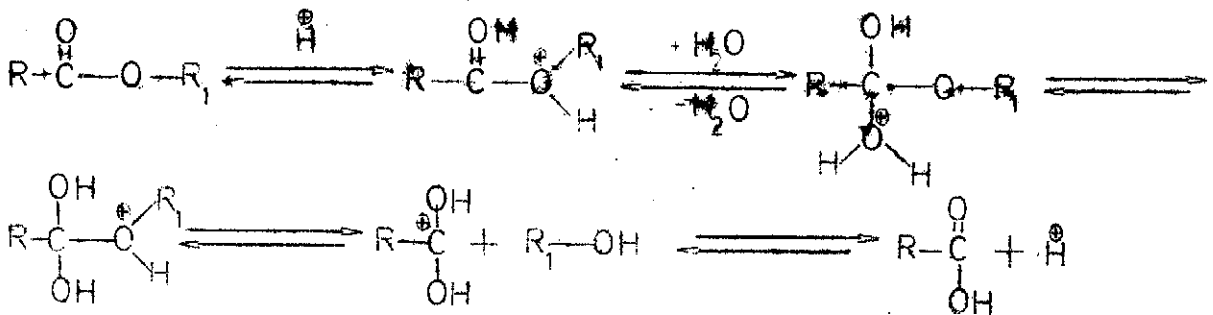
Türk Farmakopesi(1974) ve diğer Farmakopelerde,safılık muayenesi kayıtlıdır. Türk Farmakopesi,ağır metal(milyonda 20k) kurutmada kayıp (105⁰C'de kurutmada ağırlığının %0.5'inden fazlasını kaybetmez) ve kül miktarı(%0.1) için kayıtlar koymuştur.

B- Stabilitenin gözden geçirilmesi

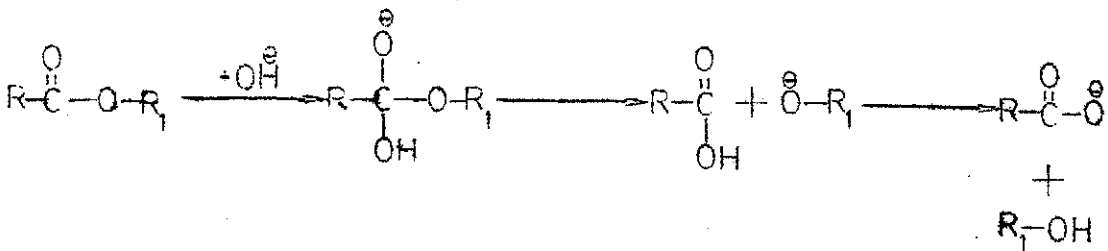
Prokain hidroklorür'ün yapısı göz önüne alındığında en belirgin parçalanmanın ester grubunun hidrolizine bağlı olarak meydana geldiği kabul edilmektedir.

Ester grubunun asid ve alkali ortamlarda ki hidrolizi şu şekilde şematize edilebilir.

a- Asid hidroliz :



b- Alkali hidroliz :



(Münzel, Buchi ve Schultz, 1959)

Ayrıca molekül taşıdığı aromatik amin grubundan dolayı oksidatif parçalanmaya da müsaittir. Bu gruptan yürüyen parçalanma ile N' oksidler teşekkül etmektedir. Ancak bu tip parçalanmanın kontrol altında tutulması mümkün olduğundan büyük bir önem taşımamaktadır (Wilson, Gisvold ve Doerge, 1971).

Bu kavramların dışında, özellikle preparatların stabilitesinin incelenmesinde, genel olarak stabilitede etkin faktörlerin (pH , ısı , ışık , oksijen ve çözücü) bir veya birkaçı birlikte tatbik edilerek neticeler gözlenmektedir.

Prokain hidroklorür'ün stabilitesinin tetkiki amacı ile bu tipte birçok araştırma yapılmıştır .

Çözeltilerin stabilitesi üzerine ısı faktörü, sterilizasyon şartlarına ve süresine bağlı olarak etkimektedir. Bu nedenle araştırmaların gruplandırılması, çözeltilere tatbik edilen sterilizasyon yöntemlerine göre yapılmıştır.

Isı tatbik etmeden, filtrasyon suretiyle yapılan sterilizasyonda :

Rossi (1939)'da Jena G₅/3 filtreden süzerek sterilize edildiğinde, prokain hidroklorür çözeltilerinin bileşiminde, çok ufak veya hiçbir değişikliğin meydana gelmediğini kaydetmiştir.

Golcz, Kedzia, Schulz ve Kedzia (1967) ise değişik filtrelerden süzülerek yapılan sterilizasyonda çözeltinin pH'sında görülen değişiklikleri tablolamıştır.

%5'lik prokain hidroklorür çözeltisinin süzmeden önce pH'sı 5.8 olarak ölçülmüştür. Değişik filtrelerden süzildükten sonraki pH'lar; Berkefeld (W) için,6.12 ; Schott (142 G₅) için,5.97 ; Seitz (EKS) için,5.96 ; Schott (225 G₅) için,5.81 ve Seramik için,5.82 olarak bildirilmiştir.

Fastovskaya,Sleptsova,Kornienko ve Pugin (1971) nonsterik titanyum tozlarını basınç ile tüp ve disk haline getirerek hazırlanan filtreleri,prokain hidroklorür çözeltilerinin süzülmesinde kullanmışlardır. Bu filtreler 56 µ'dan küçük porda hazırlanabilir ve 5 µ için temizlemeyi temin eder, % 0.5'lik prokain hidroklorür çözeltisi için yüksek rezistansa sahiptir.

Aynı araştırmacı,Cermet (titanyum) filtreden süzülen %0.05'lik prokain hidroklorür enjeksiyonluk çözeltilerinde,renk ve pH değişimi meydana gelmediğini, süzüntüde titanyum iyonu bulunmadığını bildirmektedir (Fastovskaya,Sleitsova,Kornienko ve Pugin,1971).

Isı tatbik etmeden ve diğer şekillerde sterilizasyon yapılarak netice gözlenmiştir. Örneğin;Marchesi (1951) tindalizasyonla sterilizasyonun uygun olduğunu; Hortabagyi,Hangay,Lukats,Muranyi ve Zarandys (1967),radyasyonu ile sterilizasyonda, 2.5-5 megarad irradiasyonla,bir seri sterilizasyon yapmışlar ve 2.5 megarad dozla sterilitenin temin edildiğini ve çeşitli metodlarla yapılan ölçmelerde irradiasyon öncesi ve sonrasında,prokain hidroklorür için herhangi bir ölçülebilir

parçalanma tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Ayrıca Frazier ve Geisz (1960) %10'luk dekstroz çözeltisinde hazırlanan, prokain hidroklorür steril çözeltileri için ondört maddeden oluşan bir teknik bildirmişlerdir. Bu metodun uygulanmasının daha ziyade hastahanelerde aseptik şartta hazırlanacak, steril çözeltiler için yararlı olduğu belirtilmiştir.

Prokain hidroklorür çözeltilerinin stabilitesinin kinetik incelenmesinde : Terp (1949) çözeltilerin monomoleküler hidrolizini, 20-37°C aralığında ve değişen pH değerlerinde incelemiştir. Bu derecelerdeki hidroliz sabitlerinden yapılan hesaplamalarda, her 10°C'lik ısı artmasında hidroliz 3.1 defa artış göstermiştir. Deneysel olarak bu bağıntının 20-70°C arasında uygulanabileceği gösterilmiştir.

Higuchi, Havinga ve Busse (1950) prokain hidroklorür çözeltilerinde, maddenin hidrolizinin, teorik analizini ve kimyasal kinetiğini araştırmıştır. Neticede bütün reaksiyonun serbest baz ile serbest iyonu dayandığı, aktivasyon enerjisinin 13.8 ve 12 k kal/mol başına olduğu bulunmuş, maddenin yarı ömrü, ısı ve pH'nın fonksiyonu olarak verilmiştir.

Oellsner (1955) prokain hidroklorür ve kloroprokain'in enjektabl çözeltilerde parçalanmasını incelemiştir.

Terp (1949)'un sudaki hidrolize ait tecrübelerinden ve kloroprokain'e ait bulgularından faydalanılarak, çözeltilerde parçalanma derecesinin hesaplanmasına yarayan formüller ge-

liştirilmiştir. Diğer araştırmacıların deney neticelerindeki hatalar ve prokain hidroklorür ile kloroprokain arasındaki farklar ispatlanmıştır.

Prokain hidroklorür'ün hidroliz sabiti tamponlanmamış çözeltilerde, 0-100°C arasında tayin edilmiştir. Madde ile sodyum hidroksid arasındaki reaksiyonun, tamponlanmamış çözeltilerde, bimol reaksiyonu olduğu ve yarılanma zamanının logaritmasının, 0°C 'de 3.55 'ten 100°C 'de 0.486 'ya lineer olarak düşme gösterdiği bildirilmiştir (Biglino, 1957).

Willi (1958) ise sulu çözeltilerde, ester hidrolizi kinetiğini incelemiş ve kinetik genel kaidelerine ilave olarak reaksiyon derecesinin ısıya bağlı olduğunu bulmuştur.

Karlen ve Agren (1960) bazı lokal anesteziklerin alkali hidrolizini kinetik olarak incelemiştir. Çalışmada sulu çözeltilerde değişik ısılarda (25 , 35 , 45°C) hidrolizin hız sabiti tayin edilmiş ve süstitüentlerin aktivasyon enerjisi üzerine tesiri münakaşa edilmiştir.

Gonzalez (1963) 4-aminobenzoik asid ilave edilmiş, karbon-dioksit'le doyurulmuş ve pH:4'e tamponlanmış çözeltilerde, oda sıcaklığında parçalanmanın birinci dereceden bir reaksiyon olduğunu ve Arrhenius denkleminde uyduğunu göstermiştir.

Ayrıca çözeltiler için aktivasyon enerjisi de tespit edilmiştir.

Daha sonra Arancibia ve Sacre (1964) dört tip formülde

% 1'lik çözeltinin kinetiğini incelemiş ve 40,62,74,83°C'deki durumları gözlemiştir. Bu çalışmada en iyi sonuç 4-aminobenzoik asid ilave edilmiş ve karbondioksitle doyurulmuş çözeltilerden alınmıştır. Çözeltilerin yarılanma ömürleri (saatte) ekstrapole edilerek hesaplanmıştır,

Siegel, Hiter, Susina ve Blake (1964) prokain hidroklorür'ün döteryum oksidteki % 1'lik çözeltilerinin stabilitesini, 40-100°C 'de denemiştir.

Bu şartlarda, 100°C 'de pH:8'de çözelti suya oranla iki defa daha stabil bulunmuştur.

Daha sonra Moraga, Aranguiz ve Belmar (1968) sterilizasyon ısısını 40,65,78 ve 83°C seçerek 180 gün süre ile stabiliteyi diğer faktörler yanında incelemiştir.

Dominguez-Gil (1970) ise maddenin çeşitli poliollerdeki değişik konsantrasyondaki çözeltilerini tamponlayarak, 60,70, 80,90°C 'de hızlandırılmış stabilite testi uygulamıştır.

Aynı araştırmacı, 20°C 'de pH:7'ye tamponlanmış prokain hidroklorür çözeltilerinin hidrolizine ait birinci derece reaksiyon sabitini, 20°C için 1.4 ; 1.3 ; 2.3 butandiol'lerin % 30 ilavesinden sonra tayin etmiştir (Dominguez-Gil ve Cadorniga, 1971 a).

Prokain hidroklorür'ün 100°C ve 120°C 'lerde yapılan sterilizasyonunda :

Hartley (1938) 'de prokain hidroklorür çözeltisinin kay-

natılarak,sterilizasyonunda hidrolizin şiddetlendiğini ve 100°C 'de fark edilebilir hidroklorik asid teşekkülü olduğunu bildirmiştir. Maddenin parçalanmasını yüksek ısılardaki asidite ve bilhassa normal cam kaplarda yapılan otoklav sterilizasyonunun şiddetlendirdiği bildirilmektedir.

Farklı neticeye Higuchi ve Busse (1950) ısıya hassas maddelerin sterilizasyon şartlarının seçimini yaparken,matematiksel uygulamaların her zaman doğru netice vermediğini belirterek varmışlardır.

Örneğin,prokain hidroklorür için 120°C'lik otoklav sterilizasyonunun, 100°C'de daha uzun sürede yapılan sterilizasyona tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Bu bulgulara paralel neticeyi,Carter,Hebert,Dewald ve Talley (1954) spinal anestezi de kullanılan çözeltilerin çok safhalı otoklavlanması sırasında meydana gelen değişiklikleri gözleyerek almıştır. % 10 'luk prokain hidroklorür çözeltilerinin,5 defa 250°F ve 20 lb basınçta,otoklav sterilizasyonunda,kaydedilir bir parçalanma tespit edilmemiştir.

Fukuzawa ve Fujiyo (1956) ise 100°C 'de 30 dakika sterilizasyonda,çözeltilerde % 1-2 parçalanma tespit etmiş ve asid ortamda parçalanmanın arttığını bildirmiştir.

Bunun aksine,antioksidansız %2'lik prokain hidroklorür çözeltilerinin,100°C 'de 30 dakika buhar akımında sterilizasyonunda,herhangibir parçalanma tespit edilememiştir (Murav'ev, Ponomarev ve Zapiski,1959).

Yüksek ısıda sterilizasyonun stabilite yönünden daha uygun olduğu; Alwas ve Narbutt-Mering (1958) ; Hughes ve Stewart (1957) tarafından da bildirilmiştir. Ayrıca Zöllner (1954) bulguları da faydalı bulunmuş ve doğrulanmıştır.

Dittmer (1964) farmakopelerin verdiği formül ve sterilizasyon şartlarında, stabiliteyi incelemiş ; Bridenbough ve Moore (1964) ise tekrarlanan sterilizasyonda, tesir kaybını incelemiştir. Bunun için % 2'lik prokain hidroklorür çözeltilerine, 260-275°F'ta 18 pount basınçta, 30 dak otoklav sterilizasyonunu, 30-180 dak arasında kademeli olarak uygulamıştır. Netice olarak sterilizasyon sonunda, % 1.91 -1.89 arasında maddenin çözeltide kaldığı ve anesteziik etkide de kayda değer bir düşme görülmediği bildirilmiştir.

Değişik sterilizasyon şartlarında, % 0.25-2 konsantrasyonlarda (bilhassa % 0.5) prokain hidroklorür çözeltilerinin stabilitesi 100 ml'lik ampullerde incelenmiştir. Sterilizasyon, a-100°C'de 30 dak ön ısıtmadan sonra, otoklavda 100°C'de 1 saat ; b-100°C'de 30 dak ön ısıtmadan sonra, 120-22°C'de 10 dak ısıtılarak yapılmıştır. Bu şartlarda prokain hidroklorür'ün hidroliz derecesi, a-% 2; b-% 3.5 bulunmuştur. Çözeltinin sarı renk almasına, meydana gelen parçalanma ürünlerinin, çok düşük konsantrasyonlarının dahi sebep olduğu bildirilmiştir (Przybilka, 1964).

Sterilizasyonun etkisi çözeltinin pH değişimi yönünden de incelenmiştir. Sterilizasyon esnasında, hidroliz neticesi açığa çıkan hidroklorik aside bağlı olarak, çözel-

tinin pH'sının değiştiği tespit edilmiştir. Ancak pH değişiminin tetkiki ile parçalanmayı takip etmenin mümkün olmadığı bildirilmiştir. Parçalanma miktarının tayini için, parçalanmamış prokain hidroklorür ve 4-aminobenzoik asid'in tayini gereklidir (Hartley,1938).

Bu bulgular daha sonra yapılan araştırmalarda da doğrulanmış ve çözeltilinin pH değişimine ısının etkisi araştırılmıştır. Andersen (1951) prokain hidroklorür çözeltilerinin pH değişimleri üzerinde çalışmıştır. Çalışmada, çözeltilere % 0.5-1 oranında 0.1 N hidroklorik asid ilave edilmiş ve değişik sterilizasyon ısıları (100°C/15 dak ;100°C/1 saat; otoklav ; 80°C/2 saat) tatbik edilmiştir. Otoklav sterilizasyonunda pH değişimi görülmemiş, sodyum piro-sülfid taşıyan ampullerde pH değişimi daha fazla olmuştur.

Bu husus Kedzia, Golcz, Schulz ve Kedzia (1967) tarafından da incelenmiştir. Sterilizasyon ısısı 115°C ve 120°C olarak alınmış, 30 dak süre seçilmiştir. Bulunan neticeler tablolanmıştır. Sterilizasyon öncesi pH:5.8 olarak ölçülmüş, 115°C'lik sterilizasyondan sonra pH:4.62 ve 120°C'den sonra pH:5.6 olarak bildirilmiştir. Ayrıca 115°C/30 dakikalık sterilizasyondan sonra, % 5'lik çözeltilerde etken madde %4.66 olarak bulunmuştur.

Izgü (1967) sodyum noramidopirinmetansülfonat, prokain hidroklorür'ün, siyanokobalamin stabilitesi üzerine etkisini değişik formüldeki (a, b, c, d) preparatlarda araştırmıştır. 120°C/20 dak otoklav sterilizasyonu sonunda preparatların

pH'ları ölçülmüş ve tablolanmıştır. Netice olarak prokain hidroklorür'ün, siyanokobalamin çözeltilerinin pH'sını düşürmediği görüşüne varılmıştır.

Altinkurt (1967)'de % 10'luk prokain hidroklorür çözeltilerinde, 120°C/20 dakikalık sterilizasyon sonunda, çözelti pH'sının 5.8'den 4.8'e düştüğünü belirtmiştir.

Saklama süresinde ısının etkisi ; Vaisman ve Yashchenko (1963) tarafından incelenmiştir. Bunun için 16 tip çözelti 10-12°C ve 18-20°C'ta 10 sene ; 45°C'de 15 gün ve -55°C'de 3 gün bekletilerek stabiliteleri incelenmiştir. 10-12°C'de bekletmenin, prokain hidroklorür için saklama zamanını uzattığı belirtilmiştir.

Wisniewski, Furmanczyk ve Pasnik (1968) % 2-4'lük prokain hidroklorür çözeltilerini, 115-120°C'de 20-120 dak sterilizasyondan sonra, normal şartlarda muhafaza etmiş ve 18 ayın sonunda kontrol etmiştir.

Maddeye katı halde iken ısının etkisi ; Grier (1964) tarafından incelenmiştir. Maddenin 225-35°C'de 19 mm basınçta 1 saat ısıtılmasında, N.N dietil N' feniletilediamin, dietilaminoetanol, karbondioksit ve zamklı bir artık (poliamid) meydana gelir ki, poliamid'in sulu sodyum bikarbonat ile ısıtılıp, pH:4-4.5'a getirilmesi ile 4-aminobenzoik asid açığa çıkar. N.N dietil N' feniletilediamin'in meydana geliş mekanizması Finnegan (1965) tarafından formüllerle izaha çalışılmıştır.

Körber (1965)'te prokain hidroklorür tuzunun sterilizasyon

yonunda, literatür kayıtları ve farmakope standartlarını kullanmıştır.

Çözeltilerin stabilitesi üzerinde ki pH faktörü ; tespit edilen optimum pH ve bekleme süresi sonunda görülen pH değişimleri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar, çözeltiler için optimal pH değeri bulmak amacı ile yapılanlar, çeşitli şekillerde hazırlanma sonucu, pH' da meydana gelen değişiklikleri araştıranlar v b. gibi gruplandırılmıştır.

Stabilite yönünden optimal pH değerini bulmak amacı ile yapılan araştırmalar: Seeges, Smith, Warner ve Brinkhous (1939) da düşük pH'larda hazırlanan çözeltilerin stabilitesinin iyi olmadığını, bu görüşün aksine Wallace ve Hausen (1941) optimal pH'nın 3.1-4.1 olmasının uygun olduğunu bildirmiştir.

Terp (1949) prokain hidroklorür çözeltilerinin monomoleküler küler hidrolizini, pH:0-10 aralığında, 20-37°C ısılarında incelemiştir. pH ve log C arasındaki bağıntı, deneyde bulunan neticelere; Bullock ve Canneil (1941) neticelerinden hesaplanan sabiteler grafiğe geçirilerek bulunmuştur. Çizilen grafik, pH:0-5 arasında açıkça bir parabol göstermektedir. Parabol yardımı ile hesaplanan maksimum stabilite, pH:3.6'da görülmüştür.

Vastagh ve Zöllner (1950) bu bulguların aksine, çözeltilinin pH'sının 3.8-4.2 arasında ayarlanmasının stabilite yönünden uygun olduğunu bildirmişlerdir.

1950 yılında yapılan araştırmalarda, pH:3.6'da en yüksek stabilite görülmüştür.

Marchesi(1951) ise hidrolizin pH:6.7'de minimum olduğu görüşüne varmıştır.

Wailes(1955) oftalmik çözeltiler için optimal pH değerini 5 olarak tespit etmiş ve çözeltinin, borik asid-benzalkonyum klorür-su karışımı ile tamponlanmasını uygun bulmuştur. Enjektabl çözeltiler için bu pH'yı optimum değer olarak (pH:4.5-5) Utsumi ve Harada(1956) bildirmiştir. Wanman (1959) buna yakın bir değer (pH:4) vermiştir. Ayrıca hidrolizin hidroksil iyonu yanında belirgin bir artış gösterdiği de belirtilmiştir. Bu görüş, çeşitli araştırmacılar tarafından da benimsenmiştir. Vastagh (1952) ; Ooteghem ve Steiger (1958) ; Schmidt (1961) ; Tanaka ve Harada (1961) çözeltilerin, asid ortamda alkali pH'lara oranla daha stabil olduğunu bildirmişlerdir.

Kubiak ve Materski(1961) değişik şekilde hazırlanan preparatın, optimum pH değerinin, 7-8 olması gerektiğini bildirmiştir. Hazırlama esnasında fosfat tamponu ampullere doldurulmuş, kuruluğa kadar uçurulmuş, katı prokain hidroklorür ilave edilmiş ve kapatılarak 100°C'de 30 dak sterilize edilmiştir. Ampul muhtevasının kullanılmadan önce suda çözüleceği bildirilmiştir.

Parafinska(1963) % 2'lik enjektabl çözeltileri, pH:4.6'ya ayarladıktan sonra karbondioksit ile doyurmuş, disodyum edetat ilave etmiş ve 20, 40, 60°C'lerde saklayarak, stabilitesini incelemiştir. Bu şartlarda, çözeltinin renksiz kaldığını ancak parçalanmanın durdurulamadığını belirtmiştir.

Siegel ve diğ.(1964) prokain hidroklorür'ün döteryumoksitteki(D₂O) % 1'lik çözeltisinin stabilitesini (pH:8-11) aralığında,40-100°C ısılarında incelemiştir. Neticeler grafiklenmiş,tipik bir birinci derece reaksiyon olduğu görülmüştür. pH:8'de (100°C)D₂O'te suya oranla iki katı stabil bulunmuştur.

Baesclin ve Etter(1968) kolirlerde ki problemleri araştırmışlardır.Bunun için prokain hidroklorür'ün hangi pH'da % 90 tesir kuvvetinde kaldığı ve bu pH'nın gözün toleranslı olduğu optimum pH'dan ne derece fark gösterdiği tespit edilmiştir.Prokain hidroklorür için gözün tolere edebildiği,optimal pH:6.05,iki sene sonunda % 90 aktivite gösterdiği durum,pH:5.2 ve 2 ay sonunda % 90 aktivite gösterdiği durum,pH:6.6 olarak tespit edilmiştir.Ayrıca çok dozlu kolirlerde,bulaşmayı önlemek amacı ile fenilmerkür borat ve benzalkonyum klorür ilavesi tavsiye edilmiştir.

Belli bir pH aralığında,diğer faktörlerde göz önüne alınarak,çözeltilerin stabilitesi incelenmiştir. Aven ve Fol-des(1951) alkali ortamda,zamana bağlı hidrolizin,37°C'de prokain hidroklorür için 2. derece reaksiyon,plâzmadaki hidrolizin ise enzimatik hidrolize bağlı 0. derece reaksiyon olduğunu tespit etmiştir.

Zöllner(1954) prokain hidroklorür hidrolizi ile 4-amino-benzoik asid ve bunun dekarboksilasyonu ile de anilin meydana geldiğini bildirmiştir. Dekarboksilasyon,ısı ve zamana bağlı olarak pH:6'da,pH:4.5'a oranla çok daha çabuk olur.

Belli başlı preparatlarda 10-50 mcg/ml anilin tespit edilmiştir, ancak pH:4.5 çözeltileri, 100°C'de 1 saat ısıtıldığında, stabil bulunmuştur. Daha sonraki araştırmasında değişik pH'larda (2,3,3.5,4,4.5,5,6) hazırlanan bir seri preparat 100-120°C'de sterilize edilerek incelenmiş ve bir önceki bulgular doğrulanmıştır (Zöllner ve Vastagh, 1955).

Boltze, Hofmann ve Katzmann (1955) prokain hidroklorür(I) ve kloroprokain(II)'in 0.2-2 N sodyum hidroksid çözeltisi ve pH:7.35 fosfat tamponunda, ayrıca kanda hidrolizini incelemiştir. II, I'e oranla alkali ortamda 2, kanda 3 defa daha hızlı hidroliz olmuştur. Çözeltilerin, kinetiğinin tetkikinde, kinetik genel kaidelerine ilave olarak, ester hidrolizinin de pH'ya bağlı olduğu bulunmuştur (Willi, 1958).

Maddenin, alkali-etanol-su karışımındaki "solvolizi" Agren (1961) tarafından incelenmiştir. Değişik etanol konsantrasyonları için sabiteler tablolanmıştır ve etoksid-hidroksid dengesi, bu sabitlerden bulunmuştur.

Baggiolini ve Dewald (1967) maddenin asid ortamdaki hidrolizini değişik bir yöntemle izlemiştir. Bunun için Silika-gel G adsorbantı kaplanmış plaklara, 5-15 mcg madde tatbik edilmiş ve dumanlı hidroklorik asidli tanka konup, 100°C'de 5 dak bekletilmiştir. Sürenin sonunda, plaklardan hidroklorik asid, uzaklaştırılmış, developpe edilerek hidroliz ürünleri tespit edilmiştir. Değişik konsantrasyonlarda, poliollerdeki çözeltileri tamponlayarak stabilitenin tetkiki Dominguez-Gil (1970) tarafından yapılmıştır.

Değişik şartlarda hazırlanmış çözeltilerde saklama süresine bağlı olarak meydana gelen pH değişimleri de araştırılmıştır; Grossman (1937) çeşitli imalatçılardan alınan 800 kadar numunede, prokain hidroklorür stok çözeltilerinin, pH değişimleri incelenmiştir. Yapılan kontrolde, pH'nın 3.9-7,5 arasında değiştiği, aynı gruptan alınan değişik numunelerde de kaydedilir pH farkları olduğu görülmüştür. Dokuz imalatçının numunelerinde, pH ortalaması 4 tane-pH:6 ; 2 tane-pH:5 ; 3 tane-pH:4 ve yarıdan fazlasında pH:6'nın altında olduğu tespit edilmiştir.

Ambalaj materyelinin de pH üzerindeki etkisi gözlenmiş; cam kaplarda neticeler iyi, iki tarafı lastik kapaklı olanlarda düşük bulunmuş ve vakum ambalajın belirgin bir etkisi görülmemiştir. Çözeltinin oksidasyonunda, pH'nın aside kaydığı tespit edilmiştir.

1935'te hazırlanan % 1 ve % 2'lik prokain hidroklorür çözeltilerinde, (orijinal pH:5.65 idi) kapalı yerde karanlıkta bekletildiğinde, 1944 senesinde pH:5.6-5.7 olarak tespit edilmiştir (Dragonesco, 1947).

Benzer araştırma, Koldaev ve Fatecva (1957) tarafından yürütülmüştür. Değişik yapıdaki camlardan hazırlanan ampullerde, 10 gün sonundaki pH değişimleri potansiyometrik olarak ölçülerek saptanmıştır.

Prokain hidroklorür'ün (1) % 8'lik çözeltisinde, parçalanma ve pH değişimleri incelenmiştir. Çözeltiler değişik şekillerde hazırlanmıştır. a-% 8 (1) çözeltisi ; b-% 8 (1)+

benzoik asid ; c-% 8 (1)+potasyum pirosulfid ; d-(b)+potasyum pirosulfid ; e-(1) kristalize. Bütün tiplerde doldurma (havada,karbondioksit ve azot altında) saklama şartları ve sterilizasyon çeşitlendirilmiştir. d ve e tipi ampullerde iki sene sonunda değişiklik görülmemiş,diğer tipler sararmıştır (Russu,Pelloni ve Sterescu,1963 a).

Hidroklorik asid ilave edilmiş çözeltilerde,(% 0.5-2 konsantrasyonda) sekiz kademeli sterilizasyondan sonra,1-1.5 ay saklanan çözeltilerde,herhangibir pH değişimi görülmemiştir. Hidroklorik asid ile muamele edilmemiş çözeltilerde ise pH'nın 1-15 günde düşme gösterdiği tespit edilmiştir (Vaisman,1959).

pH değerlerinin değişimi gözlenerek,çeşitli formülasyonların stabilitesi Moraga ve diğ.(1968) tarafından da incelenmiştir.

Diğer bir çalışmada,Picher ve Dibbern(1960) koruyucu olarak pirosulfid ilave edilen prokain hidroklorür çözeltilerinde,yüksek konsantrasyonda görülen çökeltinin,muhtemelen pH değişimine bağlı olarak sülfata oksidasyondan ileri geldiği görüşüne varmıştır. Aynı durum kafi miktarda mineral asidin pH:3'ten aşağıda ilavesinde de görülür. pH:4'e kadar durum değişmez ve pH:2'de maksimum şiddettedir. Araştırmada, bu renkli madde ayrılarak,bunun 4-aminobenzoik asid(β-diethylamino-etilester) N-sulfonikası yapısında olduğu,S ve N analizi, spektrum tayini,kağıt kromatografisi ile teşhis sureti ile gösterilmiştir.

Thomas ve Woodward (1963) değişik pH'lara, tamponlanmış ve tamponlanmamış prokain hidroklorür çözeltilerinin, 118°C'deki parçalanmasını incelemiştir. Hidrolizde asid ve bazik kataliz tetkik edilmiştir.

Stabilite üzerinde etkin bir faktör olan ışığın rolü de incelenmiştir ; Briggs ve Callow (1941) sodyum hidrojenkarbonat ilave edilmiş çözeltilerde, ışık etkisi ile bozulma olmadığını, Dragonesco (1947) prokain hidroklorür, benzoik asid veya benzoik asid-sodyum hidrojen-sülfid taşıyan ampullerin, direkt gün ışığında bekletmede parçalandığını, fakat karanlıkta, aylar hatta senelerce parçalanma görülmediğini bildirmiştir.

Stabil çözeltiler hazırlamada, antioksidanların ilavesi çok kullanılan yöntemlerdendir. Çeşitli antioksidanlar prokain hidroklorür çözeltileri için denenmiş ve bu konuda araştırmalar yapılmıştır.

Vastagh ve diğ. (1950) çeşitli stabilizanları denemiş ve sodyum arsenit, sodyum kakodilat, sodyum gliserofosfat'ın ilavesini tavsiye etmiştir. Ayrıca çözeltilerin rengi ile parçalanma arasında bir bağıntı bulunmadığını bildirmiştir. Diğer bir araştırmacı, oksijenli ortamda meydana gelen sarı-kahverengin önlenmesi için piro-sülfid ilave etmiş ve normal konsantrasyonlarda iyi netice almıştır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda, sarı renk yanında çökelti meydana gelmiş ve buradan madde tecrid edilerek, 4-aminobenzoik asid (P-diethylamino-etilester) N-sulfonik asid yapısında olduğu saptanmıştır (Picher ve diğ., 1960).

Przybilka (1962)'de prokain hidroklorür çözeltilerine, ilave edilen pirosülfat'ın etkin rol oynamadığını, etkisinin 4-aminobenzoik asidin rengini örtmek sureti ile olduğunu bildirmiştir. Çözeltiye ilave edilen potasyum pirosülfat'ın, neticede 4-aminobenzoik asit-N-sulfonik asit ($4 \text{ H}_3\text{OS-NH-C}_6\text{H}_4\text{-CO}_2\text{H}$) yapısında soluk sarı renkli maddeye dönüştüğü bildirilmiştir.

Prokain hidroklorür çözeltilerine, 4-aminobenzoik asit ilavesi, karbondioksit ile doyurma, pH:4'e tamponlanma yanında, hidrolizi önleyici etki göstermiştir (Gonzalez, 1963) ; (Arancibia ve diğ., 1964).

Aynı sene Parafinska (1963) disodyum edetat'ın etkisini araştırmıştır ve etkinin, çözeltinin renginin sarıya dönmesini önlemekten ileriye gitmediği, parçalanmayı önleyemediği sonucuna varılmıştır.

Russu, Pelloni ve Sterescu (1963 b) taze hazırlanmış ve sterilize edilmiş, sulu çözeltiler ile koruyucu ilave edilen çözeltilerde yürütülen çalışmada, ufak miktarlarda 4-aminobenzoik asit tespit etmiştir. Bu nedenle enjeksiyon için koruyucusuz, taze hazırlanmış, steril çözeltilerin kullanılması tavsiye edilmiştir.

Denisov (1964) prokain hidroklorür enjeksiyonluk çözeltilerinin hazırlanması, stabilizasyon sistemi, stabilizanların stabilite üzerine etkilerini araştırmıştır. Denenen stabilizanlardan, hidroklorik asit (I), etilendiamintetraasetik asit (II), askorbik asit (III), sodyum pirosülfat (IV)'tan I ve II

nin en etkili stabilizan olduğu, III'ün ise sarı renklenmeye sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmanın aksine, Davydova (1964) prokain hidroklorür'ün % 5-10-20'lik çözeltilerinin, 0.1 N hidroklorik asit'e dayanıksız olduğunu bildirmektedir. Çözeltilere sodyum piro sülfid ve sodyum sülfid gibi antioksidanların ilave edilmesi ile her üç konsantrasyon için stabil çözeltiler hazırlanmıştır.

Merz (1965) pH:4'e ayarlanmış, antioksidan etki elde etmek amacıyla 4-aminobenzoik asit ilave edilmiş ve karbondioksit atmosferinde hazırlanmış çözeltilerde, parçalanmanın hızlandığını bildirmiştir.

Sodyum metabisülfid ilavesi ile, sudaki ve % 5 propilen-glikoldeki çözeltilerinde stabilitesi incelenmiş, antioksidan ilavesinin, parçalanmayı azalttığı sonucuna varılmıştır. (Moraga ve diğ., 1968).

Stabilite üzerinde etkili bir diğer faktörde atmosfer oksijeni ve buna bağlı olarak meydana gelen oksidatif parçalanmadır. Bu faktörle ilgili birçok araştırma yapılmıştır.

Stefanescu, Tuchel ve Lenhard (1957) enjektabl prokain hidroklorür çözeltilerinin, renklenmesinde oksidasyonun rolü olmadığını belirtmiştir. Araştırmada, hidroliz neticesi meydana gelen maddeler arasında, mümkün olan reaksiyonlar araştırılmış ve izah edilmiştir.

Vaisman, Gurevich ve Skvirskaya (1961) çözeltiyi ultrasonik dalgalarla irradie ederek meydana gelen değişikliği gözlemişlerdir. Prokain hidroklorür çözeltisinin, 800 cycles/

2.5 w/sq.cm şiddetinde UZ-1 dalgaları ile 15 dak irradiasyonda, oksidasyon görülmüştür. Oksidasyon ajanlarının etkileri de Kagan (1961) tarafından incelenmiştir.

Atmosferik oksijen'in çözeltinin stabilitesi üzerine menfi etkide olduğu ve ampullerin azot veya karbondioksit gibi inert bir gazla doldurulmasının faydalı olduğu Laszlovszky ve Barcza (1963) tarafından bildirilmiştir. Aynı görüşe Parafinska (1963); Gonzalez (1963) ; Arancibia ve diğ.(1964)'te katılmıştır.

Wisniewski ve Furmanczyk (1967) karbondioksitin, dekarboksilasyonda az miktarda inhibe edici etkide olduğunu bildirmiştir. Daha sonraki bir çalışmada, sterilizasyona bağlı değişiklikler incelenirken, karbondioksit atmosferinde kapatılmış ampullerin, çok daha stabil olduğu, renk değişimi ve % 50 oranında anilin teşekkülündeki azalma ile gösterilmiştir (Wisniewski ve diğ., 1968).

Bilindiği gibi birçok maddenin stabilitesi üzerinde metallerin etkisi vardır. Bu konuda prokain hidroklorür çözeltileri için yapılan araştırmada, gümüş, demir, kobalt ve kadmiyum iyonu mevcudiyetinde renklenme görüldüğü bildirilmiştir (Uri ve Adler, 1950).

Diğer bir araştırmada, ampul camından veya preparatın içindeki diğer maddelerden gelmesi muhtemel olan metal iyonları (demir, mangan, krom, alüminyum, sodyum, kalsiyum) mcg/g olarak ilave edilmiş ve neticeler gözlenmiş, tablolanmıştır (Laszlovszky ve diğ., 1963).

Prokain hidroklorür'ün stabilitesi çözücü olarak su yerine diğer maddelerin kullanılması ile de araştırılmıştır.

Rippie, Lamb ve Romig (1964) prokain'in polisorbata 80 sulu

çözeltilerindeki, çözünürlüğünü araştırmıştır. Çözünürlükle pH ve surfaktan konsantrasyonu arasındaki bağıntı kurulmaya çalışılmıştır. Prokain için grafik bulgulara göre çözünürlük bölgeleri % 4 polisorbatta pH:7-11 arasında görülmüştür.

Takenaka, İto, Hayashi ve Otake (1965) prokain'in Tween 20 ile çözünürlüğü ve bu çözünen bazın, stabilitesini araştırmıştır. Hazırlanan prokain çözeltileri (A) prokain hidroklorür sulu çözeltisine, benzil alkol ilave edilmiş; (B) sulu çözeltiye, benzil alkol ve su, prokain taşıyan Tween 20 ilave edilmiş ; (C) sulu çözeltiye, su ve Tween 20 taşıyan prokain benzil alkol çözeltisi ilave edilmiş. Ayrıca a, b, c çözeltileri, A, B, C çözeltilerinde su yerine, pH:5.9 fosfat tamponu ilavesi ile hazırlanmıştır. Bütün çözeltiler, 30°C'lik termostatlı kapta bekletilmiş, muayyen zaman aralıklarında prokain ve 4-aminobenzoik asid miktarları tayin edilmiştir. Neticede prokain stabilitesinin, yakın pH değerlerinde bütün çözeltilerde çok az farklılık gösterdiği bulunmuştur.

Gusakov, Likholet ve Kutna (1968) polietilen glikol 400 ve değişik molekül ağırlığındaki polietilen glikol'ün sulu çözeltilerinde farmasötik maddelerin çözünürlükleri araştırılmıştır. Prokain hidroklorür'ün çözünürlüğü su ile mukayese edildiğinde, % 5'lik polietilen glikol 4000, 1500, 600'ün sulu çözeltilerinde, 1.1-1.7 defa daha fazla bulunmuştur. Ayrıca bu grup içinde de en yüksek çözünürlük polietilen glikol 4000'de görülmüştür.

Dominguez-Gil (1970) poliollerin (1.4 ; 1.3 ; 2.3 buten-

diol,meteliden,gliserin ve 1.2 propandiol) değişik konsantrasyonlardaki (% 5,10,20,30) çözeltilerini,tamponlayarak, değişik ısılarda hidrolitik parçalanmasını incelemiştir. Seçilen poliollerin,hidroliz önleyici kapasiteleri verilmiştir.

Araştırmacının daha sonraki çalışmasında,poliol konsantrasyonunun arttırılmasının,stabilite üzerinde olumlu etkide olduğu bildirilmektedir. Bu koruyucu etkinin,psödokelat teşkili ile olduğu belirtilmiştir (Dominguez-Gil ve Cadorniga, 1971 b).

Varigin (1973) % 70'lik etanoldeki , % 33'lük prokain hidroklorür çözeltilerinin,5 aydan uzun süre dayanıklı kaldığını bulmuştur. Kullanmadan önce % 0.25 konsantrasyona, sodyum klorür (% 0.9) çözeltisi ile seyreltilmiş ve hastalarda yapılan denemelerde iyi netice alınmıştır.

Altinkurt(1967) prokain hidroklorür'ün stabilitesinin incelenmesinde,değişik bir araştırma yapmıştır. Aseptik şartlarda hazırlanan çözeltiler,P.Aeruginosa'nın buyyon ve tiyoglikolatlı besi yerine,% 1 oranında ilave edilmiş ve 3-60 gün süre ile 4-aminobenzoik asid teşekkülü ince tabaka kromatografisinde gözlenmiştir. Bu şartlardaki besi yeri,pH değişimi ve miktar tayini neticeleri de verilmiştir. Miktar tayini sonuçlarına göre;1.gün % 0.92g ; 12.gün % 0.61g madde tespit edilmiştir. Buna göre,12.günde % 39 oranında bir parçalanma olmuştur. Ayrıca çalışma esnasında,prokain hidroklorür'ün,P.Aeruginosa'nın üremesine tesir edip etmediği incelenmiş ve tesirsiz olduğu görülmüştür.Buna ait bakteri sayımları tablolanmıştır.

Diğer maddeler yanında prokain hidroklorür'ün stabilitesinin tetkikinde; Cannell (1951) prokain hidroklorür ve dekstroz taşıyan çözeltilerde, 3 hafta içinde, optik çevirmede fark görmüştür. Taze hazırlanan çözeltilerde, optik çevirme dekstroz muhtevassından hesaplanabilir, ancak 3 hafta sonunda değer taze hazırlanmış çözeltinin aksi tarafındadır (0.gün +2.5 optik çevirme ; 20.gün -1.65 optik çevirme). Araştırmada çözeltilerde kondensasyonla prokain-N-(D) glikozit meydana geldiği madde izole edilerek gösterilmiştir.

Ikeda(1957) ve Patil (1962)'de beklemiş çözeltilerde bu teşekkülün fazla olduğunu ve neticede de anestezi tesirinde azalma görüldüğünü bildirmiştir. Ancak Ikeda(1957) çalışmasında, preparatta meydana gelen bu tip kimyasal değişimi başından gözlemiş ve yüksek ısıda saklamada, prokain-N-(D) glikozit teşekkülünün düşük olduğunu bulmuştur. Netice olarak bu tip preparatın, yüksek ısıda hazırlanmasının, ısı ile sterilize edilmesinin ve soğutucuda saklanmasının uygun olduğunu bildirmiştir.

Dittmer (1964)'te bu görüşe katılmıştır ve glikozit teşekkülüne mani olmak için, glikoz yerine glikozit meydana getirmeyen şekerlerin kullanılmasını tavsiye etmiştir.

Benzer reaksiyon prokain hidroklorür-laktoz ekimoleküller karışımlarının 50°C'de % 84 relatif rutubette, 15 gün bekletilmesi esnasında görülmüştür. Sürenin sonunda koyu sarı renk görülmüş ve reaksiyonun indirgen şekerlerle amin grubu arasındaki "Maillard reaksiyonu"(Maillard ve Hebd,

1912) reaksiyonu ile izah edilebileceği belirtilmiştir (Ham-moudo ve Salakawy,1971).

Lachmann (1956) prokain hidroklorür-kafein çözeltilerinde moleküler bir kompleks teşekkül ettiğini ve bunun stabil olduğunu bildirmiştir.

Sejournet (1963) prokain hidroklorür ve l-askorbik asid'in, stabil çözeltilerinin hazırlanmasına çalışmıştır. Bunun için, α -aminoisovaleryanik asid ve prokain hidroklorür'ün sudaki çözeltisi, azot atmosferinde 14 saat 70°C'de ısıtılır, liyofilize edilerek ele geçen beyaz toz α -amino β -merkaptopropiyonik asid ve l-askorbik asidin sudaki çözeltisinde çözülür. Sitrat-fosfat tamponu ile pH:4.1'e getirilerek çözelti hazırlanır. Daha sonra Gurevich, Ogorodnova ve Zharbina(1966) da prokain hidroklorür ve askorbik asid çözeltisinin stabilitesini araştırmıştır. Stabilite , sodyum hidrojen sülfid, sodyum piro sülfid, sodyum sülfid ilave edilmiş ve koruyucu taşımayan çözeltilerde incelenmiş, ayrıca çözeltilerin pH'ları sterilizasyon öncesi ve sonrası ölçülmüştür.

Hincal (1967) lokal anesteziklerin tablet formunda stabilitesi, a-aluminyum hidroksid, atropin sülfat, papaverin hidroklorür, prokain hidroklorür ; b-aluminyum hidroksid, magnezyum hidroksid, atropin sülfat, papaverin hidroklorür, prokain hidroklorür terkiplerinde, yaş granülasyon tekniği uygulanarak incelenmiştir. Prokain hidroklorür için, a-terkibinde 7. gün kayıp % 4.3 ; 45.gün kayıp % 62 ve b-terkibinde 7.gün kayıp % 44.7 ; 25.gün kayıp % 69 olarak bulunmuştur.

Prokain hidroklorür'ün mide ilaçlarının terkiplerine göre, kullanılan alüminyum hidroksid'in hafif veya ağır olması sebebi ile tuttuğu rutubetten dolayı, aynı terkipte değişik parçalanma gösterdiği tespit edilmiştir.

İzgu (1967) ise prokain hidroklorür ve sodyum noramidopiridinmetansulfonat'ın, siyanokobalamin'in stabilitesi üzerine etkisini araştırmıştır. Bu amaçla hazırlanan formüller: a-siyanokobalamin'in sudaki çözeltisi ; b-a+sodyum hidrojen-sülfat ; c ve d ; a ve b formüllerine prokain hidroklorür ilave edilmiş, Preparatlar otoklavda sterilize edilmiş, prokain hidroklorür ve parçalanması ile meydana gelen maddelerin, siyanokobalamin üzerinde herhangi bir etkisi gözlenememiştir.

Ostrovski ve Stepuro (1971) prokain hidroklorür ve koka-in ile tiyamin'in π kompleksi teşkilini araştırmıştır. Araştırmada, netice olarak anesteziklerle tiyamin arasında π kompleksi teşekkülüne ait herhangi bir belirti bulunamamıştır.

Scheerer (1971) efedrin hidroklorür, prokain hidroklorür, kafein, kodein, pentobarbital gibi aktif maddelerin, kapsül formunda depo tesirli preparat halinde hazırlanmasını araştırmıştır. Hazırlanan jelatin kapsüllerde, aktif madde yanında süngerleştirici ajan (polivinilasetat) taşıyıcı (polietilen glikol 400) ve yardımcı solvan (etanol) bulunmaktadır ve bu şartlarda amaç gerçekleştirilmiştir.

Prokain hidroklorür-adrenalin preparatları için : Steiger ve Bergmann (1947) prokain hidroklorür-adrenalin çözeltilerinin hazırlanmasında, kullanılan prokain hidroklorür'ün

kristalizasyonla saflandırılması halinde, saklama esnasında çözeltilerde renklenmenin görülmediğini bildirmiştir. Geliştirilen preparatın formülü verilmiş olup, 30 dak buhar sterilizasyonu tavsiye edilmektedir. Değişik sterilizasyon şartlarında yapılan denemede prokain hidroklorür-adrenalin çözeltisinin pH'sının otoklav sterilizasyonunda, 100°C/15 dak ısıtmaya oranla 0.3 birim düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (Andersen, 1951).

Riva ve Gatti (1957 a) prokain hidroklorür-adrenalin çözeltilerinde, değişik stabilizanların stabilite üzerine etkileri araştırılmıştır. Denenen stabilizantlardan en etkilileri sodyum hidrojensülfid, sodyum metabisülfid, aseton-sodyum hidrojensülfid olarak bulunmuştur. Sodyum sülfid daha az etkili askorbik asit ise etkisiz görülmüştür.

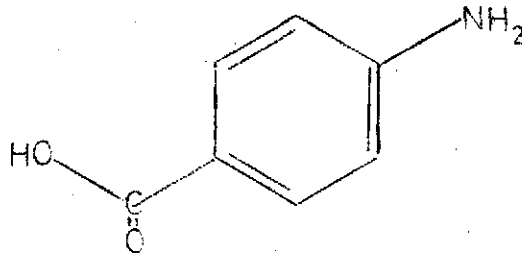
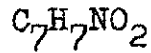
Slooten (1960) patentini aldığı formülde, 5 mg metilen mavisi ve 1 g sodyum sülfid'i etken maddelere ilave etmiştir. Çözeltinin sterilizasyonu, Kieselguhr filtreden süzülerek yapılmıştır.

Prokain çözeltilerinin hidrolizinde iyonik şiddetin etkisi, pH:6'da, çeşitli karbopol hidrojel­leri ile olan reaksiyon incelenmeden tayin edilmiştir. Aktivasyon enerjisinin ortamın viskozitesinden etkilenmediği ve bu şartlarda ikinci sınıf hız sabitinin belirgin azalma gösterdiği bildirilmiştir.

Ayrıca suyun yapısının polielektrolitler ile değiştirilmesiyle prokain'in stabilizasyonu mümkün olmaktadır (Testa ve Etter , 1975).

C- Parçalanma ürünlerinin genel özellikleri

1- 4-Aminobenzoik asid (PABA)



E.D. 186-187°C

4-Aminobenzoik asid daha 1863'te Fischer tarafından sentez yoluyla elde edilmiştir. Fakat bunun vitamin olduğu ancak 1940'ta anlaşıldı.

Woods(1940)'ta maya ekstralarının sulfamidlerin aktivitesini önleyici bir faktör ihtiva ettiğini ve bu faktörün 4-aminobenzoik asid olduğunu buldu.

Fildes(1940) ise 4-aminobenzoik asidin bakteri metabolizması için gerekli bir faktör olduğunu tespit etti.

Ansbacher(1941)'de 4-aminobenzoik asidin farelerin kollarının beyazlaşmasını önleyici ve piliçlerin büyümesini uyarıcı bir vitamin olduğunu gösterdi. Bu vitamini "H" adı da verilmektedir (Aras,Erşen,1967 ; Wilson ve diğ.,1971).

4-Aminobenzoik asid hayvan ve bitkisel dokularda yaygın halde bulunur. Tabiatta serbest ve bileşik şekildedir, en çok maya, karaciger, pirinç, buğdayın bilhassa embriyon kısmında bulunur. Mayadaki 4-aminobenzoik asidin %90'ı serbest haldedir.

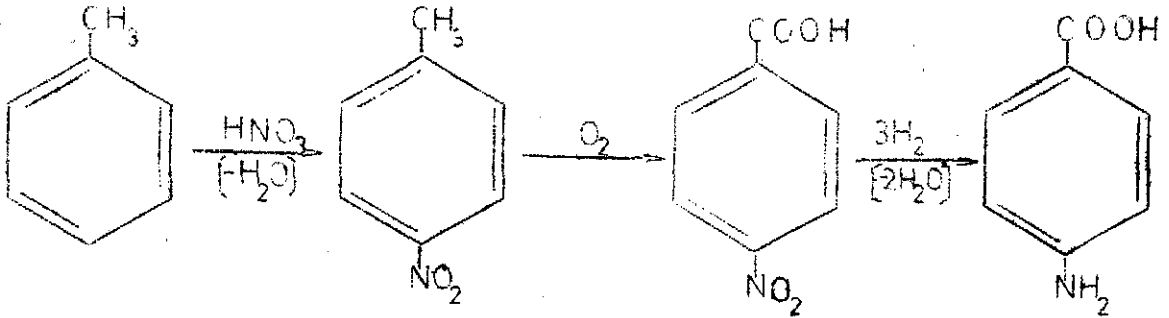
Birçok farmakopede kayıtlı olan bu maddenin çeşitli patent isimleri bulunmaktadır. Örneğin: Amben ; Paraminol ; Vitamin B_x ; bakteriyel vitamin H vb.

Molekül ağırlığı: 137,13

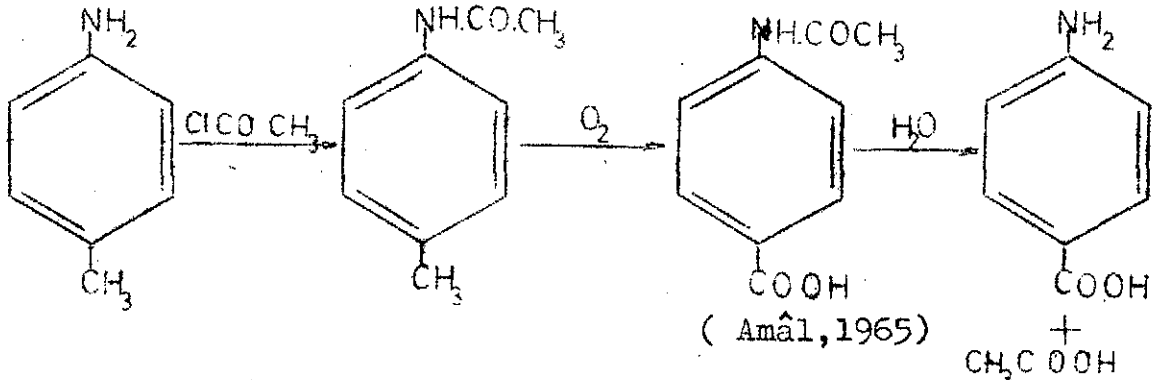
C,H,N,O yüzdeleri: C:%61.31 ; H:%5.15 ; N:%10.21 ; O:%23.33 ;

Belli başlı sentez yöntemleri

Toluenden hareketle:



Toluidinden hareketle:



Fiziksel özellikleri: Beyaz veya hafifçe sarı renkte, kokusuz, iğreler biçiminde, kristalize tozdur. Hava ve ışık etki-

si ile renksizlenir. %0.5'lik çözeltisinin pH'sı 3.5'tir ve pK_a :4.65 ; 4.80'dir. Dilüe alkolden kristallendirildiğinde monoklinik prizmalardır.

Çözünürlüğü: 4-aminobenzoik asidin lk , 170k soğuk suda; 10k kaynar suda;8k etanolde;50k eterde çözünür;kloroformda az çözünür;alkalilerde serbestçe çözünür;etil asetat,buzlu asetik asidte çözünür;benzende az çözünür;p.eterde çözünmez.

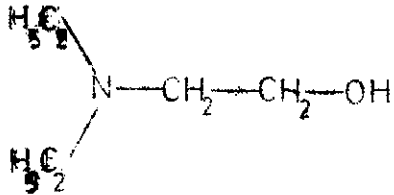
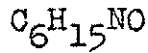
Ultraviyole absorpsiyon spektrumu: 4-aminobenzoik asid etanolik çözeltisinin maksimumu 228 nm ($E_{1cm}^{1\%}$:340)ve 289 nm ($E_{1cm}^{1\%}$:1256) dir.

İnfrared spektrumu: Potasyum bromür tablette,karakteristik pikler ; 1597 cm^{-1} , 1168 cm^{-1} , 1290 cm^{-1} de görülür. (Clarke,1969).

Geçimsizliği: Demir tuzları ve oksidasyon ajanları ile geçimsizdir.

2- 2-Dietilaminoetanol

p-Dietilaminoetil alkol



Molekül ağırlığı: 117.19

C,H,N,O yüzdeleri :C:%61.49 ; H:%12.90 ; N:%11.95 ; O:%13.65

Ladenburg(1881) tarafından etilenklorhidrinin dietilaminle reaksiyonundan elde edilmiştir.

Fiziksel özellikleri: Sıvıdır, d^{25} : 0.8800, kaynama derecesi(760 mm) 163°C ; (80 mm) 55°C ve n_D^{25} : 1.4389 dur.

Çözünürlüğü: Suda, alkolde, eterde ve benzende erir(Merck Index, 1968).

D- Teşhis metodlarının gözden geçirilmesi

1- Kimyasal renk reaksiyonu ile teşhisi

Birçok farmakopede prokain hidroklorür'ün kalitatif teşhisine ait metodlar verilmektedir. Genel olarak farmakopelerde teşhis, maddenin aromatik amin grubundan, diazo reaksiyonuna dayanılarak yapılmaktadır. Maddenin diazo bileşiği 2-naftolle, diazo-azo komponenti haline geçirilerek, teşhis edilir (S.P. 1961 ; BPC, 1968 ; Pharm.Helv.1971 ; Pharm.Franç.1970 ; Pharm.Hung. 1970 ; Türk Farmakopesi, 1974).

Bu reaksiyonun dışında kodekslerde, klorür iyonuna dayanarak teşhis için gümüş nitratla meydana gelen beyaz çökeltiden

(S. P.1961 ; BPC,1968 ; Pharm.Hung.1970 ; Pharm.Helv.1971 ; Türk Farmakopesi,1974);tersiyer amin grubundan,asid ortamda iyod çözeltilisi ile meydana gelen kahverengi çökeltiden(Pharm, Hung.1970);altın klorür,iyod,merkürük-potasyum iyodür ve trinitrofenol ile verdiği çökeltiden(BPC.,1968) teşhis edilmiştir. Türk Farmakopesi(1974) ayrıca,alkali ilavesiyle bazı çöktürüp,kristallendirdikten sonra bazın erime derecesinden;sodyum hidroksid çözeltilisi ile kaynatmada açığa çıkan alkalen reaksiyonlu gazlardan;trinitrofenol reaktifi ile çöken pikrat tuzunun erime derecesinden faydalanılarak teşhis edilebileceğini kaydetmiştir.

Farmakopeler dışında maddenin teşhisi için birçok araştırma yapılmıştır. Bu uygulamada değişik reaktif ve metodlar seçildiğinden,belli gruplar altında toplamak olanaksızdır.

Prokain hidroklorür,4-dimetilaminobenzaldehidle hidroklorik asidli ortandaki reaksiyonuna dayanılarak teşhis edilmiştir(Eckert,1955 ; Rosenthaler,1960 ; Luk'yanchikova,1961 ; Vaisman,Bushkova ve Kogan,1956 ; Roth,1972).

4-Dimetilaminosinnamaldehydin,seyreltik hidroklorik asidteki çözeltilisi ile kağıt ve spot plate üzerinde yapılan reaksiyonla 240-600 mcg hassasiyetle meydana gelen sarı-portakal renkten teşhisine Luk'yanchikova(1961) çalışmıştır.

Diğer bir grup araştırmacı prokain hidroklorür'ün teşhisinde sodyum 1.2 naftokinonsülfonatu kullanmışlardır.

Vonesch(1949) maddeyi,%2'lik reaktif ve %1'lik numune çözeltilerininin 1/1 karıştırılması ile meydana gelen kırmızı,

kristalize çökeltiden fotomikrografla göstererek teşhis etmiştir.

Guagnini ve Vonesch(1949) reaktifin nötral sulu çözeltisi ile çöktürmüş;Yavors'kii(1965) aynı reaksiyonu 29 maddeye uygulamış ve meydana gelen maddelerin yüzde verimlerini,erime derecelerini,reaksiyon hassasiyet hudutlarını tablolarlamıştır.

Guanini ve Vonesch(1952) prokain hidroklorür ve diğer lokal anestetiklerin çözeltilerinin 1-2 ml'sinin 1/2000,1/20000 dilüsyonlarına uygulanabilen mikro metod vermiştir. Metodun esası silikotungstik,silikomolibdik asid ve sodyum 1.2 naftokinonsülfonatla oluşan reaksiyonlara dayanır.

Prokain hidroklorür ve bir grup madde stipinik asid ile reaksiyonundan teşhis edilmiştir. Maddenin mikrokristalin stipinatının teşhisi için fotomikrograf ve identifikasyon şemaları verilmiştir (Sabon ve Grignon,1947). Aynı reaksiyonla 28 lokal anesteziğin teşhisi Kuhnert ve Grimm(1957) tarafından yapılmış,neticeler tablolanmıştır.

Maddenin alkolik çözeltisine,%5'lik potasyum iyodür sulu çözeltisi damlatarak,Keenan(1946);optimum %1 lokal anestetik konsantrasyonunda,brom-potasyum bromür ilavesi ile meydana gelen mikrokristallerin incelenmesi ile Martonfi,Formanek Szantho,Neumann ve Vereph(1965) teşhis etmiştir.

Maddenin pikratı halinde teşhisinde,Massatsch(1947) prokain hidroklorür'ün pikratının 153-154°C'de eriyen,sarı iğnemsiz kokain pikratına benzer kristaller olduğunu belirtmiş; Köehler ve Feldmann(1960) ise pikratın e.d. olarak 168-170°C

tespit etmiştir. Maddenin pikratı halinde teşhisine Kuhnert ve diğ.(1957)'de çalışmıştır.

Azot taşıyan organik bazlar ve prokain hidroklorür, sulu çözeltilerine pH:2-3'te %3 sodyum tetrafenilboron çözeltisi ilavesiyle meydana gelen katı maddeden teşhis edilmiştir(Espersen, 1958 ; Köehler ve diğ., 1960).

Schultz ve Göerner(1955) maddenin kalitatif teşhisini, çözeltiliyi asetik asid ile asidlendirip, alüminyum klorür çözeltisi ve 0.1M sodyum tetrafenilsiyano-boron ilave ederek; Hoehlein, (1967) primer aromatik amin grubunu diazoldan sonra, kromotropik asid ile bağlayarak yapmıştır. Meydana gelen bileşik alkali ortamda mavi-mor renktedir.

Ravasse(1945) prokain hidroklorür, butellin ve 4-aminobenzoik asidin farklılandırma reaksiyonunu incelemiştir. Bu maddelere Marshall'ın(1937) sulfonamidler için kullandığı teknik uygulanmıştır. Marshall reaksiyonunda, 4-aminobenzoik asid mor-kırmızı renk verir, eterle çalkalamada her iki faz pembe renk alır, sodyum hidroksid ile alkalilendirmede sulu faz renksiz, eter fazı pembedir. Prokain hidroklorür aynı şekilde reaksiyona girer, ancak eterle çalkalamada renksiz, alkalilendirmede sulu faz renksiz, eter sarı renk gösterir.

Asahina ve Shiuchi(1958)'nin denediği 20 narkotik alkaloid arasında yalnız prokain hidroklorür ile Sanchez'in(1925) furfural reaktifi müspet renk reaksiyonu vermiştir.

Prokain hidroklorür, 2-4 mcg hassasiyetle floressein hidroklorürle rodamin boyalarının teşekkülüne dayanan spot testi

uygulanarak teşhis edilmiştir (T'u,1957).

Moss(1965)'te maddenin organ sıvılarından direkt kristal test reaksiyonu ile teşhisinde,%5'lik altın klorür çözeltisini kullanmıştır.

Ayrıca prokain hidroklorür'ün teşhisinde,kadmiyum iyodürle reaksiyonundan(Duguenois,1947);silikotungstik asitle(Bessot,1950);kloropalladik asid reaktifi ile mikrokristalin testten(Knizshko,Zakin ve Grizo,1956);kobalt halitleri ile(Khaki-mov ve Azizov,1958);dimetiloksalat veya dietiloksalat ile renk reaksiyonundan(Kudymov,1969);germanyum tetraklorür ile reaksiyonundan(Belovsova ve Seifullina,1970) faydalanmışlardır.

Hentrich ve Pfeifer(1967) 33 alkaloid ve sentetik bazı çözünmeyen çinko,cıva,nikel ve kobalt tiyosiyanat kompleksi halinde,kelatometrik tayin etmişlerdir,Prokain hidroklorür'ün cıva ve çinko kompleksi halinde kelatometrik tayini mümkün olmuştur.

Diğer araştırmacılar da kalitatif teşhiste,1-(isotiyosiyanatometil)izatının prokain hidroklorür ile reaksiyonunda meydana gelen 1(3-(4-dietilaminoetoksikarbonilfenil)tiyoüreido-metil)izatinden (e.d.143°C) yararlanarak(Knotz,1970);talyum iyodür taşıyan seyreltik çözeltinin az miktarda iyod,potasyum iyodür ve numune ile muamelesinde $(TI I_3 A + HI)$ formülü ile gösterilebilen,çökeltinin teşekkülüne dayanarak (Wachsmuth, 1947) ; Vitali renk testi uygulayarak (Clarke,1956) ;dört lokal anesteziğin,üç değişik disülfimitle reaksiyonuyla meyda-

na gelen maddelerin C,H,N.yüzdelerini tayin ederek (Hannig ve Karau,1955) ;aynı reaksiyonla meydana gelen,suda güç çözünen kristalize tuzun teşekkülüne dayanarak(Runge,Engelb.recht ve Franke,1957) ; 17-arilsülfonik asid ilavesiyle çözültide çöktürülen maddenin erime derecesinden yararlanan (Zakrzewski,1970 a) değişik metodları uygulamışlardır.

Hucknall ve Turfitt (1949) ; Larrea (1953) ; Hadicke (1955) ; Vlahovic ve Kranjcevic (1958) ; Silva ve Bulhöes (1959) ; Auerbach ve Tuckerman (1959) ; Beral, Demetrescu, Stoicescu,Grintesco ve Calafeteanu (1963) ;gibi araştırmacılar da prokain hidroklorür'ün kalitatif teşhisinde değişik metod ve reaksiyonları uygulamışlardır.

Göber,Felsing ve Pfeifer (1971) lokal anesteziklerin teşhisi için değişik reaktiflerle meydana gelen renkleri,çökeltilerin erime derecelerini tablolamıştır.

2-İnce tabaka kromatografisi ile teşhisi:

Prokain hidroklorür,ince tabaka kromatografisi ile değişik adsorban ve solvan sistemleri kullanılarak,karışımlarında veya parçalanma ürünleri yanında birçok araştırmacı tarafından teşhis edilmiştir.

Bir grup farmasötik madde,Silikagel G adsorbanı kullanılarak ve sürükleyici solvan sistemine göre üç grupta toplanarak ayrılmıştır. Solvan sistemleri ; eter,kloroform-etanol (100:1),ve etil asetat olarak seçilmiştir (Bican-Fister,1962).

Wagner reaktifi ile çökelek veren morfin ve diğer onbeş maddenin,Wacogel B-5 adsorbanı ; aseton,metanol,kloroform-etanol(9:1) ve diğer yedi solvan sistemi ile teşhisi yapılmıştır. Lekelerin tespitinde,Dragendorff,Wagner,Ehrlich,Margius,Fröhde,Mandelin reaktifleri ve iyod buharları kullanılmıştır (Tokunaga,1964).

Steele (1965) sekiz solvan sisteminde,Silikagel G adsorbanı kullanarak,yirmisekiz narkotiğin teşhisine çalışmıştır. Solvan olarak,etanol-dioksan-benzen-amonyak(5:40:50:5) ; Kloroform-dioksan-etil asetat-amonyak(25:60:10:5) ; etanol-kloroform-dioksan-p.eter-benzen-amonyak-etil asetat(5:10:50:15:

10:5:5) ; etil asetat-benzen-amonyak(60:35:5) ve etil asetat-n.butileter-amonyak(60:35:5) sistemleriyle prokain hidroklorür için sırasıyla Rf değerleri ; 0.67,0.69,0.68,0.41,0.46 olarak hesaplanmıştır.

Sunshine,Fike ve Landesman(1966) yedi kromatografik sistemde,138 terapötik madde için Rf değeri verilmiştir.Kromatografi sistemleri :

<u>Adsorban</u>	<u>Dilüent</u>	<u>Solvan sistemi</u>	<u>Rf Prokain hidr.</u>
Silikagel G	0.1N KHSO ₄	% 95 etanol	1.8
"	0.1N NaOH	sikloheksan-benzen-dietilamin(75:15:10)	0.05
"	0.1N NaOH	metanol	5.2
"	0.1N NaOH	aseton	4.7
"	0.1N KHSO ₄	metanol	3.9
"	0.1N NaOH	metil asetat	1.8

Reaktif olarak metanolik iyod çözeltisi,Dragendorff reaktifi ve potasyum iyodoplatinat kullanılmıştır.

Adsorban olarak Silikagel G-0.1M sodyum hidroksid karışımı ve sikloheksan-benzen-dietilamin(75:15:10),metanol,aseton,solvan sistemleriyle prokain hidroklorür için sırasıyla Rf değerleri ;5,52,47 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca SilikagelG 0.1M potasyum hidrojen sülfatla hazırlanmış plaklarda,metanol ve % 95 etanol solvanlarıyla Rf değerlerini 39 ve 18 olarak tespit etmiştir (Fike,1966).

Otuzdört madde karışımı,Silikagel DSFO adsorbanında,sekiz solvan sisteminde,kloroform-metanol(9:1),aseton,aseton-

% 25 amonyak(99:1), etanol, metanol-% 25 amonyak(99:1), kloroform-metanol(1:1), kloroform-metanol-% 25 amonyak(47.5:47.5:5), kloroform-metanol-buzlu asetik asit(47.5:47.5:5) ayrılmıştır. Bu sistemlerde prokain hidroklorür için sırasıyla Rf değerleri; 19, 18, 44, 29, 45, 36, 81 ve 33 olarak tespit edilmiştir. Reaktif olarak İyodoplatinat ve Dragendorff kullanılmıştır (Noirfalise ve Mees, 1967).

Egli(1970) 99 maddenin, Silikagel GF₂₅₄ adsorbanında, kloroform-metanol-% 85 formik asit(85:10:5) ve kloroform-metanol-der amonyak(85:14:1) solvan sistemiyle teşhisine çalışmıştır. Prokain hidroklorür için Rf değerleri sırasıyla 28, 82 olarak hesaplanmıştır. Aynı araştırmacı, bu çalışmadaki solvan sistemlerine kloroform-metanol-der amonyak(70:25:5) ve kloroform-metanol(9:1) sistemlerini ilave ederek, prokain hidroklorür için yeni solvanlarda Rf değerini 54 ve 21 olarak hesaplamıştır (Egli, 1972).

Moffat ve Clare(1974), 100 aktif maddenin teşhisinde, altı değişik solvan sistemi ve adsorban kullanılmıştır. Kullanılan adsorbanlar, solvanlar ve bu şartlarda prokain hidroklorür için hesaplanan Rf değerleri şöyledir;

<u>Adsorban</u>	<u>Solvan sistemi</u>	<u>RfX100</u>	
Silikagel 60	etil asetat-heptan-amonyak-metanol(60:30:2.5:7.5)	79	
Aluminyum oksit	kloroform	48	
Silikagel 60	dioksan-kloroform-etil asetat-amonyak(60:25:10:5)	93	
"	"	metanol-amonyak(100:1.5)	71

Silikagel 60/ 0.1NaOH	sikloheksan-toluen-dietilamin (75:15:10)	12
"	"	
"	kloroform-metanol(9:1)	64

Galenik preparatlardan, 15 lokal anestezi, onbir değişik solvan sistemi kullanılarak ayrılmıştır (Sarsunova, 1963).

Diğer bir araştırmacı, prokain hidroklorür'ü alkaloidler yanında, bağlayıcısız alüminyum oksit tabakalarında teşhis etmiştir. (Sharshunova, Shvarts ve Pereni, 1964).

Enjeksiyon, toz, tablet, pomat ve supozituar gibi farmasötik preparatlarda, hipnotik, anthelmintik, laksatif ve lokal anestezi, ince tabaka kromatografisinde teşhisine çalışılmıştır. Prokain hidroklorür için sıhhatli netice, Silikagel G adsorbanında, kloroform-aseton(4:1), metanol-asetik asit (1:1) ve benzen-aseton-amonyak(80:20:1) solvan sistemleriyle alınmıştır. Ayrıca Dragendorff, Ehrlich ve İyod reaktiflerine hassasiyet hududu tespit edilmiştir (Fuwa, Kido ve Tanaka, 1964).

Yatabe ve Oki(1964) lokal anestezi karışımlarını, saf silisik asit-kalsiyum sülfat-hidroklorik asit karışımı ile kaplanmış plaklarda, n. butanol-asetik asit-su(5:1:4) solvan sistemi ile developpe ederek teşhis etmişlerdir. Dragendorff reaktifine hassasiyet 5-10 mcg olarak bulunmuştur.

Tanzawa, Hoshino ve Ukita(1966) onbir lokal anesteziğin 0.1N sodyum hidroksitle muamele edilmiş Silikagel tabakalarında teşhisine çalışmıştır. Kullanılan beş solvan sistemi ile prokain hidroklorür için Rf değeri tespit edilmiştir. Solvan sistemleri ve Rf değerleri şöyledir. Kloroform-aseton-dietilamin(5:4:1)-Rf:0.5 ; benzen-dietilamin(9:1)-Rf:0.2 ; kloro-

form-etanol(9:1)-Rf:0.45 ; metanol-Rf:0.45 ; kloroform-metanol(9:1)-Rf:0.3

Çeşitli lokal anestezi karışımlarından maddenin teşhisinde (Röder, Mutschler ve Rochelmeyer, 1969) Silikagel GF₂₅₄ -0.1 N sodyum karbonat karışımı ile kaplanmış plaklarda,aseton-sikloheksan(67.5:32.5);iso.propanol-iso.propileter(16.3:83.7); metanol-aseton-sikloheksan(16:43.5:40.5);etanol-benzen-sikloheksan(30.4:10.8:58.8) ve 2.butanon-n.heptan(73:27)solvan sistemlerini kullanmıştır.

Ayrıca lokal anestezi karışımlarının ayrılmasında,Silikagel G tabakaları ve toluol-kloroform-dietilamin(7:2:1) ; kloroform-aseton-n.propanol-metanol-dietilamin(29:43.5:14.5:14.5 10 gtt) ; kloroform-toluol-dioksan-metanol-dietilamin(29:29:29:14.5:10 gtt) ; kloroform-sikloheksan-dioksan-metanol-dietilamin(29:20:29:14.5:10 gtt) ; kloroform-eter-metanol-dietilamin (40:40:20:10 gtt) solvan sistemleri kullanılmıştır.Prokain hidroklorür için Rf değerleri sırasıyla;0.3,0.38,0.41, 0.45,0.43 olarak hesaplanmıştır. Araştırmada kullanılan reaktiflerle meydana gelen renkler de tablolanmıştır (Tueller ve Buergin, 1970).

Kubiak(1971) üç lokal anesteziği(ksilokain,lidokain,prokain),Kieselgel G adsorbantı-0.1N sodyum hidroksid karışımı ile kaplanmış plaklarda,kloroform-benzen(9:1) solvan sistemi ile developpe ederek ayırmıştır.Lokal anestezi karışımlarının aynı tip plakta değişik solvan sistemi ile,toluol-aseton-der a-monyak(70:29:1) ayrılmasına Göber ve diğ.(1971) çalışmıştır.

Bu şartlarda, prokain hidroklorür için $R_f:0.53$ olarak tespit edilmiştir, reaktif olarak 4-dimetilaminobenzaldehid tatbik edilmiştir.

Bir grup araştırıcı, aromatik aminlerin teşhisinde, ince tabaka kromatografisini uygulamıştır. Gerlach ve Senf(1966) fosfat tamponlu Silikagel G tabakalarında, çift yönlü kromatografi ve birinci yönde sürüklemeye kloroform, ikinci yönde sürüklemeye kloroform-etilmetilketon-su(40:5:5) solvanlarını kullanarak, teşhis etmiştir.

Gageeva, Khizhnik ve Senov(1966) ise Rus Farmakopesinde kayıtlı aromatik aminler için bir seri solvan sistemi ve Alüminyum oksid, Silisyum dioksid adsorbanlarını kullanmıştır.

Khizhnik(1970)'te yaptığı araştırmada, aromatik amin grubu maddeleri, karışımlarından ve farmasötik preparatlarından, a-Silikagel KSU-tıbbi alçı-su ve b-Silikagel KSU-propanol veya iso.propanol karışımı ile kaplanmış plaklarda, kloroform-heksan-etanol(1:1:1), kloroform-metanol(95:5), kloroform-aseton-butanol-formik asid(4:1:1:1), etil asetat-aseton-% 10 amonyak(3:4:1) ve benzen-asetik asid-metanol(9:1:0.5) solvan sistemleriyle teşhis etmiştir.

Wang ve Yuan(1968) ince tabaka kromatografisinde empregnasyonun, R_f değerleri üzerine etkisini araştırmıştır. Silikagel tabakalarının, d-tartarik asid ile empregne edilmesiyle, birbirinden ayrılamayan 51 aromatik aminin ayrılması mümkün olmuştur. Anilin için empregnasyonun R_f değerini düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca, solvanın polaritesinin düşmesinin, R_f

değerinin düşmesine sebep olduğu görüşü benimsenmiştir. Bu neticeler tuz teşekkülü ile izah edilmiştir.

Güven ve Hıncal(1966) prokain hidroklorür'ü, pantokain ve anestezin yanında, Silikagel G adsorban tabakalarında teşhis etmiştir. Solvan sistemleri ve Rf değerleri; I-kloroform-aseton-su-metanol(2:4:1:4)-Rf:0.46 ve II-kloroform-aseton*su-metanol(2:2:1:4)-Rf:0.42 olarak verilmiştir. Lekelerin tespitinde, Dragendorff reaktifi kullanılmıştır. Daha sonra, II no.lu solvan sistemi ve demir III klorür ile potasyum demir III siyanür çözeltilerinin 1/1 karışımı reaktif olarak kullanılarak teşhis edilmiştir (Hıncal, 1967).

Altınkurt(1967) prokain hidroklorür'ü, Kieselgel G tabakalarında, dimetilformamid-dietilamin-etanol-etil asetat(1:1:6:12) solvan sistemi ile developpe ettikten sonra, 4-dimetilaminobenzaldehid reaktifiyle teşhis etmiştir. Diğer sistemlerin yanında, Hıncal(1967)'de bu şartları da uygulamıştır.

Prokain hidroklorür'ün, kodein, dionin, papaverin yanında teşhisinde, talk-tıbbi alçı-su-alkol karışımı ile kaplanmış plaklar ve su-aseton-etanol-amonyak(30:1:10:5), su-etanol-amonyak-kloroform(30:10:5:1), su-etanol-aseton(30:10:1) solvan sistemleri kullanılmıştır. Reaktif olarak Dragendorff Munier tatbik edilmiştir (Grigorescu ve Verbuta, 1967).

Anestezin, prokain hidroklorür, kinkokain analog ve homologları, % 10 oleil alkol empregne edilmiş Sellüloz MN 300 tabakalarında teşhis edilmiştir. Solvan sistemi olarak, 0.5N NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 tamponu (pH:0.4-11) seçilmiştir. Elde edilen Rf

değerleri, solvan sistemi olarak seçilen tamponun pH'sına ve maddenin karbon atomu sayısına bağlı olarak değişiklik göstermiştir (Fresen, 1967).

Antibiyotik taşıyan farmasötik preparatlarda, aktif maddenin ince tabaka kromatografisinde ayrılmasına çalışılmıştır. Prokain penisilin'in teşhisi, Silikagel G adsorbanında, metanol, iso.propanol-metanol(7:3), iso.propanol-metanol-tetrahidrofuran-metilen klorür(30:68:1:1) solvan sistemlerinde yapılmıştır. Reaktif olarak 0.1N iyod-metanolik çözeltisi kullanılmış, prokain penisilin G ve prokain için Rf değerleri verilmiştir (Hague ve Arsenijevic, 1967).

Bassl, Heckermann ve Baumann(1967) anilin ve benzidin türevlerinin teşhisinde, sodyum asetatla tamponlanmış, Silikagel G tabakalarını kullanmıştır. Benzen-butil asetat-asetik asid (65:20:15) solvan sistemi ile iyi netice alınmıştır. Reaktif olarak 4-dimetilaminosinnamaldehyd'in alkolik hidroklorik asidteki çözeltisi tatbik edilmiştir.

4-aminobenzoik asid ester ve türevlerinin teşhisi, Anâl, Gürsu ve Demir(1968) tarafından Silikagel G ve Hf tabakalarında, Moldaver ve Sakovan(1968) tarafından Aluminyum oksid tabakalarında değişik solvan sistemleri ile yapılmıştır.

Messerschmidt(1971) ise Kiselgel G ve Kiselgel DF-8 adsorbanlarında, benzen-abs. etanol(9:1) solvan sistemiyle teşhis etmiştir. Adsorbanlara göre prokain hidroklorür için Rf değerini 33 ve 12 olarak hesaplamıştır.

Biyolojik materyelden, 32 maddenin teşhisinde, Silikagel G

adsorbani kullanilmistir. Solvan sistemi olarak, kloroform-di-
etilamin(9:1), kloroform-aseton-dietilamin(5:4:1), kloroform-
sikloheksan-dietilamin(4:5:1), sikloheksan-dietilamin(9:1), ben-
zen-etil asetat-dietilamin(7:2:1) sistemleri kullanilmis ve
prokain hidroklorür için Rf'ler sirasiyle; 5.7, 6.3, 1.8, 0.2, 4.3
olarak hesaplanmistir (Drost ve Reith, 1967).

Striknin, prokain, fenotiazin gibi toksikolojik önemi olan
maddelerin teşhisinde, ince tabaka kromatografisinin, kağıt kro-
matografisine üstünlüğü araştırılmıştır. İdrardan ekstraksi-
yonla kazanılan maddeler, Sellüloz CC 41 adsorbani-% 5 sodyum
dihidrojen sitrat karışımı ile kaplanmış plaklarda ve butanol-
% 5 sitrik asid(9:1) solvan sistemi ile developpe edilmiştir,
Reaktif olarak, potasyum iyodoplatinat kullanılmıştır. Saf pro-
kain için Rf:31, idrar ekstraktında Rf:27 olarak hesaplanmış-
tır (Haywood ve Moss, 1968).

Alkaloid ve aminlerin ayrılmasında, ince tabaka kromatogra-
fisi ve Banford metodu bileşimi uygulanarak, prokain hidroklo-
rür 5. grupta teşhis edilmiş ve Rf değeri verilmiştir (Tulus
ve İskender, 1969).

Nakamura ve Parker(1970) adli tıbla ilgili bir grup madde-
yi, Eastman kromatografi tabakaları ve kloroform-etil asetat-
der amonyak(40:10:10 gtt.) solvan sistemiyle teşhis etmiştir.
Prokain hidroklorür için Rf değeri 0.45 olarak hesaplanmıştır.

Novakova ve Vecerkova(1973) toksikolojik analizde, 31 alka-
loid ve 8 lokal anesteziğin tefrikini asidik(amonyum formiyat)
veya bazik(tri hidroksimetilaminometan), etanolik formamid çö-

zeltisi ile kaplanmış Lucefol Quick Sellüloz tabakalarında yapılmıştır. Solvan sistemi olarak, kloroform, benzen-sikloheksan(7:3), kloroform-benzen(5:5) ve sikloheksan-benzen(5:5) sistemleri kullanılmıştır. Lucefol ince tabakalarının kullanılışındaki üstünlük, Whatman no I kağıdında maddelerin teşhisi ile karşılaştırılmış ve 10 defa daha hassas, zaman bakımından çok kısa olduğu görülmüştür. Ayrılma etkileri ve lekeler kağıt kromatogramlardakilerle aynı bulunmuştur.

Macek ,Vecerkova ve Stanislavova(1965) kloroform-iso. propanol-amonyak(9:9:2) solvan sistemi, Kiselgel GF₂₅₄ adsorbanında prokain hidroklorür'ü Rf:0.4'te tespit etmiştir. Stabilitenin tetkikinde, Hortobagyi ve diğ.(1967) ince tabaka kromatografisini uygulamışlardır.

Massa, Puech, Kister ve Im(1969) Silikagel GF₂₅₄ adsorbanı ve benzen-kloroform-metanol(2:10:2) solvan sistemi ile, prokain hidroklorür için Rf:0.18 olarak hesaplamıştır. Prokain hidroklorür'ün aynı adsorban ve Rf'le değişik solvan sistemiyle, sikloheksan-kloroform-metanol(5:3:1) teşhisi, Pozzo(1969) tarafından yapılmıştır. Baggiolini ve diğ.(1967) 4-aminobenzoik asid esterlerinin, kromatografik hidrolizi ve hidroliz ürünlerinin teşhisine çalışmıştır. Teşhiste Kiselgel G adsorbanı ve toluol-aseton-metanol-% 25 amonyak(50:30:10:1) solvan sistemi kullanılmıştır. Prokain hidroklorür için Rf:36 bulunmuştur.

Brzezicka(1971) uzun zaman saklanmış prokain hidroklorür çözeltilerinde, meydana gelen 4-aminobenzoik asid ve anilin'in teşhisi için ince tabaka kromatografisi uygulamıştır. Kroma-

tografide, Kieselgel G adsorbantı-0.1M potasyum hidrojen sülfat ve 0.1N sodyum hidroksit çözeltileriyle karıştırılarak kullanılmıştır. Solvan sistemi olarak, metanol, aseton ve alkol kullanılmıştır. Değişik konsantrasyonlarda, tek tek ve karışım halinde tatbiklerde, elde edilen Rf değerleri tablolanmıştır.

Lenartowicz(1971) Alüminyum oksit G(Tip E) adsorbantı, kloroform ile geliştirilerek, prokain hidroklorür'ü 10 mcg miktarda teşhis etmiştir. Aynı araştırmacı, prokain hidroklorür, lidokain, ksilidin karışımının teşhisinde, 0.1N sodyum hidroksitle hazırlanmış Silikagel G tabakalarında aseton solvanıyla iyi netice almıştır. (Lenartowicz, 1972).

Khiznik ve Lebedenko(1970) farmasötik preparatlarda, aromatik aminleri Silikagel ince tabakalarında, 0.02M sitrik, tartarik veya oksalik asitle veya boraks ile 80-90 mA'de elektroforezle teşhis etmiştir.

Voicu, Popa ve Borş(1970) prokain hidroklorür ve parçalanma ürünlerinin, idrarda teşhisinde ince tabaka elektroforezi uygulamıştır. Solvan sistemi olarak butanol-asetik asit-su (4:1:5) kullanılmış ve Silikagel G adsorbantı seçilmiştir.

3-Kağıt kromatografisi ile teşhisi :

Kelemen, Tanos ve Halmagyi(1950) 4-aminobenzoik asit türevlerinin idrardan teşhisinde, su ile doyurulmuş butanol solvanı ve Ehrlich reaktifi kullanmıştır.

Vitte ve Boussemart(1951) lokal anesteziklerin ayrılmasında, butanol-asetik asit-su(50:5:45) karışımının organik fazını ayırarak kullanmıştır. Prokain hidroklorür için Rf:0.69 olarak hesaplanmış ve Dragendorff reaktifi tatbik edilmiştir.

Aynı sene Jaminet(1951) çıkan kağıt kromatografisi ve iso. butanol-hidroklorik asit-su(50:7.5:13.5) karışımı ile prokain hidroklorür'ü, 0.21 Rf'le teşhis etmiştir. Lekelerin tespitinde aynı reaktif kullanılmıştır.

Wagner(1953) bazı lokal anesteziklerin, kantitatif ayrılmasını ve teşhisini Schleicher-Schüll 2043b kağıdı, butanol-% 25 hidroklorik asit-su(15:7.5:13.5) ve butanol-% 12.5 hidroklorik asit-su(15:7.5:13.5) solvan sistemleri ile yapmıştır. Prokain hidroklorür için Rf değerleri 0.26 ve 0.11; 4-aminobenzoik asit için 0.86 ve 0.89 olarak hesaplanmıştır.

Daha sonraki bir araştırmada, lokal anestezik tabletlerde teşhiste, Schleicher-Schüll 2043b ve Gerner-Kreuzig 388 kağıdı

kullanılmıştır. Solvan sistemleri ve bu sistemlerde, kağıtlara göre hesaplanan Rf değerleri şu şekilde bulunmuştur.

nButanol-asetik asid-su(4:1:5)-Rf:0.67;0.7 ; nbutanol-% 25 hidroklorik asid-su(15:7.5:13.5)-Rf:-;0.34 ; nbutanol-% 25 hidroklorik asid-su(15:10:13.5)-Rf:-;0.63. Ayrıca pH:2-9 arasına tamponlanmış kağıtlara, kromatografi tekniği uygulanmış ve pH'lara göre tespit edilen Rf değerleri tablolanmıştır (Wagner ve Zimmer, 1955).

Vacek, Skorkovska, Votava, Horakova ve Matouskova(1953) prokain hidroklorür ve interkain'i, parçalanma ürünleri yanında iso.butanol-% 30 hidroklorik asid-su(50:15:15) solvan sistemi ve Whatman no I kağıdında teşhis etmiştir. Prokain hidroklorür için, Rf:0.2 ve 4-aminobenzoik asid için Rf:0.67 olarak hesaplanmıştır. Aynı kağıtta, butanol-amonyak-su(4:1:5) sisteminde, Rf değerleri prokain hidroklorür için 0.9 ve 4-aminobenzoik asid için 0.08 olarak tespit edilmiştir. Reaktif olarak 4-dimetilaminobenzaldehid kullanılmıştır (Harthon ve Mayer, 1954).

Tappi ve Magnomi(1954) aynı kağıtla, çift yönlü ve çıkan teknikleri uygulayarak, prokain hidroklorür ve farmakain'i, hidroliz ürünleri yanında teşhis etmiştir. Çift yönlü kromatografide, a-nbutanol-asetik asid-su(4:1:5); b-nbutanol-% 5 amonyak (5:2) solvan sistemleri ile prokain hidroklorür için Rf_a :0.76 Rf_b :0.91 ve 4-aminobenzoik asid için Rf_a :0.88 ve Rf_b :0.12 bulunmuştur. Çıkan teknikle teşhis için, Whatman no I kağıtları önce 0.1M sitrik asid-0.2M disodyum hidrojenfosfat(17:10) karışımı ile tamponlanmış ve su ile doyurulmuş nbutanol'de sü-

rüklenmiştir. Prokain hidroklorür için $R_f:0.3$ ve 4-aminobenzoik asid için $R_f:0.8$ olarak hesaplanmıştır.

Bir grup analjezik karışımı, Schleicher-Schüll 2043b kağıtta, nbutanol-asetik asid-su(4:1:5)(Partridge elüenti) sistemi ile ayrılmıştır. Prokain hidroklorür için $R_f:0.53$ ve 4-aminobenzoik asid için $R_f:0.87$ olarak hesaplanmıştır. Reaktif olarak Dragendorff, Ninhidrin, sodyum 1,2naftokinon 4 sülfonat ve Millon reaktifleri denenmiştir (Castagnola, Marangoni, Massarotti ve Riva, 1958).

Bazı lokal anesteziklerin ayrılmasında, a-nbutanol-asetik asid-su(100:20:doyurulur); b-nbutanol-%10 amonyak-su(80:20:doyurulur); c-nbutanol-hidroklorik asid-su(50:7.5:13.5) solvan sistemleri kullanılmış ve asid sistemlerde alınan neticeler daha iyi olmuştur. Solvan sistemlerine göre prokain hidroklorür için hesaplanan R_f değerleri, $R_{f_a}:0.53$; $R_{f_b}:0.93$ ve $R_{f_c}:0.2$ olarak verilmiştir. Reaktif olarak Dragendorff ve diazo reaksiyonu kullanılmıştır (Kirichenko, 1962).

16 lokal anesteziğin kromatografik teşhisinde, önce maddelerin pikrat ve tetrafenilborat türevleri hazırlanmış ve bu türevlerin çözeltileri, Whatman no I kağıdında kromatografiye edilmiştir. Solvan sistemi olarak, a-butanol-% 37 hidroklorik asid-su(30:5:37.5); b-butanol-buzlu asetik asid-su(4:1:5) karışımlarının, organik kısmı ayrılarak kullanılmıştır. Prokain hidroklorür için elde edilen R_f değerleri, $R_{f_a}:0.15$ ve $R_{f_b}:0.65$ olarak bildirilmiştir. Lekelerin tespitinde tadil edilmiş Dragendorff reaktifi kullanılmıştır (Koehler ve diğ., 1960).

Diğer bir araştırmacı, lokal anesteziğin, kağıt kromatografisi ile teşhisinde, kağıdın tamponlanmasının Rf üzerine etkisini tetkik etmiş ve neticeleri tablolamıştır. Solvan sistemi olarak; a-iso.propanol-asetik asid-su(10:1:1), b-butanol-asetik asid-su(4:1:5), c-% 2 amonyum sülfatla empregne edilmiş kağıtla b'solvanı, d-butanol-pH:3 Mc. Ilvaine tamponu ile doyurulur, d-butanol-pH:7.5 Sörensen tamponu ile doyurulur; kullanılmıştır. Elde edilen Rf değerleri şöyledir: Tamponlanmamış kağıtta, solvan a'da Rf:0.65, solvan b'de Rf:0.59, c'de Rf:0.4, pH:3'e tamponlanmış kağıtta, solvan d'de Rf:0.22, pH:7'ye tamponlanmış kağıtta, solvan e'de Rf:0.47 bulunmuştur (Tanzawa ve diğ., 1966).

Palmieri ve Romano(1952) adli tıpta önemli olan maddelerin teşhisini, Schleicher-Schüll n597 kağıtta, çift yönlü kağıt kromatografisi ile yapmıştır. Aseton-hidroklorik asid-gliserin (90:5:5) ve Nhidroklorik asid ile doyurulmuş nbutanol sistemlerini kullanmış ve sırasıyla Rf değerleri; 0.4, 0.17 olarak hesaplanmıştır.

Aynı grup maddeler aynı kağıtla, Schmidt(1959) tarafından Algeri ve Walker(1952); Jatzkewitz(1953) solvan sistemleri ile teşhis edilmiştir. Prokain hidroklorür için Rf değerleri sırasıyla; 0.98, 0.5 ve 4-aminobenzoik asid için 0.13, 0.87 olarak hesaplanmıştır.

Bu gruptan 28 maddenin teşhisinde, %5 sodyum dihidrojen-sitrat çözeltisi ile empregne edilmiş, Whatman noI kağıdı ve butanol-su-sitrik asid(50:50:1 g) solvan karışımının üst taba-

kası kullanılmıştır. Prokain hidroklorür için Rf:0.27 olarak bulunmuştur. Dragendorff Munier ve Macheboeuf reaktifleri püs-kürtülmüş ve 20 mcg miktarda madde teşhis edilebilmiştir (Curry ve Powell,1954).

Asahima ve diğ.(1958) prokain hidroklorür'ün diasetilmorfin'den ayrılmasında,Sanchez (1925) furfural-asetik asid reaktifinden faydalanmıştır. Bu reaktif,sadece prokain hidroklorür ve siklik primer aminler için pozitif reaksiyon vermektedir. Solvan sistemi olarak,N hidroklorik asid ile doyurulmuş nbutanol -Rf:0.1 ve %10 amonyum hidroksid-Rf:0.75 ile iyi netice alınmıştır. Prokain hidroklorür'ün,afyon alkaloidleri yanında teşhisi ise,Toyoroshi no51 kağıtta,çıkan kromatografi tekniği ve nbutanol-su-%28 amonyak(50:15:9) sistemi ile yapılmıştır (Nakamura,1960).

Gurrieri ve Musumeci(1960) kokain,prokain hidroklorür karışımını,nbutanol-3N hidroklorik asid(1:1) sistemiyle ayırmış ve reaktif olarak Dragendorff tatbik etmiştir. Daha sonra aynı karışım,%2'lik amonyum sülfat sulu çözeltisi ile empregne edilmiş Whatman noI kağıdında,iso.butanol-asetik asid-su (100:10:25) karışımı ile ayrılmıştır. Modifiye Dragendorff reaktifi kullanılmış ve prokain hidroklorür için Rf:0.6 olarak hesaplanmıştır (Tewari,1965).

Espen(1952) adrenalin-prokain hidroklorür karışımlarının ayrılmasında,Whatman noI kağıdı,butanol-buzlu asetik asid-%1 sodyum metabisülfid çözeltisi(100:10:doyurulur) solvan sistemini kullanmıştır.

Prokain hidroklorür'ün kompleks "ANTİSCLEROL" preparatından teşhisinde, çeşitli solvan sistemleri ve pH'lar denenmiş, en uygun netice fosfat-sitrat tamponu ile pH:3.5'a ayarlanmış Schleicher-Schüll 2043b mg1 kağıdı ile butanol'de develope edilerek alınmıştır (Kohen ve Russeva, 1968).

Çözeltilerinde, parçalanma ürünleri, filtre kağıdı ve su-
etanol(3:1) karışımı kullanılarak ayrılmış, %10 sodyum nitrit-
3 damla %25 üre çözeltisi karışımı ile Tsuda reaktifi püskür-
tülerek teşhis edilmiştir. Rf değerleri tablolanmıştır (Fuku-
zawa ve diğ., 1956).

Hidroliz ürünleri yanında teşhiste, Leningrad M kağıt ve
butanol-asetik asid-su(4:1:5) karışımı kullanılmıştır. Leke-
lerin tespiti Dragendorff ve 4-dimetilaminobenzaldehid-asetik
asid(1:1) reaktifleriyle yapılmıştır (Simon ve Shostenko, 1964).

Prokain hidroklorür-potasyum piro-sülfat enjeksiyonluk çö-
zeltisinin, stabilitesinin tetkikinde, maddelerin teşhisi, Schle-
icher-Schüll 2043b mg1 kağıt ve butanol-asetik asid-su solvan
sistemi ile yapılmıştır. Prokain hidroklorür için Rf:0.6-0.7
ve 4-aminobenzoik asid için Rf:0.8-0.9, ortamda teşekkül eden
prokain-sülfonik asid türevi için Rf:0.32-0.36 olarak tespit
edilmiştir (Picher ve diğ., 1960).

Enjeksiyonluk çözeltilerin stabilitesinin tetkikinde, ka-
ğıt kromatografisi tekniği; Davydova(1964); Hortobagyi ve diğ.
(1967) tarafından uygulanmıştır. Aynı sene, çeşitli sterilizas-
yon şartlarında maddenin parçalanması ile meydana gelen 4-ami-
nobenzoik asid ve dietilaminoetanol'ü, Schleicher-Schüll 2043b

kağıtta, nbutanol-%100 asetik asid-su(4:1:2) sisteminde teşhis etmiştir. Ehrlich ve Dragendorff Munier, Macheboeuf reaktifleri uygulanmıştır (Przybilka, 1964).

Wisniewski, Firmanczyk ve Olszewska(1965) aynı amaçla, Whatman no1 kağıdı ve nbutanol-der hidroklorik asid-su(40:5:45) solvan sistemini kullanmışlardır. Prokain hidroklorür için Rf:0.1-0.2; 4-aminobenzoik asid için Rf:0.31 ve anilin için Rf:0.5 olarak tespit edilmiştir.

Gurevich ve diğ.(1966) ise aynı amaçla yaptıkları çalışmada, butanol-asetik asid-su(4:1:5) solvan sistemi ile iyi netice aldıklarını bildirmişlerdir.

Altinkurt(1967) ve Hıncal(1967) stabilitenin tetkikinde, Whatman no1 kağıdı ve butanol-asetik asid-su(100:14:doyurulur)solvan karışımını kullanmışlardır.

Prokain hidroklorür, Schulek ve Floderer(1935) tarafından iso.butanol-%30 hidroklorik asid-su(50:15:15) solvan sistemi ve diazo reaktifi ile; Belles, Sievert ve Wash(1955) tarafından ise, Whatman no4 kağıtta, a- N hidroklorik asid ile doyurulmuş nbutanol-Rf:0.17; b-N hidroklorik asid-nbutanol(10:90)-Rf:0.11 ve c-pH:6.5 fosfat tamponu ile doyurulmuş nbutanol-Rf:0.63 sistemleri kullanılarak; Macek ve diğ.(1965) tarafından, Schleicher-Schüll 2043b kağıdı, %40 etanolik formamid-%5 amonyum formiyat ile empregne edilip, kloroformda sürüklenerek, 0.13 Rf'le teşhis edilmiştir.

Agren(1961) pH:5.4'e tamponlanmış prokain hidroklorür çözeltilisini, sodyum fosfat-sitrik asid ile aynı pH'ya tamponlan-

mış Whatman no1 kağıdına tatbik etmiştir. Kağıt, nbutanol ve pH:5.4 tamponu atmosferinde doyurulduktan sonra nbutanol ile develope edilmiştir. pH'ya bağlı olarak hesaplanan Rf değerleri tablolanmıştır.

Prokain hidroklorür, benzokain ve 4-aminobenzoik asit yanında, Whatman no2 kağıdı ile butanol-%25 hidroklorik asid-su (15:7.5:13.5) solvan karışımı kullanılarak teşhis edilmiştir (Balica ve Stefan, 1973).

Russu ve diğ. (1963 a) prokain hidroklorür ve parçalanma ürünlerini, Whatman no1 kağıdında elektroforez ile teşhis etmiştir. pH:5 tamponu ve 0.3 mA akım kullanılmıştır. Araştırmacı neşrettiği ikinci araştırmada, aynı amaçla yüksek voltaj kağıt elektroforezi uygulanmıştır (Russu ve diğ., 1963 b).

Daha sonraları, Kalinowski ve Zwierzchowki (1958) prokain hidroklorür ve 4-aminobenzoik asidi, 1 mA akımla, kağıt elektroforezi ile ayırmıştır. Zıt kutuplarda toplanan maddeler, su ile elüe edilerek alınmıştır.

Voicu ve diğ. (1970) idrardan, kağıt elektroforezi ile pH: 3.68 glisin-hidroklorik asid tamponu ve 20 mA akım tatbik ederek teşhis etmişlerdir.

4- Gaz kromatografisi ile teşhisi :

Köhler ve Hefferren(1964) lokal anesteziikleri ve benzer maddeleri, gaz-likit kromatografisi ile teşhis etmiştir. Cam boncuk üzerine %0.1 SE kolonda, kolon ısısı 225°C tutularak, taze hazırlanmış %2'lik prokain hidroklorür çözeltilisinin lül'ününin tatbikinde retansiyon zamanı 72 dak olarak tespit edilmiştir.

Massingill ve Hodgkins(1965)'te kapiler kolon ve dört değişik madde doldurulmuş kolonda alkaloidleri, prokain hidroklorür'ü, gaz-likit kromatografisi ile teşhis etmiştir.

Üç çeşit apareyde hidrojen-alev iyonizasyon dedektörü kullanılarak, prokain-penisilin şokunda prokain tayini yapılmıştır (Nanikawa ve Kotoku, 1966). Aynı dedektör kullanılarak, on kadar lokal anesteziik, Diachrom A doldurulmuş ve %1 Silikon QF-1 kaplanmış kolonda gaz kromatografisi ile teşhis edilmiştir. Numuneler serbest bazın etanolik çözeltilisi halinde verilmiş, ve prokain için retansiyon zamanı/dak olarak aşağıdaki şekilde tespit edilmiştir. Kolon ısısı; a-150°C , b-200°C , c-220°C seçilmiş, bu derecelerde akma hızı; a-20 ml/dak, b-40 ml/dak , c-20 ml/dak, alınmış ve prokain hidroklorür retansiyon zamanı

a-7.1,b-1.1,c-0.8 olarak tespit edilmiştir (Hamada,Takeda ve Goukon,1968).

Aynı sene Rader ve Aranda(1968) polar ve nonpolar iki değişik kolon kullanarak,birçok karışımı gaz-likit kromatografisi ile ayırmıştır. Prokain için 220°C'de fenobarbitale nazaran relatif retansiyon süresi,kolon A (%1 HI-EFF-8BP+SE 52) de 1.98 ve kolon B (%4 HI-EFF-8BP)'de 1.42 olarak tespit edilmiştir.

Cardini,Bucci ve Calo(1969) lokal anesteziikleri %1'lik di- etileter çözeltilerinden,1.5 ul'sini tatbikle,iki değişik şartta gaz kromatografa enjekte ederek tayin etmiştir.

Üç lokal anesteziik madde 80/100 çapında Diatoport S üzerine %3.8 silikon lastiği UCW 98 doldurulmuş I.D. cam kolondan teşhis edilmiştir. Kolon ısısı 200°C'ye ayarlanmış ve prokain hidroklorür 10 mg/ml tatbik edilmiştir (Bluemer ve Patel,1970).

Diğer bir araştırmacı,basit ve kompleks preparatlarda gaz kromatografik analizin uygulanmasına çalışmıştır. Önce dilü- ent,eksipiyan ve analizde birbirini interfere eden maddelere ait problemler çözülmüş ve sonra birçok preparatın otomatik analizi mümkün kılınmıştır. Prokain hidroklorür,%3 XE-60 ANAK- RON AS ,90-100 mesh kolonda tayin edilmiştir (Quercia,1970).

Buchi,Lorini ve Perlia(1972)'de lokal anesteziiklerin ho- molog ve analoglarını,JxR ve XE-60 kolonda teşhis etmiş,retan- siyon,relatif retansiyon sürelerini tablolamıştır.

5-Test tüp kromatografisi ile teşhisi :

Fischer ve Otterbeck(1958) lokal anesteziklerin test tüp kromatografisi ile teşhisine çalışmıştır. Kullanılan solvan sistemleri ve prokain hidroklorür için bu sistemlerde tespit edilen Rf değerleri verilmiştir. Butanol-su(8:2)-Rf:0.48; butanol-asetik asid-su(10:3:dozurulur)-Rf:0.53; butil asetat-butanol-asetik asid-su(85:15:40:20)-Rf:0.44; butil asetat-butanol-iso.butanol-asetik asid-su(50:25:25:50:75)-Rf:0.56,

6- İyon değiştirme kromatografisi ile teşhisi :

Jindra ve Rentz(1952) lokal anesteziklerin, su-etanol karışımındaki çözeltilerinin, Amberlit IRA-400 doldurulmuş kolondan geçirilerek, %96'lık sıcak etanol ile elüe edilerek, teşhisinin mümkün olduğunu bildirmektedir.

Aynı şekilde maddenin galenik preparatlardan teşhisi de yapılabilmektedir. Örneğin; prokain hidroklorür-katı parafin

pomadından madde teşhis edilmiştir.

Vaisman ve Yampol'skaya(1957) prokain hidroklorür sulu çözeltilisini, katyon değiştirici kolondan geçirdikten sonra, metil oranj'a karşı nötr olana kadar su ile elüe ederek, maddeyi teşhis etmiştir.

Sülfonlanmış hidrokarbon doldurulmuş kolondan geçirerek, bileşik göz damlalarından maddenin teşhisi yapılmıştır (Ellert ve Grabowska, 1957).

Viorika ve Demetrescu(1960) alkaloidlerin ve prokain hidroklorür'ün teşhisini IP 4 B reçine doldurulmuş kolon kullanarak yapmıştır. Madde %96'lık alkolik çözeltisi halinde kolondan geçirilmiş ve 50°C, %96'lık alkolle elüe edilmiştir.

Ayrıca organik bazların çözeltilerinden teşhisinde, formaldehidle muamele edilmiş aljinik asid, karboksilik katyon değiştirici reçine olarak kullanılmıştır. Maddelerin kolondan elüsyonu, N sülfürik asid ile yapılmıştır (Foster ve Murfin, 1961).

Al'tshuler, Porodnova ve Makarov(1969) prokain hidroklorür ve anesteziyi, KU-2 ve KB-4P-2 iyon değiştirici reçineler kullanılarak ,iyon değiştirme kinetiğini incelemiştir. Diğer bir araştırmacı, Dowex 50(H⁺) reçine kullanmıştır (Starobinets ve Kurkina, 1971).

7- N.M.R. spektroskopisi ile teşhisi :

Neville(1969) prokain hidroklorür ve benzer yapıda analjezikleri, N.M.R. spektroskopisi yardımı ile karakterize etmiştir. Bütün maddeler için grafikler dimetilsulfoksid (d_6), trifloroasetik asit ve döteryum oksid'te alınmış, münakaşası yapılmıştır.

8- Kütle spektroskopisi ile teşhisi :

Fales, Milne ve Law(1971) aspirin, prokain hidroklorür ve probenesit'in kütle spektroskopisi ile teşhisi yapılmıştır. Prokain hidroklorür'e ait karakteristik pikler: 86 , 99 , 120 , 58 , 87 'de tespit edilmiş, grafik ve değerler verilmiştir.

Diğer bir araştırmada, toksikolojik yönden önemi olan 58 maddenin, biyolojik materyelden (mide lavajı, serum, idrar) kütle spektroskopisi ile teşhisine çalışılmıştır. İncelenen maddelerin spektrumlarında görülen karakteristik pikler tablolanmıştır (Law, Aandahl, Fales ve Milne, 1971).

9- İnfrared spektroskopisi ile teşhisi :

O'Brien ve Sullivan(1970) adli tıpta önemli birçok maddeyi infrared spektroskopisi ile teşhis etmiştir. 0.4 mg kuru numune 300 mg saf potasyum bromür ile karıştırılıp,transparan tablet basılmış ve grafik alınmıştır. Prokain hidroklorür'de dahil olmak üzere 17 maddenin grafiği verilmiştir.

10- X-Ray spektroskopisi ile teşhisi :

Sullivan ve O'Brein(1968) adli tıpta önemi olan birçok maddenin teşhisinde x-ray difraksiyon tekniğini uygulamış ve elde edilen karakteristikleri referans grafik olarak vermiştir.

11- Radyokristallografik teşhisi :

Baptista(1967) prokain hidroklorür'ün radyokristallogra-

fik teşhisine çalışmıştır. Prokain hidroklorür, ortorombik sistemde kristalize olur. Birim hücrenin boyutları, a:284 Å, b:14.157 Å, c:24.927 Å dır. Ortalama dansitesi 1.253 olarak bulunmuştur, hesaplanan dansite 1.239 dur. Kristaller pozitif iki eksenle optik düzleme paraleldir(x//b;y//a;z//c dir.) Moleküller asimetriktir, simetri merkezleri ile birleşik kristal ağda konum simetrisi görülür.

12- Ultraviyole spektroskopisi ile teşhisi :

Riegel ve Buchwald(1929) 4-aminobenzoik asit esterlerinin sulu çözeltilerinin ultraviyole absorpsiyon spektrumları alınmış ve birbirinden tefrikine çalışılmıştır, Bunun için orijinal eğriler milimetrik kağıda geçirilerek, maksimum absorpsiyon, absolü kararlılık ve seçici kararlılık değerleri karşılaştırılmış, bu değerler tablolanmıştır. Prokain hidroklorür için bu değerler sırasıyla:2890 Å;15.900;20.000 olarak tespit edilmiştir.

Aynı türevlerin absorpsiyon spektrumlarına ,süstitüentin pozisyonunun etkisi araştırılmış ve spektrumlarda okunan maksimum absorpsiyonlar tablolanmıştır. Prokain hidroklorür için maksimum absorpsiyonlar 2950 ve 2205 Å da tespit edilmiştir (Mustafa, Abu-Eittah ve Elgendi, 1969).

E- Miktar tayini metodlarının gözden geçirilmesi :

Prokain hidroklorür'ün tayini için çeşitli metodlar araştırılmış olmakla beraber, farmakopelerde kayıtlı olanlar genellikle titrimetrik usullerdir. Farmakopelerde kayıtlı titrimetrik metodlar üç grup altında toplanabilir.

a-Nitritometrik : Tam tartılmış 0.5 g maddeye bir beherde 100 ml soğuk su, 5 ml hidroklorik asit ve 0.1 g potasyum bromür ilave edilir ,hepsi eriyinceye kadar karıştırılır, 15°C ye soğutulur, 25 g kırılmış buz ilave edilir, kuvvetle çalkalarak ve solusyona batırılan bir bağıt, nişasta-iyodür kağıdına değdirildiğinde derhal mavi bir renk verinceye kadar 0.1M sodyum nitrit çözeltisiyle titre edilir (T.F., 1974 ; U.S.P. XVIII, 1970 ; B.P., 1968 ; Pharm. Franç. 1970).

b-Alkalimetrik : Madde nötral alkolde çözülüp, kloroformlu ortamda, 0.1N sodyum hidroksid çözeltisiyle, fenolftalein endikatörü karşısında titrasyonla tayin edilir (Pharm. Hung, 1970 ; DAB 7, 1968).

c-Susuz ortamda : Madde asetik anhidritte çözülüp, cıva II asetat/asetik anhidrit çözeltisi ilave edilmiş ve jansiyan viyole endikatörü karşısında 0.1N perklorik asitle titrasyonla tayin edilmiştir. (Pharm. Helv, 1971 ; Pharm. Hung, 1970).

1- Gravimetrik metod :

Weiss(1953) prokain hidroklorür'ü,pikratı halinde çöktür-
dükten sonra gravimetrik metoduyla tayin etmiştir.

2- Titrimetrik metodlar :

Welsh(1947) prokain hidroklorür'ü,efedrinli karışımların-
da,efedrini asetilleyerek ortamdan uzaklaştırdıktan sonra bro-
mometrik titrasyonla tayin etmiştir. Aynı metoduyla,Wankmüller
(1949) prokain hidroklorür'ü,ayarlı potasyum bromat çözeltisi
ile direkt titrasyonla veya ayarlı sodyum arsenit çözeltisi
fazlasının,indigokarmin endikatörü karşısında ayarlı potasyum
bromat çözeltisiyle titre ederek tayin etmiştir.

Daha sonra,prokain hidroklorür ve hidroliz ürünlerinin ta-
yininde bu metod incelenmiştir. Çözelti,%10 sodyum karbonat
çözeltisi ile pH:11'e ayarlandıktan sonra,karbontetraklorür
ile ekstraksiyon yapılmış ve sulu fazda 4-aminobenzoik asit,

organik fazda prokain hidroklorür tayin edilmiştir (Ramusino ve Monacelli, 1952).

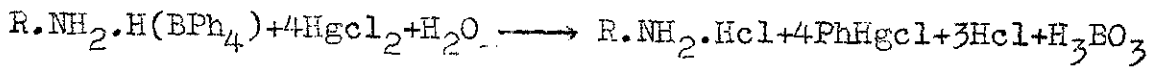
Miszczuk-Lucka ve Taborska(1955) maddenin buzlu asetik asit'te, bromometrik titrasyonla tayininde, ısı, zaman ve brom fazlasının etkilerini araştırmıştır. Bu konuda son yapılan bir çalışmada ise prokain hidroklorür sulu çözeltilerinin bromometrik tayinindeki arızalar araştırılmıştır. Neticede bromometrik tayinde, doğru sonucun ancak parçalanma ürünlerinin ortamda bulunmadığı durumda alınabileceği, aksi halde neticelerin yüksek bulunduğu görülmüştür (Wisniewski ve Furmanczyk, 1961).

Wankmüller(1949) prokain hidroklorür'ü, asitli çözeltilisine 0.1N potasyum bromat çözeltisi aşırısı ve sonra potasyum iyodür ilave edip, ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisiyle geri titrasyonla tayin etmiştir. Aynı şekilde çözeltiye, potasyum bromat, potasyum bromür ve sonra potasyum iyodür ayarlı çözeltileri ilave edilip, ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisiyle titre ederek, prokain hidroklorür ve kloroprokain tayin edilmiştir (Hadicke, 1955).

İyodometrik metotla; iyod klorür(I₂) kullanılarak tayin edilmiştir. Uygulamada numune çözeltilisine, reaktif ve %10 potasyum iyodür çözeltisi ilave edilmiş, iyod fazlası ayarlı tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Reaksiyon esnasında prokain hidroklorür diiyodo türevi haline geçmektedir. Metot %0.2-0.3 hassasiyetle tayin yapma olanağı sağlamaktadır (Gengrinovich ve Kadyrov, 1952).

Prokain hidroklorür çözeltilerinin alkalimetrik titrasyonunda; Vastagh ve diğ.(1950) çözeltiliyi alkalilendirip, kloroform ile ekstre ettikten sonra distillemiş ve sülfürik asit aşırısı ilave ederek, alkali ile titrasyonla ; Kagan(1961) ise azot taşıyan maddeleri eterle ekstre edip uzaklaştırıp, sulu fazları, metilkırmızısı endikatörü karşısında, 0.1N sodyum hidroksiğ çözeltisi ile titrasyonla tayin etmiştir. Daha sonra Boichinov(1961) maddenin NOVADREN ampulden tayininde, önce sodyum hidroksiğ ile hidroliz edip, distillemiş ve distilayı 0.1N hidroklorik asit bulunan erlene toplayarak, reaksiyona girmemiş asit fazlasını, 0.1N sodyum hidroksiğ çözeltisiyle titrasyonla tayin etmiştir.

Flaschka, Holasek ve Amin(1954) değişik bir metcđla alkalimetrik titrasyonu uygulamıştır. Metcđ organik bazların, tetrafenilborat ile muamelede verdikleri çözünmeyen çökelēin süblime ile reaksiyonuna dayanır. Reaksiyon :



formülüne uygun olarak yürür. Burada açığa çıkan hidroklorik asit, ayarlı sodyum hidroksiğ çözeltisiyle titre edilerek, 0.5-3 mg civarında prokain hidroklorür'ün tayini yapılabilir.

Asidimetrik titrasyonla tayinde ; Ramusino ve diğ.(1952) prokain hidroklorür'ü çözeltilerinden alkali ortamda, karbon-tetraklorür ile ekstre ederek, ayarlı hidroklorik asit ile direkt titrasyonla tayin etmiştir.

Gélébart(1959) benzer metcđla tayinde, çözeltiliye belli hacimdeki N sodyum hidroksiğ çözeltisi ilave ettikten sonra dis-

tilasyonla bazik kısmı uzaklaştırmış ve bakiye alkaliyi N sülfürik asitle titre etmiştir.

NOVADREN ampulden tayinde, çözeltili alkalilendirilip, prokain baz, iso. propanol-kloroform karışımı ile ekstre edilip, aynı şekilde tayin edilmiştir (Boichinov, 1961).

Zöllner(1954) çözeltilerin stabilitesinin tetkikinde Vastagh ve diğ.(1950) metodunu tadil ederek uygulamıştır. Bu çalışmada prokain hidroklorür, alkali distilada, asidimetrik titrasyonla, anilin bromometrik veya iyodometrik titrasyonla tayin edilmiştir. Dietilaminoetanol mevcudiyeti reaksiyonu örtmemektedir.

Thomis ve Kotionis(1956) prokain gibi bazların yanında, bromtimolmavisi gibi endikatörlerin, kloroform-su tabakaları arasındaki partisyona etkili olduğunu göstermiştir. Kloroform su sisteminde, organik bazın, bromtimolmavisi karşısında titrasyonunda, su fazında görülen ani renk değişimi bitiş noktasını belirler. Bu tekniğin tatbikine ait geniş bilgi verilmiştir.

Diğer bir çalışmada prokain hidroklorür, iyon değiştirici reçineden, alkolle elüe edildikten sonra serbest baz 0.1N hidroklorik asitle, %0.1 alkolik metilkırmızısı-%0.05 alkolik metilenmavisi karışımı endikatörü karşısında titrasyonla, tayin edilmiştir (Viorika ve diğ., 1960).

Maddenin arjantometrik titrasyonla tayininde ; Okazaki ve Kitamura(1952) prokain hidroklorür'ü, asid ortamda amonyum-raynekat ilavesiyle çöktürüp, meydana gelen çökeltiyi aseton-da çözmüştür. Çözeltiye FehlingA reaktifi, nitrik asid, ayarlı

gümüş nitrat çözeltisi fazlası ilave edilmiş ve ayarlı amonyum tiyosiyanatla geri titrasyonla tayin edilmiştir.

Schultz ve Goerner(1953) maddeyi sodyum tetrafenilborat ile çöktürdükten sonra,asetonda çözerek,asetik asit,0.1N potasyum bromür çözeltisi,eosin(%1) ilave etmiş ve ayarlı gümüş nitrat çözeltisi ile titrasyonla tayin etmiştir.

Portnov ve Zaitseva(1956) ise maddeyi çinko tiyosülfatla çöktürüp,meydana gelen çökeltiyi nitrik asitte çözdükten sonra aynı şekilde tayin etmiştir.

Kotik(1964) prokain hidroklorür'ü,potasyum bikromat endikatörü karşısında,ayarlı gümüş nitrat çözeltisiyle direkt titrasyonla tayin etmiştir. Bromtimolmavisi endikatörü kullanılarak ta netice alınabileceği belirtilmiştir.

Tetyueva(1954) ayarlı gümüş nitrat çözeltisi yerine,ayarlı civa nitrat çözeltisi kullanarak tayin etmiştir. Uygulamada prokain hidroklorür susuz sodyum karbonatla yakılmış,kül seyreltik nitrik asitte çözülmüş ve difenilkarbazit veya 2-nitroso-1-naftol endikatörü karşısında,ayarlı civa nitrat çözeltisiyle titre edilerek tayin edilmiştir.

Maddenin susuz ortamda titrasyonunda ; Deliyannis(1954) prokain hidroklorür ve tetrakaini,buzlu asetik asitte çözerek asetat tuzu haline geçirmiştir. Perklorik asitle titrasyonun mümkün olması için nötral süblime ilavesi ile bütün bazik gruplar açığa çıkarılır. Endikatör olarak metilviyole kullanılır.

4-Aminobenzoik asit esterleri,anilin ve diğer birçok madde diiso.propoksialuminyum hidroklorür endikatörü karşısında,

susuz ortamda(tercihan kloroform çözeltileri halinde) titrasyonla tayin edilmiştir (Tokar ve Simonyi,1958).

Espersen(1958) azot taşıyan maddeleri,sodyum tetrafenilboron ile reaksiyona sokup çöktürdükten sonra,ayarlı perklorik asitle susuz ortamda titrasyonla,ekivalan ağırlığı hesaplayarak tayin etmiştir.

Ayrıca ayarlı asetik aside,kristalviyole endikatörü karşısında,ayarlı perklorik asitle titrasyonla da tayin edilmiştir.Titrasyonun sonu potansiyometrik olarak gözlenmiştir (Murata ve Ochiai,1959).

Aynı şekilde,yalnız titrasyon sonunun gözlenmesinde potansiyometrik metod kullanmadan tayinine,Johnson ve Byers(1960)'ta çalışmıştır. Bu araştırmacılar diğer bir metodla tayinde,dimetilformamid solvanı ve timolmavisi endikatörü kullanarak ,ayarlı lityum metilat çözeltisiyle titre ederek,80.5 mg alınan maddeyi,80.9 mg bulmuşlardır.

Kristalviyole endikatörü kullanarak,titrasyonun tadil edilmiş şekli,Bican-Fister,Pavelic ve Merkas(1973) tarafından uygulanmıştır. Metotta,enjeksiyonluk ve oftalmik çözeltilerde,amin tuzlarının volumetrik tayininde,magnezyum oksid ekstraksiyon tekniği uygulanmıştır. Numune,magnezyum oksid-diyatome toprağı alkali karışımı ile karıştırılıp,kloroform ekstraksiyonu ile alınmış ve Johnson ve diğ.(1960) metodu uygulanmıştır.Neticeler Nord.P.(1963)metodu ile karşılaştırılmış,ayrıca Yugoslavya'da mevcut preparatların kontrolü yapılmıştır. Tatbikatta elde edilen neticeler metodun sıhhatli sonuçlar verdiğini göstermiştir.

Maddenin nitritometrik tayininde ; Vasiliev, Wermescher, Cosmin, Mangu ve Burnea(1958) prokain hidroklorür, benzokain ve 4-aminobenzoik asidin nitritometrik tayinine çalışmıştır. Metçda nitritlemenin potasyum bromür yanında, Tropeolin OO endikatörü karşısında yapılması önerilir. Deney oda sıcaklığında yapılır. Metçd nişasta-iyod kağıdı kullanılarak yapılan uygulamaya nazaran kesin, basit, emindir. Pomat veya toz tipi preparatlarda, numune seyreltik hidroklorik asidte çözüldükten sonra metoğ aynen uygulanarak madde tayin edilmiştir (Eremeeva, Porvikava, Petrova, Morunova ve Sivitskaya, 1960).

Aynı şekilde maddenin hidroklorik asid çözeltisi kullanılarak, ancak endikatör kullanmadan, titrasyon sonu potansiyometrik olarak elektrod endikatörle tayin edilmiştir (Dzottsoti, 1961).

Guseva(1963) yedi tıbbi karışımda, benzokain ve prokain hidroklorür'ün tayinini, nötralkırmızısı endikatörü karşısında 0.05M sodyum nitrit çözeltisi ile titrasyonla tayin etmiştir.

Vasiliev, Mangu, Cosmin ve Burnea(1964) kafur, ökaliptol, boraks, gliserin, su taşıyan prokain hidroklorür'lü pomatta direkt tayin metodu vermiştir. Uygulamada pomat, ayarlı potasyum bromür çözeltisi ve hidroklorik asid ile dijestiyona bırakılır, sıvı kısımlar aktarılarak alınır, birleştirilir ve Oranj IV veya metanilsarı endikatörü karşısında, ayarlı sodyum nitrit çözeltisi ile titrasyonla tayin edilir. Bu şartlarda diğer maddelerin tayine etkisi görülmemiştir. Metilenmavisinin endikatör olarak seçilmesi avantaj sağlamamıştır.

Benzer metotla A.L.V.(Anestezik Lokal Universal) ve prokain hidroklorür,potasyum sülfid,potasyum hidrojen sülfid,benzoik asid ve pH:5 tampon karışımı enjektabl çözeltinin titrimetrik tayini yapılmıştır. Ortamdan kükürt dioksidin uzaklaştırılması amacıyla,N hidroklorik asid ile numune çözeltisi kaynatılmış,soğuduktan sonra ayarlı potasyum bromür çözeltisi ve metanilsarısi endikatörü ilave edilerek 0.1M sodyum nitrit çözeltisi ile titrasyonla tayin edilmiştir (Beral,Ivan ve Stoicescu,1965).

Wisniewski ve Kindlik(1966) prokain hidroklorür ve hidrolizi neticesi meydana gelen 4-aminobenzoik asidin nitritometrik titrasyonunda,potansiyometrik-amperometrik metot uygulanmıştır. Titrant olarak 0.1N sodyum nitrit çözeltisi kullanılmıştır. Prokain hidroklorür tayini için önce 4-aminobenzoik asid,kloroform ekstraksiyonu ile ortamdan uzaklaştırılmıştır,metot %0.2 mcg hassasiyettedir.

Amin grubu taşıyan maddelerin,indirgen maddeler yanında,nitritometrik tayininde,indirgen madde,amonyaklı gümüş nitrat ile okside edilmiş ve amin grubu,arildiazodifenilamin endikatörü karşısında,ayarlı sodyum nitrit çözeltisi ile titre edilmiştir. Metot prokain hidroklorür ve prokainpenisiline uygulanmıştır (Vasiliev,Burnea,Mangu ve Cosmin,1969).

Yu-Mou-Ting(1959) prokain hidroklorür'ü diazo tuzu halinde volumetrik tayin etmiştir. Maddenin sulu çözeltisine hidroklorik asid,ayarlı potasyum bromür çözeltisi ilave edilip,15°C soğutulur ve ayarlı sodyum nitrit çözeltisi ile titre edilir.

Bitiş noktasında kağıt sarı renk gösterir. Metot diğerlerine oranla daha kısadır, yüzde hata oranı daha azdır ve kullanılan organik çözücü miktarı daha azdır.

Maddenin tadil edilmiş farmakope metodu ile benzer şekilde tayini Castoriano(1970) tarafından yapılmıştır.

Diazo reaksiyonu için kullanılan ayarlı sodyum nitrit çözeltisi fazlası, ayarlı potasyum permanganat çözeltisi ile geri titre edilerek, madde miktarı hesaplanmıştır.

Ellert ve diğ.(1957) bazı kompoze göz damlalarında, iyon değiştirici reçineden maddeleri ayırdıktan sonra, bilinen titrimetrik metotların uygulanması ile tayin etmiştir. Aynı şekilde tayin Vaisman ve diğ.(1957) tarafından da yapılmıştır.

Alwas ve diğ., (1958) ; Zöllner (1954) ve Vastagh ve diğ. (1950)'ın kullandığı bromometrik ve kolorimetrik metotların karşılaştırmasını yapmıştır. Fosfat tamponunun pH:7.4'te kullanılması ile daha iyi netice alındığı, konsantrasyon ve reaktifin ilavesinin önemli faktörler olduğu belirtilmiştir. Bu metodun bromometrik metoda oranla düşük değerler verdiği bildirilmiştir.

Radyometrik titrasyonla tayinde ; maddenin hidroklorür tuzu, bilinen hacimdeki derişik nitrik asit ile santrifüj tüpünde (neticede 0.7-0.8M nitrik asit çözeltisi olacak şekilde) karıştırılır. Ayarlı gümüş nitrat çözeltisi ilavesinden sonra çökelti santrifüj ve homojenize edilir, bilinen hacimdeki berrak çözelti "counter'a" aktarılır, sayımdan sonra tekrar test tübe aktarılır, tekrarlanır. Netice grafikten ekstrapolasyonla tayin edilir (Sirbu ve Bebesel, 1959).

Tokar ve Simonyi(1960) daha önceki çalışmasında Tokar ve diğ.(1958) tayin ettiği maddelere değişik metod uygulamıştır. Ayarlı kloraluminyumisopropoksit-hidroklorik asit kompleksi/ kloroform çözeltisi titrant olarak, etiloranj ve dimetilsarısi endikatör olarak kullanılmıştır. 20-150 mg aralığında, \pm % 1 hata ile neticeler bulunmuştur.

4-Aminobenzoik asit esterlerinin tayininde, kolorimetrik titrasyon uygulanmıştır. Numune çözeltisine, seyreltik nitrik asit ilave edilmiş, kaynar su banyosunda ısıtılmış, soğutulup, amonyak ve su ilave edilmiştir. Titrasyon sonu 395-415 nm'de absorpsiyon ölçülerek bulunmuştur. (Princep, 1965).

Vajgant ve Pastör(1966) birçok maddeyi ve prokain hidroklorür'ü buzlu asetik asitte osilometrik titrasyonla tayin etmiştir. Maddelerin 3×10^{-4} ekivalanda kullanılması ile iyi neticeler alınmıştır, az miktarda su ve asetik anhidridin bulunması neticeyi etkilememektedir. Metod piridoksin hidroklorür ve prokain hidroklorür'e uygulamada en iyi neticeyi vermiştir. Maksimum sapma \pm % 1 olarak tespit edilmiştir.

Lokal anesteziklerin konduktometrik titrasyonla tayini, Blagojevic, Hague ve Nikolic(1967) tarafından yapılmıştır. Titrant olarak 0.05N silikotungstik asit çözeltisi ve 0.05N sodyum hidroksit çözeltisi kullanılmıştır. Silikotungstik asit çözeltisi kongokırmızısı endikatörü karşısında, sodyum hidroksit çözeltisi trapeolin 00 endikatörü karşısında ayarlanmıştır.

Papp ve Pungor(1970) bazı ilaçların hidroklorür tuzlarını klorür seçici membran elektrod kullanarak tayin etmiştir.

Maddenin molekül ağırlığı, yapısı ve klorür iyonu aktivitesi ile neticeler arasındaki bağıntı araştırılmış ve tartışılmıştır.

Prokain hidroklorür, tetrakain, vb. maddelerin tayininde, alkali çözeltiden ekstraksiyon yapılmış ve kloroform ekstraktları alınıp, dimetilsarımsı endikatörü karşısında, 4-toluensülfonik asit, 3,4 diklorobenzensülfonik asit, 3,4 dimetil 6 hidrok-sisülfonik asit(I), 3,4 dimetil 6 klorobenzensülfonik asit, ve 2 kloro 3 nitrobenzensülfonik asit titrantları ile titrasyonla tayin edilmiştir. En iyi netice I titrantı ile alınmıştır (Zakrzewski, 1970 b).

3-İnterferometrik metot :

Bushkova, Shakh ve Kostinskaya(1970) prokain hidroklorür ve levomisetini interferometrik metotla tayin etmiş ; meto-dun farmasötik analizlere uygulanmasına çalışılmıştır.

4- Polarografik metod :

Burghardt, Jaeger ve Von Stackelberg(1968) lokal anesteziklerin polarografik tayininde, Britton-Robinson(pH:1.8-11.9) ve fosfat(pH:4.5-8.4) veya Mc Ilvaine(pH:2.2-8) tampon karışımı kullanılmıştır. Polarografik olarak inaktif-aktif bazik ester olan 4-aminobenzoik asid indirgenebilir uygunluk gösteren N-nitroso türevi halinde tayin edilebilir.

5- Kulometrik metotlar :

Kalinowski(1956) prokain hidroklorür'ün mikro tayinini, elektrik akımı ile meydana getirilen brom fazlasını, iki platin elektrodlu mikro ampermetre yardımı ile ölçerek, kulometrik olarak yapmıştır. Brom meydana getiren aletin şeması verilmiştir.

Aynı araştırmacı, prokain hidroklorür ve 4-aminobenzoik

asidi, kağıt elektroforezi ile ayırdıktan sonra su ile elüe ederek, kulometrik tayin etmiştir. Metotta %10 potasyum bromür çözeltisi ve %15 sülfürik asid elektrolit olarak kullanılmış, 7.65mA şiddette akım tatbik edilmiştir. Prokain hidroklorür için hata sınırı \pm %3 olarak hesaplanmıştır (Kalinowski ve diğ., 1958).

6- Fotonefelometrik metodlar :

Vonesch ve Guagnini(1952) prokain hidroklorür'ün tayinini 5-45mcg konsantrasyonlarda hassasiyetle, silikotungstik asid çözeltisi ilavesiyle meydana gelen bulanıklığın fotonefelometrik ölçülmesi ile yapmışlardır.

Bernsntein(1957) prokain hidroklorür, kinin, emetin ve atropin'in enjeksiyonluk çözeltilerinden tayininde nefelometrik metod uygulanmıştır. Alınan neticelerin sıhhati farmakope metodları ile kontrol edilmiştir.

7- Gaz kromatografik metodlar :

Dement'eva ve Kuleshova(1971) prokain hidroklorür'ü gaz-likit kromatografisi ile tayin etmiştir. Deneyler %3 neopen-til süksinat doldurulmuş çelik kolonda, 190°C'de yürütülmüş ve değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerde madde miktarı sap-tanmıştır. Aynı metodu Bluemer ve diğ.(1970)'te uygulamıştır.

8- Florometrik ve Fosforometrik metotlar :

4-Aminobenzoik asit ester tuzları, DANS klorür(5-dimetil-aminonaftalin-1-sülfonik asit klorür) ile birleştirilip, mey-dana gelen DANS-amidler ince tabaka kromatografisinde ayrıl-mıştır. DANS-amidlerin kromatografi yönüne yatay olarak flo-resans duyarlıklarının tabaka üzerinde ölçülmesi ile tayin yapılmıştır (Messerschmidt, 1971).

Madde kan serumundan tayin için önce kloroform veya eter-le ekstre edilir, solvan vakumda uçurulur ve bakiye eter-iso-pentan-etanol(5:5:2) karışımında çözülür, fosforesans şiddeti ölçülür (Winefordner ve Tin, 1965).

9- Spektrofotometrik metcđlar :

Prokain hidroklorür'ün çeşitli farmasötik preparatlarından direkt spektrofotometrik tayininde, numune çözeltisi uygun konsantrasyona seyreltildikten sonra, 290 nm'de absorpsiyonu ölçülerek standart eğriden tayin edilmiştir. Bu yöntemle tayinde: Fine(1949); St. John'un(1943) prokain penisilinde prokain miktarını tayin metodunu, prokain hidroklorür çözeltilerine uygulamıştır.

Herken ve Kalow(1951) ise prokain hidroklorür'ün enzimatik hidrolizini, fosfat tamponu ile pH:8'e ayarladıktan sonra, aynı usulle ölçerek tetkik etmiştir. Sulu çözeltilerin stabilitesinin incelenmesinde de bu yöntem kullanılmış ve Biggs(1952)'de %0.002-0.00025 konsantrasyon aralığında Beer kanununa uygunluk gösterdiğini bildirmiştir.

Prokain hidroklorür, adrenalin, klorkrezol taşıyan ampullerde de metod uygulanmıştır. Bunun için 290nm'de maddelerin konsantrasyonuna göre maksimum absorpsiyonları tespit edilmiş ve diğer maddelerin maksimum absorpsiyon toplamları prokain hidroklorür'ünkinden küçük bulunduğundan tayin gerçekleştirilmiştir (Brealey ve Proctor, 1955).

Sakurai ve Miki(1957) prokain hidroklorür parenteral çözeltilerinin,periyodik değişimini ultraviyole absorpsiyonu ile tayin etmiştir. Parçalanma ürünlerinden dietilaminoetanol ultraviyole sahada herhangi bir absorpsiyon göstermemiştir. Prokain hidroklorür,sodyum asetat-asetik asid(pH:5.6) tamponunda, 290nm'de($E_{1cm}^{1\%}$:670) maksimum ve 241nm'de minimum absorpsiyon göstermektedir. Aynı şartlarda,4-aminobenzoik asid 266nm'de ($E_{1cm}^{1\%}$:1011) absorpsiyon vermektedir. Bu neticelere dayanılarak her üç maddenin birarada bulunduğu durumlarda,prokain hidroklorür/4-aminobenzoik asid oranı 1/99 ve 99/1 konsantrasyonlarında tutularak,266 ve 290nm'de absorpsiyonun ölçülmesi ile tayin mümkündür.

Prokain hidroklorür'ün hidroliz ürünleri yanında tayini aynı dalga boyunda(290nm) değişik uygulama ile Simon ve Shostenko(1965) tarafından yapılmıştır. Uygulamada sulu çözelti sodyum bikarbonat ile doyurulduktan sonra kloroform-iso.propanol(3:1) karışımı ile ekstre edilmiş ve organik solvan tabakası susuz sodyum sülfat üzerinden geçirilerek kurutulduktan sonra absorpsiyonun ölçülmesi ile tayin edilmiştir.

Moraga ve diğ.(1968) %2'lik prokain hidroklorür çözeltilerinin hızlandırılmış reaksiyonla stabilitesinin tetkikinde,aynı yöntemi uygulamışlardır. Ancak Sakurai ve diğ.(1957)'deki çalışmalarından farklı olarak dietilaminoetanol'ün absorpsiyonunu 271nm'de ölçmüşlerdir. Prokain hidroklorür'ün 290nm'de 1×10^{-4} - 20×10^{-4} konsantrasyon aralığında Beer kanununa uygunluk gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Gene 290nm'de absorpsiyonun ölçülmesi ile Feldmann, Mahler ve Koehler(1958)'de prokain hidroklorür'ü, propoksikain karışımlarından tayin etmişlerdir. Tayinde çözeltinin uygun konsantrasyonlara seyreltilmesinde 2N hidroklorik asid kullanılmış ve pH değerleri 0-6 arasında tutularak, 290nm'de okunan absorbanslarla grafik çizilmiştir. Çizilen grafikte eğrinin keskin iniş noktası pK_a değerinin hesabında kullanılmıştır.

Machek ve Lorentz(1962) ise kafein ve prokain hidroklorür bileşik ampullerde tayin yapmıştır. Prokain hidroklorür 290nm'de, kafein 273nm'de maksimum absorpsiyon göstermiştir. Her iki dalga boyunda da tayin yapılarak netice münakaşa edilmiştir. 1mcg/ml'de prokain hidroklorür taşıyan çözelti 273nm'de 49.1 ekstinksiyon, 290nm'de 67.2 ekstinksiyon vermiştir. Hesaplar neticesi +%1.08 hata ile prokain hidroklorür'ün tayin edilebileceği bulunmuştur.

Bonnard(1966) ise prokain hidroklorür ve birçok maddeyi tetrafenilborür bileşiği halinde çöktürüp, %20 potasyum klorür 0.4N hidroklorik asid çözeltisinde çözüp, süzdükten sonra 290 nm'de absorpsiyonunu ölçerek tayin etmiştir. Benzer şekilde Gautier, Renault ve Rabiant(1959) maddeyi tetrafenilborür bileşiği halinde çöktürdükten sonra metil siyanürde çözüp tayin etmiştir. Prokain hidroklorür, pilokarpin karışımından tayininde 292.5nm'de okunmuştur.

Pro, Nelson, Butler ve Mathers(1956) kokain, prokain hidroklorür ve tetrakaini, 0.03N sodyum hidroksid çözeltisi ile ısıtarak hidroliz ettikten sonra benzoik asid, 4-aminobenzoik asid

ve 4-butilaminobenzoik asid üzerinden tayin etmiştir. 4-Amino-benzoik asid 264nm'de absorpsiyonu ölçülerek tayin edilmiştir.

Prokain hidroklorür çözeltilerinin stabilitesinin incelenmesinde, numunenin ultraviyole absorpsiyonu pH:10'a tamponlanmış çözeltilerde, prokain hidroklorür için 265nm'de ve 4-amino-benzoik asid için 287nm'de ölçülerek tayin edilmiştir. (Alwas ve diğ.,1958).

Diğer bir araştırmada ise pilokarpin hidroklorür, borik asid ve prokain hidroklorür taşıyan göz damlalarında tayin için çözeltili uygun konsantrasyona seyreltildikten sonra 288nm'de absorpsiyonun ölçülmesi ile tayin edilmiştir. (Kagan ve Vaisman, 1969).

Maddenin enjeksiyonluk çözeltilerinin tayini, adrenalinin bulunmadığı durumlarda 0.1N hidroklorik asidte, 228nm'de absorpsiyon ölçülerek yapılmıştır. Metod prokain hidroklorür için 5-20 mcg/ml konsantrasyon aralığında Beer kanununa uygunluk gösterir (Gupta ve Ferguson, 1969).

Bir grup araştırmacı, çeşitli karışımlardan tayinde maddeyi ince tabaka kromatografisinde ayırdıktan sonra absorpsiyonu ölçmüşlerdir. Nakamura(1960) afyon alkaloidleri karışımından; Pozzo(1969) trankilizan, analjezik ve lokal anestezik karışımlarından kromatografik yolla ayırdıktan sonra tayin etmişlerdir. Metotta prokain hidroklorür ince tabakadan 0.1N hidroklorik asid ile tüketilip santrifüj edilmiş ve berrak çözeltinin absorpsiyonu 280nm'de ölçülerek tayin edilmiştir.

Foster ve diğ.(1961) ise maddeyi iyon değiştirici reçine-

den geçirerek ayırdıktan sonra spektrofotometrik olarak tayin etmiştir.

Foldes, Davis ve Plekss(1956) değişik amaçlı bir araştırmada lokal anesteziğe halojen süstitüsyonunun enzimatik hidroliz üzerindeki etkisini gözlemiştir. İnsan plazmasından direkt spektrofotometrik ölçme ile hidroliz derecesi tayin edilmiştir.

10- Kolorimetrik metodlar :

Prokain hidroklorür'ün, kolorimetrik yolla tayininde uygulanan en eski metodlar diazo reaksiyonuna dayananlardır. Prokain-diazo bileşiğine, değişik maddeler bağlanarak diazo-azo komponentinin, renk şiddeti ölçülerek tayin yapılmıştır. Bağlanan maddelere göre yapılan çalışmalar belli gruplarda toplanabilir.

Prokain-2.naftol, diazo-azo komponenti halinde çeşitli araştırmacılar tarafından tayin edilmiştir Hotz(1923) ; Lauffs (1927) ; Eissner(1930) ; Havinga(1941) ; Lapiere(1947) ve Steiger ve Kühni(1949).

Lapiere(1947) bu metodla tayini pomat ve tablet tipi preparatlara uygulamıştır. Maddenin preparattan ekstraksiyonundan sonra, asid ortamda sodyum nitrit çözeltisi ile diazo bileşiği

yapılmış ve alkali 2.naftol çözeltisi ile bağlanarak diazo-azo komponenti teşkil edilmiştir. Alkol ve su ile istenilen hacme getirilerek,Pulfrich fotometrede,S47 filtre ile ölçülerek tayin edilmiştir.

Prokain-tiyakol,diazo-azo komponenti halinde,Cheramy(1924) 1.naftilaminle bağlanarak,Jendrassik ve Falcsik-Szabo(1933); Oellsner(1952); 1.amido 8.naftol 3.6disülfonik asitle bağlanarak,Willstaedt(1934) tarafından tayin edilmiştir.

Prokain hidroklorür'ün-1.naftiletilediamin dihidroklorür, diazo-azo komponenti halinde tayininde,Kisch ve Strauss(1943); Bandelin ve Kemp(1946);Brodie,Lief ve Poet(1948);Ting,Coon ve Conway(1949);Fischbach,Welch ve King(1949);Riva ve diğ.(1957a); Biglino(1957) çalışmışlardır.

Biglino(1957)'de,Ting ve diğ.(1949) metodunu stabilitenin tetkikinde kullanmıştır. Numune çözeltisi asit ortamda,sodyum nitrit çözeltisi ile diazolanıp,amonyum sülfat çözeltisi ve 1.naftiletilediamin dihidroklorür çözeltisi ile bağlanarak meydana gelen diazo-azo komponenti alkali ortamda,kloroform ile ekstre edilmiştir. Kloroform fazının renk şiddeti 485nm'de okunarak tayin edilmiştir.

Riva veGatti (1957b)benzer şekilde,çözeltinin asidlendirilmesinde hidroklorik asid yerine,triklorasetik asid kullanarak ve son safhada kırmızı rengin şiddetini çözeltiden,Lumetron kolorimetrede,yeşil M550 filtre ile ölçerek tayin etmiştir.

Ayrıca,1.sülfametilaminonaftalen 8.sülfonik asid ile bağlanarak,Ovegaard(1945);Terp(1949);Terp(1950);Auerbach ve diğ.(1959) tarafından tayin edilmiştir.

Terp(1949) parçalanmış çözeltilerde, çözeltiliyi alkali yapıp, prokain hidroklorür'ü, 4-aminobenzoik asitten kloroform-iso propanol(3:1) karışımı ile ekstre ederek ayırdıktan sonra metodu uygulamıştır. Metod primer aminlerin, nitrit-hidroklorik asid ile diazolanmasına dayanır. Diazonyum bileşiğine, katımla meydana gelen rengin şiddeti 550nm'de ölçülmüştür. Aynı araştırmacı organ sıvılarından tayinde, metodu değiştirmeden uygulamıştır (Terp, 1950).

Prokain hidroklorür'ü-timol ile, diazo-azo komponenti halinde Soehring ve Pape(1949) organ sıvılarından tayin etmişlerdir. Asid ortamda sodyum nitrit çözeltisi ile diazolanmadan sonra, alkali ortamda, alkolik timol ile katım yapılmış ve renk şiddeti S53 filtre ile ölçülmüştür. Metod sulu çözeltiler için %0.46, plazma için %0.9, idrar için %6.5 doğrulukta netice vermiştir.

Wagner(1953)'te kağıt kromatografisi ile ayırdıktan sonra, metanol ile elüe edip, metodu aynen uygulamış ve S50;S47 filtreler ile absorpsiyonu ölçerek tayin etmiştir.

4-Aminobenzoik asid yanında tayinde de bu metod uygulanmıştır. Numune çözeltisi alkalilendirilip, kloroform ile elüsyondan sonra diazolanmış ve timol ile diazo-azo komponenti halinde tayin edilmiştir (Richter, 1954).

Aynı araştırmacı daha sonra ekstraksiyon öncesi alkalilendirmede sekonder sodyum fosfat kullanarak metodu tadil ederek uygulamıştır (Richter, 1957).

Aynı şekilde Zöllner ve Vastagh(1957) diazolanabilen amin-

lerin tayininde,Krynskaya(1957) organ sıvılarından tayinde; Wollf ve Hühnerbein(1968)'de enjeksiyonluk çözeltilerinden 470nm'de ölçerek,0.5-2mg/100ml hassasiyetle tayin etmişlerdir.

Metodun esasını değiştirmeden,asid ortamda diazolayıp alkali ortamda katım yaparak tayine;hidroksikinolin sülfatla katım yaparak Krikova(1956),dimetil 1.naftilaminle Banfi ve Wilkinski(1964) çalışmışlardır.

Banfi ve diğ.(1964) organ sıvılarından tayin etmiştir.Kanı etanol-aseton(1:1) karışımı ile deproteinize ettikten sonra prokain hidroklorür alkali ortamda kloroform ile ekstre edilmiş,metod uygulanmıştır. Katımla meydana gelen renk şiddeti 530nm'de ölçülmüştür.

Ayrıca,Boltze ve Katzmann (1955) diazo-azo komponentlerinden,1.naftilamin,etil 1.naftilamin,2.naftilamin 5.7. disulfonik asid,1.naftilamin 3.8.disulfonik asid,1.naftilamin-4.sulfonik asid kullanarak tayin etmiştir. Ancak azo boyasında renk teşekkülünün yavaş olması ve renk şiddetinin yeterli olmayışı nedeniyle,bilhassa idrar,serumda tayinde tatminkar netice alınamamıştır. Bu nedenle bromkrezol yeşili ile meydana gelen rengin şiddeti ölçülmüş ve bu metodun daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Diğer bir araştırıcı,çözeltinin stabilitesinin tetkinde kağıt kromatografisi ile teşhisten sonra,sırası ile %10 sodyum nitrit çözeltisi,seyreltik hidroklorik asid,%25 üre çözeltisi ve Tsuda reaktifi tatbik etmiş,meydana gelen rengin şiddetini,Dubosq kolorimetrede ölçerek tayin etmiştir(Fukuzawa ve diğ,1956).

Diazo reaksiyonu dışında diğer birçok yöntemlerle de prokain hidroklorür kolorimetrik yolla tayin edilmiştir. Yamagishi(1951) prokain hidroklorür'ün 4-dimetilaminobenzaldehid ile verdiği renk reaksiyonunu, reaksiyonda absolü **alkol** ve kondansasyon ajanı olarak sülfürik **asid** kullanarak kolorimetrik tayin etmiştir. Ölçmelerde Pulfrich fotometrede, S47 filtre kullanılmış ve 40mcg/5ml konsantrasyonda, \pm %2 hassasiyetle tayin edilmiştir.

Bu metodun çeşitli farmasötik preparatlardan tayine uygulanması da yapılmıştır. Reaksiyon sonucu meydana gelen sarı rengin şiddeti mavi filtre ile ölçülmüştür. Metod prokain hidroklorür tayininde 10-80 mcg/ml aralığında uygulanmıştır (Unterman, ve Constantin, 1964).

Vonesch ve Guagnini(1950) 50 mcg/ml'de prokain hidroklorür taşıyan çözeltiye, sodyum 1.2 naftokinon 4.sülfonat ilavesiyle meydana gelen kırmızı rengin şiddetinin ölçülmesiyle tayin etmiştir.

Benzer şekilde Barakat, Shehab ve El-Shabrawi(1959) pomat ve enjeksiyonluk çözeltilerde, prokain hidroklorür'ü 0.02-1mg hassasiyetle tayin etmiştir. Madde, sodyum 1.2 naftokinon 4.sülfonat çözeltisi ile verdiği rengin şiddetinden 20-1000mcg konsantrasyonlarda, Lumetron fotoelektrik kolorimetrede mavi-yeşil filtre ile 490nm'de ölçülerek tayin edilmiştir. Ayrıca reaktifle meydana gelen N.4.dietilaminoetilbenzoat 2.hidroksi 1.4.naftokinonimin'in sentezi yapılarak teşekkül eden maddenin yapısı ispatlanmıştır.

Aynı sene Feldmann(1959) 1.2naftokinon 4,sülfonik asid sodyum tuzu ile oluşan reaksiyonu bir seri anesteziik maddeye uygulamış ve netice olarak primer amin grubu taşıyan maddelerle reaksiyonun kantitatif yürüdüğünü ve meydana gelen rengin şiddetinin yüksek ve her zaman ölçülebilir olduğunu,sekonder ve tersiyer aminlerin reaksiyonu etkilemediğini bildirmiştir.

Wachsmuth,Denissen ve Koeckhoven(1959) prokain hidroklorür'ü,ftalilaldehid ile verdiği renk reaksiyonundan istifade ile tayin etmiştir. Metoda numuneye 0.05N hidroklorik asid, ftalilaldehid alkolik çözeltisi ilave edilir,10 dakika bekletilir,der hidroklorik asid ilavesinden sonra Beckmann DU spektrofotometrede 625nm'de ölçülerek tayin edilir. Aynı araştırmacı alkaloidleri ve prokain hidroklorür'ü hidrokamatları halinde tayin etmiştir. Numunenin sulu veya alkolik çözeltisine, %4 hidroksilaminin hidroklorik asid çözeltisi,N sodyum hidroklorik asid çözeltisi,N sülfürik asid ve %30 demir III klorür çözeltisi ilave edilir. Meydana gelen menekşe rengin şiddeti Bausch-Lomb kolorimetrede 500nm'de okunarak tayin edilir (Wachsmuth ve Koeckhoven,1959).

Benzer şekilde Tomasch ve Majer(1960) araştırmacı Hill (1947) metodunu tadil ve adapte ederek uygulamıştır. Uygulamada tayin edilecek esterin etanolik çözeltisi,%10'luk hidroksilamin hidroklorür'ün %80 etanoldeki çözeltisi ve peroksidsiz eterle çalkalayıp,20 dakika sonra seyreltik hidroklorik asid ve %10 demir III klorür-0.1N hidroklorik asidteki çözeltisi(1:3) karışımı ile muamele edilmiş ve sodyum klorür üze-

rinden süzülerek 520nm'de kolorimetrede ölçülmüştür.

Aynı şekilde hidroksamat halinde, FEK-M fotometrede yeşil filtre ile 540nm'de ölçülerek, (Zelikson, 1966); Beckman DU-2A spektrofotometrede 520nm'de ölçerek Salvesen ve Johnsgard (1966) tarafından tayin edilmiştir.

Galperina (1959) ise furfural ile meydana gelen kırmızı rengin ölçülmesine dayanan metod vermiştir. Numunenin sulu çözeltisine %2 furfural sulu çözeltisi ilave edilmiş ve 20 dakika sonra Dubosq kolorimetresinde ölçüm yapılmıştır.

Steiger ve Hippenmeyer (1949) prokain hidroklorür'ü sülfürik asidli ortamda amonyum raynekat ilavesiyle çöktürüp, meydana gelen çökeleği asetonda çözdükten sonra renk şiddetini ölçerek tayin etmiştir. Daha sonra Örténblad ve Jonsson (1951)'de hidroklorik asidli ortamda çöktürerek aynı metodu uygulamıştır.

Aynı metodla Bacco (1960) benzokain, prokain hidroklorür karışımlarını tayin etmiştir.

Luk'yanchikova ve Bernshtein (1960) prokain hidroklorür'ün hidroklorik asidli ortamda, alkolik vanilin çözeltisi ile verdiği renk reaksiyonuna dayanan metod uygulamıştır. Bu yolla 50 mcg/ml miktarda madde kalibrasyon eğrisi yardımı ile 2-3 dakika gibi kısa bir zamanda tayin edilebilmiştir.

Aynı araştırmacı, numuneye %2.5 alkolik vanilin çözeltisi ve %10 hidroklorik asid ilavesi ile azometin teşekkülüne bağlı sabit sarı rengin şiddetini mavi filtre ile okuyarak metodu uygulamıştır (Luk'yanchikova ve Bernshtein, 1964).

Feldmann ve Koehler (1960) tersiyer amin grubu taşımayan

lokal anestezikler yanında prokain hidroklorür'ü, cis. akonitik anhidritle verdiği rengin şiddetini ölçerek tayin etmiştir. Madenin çözeltilerden alınması için alkalilendirilip, toluen ile ekstrakte edilmiştir. Renk şiddeti Beckmann DU spektrofotometrede No.54 filtre ile 550nm'de ölçülmüştür.

Diğer bir araştırmacı da aynı reaksiyona dayanan metodu uygulamıştır. Numunenin toluendeki çözeltisine, cis. akonitik anhidritin asetik anhidritteki çözeltisi ilave edilir ve çözelti 45 dakika su banyosunda ısıtılır, karanlık bir yerde 15 dakika soğutulur, asetik anhidrit-toluene (2:8) karışımı ilave edilir, karıştırılır, 534nm'de absorbansı ölçülür. Sulu çözeltilerden tayin için çözelti amonyak ile alkalilendirilip, toluen ile ekstrakte edilir (Palumbo ve Sacca, 1962).

Bartos (1961) tersiyer aminlerin ve prokain hidroklorür'ün nitrometandaki çözeltisine, %5 fenil iso. siyanat'ın nitrometan çözeltisi ilave ederek su banyosunda ısıtmış ve 20-22°C'ye soğutulduktan sonra %10 piperazindiheksahidratın dimetilformamidteki çözeltisi ile karıştırmıştır. Birkaç saat dayanıklı olan portakal rengin şiddeti okunarak tayin yapılmıştır.

Hayashi, Unemoto ve Miyaki (1962) kolin için iyodla kolorimetrik metod vermiştir. Metodun uygulamasında kolin numunesi pH:5 asetat tamponu, 0.1M potasyum iyodür reaktifi ve %0.5 iyodetilendiklorür çözeltisi ile çalkalanır, santrifüj edilir, sulu faz atılır ve iyodetilendiklorür fazı 385nm'de kolorimetrede okunur. Metodun prokain hidroklorür'e uygulanmasının kolin ile aynı veya daha fazla hassasiyetle mümkün olduğu bildirilmiştir.

Prokain hidroklorür'ün kolorimetrik tayininde eosin ve iyodo eosin boya ları ile meydana gelen rengin şiddetinin ölçülmesine dayanan metod Toribio(1951) tarafından verilmiştir.

Bose,Kannan ve Ray(1961) pH:6.2'de prokain hidroklorür'ün bromkrezolyeşili ile meydana getirdiği komplekse dayanan metod verilmiştir. Meydana gelen kompleks kloroformla ekstre edilip, kloroform tabakasının renk şiddeti 420nm'de kloroform körü karşısında ölçülmüştür.

Aoki,Iwayama ve Yata(1962) organik bazların kolorimetrik tayininde,sülfonftalein boya ları ile meydana gelen maddelerin organik solvana çekilip renk şiddetinin ölçülmesine dayanan teknik uygulamışlardır. Metodta bazı değişiklikler yapılarak basit,emin ve pratik bir şekle sokulmuştur. Bu modifiye metodta organik baz sulu fazda bromkrezolyeşili ile reaksiyona sokulup,kloroformla ekstre edilmiş ve sarı renkli kloroform ekstraktı ayrılarak,triolanamin/etanol karışımı ilavesiyle renk maviye dönüştürülerek,630nm'de absorpsiyonu ölçülmüştür.

Pellerin,Gautier,Barat ve Demay(1963) katerner amonyum bileşiklerinin ve organik bazların seyreltik etanoldeki çözeltilerinin pH:4-6'da eriyokromsiyahı ile reaksiyonunda,kloroform ile ekstre edilebilen tuz meydana gelmektedir. Bu reaksiyondan faydalanılarak kloroform tabakasının renk şiddeti 510-20 nm'de ölçülerek tayin yapılmıştır.

Amin ve katerner amonyum bileşiklerinin asid boya tekniği ile tayininde,boyanın seçimi,uygun pH aralığı ve meydana gelen renkli bileşiğin organik solvana çekilmesinde etkin ve uygun

faktörler incelenmiştir. Bir grup madde için şartlar bulunmuş ve bulunan şartların farmasötik ve biyolojik analizlere tatbiki araştırılmıştır Woods, Cochin, Fornefeld, Mahon ve Seevers (1950) ; Thomis ve Kotionis(1957) ; Gupta(1973).

Gustavii ve Schill(1966) prokain hidroklorür'ü pH:6.5 tamponunda çözdükten sonra $5 \times 10^{-2} M$ pikrik asid/pH:6.5 tamponlu çözeltilisi ile karıştırıp, metilenklorür ilave edip 5 dakika çalkalamış ve santrifüj etmiştir. Organik faz ayrılarak tetrafenilamonyum hidroksid ilave edilmiş ve Zeiss PMQ II spektrofotometrede 375nm'de absorbanans ölçülerek tayin edilmiştir.

Değişik bir uygulama Altinkurt(1967) tarafından yapılmıştır. Deckers ve Mueller(1965) atropin tayin metodunu prokain hidroklorür için uygulamıştır. Metodta kromatogramlara Dragendorff reaktifi püskürtülerek lekeler tespit edilmiş, amonyak buharında renksizlendirilmiş ve kesilerek alınan lekeler üzerine pH:7.5 tamponu, bromtimolmavisi çözeltilisi ilave edilmiş sonra kloroform ile ekstre edilerek, ölçülmüştür. Aynı sene Hincal(1967) bu metodla tabletlerde prokain hidroklorür'ü tayin etmiştir.

Teodorescu, Creanga ve Zuchi(1967) prokain hidroklorür'ü çözeltilerinden 20-200 mcg/ml konsantrasyonda, %1'lik N.piridil piridinyum klorür hidroklorür çözeltilisi ve 2N hidroklorik asid ile muamele ederek, meydana gelen rengin şiddetini 480nm'de ölçerek tayin etmiştir. Renk 60 dakika dayanıklıdır.

Kudymov ve Kiseleva(1969) dikain, prokain hidroklorür ve novokainamid için dietiloksalat ve tiyobarbitürik asid ile

meydana gelen renkli bileşiklerin absorpsiyonunun ölçülmesine dayanan metod bildirilmektedir.

Gupta ve diğ.(1969) prokain hidroklorür-adrenalin enjektabl çözeltilerinde bromtimolmavisi-prokain tuzu teşkil edip, meydana gelen tuzu kloroform ile ekstre edip, 414nm'de ölçerek kolorimetrik tayin etmiştir. Beer kanununa uygunluk 5-20mcg/ml için geçerlidir.

Stewart ve Lotti(1970) bazı lokal anesteziklerin kolorimetrik tayininde primer aromatik aminlerle, 9.kloroakridin arasındaki renk reaksiyonunu uygulamıştır. Prokain hidroklorür sulu veya etanolik çözeltilisine 9.kloroakridin/tetrahidrofuran çözeltilisinden ilave edilir, %10'luk hidroklorik asid ile pH:4'e ayarlanır, çözeltili çalkalanır, oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir ve istenilen hacme alkolle getirilerek Beckmann DU spektrofotometrede 435nm'de absorbans ölçülerek tayin edilir.

Prokain hidroklorür kolorimetrik teknikle, metiloranj sulu çözeltilisi ile meydana gelen sarı renkli komplekse dayanılarak tayin edilmiştir. 1/1 oranında teşekkül eden kompleks pH:6 fosfat tamponlu ortamda, kloroform ile ekstre edilerek absorpsiyon ölçülmüştür. Metod 4-14mcg miktarlarda Beer kanununa uyar, relatif hata %0.8 dir (Senov, Bubon ve Starostenko, 1972).

Tan ve Shelton(1974) prokain hidroklorür'ü, 4.dimetilsinnamealdehidin/absolü metanol-triklorasetik asid çözeltilisi ile reaksiyonda meydana gelen Schiff bazından tayin etmiştir. Renk şiddeti 547nm'de ölçülmüştür.

Nakamura(1960) kağıt kromatografisi ile ayırdığı, afyon alkaloidleri ve prokain hidroklorür'ü kolorimetrik tayin etmiştir

F- Farmakolojisi ve farmakokinetiği

İlk sentez edilen (Einhorn,1909) lokal anestezi olan prokain,hidroklorür tuzunun çözeltisi halinde kullanılır. Vucutta plazma kolin esterazları tarafından 4-aminobenzoik asid ve dietilaminoetanole **hidroliz** edilir.

Brodie ve diğ.(1948) prokain hidroklorür'ün insanda intravenöz tatbikten sonraki akıbetini bilinen tayin metodlarının tatbiki ile araştırmıştır. Prokain hidroklorür'ün invitro hidrolizi,kan dikkatle toplanana kadar sodyum arsenit ilavesiyle durdurulmuştur. İnsanda intravenöz enjeksiyondan sonra prokain metabolizmasındaki birinci basamak dietilaminoetanol ve 4-aminobenzoik aside hidroliz olarak görülmüştür. Hidroliz gayet hızlı ve büyük ölçüde plazmada meydana gelir. Dietilaminoetanol geniş kısımda daha fazla metabolize olmuştur,ancak transformasyonun tabiatı aydınlatılamamıştır.

Diğer bir araştırmacı,hayvanlarda intravenöz tatbikte prokain hidroklorür(1) ile dietilaminoetanol(2) arasında tesir bakımından benzerlik görmüştür. Hücrede 1'in hidrolizi 2'yi vermektedir,bu sebeple intravenöz tatbikte etkinin bir kısmı muhtemelen 2'den gelmektedir. Bu görüş subkutan tatbikler için geçerli olmamıştır (Hauschild,1950).

Gene intravenöz tatbikle tedavide,160 referansın ışığında prokain hidroklorür'ün,4-aminobenzoik asid ve dietilaminoetanol

halinde parçalanması ve onun dihydrosol'lerinden farkı araştırılmıştır (Unger,1953).

Bastide ve Dastugue(1953) bazı lokal anesteziklerin (prokain hidroklorür ve diğer 4-aminobenzoik asid esterlerinin) heliks pomatia sıvısı ve organlarla enzimatik hidrolizini araştırmıştır. Çeşitli hayvan ekstraktlarında (salyangoz kan ve lenfinden, hazım cihazından mahrum hayvanlarda vb.) prokain hidroklorür ve diğer esterlerin tatbikinde, serbest 4-aminobenzoik asid açığa çıkmıştır. Esteraz aktivitesi biraz yüksek bulunmuştur.

Nishiyama, Teshima, Nakashima ve Kawata(1954) insan plazmasında parçalanmayı gözlemiş ve prokain hidroklorür farmakolojik aktivitesinin, canlı insan plazması ile 37°C'de, pH:7.2-7.6 da 1-92 saat muamelesinde düştüğü görülmüştür. Plazma aktivitesi substrat konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. 4 ml dört defa seyreltilmiş insan plazması 20 mcg prokain hidroklorür'ü 10 dakikada hidroliz etmiştir. Aktivite eserin ile inhibe edilmiştir ve gastrik kanserli hastalarda, Rose Slightly hastalarda thyrotoxicosis ile daha az bulunmuştur.

Foldes ve diğ.(1956) prokain hidroklorür'ün insan plazmasındaki hidrolizini gözlemiştir. Bu hidrolizde moleküle halojen süstitüsyonunun etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. 4-Aminobenzoik asid ana yapısında orto pozisyonunda halojen süstitüsyonu genellikle hidrolizi arttırmaktadır.

Giuffre, Moricca, Cavaliere ve Massa(1963) prokain hidroklorür'ün hidroliz ile 4-aminobenzoik asid ve dietilaminoetanole

parçalanmasında, insan beyini homojenatlarının katalizör rol oynadığını göstermiştir. Hidrolizin başlangıçtaki hızı üzerinde pH'nın ve substrat konsantrasyonunun tesiri araştırılmıştır. Prokain esteraz aktivitesi için optimum pH:7.4 ve Michaelis sabiti 2.5×10^{-4} M bulunmuştur.

Livett ve Lee(1968) lokal anestezi esterlerin, kobay karaciğeri homojenatında hidrolizinin, benzoilkoline oranla fazla olduğunu bildirmiştir. Araştırmada cinsiyeti göz önüne alınmaksızın ergin kobaylar seçilerek kullanılmış ve kobay karaciğer homojenatlarında esterlerin hidrolizi, karaciğer homojenatlarının $3-5^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazasının ester hidrolizine etkisi fisostigmin, klorpromazin, kinkokainin kobay karaciğer homojenatındaki ester hidrolizine etkisi ve çeşitli organo fosforların kolin ve lokal anestezi esterlerin enzimatik hidrolizini inhibisyonunu incelemiştir.

Prokain değişik anestezi amaçlarla çeşitli konsantrasyonlarda kullanılır, şöyle ki :

<u>İlaç</u>	<u>Yüzeyel</u>	<u>İnfiltrasyon</u>	<u>Sinir bloku</u>	<u>Spinal</u>	<u>Zerke dileyen maksimum doz</u>
Prokain	----	0.25-1	1-2	5-10	500

"İnfiltrasyon anestezi de çözeltiye adrenalini ilave edilir.

Ayrıca, epidural ve kodal anestezi de genellikle %1'lik çözeltileri kullanılır. Prokain yüzeyel anestezi de kullanılmaz, bu şekilde tatbik edildiğinde etkisizdir. Bu kullanımların dışında, kalpte cerrahi müdahale sırasında veya ağrı ve kaşıntı (pruritis)'dan şikayet eden vak'alarda %0.5'lik çözelti halinde yavaş i.v. infüzyon şeklinde sistemik kullanılabilir.

Aslan(1974) prokain'in ilk uygulamasına 1949 senesinde başlamış ve yaşlanmaya bağlı belirtileri düzelttiğini veya gelişmesini önlediğini bildirmiştir. Üç grup üzerinde yürütülen çalışmada(1952) prokain grubu için ortalama yaş 72, Vit E grubu için 75 ve kontrol grubu için 73 olarak alınmıştır. Üç yıllık deneme neticesi prokain grubundan iyi netice alınmıştır. Onüç yıllık deneme sonunda ölüm oranı prokain grubu için %5.3 Vit E grubu için %10 ve kontrol için ayrılan grupta %16.5 olarak tespit edilmiştir. 1951'de prokain tatbiki bırakılmış ve GEROVİTAL H₃ (%2 prokain,%0.12 benzoik asid,%0.10 potasyum metabisülfid,%0.01 disodyum fosfat) tatbikine başlanmıştır.

Bu tatbiklerde alınan neticeler gayet olumlu olmuştur, ancak bu görüş birçok araştırmacı tarafından benimsenmemektedir. Kayaalp(1973) de bu görüşe katılmamaktadır.

Prokain vücutta çabuk parçalanması dolayısıyla,toksitesisi düşük iyi bir lokal anesteziiktir.

Farmakolojik yönden diğer tesirleri,genel lokal anesteziiklerin etkileri gibidir. Dolaşımında prokain konsantrasyonu yükseldiğinde,santral sinir sisteminde önce bir eksitasyon,buna bağlı olarak huzursuzluk,korku hali ve tremor meydana gelir. Tenbih şiddetli olursa tonik ve klonik konvülsiyonlar ortaya çıkar.Lokal anesteziikler eksitasyondan sonra depresyon meydana getirirler,solunum merkezi depresyonu ile ölüm meydana getirebilirler.

Lokal anesteziiklerin kardiyovasküler sistemde de etkileri vardır. Myokartta kontraktilite,eksitabilite ve iletim hızını

azaltırlar.

Lokal etkileri ile arteriolleri genişletirler ve tatbik edildikleri bölgede kan akımını arttıırırlar. Kalp üzerindeki etkileri ve damarlar üzerindeki generalize etki, ancak ilacın yüksek dozda tatbik edildiği ve fazla miktarda absorbe olduğu durumlarda meydana gelir. Ayrıca bulber vazomotor merkezi de deprese ederler. Lokal anestetiklerin etkisi altında hipotansiyon ve bradikardi (daha sonra taşikardi) gelişir. Nadiren mutad dozda verildiğinde, sinüs düğümü inhibisyonu veya ventrikül fibrilasyonu ile ölüme sebep olabılırlar.

Lokal anestetikler yüksek konsantrasyonlarda vücut sıvılarına geçtiklerinde, nöromüsküler kavşaklar ve otonom gangliyonlarda impuls aşırımını bloke ederek felç hali husule getirebilirler. Düz kaslı organların tonüs ve motilitesini yüksek dozlarda deprese ederler.

Bu ilaçlar hipersansibilite neticesi alerjik dermatitler, astma nöbeti ve nadiren fatal anafilaktik şok meydana getirebilirler.

Nadiren idiyosenkrazi gösteren kimselerde 10 mg prokain injeksiyonundan sonra direkt toksik etkiye bağlı ölüm görülmüştür.

Alerjik kimselerde cilt döküntülerine ve ender olarak fatal anafilaktik şoka sebep olduğu bildirilmiştir(Kayaalp,1973).

Criep, Pittsburgh ve Ribeiro(1953) prokain hidroklorür tatbikiyle meydana gelen üç ölüm vak'asını bildirmektedir. 1.vak'ada ölüm muhtemelen asfeksi sonucu meydana gelen akut bronko-

spazmdan olmuştur. Diğer iki vak'ada hastalar prokain hidroklorür'e karşı anında analeptik reaksiyonla ölmüşlerdir. (Hızlandırılmış serum tipi reaksiyon).

Ayrıca, prokain hidroklorür gibi ilaçların alerjik reaksiyonlarının sınıflandırılması ve muhtemel alerji reaksiyonu için ön testler geliştirilmiştir.

Değişik formülasyonların terapötik tesiri araştırılmış ve geliştirilen formüllerden prokain hidroklorür, N hidroklorik asid, disodyum hidrojenfosfat/potasyum dihidrojenfosfat, sodyum klorür, adrenalın karışımı iyi netice vermiştir. Bu formülde çözeltinin pH'sı 7.5'a ayarlanmış ve sodyum/potasyum oranı 70/1 tutularak iyi bir terapötik genişlik sağlanmıştır. Bu şartlarda 2000 olayda denemede iyi neticeler alındığı bildirilmiştir (Dalby ve Ellison, 1938).

Hughes ve diğ. (1957) önemli lokal anesteziğin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Pantokain ve prokain hidroklorür, 4-aminobenzoik asid türevi olmakla beraber pantokain'in belirli bir etkisi görülmüş ancak prokain hidroklorür için bir aktivite tespit edilmemiştir.

Sovdek ve Kovkalova (1962) ilaçların hücrede teşhisi ile yapıların incelenmesini fraksiyonel santrifügasyon ile ve ultraviyole mikroskopisi kullanarak yapmıştır. Araştırılacak ilaç fareye intraperitoneal yolla verilmiş, 20 dakika sonra fare öldürülmüş ve karaciğeri alınarak homojenize edildikten sonra nükleer ve mitokondriyal fraksiyonlarına ayrılarak deneyler yürütülmüştür.

Lokal anestezipler ile tiyamin pi elektron-donor akseptör kompleksleri (Eckert,1962) tarafından araştırılmıştır. Lokal anestezipl aktivite gösteren maddelerin tiyamin ile donor-akseptör kompleksi(pi elektron kompleksi) meydana getirdiği spektroskopik tesir mekanizmasındaki problemlere etkisi araştırılmıştır.

Prucha(1965) 50 hasta üzerinde(diğer 50 kişilik hasta grubu kontrol için seçilmiştir) çift kör testi uygulayarak, lokal anesteziplerin kullanılmadan önce pH'larının 3.4-3.6'dan pH:7'ye tamponlanması ile dissosiasyon, difüzyon ve penetrasyonlarının arttığını göstermiştir.

Picher ve diğ.(1960) antioksidan olarak bisülfid taşıyan enjeksiyonluk çözeltilerde teşekkül eden prokain-sulfonik asid türevinin zararsız, prokaine oranla çok daha az toksik ve inaktif olduğunu bildirmiştir.

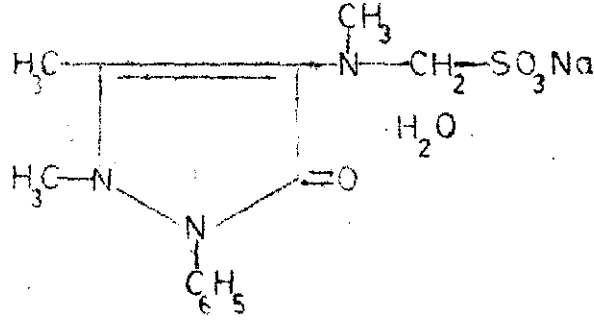
%2'lik prokain hidroklorür çözeltileri 0.05 mg adrenalini ile kombine edilip, stabilizan olarak potasyum metabisülfid ilavesinden sonra, sıçan ve farelerde yapılan deneylerle, çözeltilerin toksisitesi incelenmiştir. %2-4-6 prokain hidroklorür çözeltilerinin tatbikinde fare için LD 1.5 g/kg ve sıçan için 0.5 g/kg olarak bulunmuştur. Prokain hidroklorür ve prokain hidroklorür-adrenalini çözeltilerinin toksisitesi sterilizasyon ve saklama süresine bağılı olarak artmaktadır. Sodyum veya potasyum metabisülfidin ilavesi bu toksisiteyi arttırmıştır (Svrakov, Nikolov ve Kirov, 1971).

Varigin(1973) % 70 etanoldeki %33'lük prokain hidroklorür

çözeltisi kullanılmadan önce %0.25 konsantrasyona %0.9 sodyum klorür çözeltisi ile seyreltilmiştir. Bu dilüsyonda çözelti %0.5-0.6 etanol ihtiva eder. 107 hasta üzerinde yapılan klinik tecrübelerde, bu çözeltinin tatbikinde diğer ofisinal preparatlara oranla daha iyi anesteziik etki görülmüş ve daha az toksik olduğu sonucuna varılmıştır.

G- Sodyum novaminsülfonat'ın genel özellikleri ve kimyası

Sodyum novaminsülfonat birçok değişik isimlerle bilinmektedir. Örneğin: Novalgin ; Sodyum noramidopirinmetansülfonat ; Metamizol ; Sulpyrin ; Analgin ; Metilmelubrin ; Dipyron ; (2.3-dimetil-5-okso-1 fenil-3 pirazolin-4-il) metilaminometansülfonik asid sodyum tuzu . $C_{13} H_{16} N_3 Na O_4 S$



E.D.216-222°C

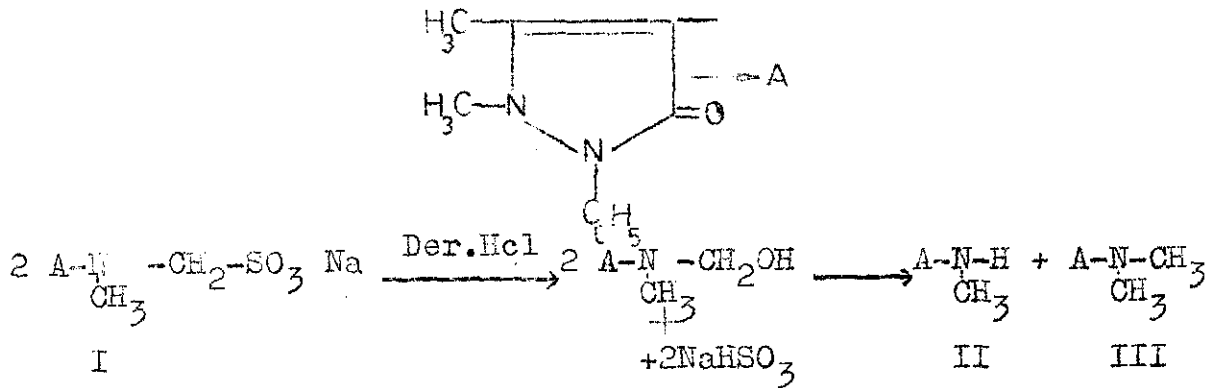
Avusturya, Batı Alman, Doğu Alman, İsviçre, Japon, Macaristan, Norveç, Polonya, Romanya, Rus Farmakopelerinde (Extra Pharm., Martindale, 1973) ve Türk Farmakopesi (1974)'te kayıtlı olan madenin 20 kadar değişik ofisinal ismi bulunmaktadır.

Sodyum novaminsülfonat, beyaz kristal veya toz halindedir. İlk suda, metanolde ve 60k %96 etanolde çözünür. Eter, kloroform, benzen, asetonda çözünmez. Sudaki çözeltileri turnusole karşı

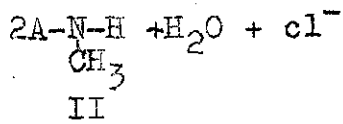
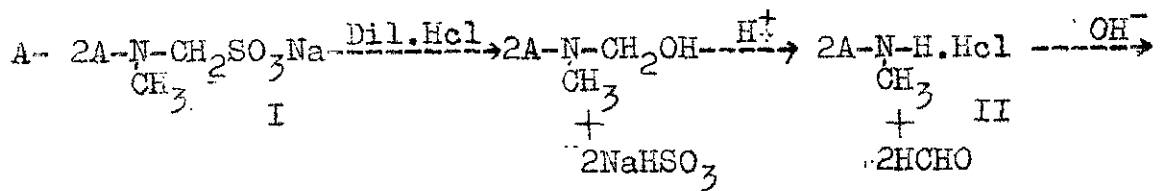
nötral reaksiyondadır.

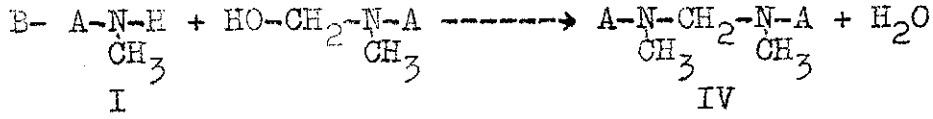
Takahashi, Okada ve Hori(1956)'ye göre sodyum novaminsülfonat(I) derişik hidroklorik asitle, 4-metilaminofenazon(II) ve 4-dimetilaminofenazon(III)'a ; dilüe hidroklorik asid ve alkalilerle 4-metilaminofenazon ile 4.4'-(metilenbismetilamino)fenazon(IV)'a dönüşür. Wagner(1956) bu görüşü desteklemektedir.

Denklem 1

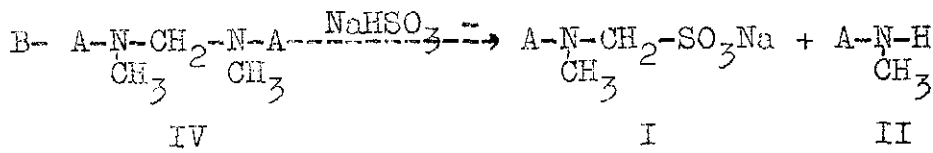
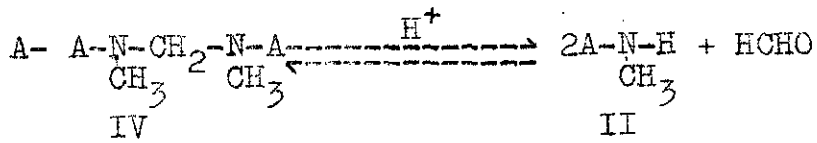


Denklem 2

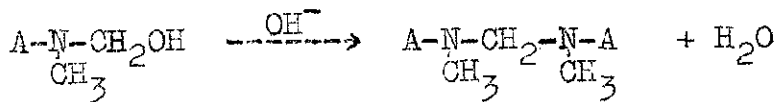
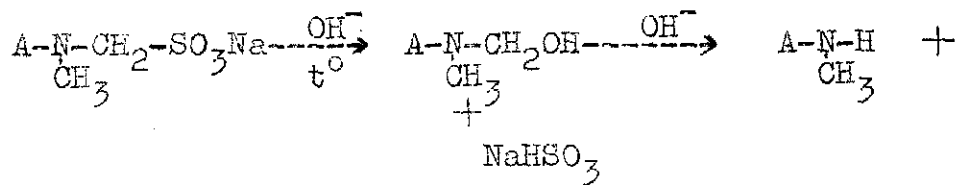




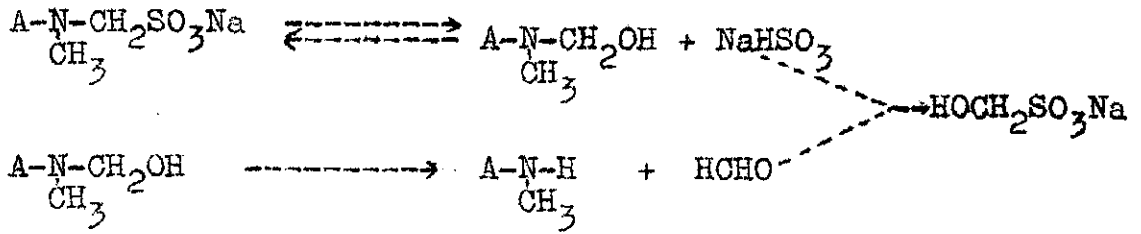
Denklem 3



Morita(1966) 4-metilaminofenazon ve 4.4'-(N.N' metilenbis-metilamino) difenazon'un asidlerle muamelede olduğu gibi N sod-
yum hidroksid etkisiyle de meydana geldiğini göstermiştir.



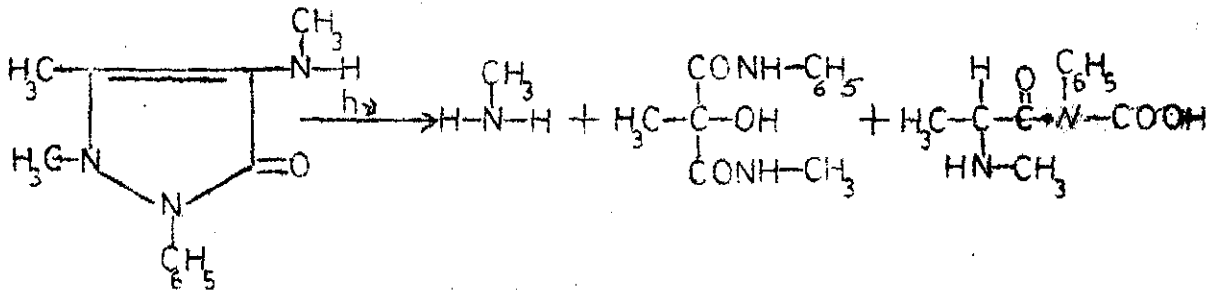
Ono, Onishi ve Kawamura(1966) sodyum novaminsülfonat'ın sulu çözeltide 4-metilaminofenazon ve sodyum hidroksimetan-sülfonata hidroliz olduğunu bildirmektedir.



Araştırmacı genel olarak 4-aminofenazon, 4-formilaminofenazon, iminobisfenazon ve 4.4'-(metilenbismetilamino)difenazon teşekkülünün normal şartlarda görülmediği görüşündedir.

Pechtold(1964)'ta bu görüşü desteklemekte ve hidrolizin kalitatif teşhisinin renk reaksiyonları ve çöktürme reaktifleri(pikrik asid) yardımıyla gerçekleştirilemeyeceğini söylemektedir.

Sodyum novaminsülfonat üzerine ışığın etkisi, 100 saat yüksek basınçlı cıva immersiyon ark lambası ile irradiasyonunda meydana gelen maddeler ve reaksiyonun yürüyüşü şematize edilerek gösterilmiştir (Reisch, 1967).



H- Sodyum novaminsülfonat'ın stabilitesi

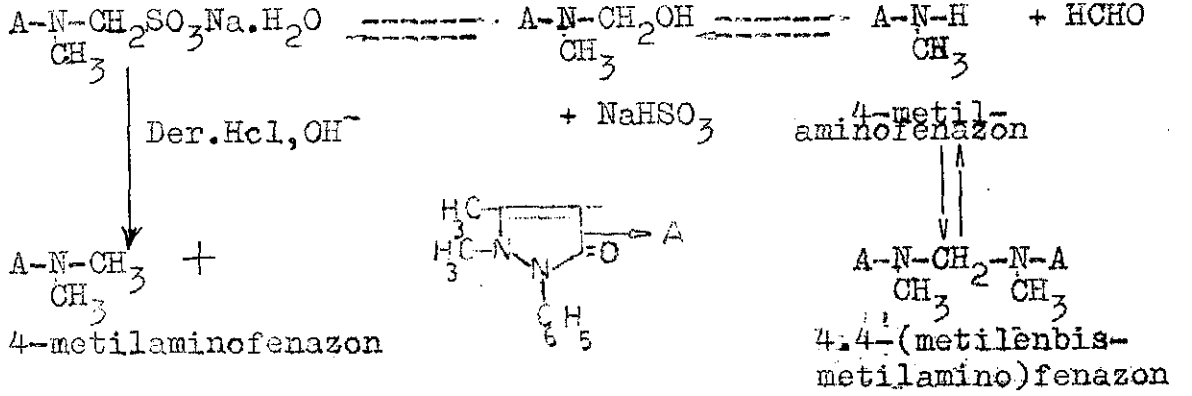
Sodyum novaminsülfonat çözeltilerinin stabilitesi üzerinde etken faktörler de genel stabilitede etkili faktörler(pH, ısı, ışık, oksijen, vb.) olarak görülmektedir. Burada bugüne değin yapılan çalışmalar, etkili olan faktörlere göre gruplandırılarak verilecektir.

Sodyum novaminsülfonat'ın bilinen parçalanması esas olarak hidrolizine dayanmaktadır. Pechtold(1964) sodyum novaminsülfonat'ın hidroliz derecesini, muhtelif pH'larda ve değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerinde incelemiştir. Hidroliz ürünleri pH:5.3'te bromkrezol purpur ile kantitatif olarak ekstr edilememiştir. Ayrıca Vegh, Szasz ve Kertesz(1961) tayin metodu ile iyi netice alınamamıştır.

Çalışmada hidroliz derecesi, hidroliz olmuş bileşiğin miktarının başlangıçta mevcut madde miktarına oranı şeklinde bildirilmiştir.

Sodyum novaminsülfonat'ın hidroliz ürünlerinin kantitatif tayininde spektrofotometrede ölçme ve kolondan elüe ettikten sonra absorbansın ölçülmesine dayanan metodlar kullanılmış, neticeler karşılaştırılmıştır.

Samejima ve Sugimoto(1966) çözeltilerin parçalanmasını formülle vermiştir.



Erbe(1965) çeşitli preparat tiplerinde(enjektabl çözelti, supozitivar, tablet) değişik antioksidanların (sitrik asid-etilendiamintetraasetik asid, butilhidroksianisol, butilhidroksitoluen) ilavesi ile stabilitesini incelemiştir. Bu şartlarda ışık etkisinde bırakılan preparatlarda sararmanın, sitrik asid-etilendiamintetraasetik asid koruyucusu ile 6 haftada, antioksidansız çözeltilerde ise 1 gecede görüldüğü bildirilmiştir.

Sodyum novaminsülfonat çözeltisinde pH'nın hidroliz derecesine etkisi Pechtold(1964) tarafından araştırılmıştır. %2'lik çözeltilerde, ışıktan korunarak 18 saat süre ile incelenmiş ve optimum pH:7.3-9 olarak saptanmıştır. Daha sonra Samejima ve diğ.(1966) stabilite üzerinde pH'nın etkisini, sabit sıcaklıkta(30°C), pH:3-10.5 arasında incelemiş, parçalanmadan kalan maddenin birkaç saat dayanıklı kaldığını ve bu sebeple reaksiyonun çift yönlü olduğunu düşünmüştür. Çalışmada denge halinde maksimum sodyum novaminsülfonat bakiyesi pH:6-9'da elde edilmekte ve stabilite ilk konsantrasyona bağlı olmaktadır. Nötr pH'larda ana parçalanma ürününün 4-metilaminofenazon olduğu ince tabaka kromatografisi ile tespit edilmiştir.

Sodyum novaminsülfonat'ın sulu çözeltilerinde meydana gelen parçalanma ürünlerinin (formaldehid, bisülfid ve metilaminofenazon) değişik ısı ve pH'lardaki denge sabiteleri tayin edilmiştir. Denge sabitinin tayininde C^{14} karbonlu sodyum novaminsülfonat'ın %1'lik çözeltileri muhtelif pH aralıklarına ayarlanmış ve ampullere doldurulup kapatıldıktan sonra 25-75°C aralığında değişik ısılarda ısıtılmıştır. Elektroforezle yapılan analizde, netice olarak C^{14} sodyum novaminsülfonat'ın asid pH'da dayanıksız, pH:7-8'de ise çok dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Coste ve Chanal, 1969).

Konsantrasyonun stabilite üzerindeki etkisi Pechtold (1964) tarafından incelenmiştir. Hidroliz derecesinin konsantrasyonla ilgisi pH:7.3'e ayarlanmış çözeltilerde 18 saat sonunda araştırılmış ve sonuç olarak hidroliz için optimum konsantrasyonun %50 olduğu bildirilmiştir.

Saklama süresinin etkisi, Pechtold (1964) tarafından, %10'luk sodyum novaminsülfonat çözeltilerinde, pH:6'da hazırlanan preparatta incelenmiştir. Neticede 120 dakika sonunda %8'inin hidroliz olduğu bildirilmiştir.

Benzer neticeyi Petrova ve Yankova (1969) 5 ay bekletilmiş %20'lik sodyum novaminsülfonat ampullerde görmüşlerdir. Ampuller kloroform ile ekstre edilmiş ve organik fazda ince tabaka kromatografisinde 3 leke tespit edilmiştir. Bunlardan ilk sarı leke rubazon asidindeki renk teşekkülüne benzetilmiştir. Ayrıca renk değişiminde rol oynayan kuvvetli polaritede bazı maddelerin de teşekkül ettiği düşünülmüş fakat bunlar ekstre

edilememiştir. Araştırmada ampullerdeki rubazon asidi teşekkülünün formüllerle izahı verilmiştir.

Işığın parçalanma üzerindeki etkisi Erbe(1965) tarafından incelenmiştir. Araştırmacı %5'lik çözeltinin renginin ışıkta 1 gecede limon sarısına döndüğünü, antioksidan olarak sitrik asid- etilendiamintetraasetik asid ilave edilen çözeltinin ise ışıkta saklandığında 6 hafta sonunda hafif sararma gösterdiğini bildirmiştir.

Dubash ve Moore(1972) sodyum novaminsülfonat'ın moleküler oksijen tesiri ile oksidatif parçalanmasını incelemiştir. Araştırmacı, otooksidasyonun sülfid grubu taşıyan diğer maddelere benzer şekilde yürüdüğü kanaatinde. Oksidasyon için yeterli oksijen sudan veya atmosfer oksijeninden temin edilebilir. Araştırmacıya göre otooksidasyon bazik ortamda, asid ortama oranla daha kolay meydana gelmektedir ve oksidasyon ısı ile bisülfid dissosiasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Sodyum novaminsülfonat preparatlarında moleküler oksijenin etkisini gözlemek amacı ile %3.5'lük çözeltiler iki tipte hazırlanmıştır. I.tip preparatlar kaynatılarak gazları uzaklaştırılmış, II.tipte ise azot gazı ile doyurulmuş suda çözülerek hazırlanmıştır. Her iki tip ampulde aynı şartta sterilize edilmiştir. 7 saat sonunda I.tipte %22.38 ; II.tipte ise %5.36 kayıp bulunmuştur. Ampullere inert gaz doldurmanın faydalı olduğu sonucuna varılmıştır.

Otooksidasyonun yürüyüşü hakkında Schroeter(1961)'de bilgi vermiştir.

Sodyum novaminsülfonat'ın tiyaminle birlikte bulunduğu durumlardaki stabilitesi Inazu ve Yamamoto(1966a) tarafından incelenmiştir. Bu durumda tiyaminin stabilizasyonu için preparatta urotropin gibi formaldehid verici maddelerin veya formaldehidin ilavesini tavsiye etmektedir. Bu görüş Samejima, Sugimoto ve Utsumi(1966 a)'nın görüşünü doğrulamaktadır.

Araştırmacılar daha sonraki çalışmalarında sodyum novaminsülfonat'ın parçalanma ürünlerinin tiyamin stabilitesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Reaksiyon pH:3-7 arasında maksimumdur ve deneyler parçalanmış maddenin bazik kısmı ile tiyamin'in yer değiştirdiğini, reaksiyon hızının bisülfid konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir(Inazu ve Yamamoto, 1966b).

Aynı sene diğer bir araştırmacı grubu da tiyamin'in, sodyum novaminsülfonat yanındaki stabilitesini incelemiştir. Çözeltiye sodyum novaminsülfonat'ın parçalanma ürünleri ilave edilerek tiyamin miktarları tayin edilmiş, reaksiyonun gidişi izlenmiştir. Neticede sodyum novaminsülfonat'ın katalitik parçalanması ile meydana gelen bisülfidin tiyaminin parçalanmasını katalize ettiği görüşüne varılmıştır(Samejima ve diğ., 1966 a).

İzgü(1967) sodyum novaminsülfonat'ın siyanokobalamin stabilitesi üzerine etkisi, pH, ısı ve konsantrasyon gibi çeşitli faktörler göz önünde tutularak incelenmiştir. Çalışmada sodyum novaminsülfonat konsantrasyonunun artmasının siyanokobalamin aktivite kaybı üzerinde etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Pellerin ve Letavernier(1973) sodyum novaminsülfonat sta-

bilitesini değişik şartlarda hazırladığı preparatlarda gaz kromatografisi ile incelemiştir. Preparatlardaki sodyum novaminsülfonat kaybı metilaminofenazon ve aminofenazon üzerinden bildirilmiştir. Araştırmada sulu çözeltilerde pH, oksijensiz su, sterilizasyon şartları ve ışık gibi faktörlerde optimal şartların temininde metilaminofenazon miktarının düşük olacağı düşünülmüştür. Bulunan neticeler Ono ve diğ. (1966) sodyum hid-roksimetansülfonatın tekrar birleşmesi üzerine olan görüşünü desteklemektedir.

I- Çalışmanın amacı

Çalışma piyasada bulunan ve tıbbi kullanımı olan prokain hidroklorür - sodyum novaminsülfonat kombine enjektabl çözeltilerinde sodyum novaminsülfonat'ın ve parçalanma ürünlerinin prokain hidroklorür ile etkileşme gösterip göstermediğini ve bu etkileşmenin derecesini araştırmayı amaçlanmaktadır.

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

II- MATERYELLER ve METODLAR

A- Materyeller

1-Kimyasal maddeler

- Aluminyum oksid GF₂₅₄ (E.Merck)
- Aluminyum oksid H (E.Merck)
- 4-Aminobenzoik asid (E.Merck)
- Amonyak (E.Merck,%25,d=0.91)
- Amonyum tiyosiyanat (Riedel)
- Asetik asid (E.Merck)
- Aseton (E.Merck)
- Benzen (E.Merck)
- Bizmut III nitrat (E.Merck)
- Buğday nişastası (Piyale)
- Demir III klorür (Riedel)
- Dietylamin (Carlo-Erba)
- 4-Dimetilaminobenzaldehid (E.Merck)
- Dimetilformamid (Riedel)
- Dioksan (Riedel)
- Disodyum fosfat (E.Merck)
- Etanol (Tekel)
- Eter (E.Merck)
- Etil asetat (E.Merck)
- Etilendiamintetraasetik asid sodyum tuzu (E.Merck)

Etülmethylketon (E.Merck)
Formaldehid (E.Merck)
Fosforik asid (E.Merck)
Glikoz (E.Merck)
Gümüş nitrat (Taras)
Hidrojenperoksid (E.Merck)
Hidroklorik asid (E.Merck)
İyod (E.Merck)
Kloroform (Hoechst)
Kobalt II klorür (E.Merck)
Metanol (E.Merck)
Metanol (Atabay))
1-Naftol (E.Merck)
2-Naftol (E.Merck)
Ninhidrin (E.Merck)
4-Nitroanilin (E.Merck)
Petrol eter 40-50° (E.Merck)
Potasyum bikromat (E.Merck)
Potasyum heksasiyanoferrat III (E.Merck)
Potasyum hidroksid (E.Merck)
Potasyum iyodür (E.Merck)
Potasyum karbonat (E.Merck)
Potasyum klorür (E.Merck)
Potasyum permanganat (E.Merck)
Prokain hidroklorür (E.Merck)
1-Propanol (E.Merck)

2-Propanol (E.Merck)
Selüloz mikrokristalin (Camag)
Silikagel GF₂₅₄ (E.Merck)
Silikagel HF₂₅₄ (E.Merck)
Sitrik asid (E.Merck)
Sodyum hidroksid (E.Merck)
Sodyum formaldehidsülfoksilat (E.Merck)
Sodyum karbonat (Riedel)
Sodyum naftokinon 4 sülfonat (E.Merck)
Sodyum nitrit (Riedel)
Sodyum nitroprusyat (Riedel)
Sulfanilamid (Kansuk Ecza Deposu)
Sodyum novaminsülfonat (Hoechst)
Sülfürük asid (E.Merck)
Tiyüüre (E.Merck)
Toluen (E.Merck)
o-Toluidin (E.Merck)
Trietanolamin (Hoechst)
Vanilin (E.Merck)

2-Aletler

Cam filtre (Schott G₃)
Developman tankı (Camag 25250)
Enjektör (Hamilton 7005)
Etüv sirkülasyonlu (Elektro-Mag)
Sodyum hidroksid (E.Merck)

Gas dağıtım aygıtı (Schott D 1)

IR spektrofotometre (Perkin-Elmer, Mod:457; Unicam SP1100)

Kantitatif tatbik aleti (Shandon)

NIR spektrofotometre (Varian 60)

Membran filtre (Gelman GA-8)

Mass spektrofotometre (MS-301)

pH metre (Beckman-72)

Polarograf (Heath/Built, Mod: EUA-19-6)

Rotavapor (Buchi-R)

Santrifüj (Hettich Eba III)

Spektrofotometre (Bausch-Lomb, Spectronic 88)

Spektrofotometre (Unicam SP 1700)

Tatbik şablonu (Shandon)

Terazi (Mettler H 20)

Ultra-Viyole lamba (Camag 29200)

Yayıcı kromatografi için (Shandon-Unoplan)

B- Metodlar

1- Prokain hidroklorür ve prokain hidroklorür-sodyum novaminsülfonat enjeksiyonluk çözeltilerinin hazırlanması

Araştırma, piyasada bulunan ve tıbbi kullanımı olan prokain hidroklorür sodyum novaminsülfonat enjeksiyonluk çözeltilerinde, prokain hidroklorür stabilitesi üzerine sodyum novaminsülfonat'ın etkisini araştırmak amacıyla güttüğünden, denenecek enjeksiyonluk çözeltiler iki grupta hazırlanmıştır.

Birinci grup ampuller, kombine ampullerle mukayese amacı ile çeşitli değişken ve sabit faktörlere göre dallandırılarak prokain hidroklorür'le hazırlanmıştır.

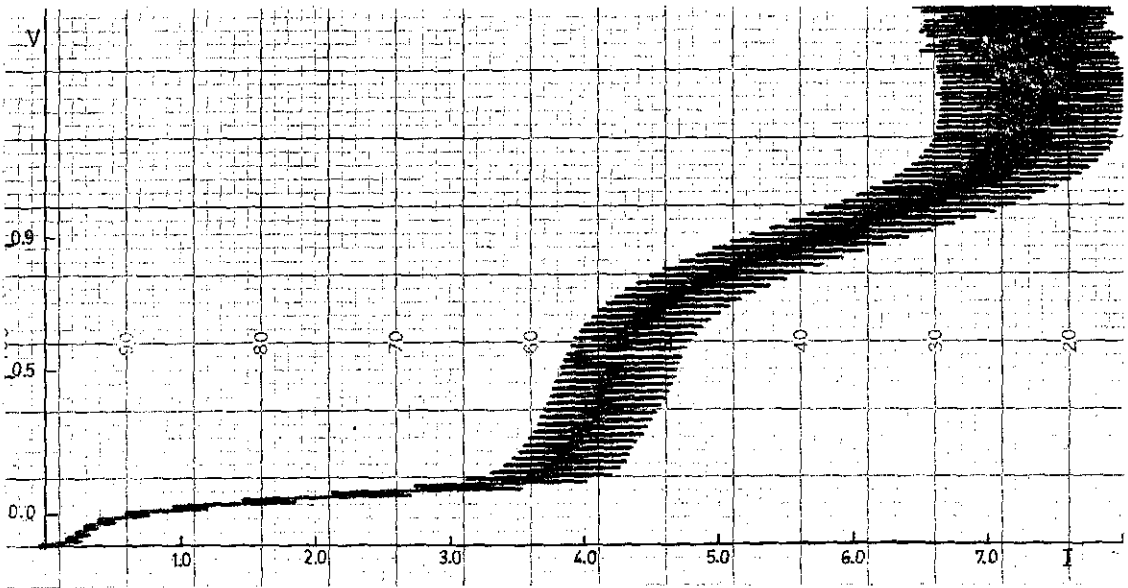
İkinci seri ampuller ise birinci seri ampullerle aynı şartlarda, prokain hidroklorür-sodyum novaminsülfonat kombine çözeltilisi halinde hazırlanmıştır.

Enjektabl çözeltilerin hazırlanmasında, stabilite yönünden etkin olan faktörler (çözücü, konsantrasyon, oksijen, ışık, sterilizasyon şartları vb.) göz önüne alınarak bu faktörlerden bir kısmı her preparat tipi için sabit tutulmuş (atmosferik oksijen, ışık, sterilizasyon ısısı) diğerleri de değiştirilerek uygulanmıştır.

Bütün serilerin hazırlanmasında çözücü olarak enjeksiyonluk su kullanılmıştır. Ancak bir seri ampulde,

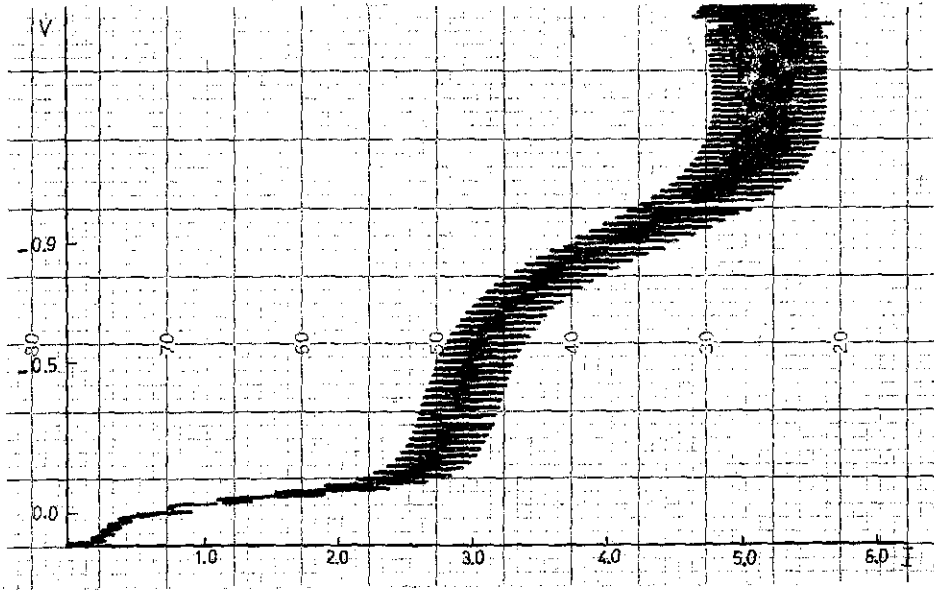
A- 30 dakika kaynatılmış soğutulmuş distile su, diğer serilerde ise,

B- 30 dakika kaynatılıp soğutulduktan sonra azot gazı geçirilerek çözülmüş moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su kullanılmıştır. Bu tip suyun hazırlanışında moleküler oksijenin minimuma indiği polarografik yöntemle saptanmıştır. Bunun için önce taze distillenmiş su alınmış ve 0.1 M potasyum klorür çözeltisi hazırlanarak polarogramı alınmıştır. 25°C'de suyun 0.03 g/l'te çözülmüş oksijen ihtiva ettiğine göre bu polarogramın bu değerdeki oksijenin varlığını ifade ettiği kabul edilmiş ve diğer polarogramların değerlendirilmesinde esas kabul edilmiştir (Polarogram I).



Polarogram I : Litrede 0.03 g oksijen bulunan (25°C) distile su ile çekilmiştir.

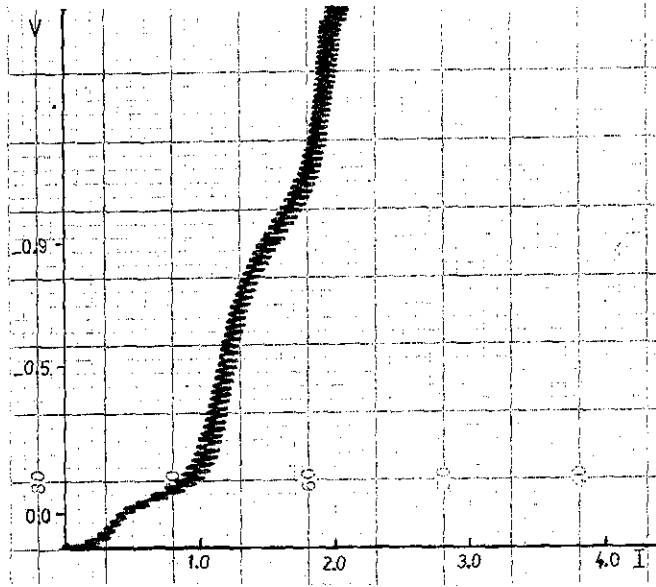
Daha sonra kaynatılmış (30 dak - 1 lt), soğutulmuş suya aynı işlem uygulanmıştır (Polarogram II). Buradaki oksijen miktarı birinci polarogram değeri yardımı ile 0.02 g/ lt olarak hesaplanmıştır.



Polarogram II: Kaynatılmış (30 dak) soğutulmuş suyla alınan polarogram.

Bundan sonra kaynatılmış (30 dak - 1 lt) soğutulmuş distile su ile bir seri 1'er lt'lik 0.1 M potasyum klorür çözeltisi hazırlanarak, 15 dakikalık aralarla gaz dağıtım aygıtı ile aynı miktar azot gazı serilerden geçirilerek her birinin polarogramı alınmıştır. Alınan polarogramlarda oksijen mikta-

rının 2 saat süre ile azot gazı geçirilmedi minimuma indiği (Polarogram III) ve bundan sonra değişmediği görüldüğünden, bu seri preparatların hazırlanmasında 2 saat süre ile azot gazı geçirilmek suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile suyun kullanılmasının amaca uygun olduğu kabul edilmiştir. (8×10^{-6} g/ml oksijen).



Polarogram III : 2 saat azot gazı ile doyurulduktan sonra alınan polarogram.

Madde konsantrasyonu bakımından prokain hidroklorür'le her iki tip su ile hazırlanan serilerde ve kombine serilerde üç

konsantrasyon (% 1.5-5-10)kullanılmıştır. Antioksidan taşıyanlarda ise,prokain hidroklorür için tek konsantrasyon (%10) kullanılmıştır. Kombine serilerin hepsi sodyum novaminsülfonat'ı tek konsantrasyonda(%50)içermektedir.

Koruyucu olarak ilave edilen maddelerden,sülfit,metabisülfit,pirosülfit'lerin literatürde prokain hidroklorür'le reaksiyon verdiği kayıtlı olduğundan bu grup maddeleri taşıyan seriler hazırlanmamıştır (Picher ve diğ.,1960 ; Przybilka,1962). Askorbik asidin ise literatürde sarı renklenmeye sebep olduğu belirtilmektedir(Denisov,1964),bu nedenlerle ilave edilen koruyucular tiyoüre(% 0.005 konsantrasyonda),sodyum formaldehid-sulfoksilat (%0.15 konsantrasyonda) ve disodyum edetat (% 0.075 konsantrasyonda) olarak seçilmiştir.

Genel açıklamalardan sonra hazırlanan preparatlar değişken ve sabit şartlara göre şu şekilde şematize edilmiştir.

A- Kaynatılıp (30 dak) soğutulmuş distile su ile hazırlananlar :

1- Prokain hidroklorür	1.5 g
Distile su	ad. 100 ml
2- Prokain hidroklorür	5 g
Distile su	ad. 100 ml
3- Prokain hidroklorür	10 g
Distile su	ad. 100 ml

4-	Prokain hidroklorür	1.5	g
	Sodyum novaminsülfonat	50	g
	Distile su	ad.	100 ml
5-	Prokain hidroklorür	5	g
	Sodyum novaminsülfonat	50	g
	Distile su	ad.	100 ml
6-	Prokain hidroklorür	10	g
	Sodyum novaminsülfonat	50	g
	Distile su	ad.	100 ml

B- Bu grup ampuller daha önce anlatıldığı şekilde moleküller oksijeni azot gazı geçirilmek suretiyle minimuma indirilmiş su kullanılarak hazırlanmıştır.

1-	Prokain hidroklorür	1.5	g
	Distile su	ad.	100 ml
2-	Prokain hidroklorür	5	g
	Distile su	ad.	100 ml
3-	Prokain hidroklorür	10	g
	Distile su	ad.	100 ml
4-	Prokain hidroklorür	1.5	g
	Sodyum novaminsülfonat	50	g
	Distile su	ad.	100 ml

- | | | | |
|-----|-------------------------------|-------|--------|
| 5- | Prokain hidroklorür | 5 | g |
| | Sodyum novaminsülfonat | 50 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 6- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Sodyum novaminsülfonat | 50 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 7- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Tiyüüre | 0.005 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 8- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Sodyum formaldehidsülfoksilat | 0.15 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 9- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Disodyum edetat | 0.075 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 10- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Sodyum novaminsülfonat | 50 | g |
| | Tiyüüre | 0.005 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |
| 11- | Prokain hidroklorür | 10 | g |
| | Sodyum novaminsülfonat | 50 | g |
| | Sodyum formaldehidsülfoksilat | 0.15 | g |
| | Distile su | ad. | 100 ml |

12- Prokain hidroklorür	10 g
Sodyum novaminsülfonat	50 g
Disodyum edetat	0.075 g
Distile su ad.	100 ml

Bütün seriler değişken faktörlerin dışında şu şekilde şematize edilen sabit şartlara göre dallandırılmıştır.

Serilerin hazırlanmasındaki sabit ve değişkenler

Işık	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
Atmosferik oksijen								
Sterilizasyon	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C

C- Bunun dışında sterilizasyonun etkisini araştırmak amacı ile steril filtrasyonla da bir seri hazırlanmıştır.

Bu tip çözeltilerde B serisinin hazırlanışında kullanılan su ile üç konsantrasyonda tek ve kombine çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin sterilizasyonu GELMAN GA-8 (0.2 µ) filtre bulunan özel adaptör takılmış steril enjektörden aseptik odada süzülerek yapılmıştır. Sabit değişkenlere göre dallandırma sterilizasyon faktörü hariç aynı şekilde uygulanmıştır.

1-	Prokain hidroklorür	1.5 g		
	Distile su	ad.	100	ml
2-	Prokain hidroklorür	5 g		
	Distile su	ad.	100	ml
3-	Prokain hidroklorür	10 g		
	Distile su	ad.	100	ml
4-	Prokain hidroklorür	1.5 g		
	Sodyum novaminsülfonat	50 g		
	Distile su	ad.	100	ml
5-	Prokain hidroklorür	5 g		
	Sodyum novaminsülfonat	50 g		
	Distile su	ad.	100	ml
6-	Prokain hidroklorür	10 g		
	Sodyum novaminsülfonat	50 g		
	Distile su	ad.	100	ml

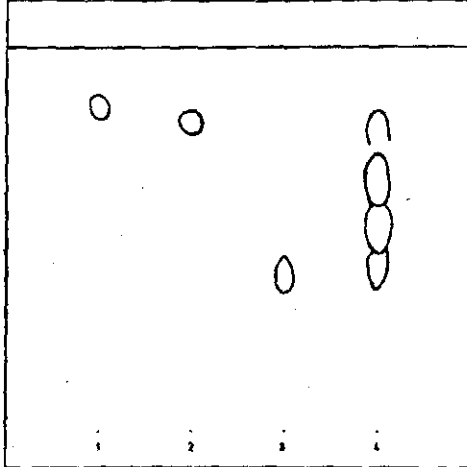
Bütün ampuller için çözelti a/h olarak belirtilen şartlarda hazırlanmış ve G₃ cam filtreden süzöldükten sonra daha önce yıkanıp (özel aygıtta) 170°C' de 1 saat süre ile kurutulmuş olan 1'er ml'lik ampullere doldurularak kapatılmış ve çeşitli deney şartlarına maruz bırakılmıştır.

2- Teşhis ve Tayin Metodları

a- Kromatografi sisteminin seçimi

Çalışmada bütün serilerde ana maddelerin, parçalanma ürünlerinin ve teşekkül eden maddelerin teşhisinde ince tabaka kromatografisi, zaman bakımından çabuk netice vermesi nedeni ile süre ve ışığa bağlı muhtemel değişimi önlemek amacıyla kağıt kromatografisine tercih edilmiş ve uygulanmıştır.

İnce tabaka kromatografisinin uygulanmasında önce adsorban, solvan sistemi, tabaka kalınlığı bakımından en uygun şartın bulunmasına çalışılmıştır. Öncelikle literatürde prokain hidroklorür için kayıtlı ince tabaka kromatografisi sistemleri denenmiştir. Bu sistemlerle (prokain hidroklorür yanında sodyum novaminsülfonat'ın ayırımı yapılamamış, bu ayırımın yapılması mümkün olmakla beraber kombine ampullerin miktar tayininde kullanıldığı dozda tatbikinde ayrılamamış vb.) netice alınamamıştır. Bu denemelere örnek olmak üzere değişik adsorbanlara ait kromatogramlardan birkaç tanesi verilecektir.



Kromatogram 1 : ① Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton. ② Kloroform - aseton - su - metanol. ③ Kloroform - aseton - su - metanol. ④ Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton - su - metanol.

Adsorban : Silikagel GF₂₅₄

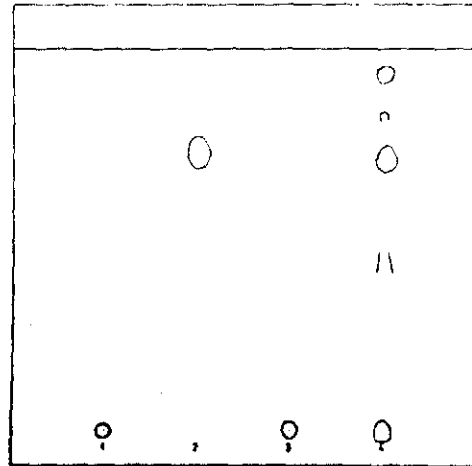
Solvan sistemi: Kloroform - aseton - su - metanol
(2:4:1:4)

Süre : 1 saat

Adsorban: Alüminyum oksid
(Tip E)

Solvan sistemi: Kloroform

Süre : 1 saat

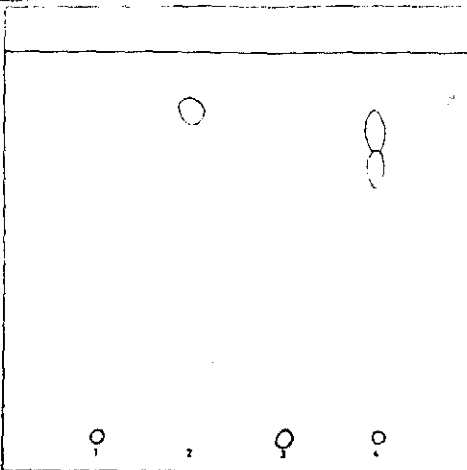


Kromatogram 2 : ① Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton. ② Kloroform - aseton - su - metanol. ③ Kloroform - aseton - su - metanol. ④ Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton - su - metanol.

Adsorban : Silikagel GF₂₅₄/0.1N
sodyum hidroksid

Solvan sistemi : Aseton

Süre: 55



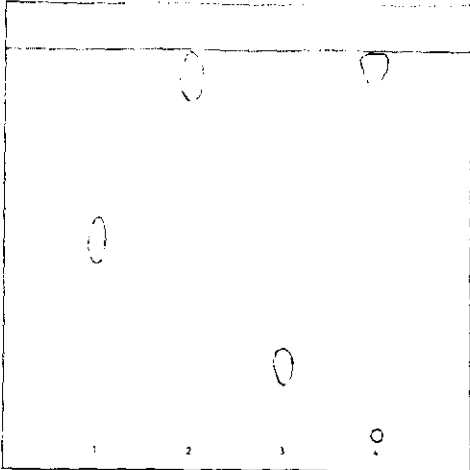
Kromatogram 3 : ① Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton. ② Kloroform - aseton - su - metanol. ③ Kloroform - aseton - su - metanol. ④ Sodyum Asetat/0.1N sodyum hidroksid/aseton - su - metanol.

Bu durumda çalışma literatürde kayıtlı olmayan sistemin seçimi için yönlendirilmiştir. Değişik adsorbanlarla 200 kadar solvan sistemi denenmiştir. Denenen sistemlerden birkaç örnek aşağıya çıkarılmıştır.

- 1- Etilmetilketon-dimetilformamid-dietilamin (50:0.1:0.1)
- 2- Benzen-etanol (90:10)
- 3- Kloroform-etanol-trietanolamin (50:0.5:0.1)
- 4- Etilmetilketon-trietanolamin (50:0.1)
- 5- Benzen-etanol-etilmetilketon (50:0.5:5)
- 6- Etilasetat-etanol (9:1)
- 7- Benzen-etanol-etilasetat-metanol (5:10:5:5)
- 8- Etilasetat-toluen-dietilamin-kloroform (9:1:1:1)
- 9- Etilasetat-toluen-dietilamin-etanol (9:1:1.5:1)
- 10- Etilasetat-% 27 amonyak-aseton (40:3:20)
- 11- Metanol-benzen-etanol-dietilamin (45:25:1:0.1)
- 12- Metanol-benzen-aseton (9:5:2)
- 13- Kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid
(47:5:1:2:3)
- 14- Etilasetat-butanol (amonyakla doymuş) (40:15)
- 15- Kloroform-n. propanol-etilmetilketon-dietilamin
(8:2:5:2)
- 16- Etilasetat-dioksan-amonyak (40:25:3)
- 17- Butanol-amonyak (100 : doyurulur)

Bu sistemler alüminyum oksid H, alüminyum oksid GF₂₅₄,

silikagel GF₂₅₄, silikagel GF₂₅₄ / tamponlanmış, alüminyum oksid - silikagel GF₂₅₄ (1/1) karışımı, sellüloz, nişasta vb. adsorban tabakalarında denenmiştir. Ayrıca bir seri sistem alüminyum oksid - silikagel GF₂₅₄ adsorbanlarıyla çift tabaka olarak kaplanmış plaklarda denenmiştir. Denenen sistemlerin bazılarında sodyum novaminsülfonat - prokain hidroklorür'ün ayırımı yapılmış ancak ampullerde netice alınamamış, bazılarında ayırım sağlanamamış, bazılarında ise teşekkül eden maddeler gözlenememiştir. Örnek olarak değişik adsorbanlar için birer kromatogram verilmiştir.

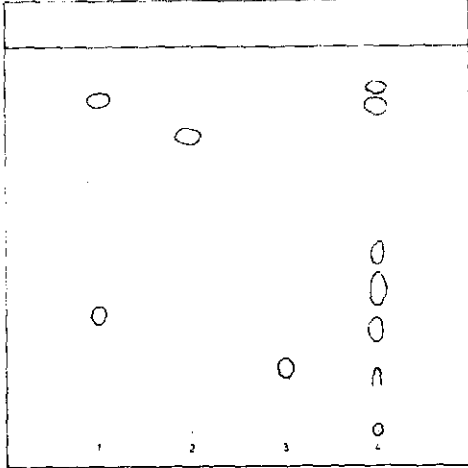


Kromatogram 4 : 1) Sodyum novaminsülfonat/göç, 2) Prokain hidroklorür/göç, 3) 4-aminobenzoik asit/göç, 4) Sodyum novaminsülfonat-prokain hidroklorür karışımı/göç.

Adsorban : Sellüloz mikrokristalin

Solvan sistemi : Etilasetat -
amonyak (50:0.5)

Süre : 20 dakika



Şemsiş 3 : ① Sodyum nitroksidifosfat/gö. ② Prekals nitroksidifosfat/gö. ③ 6-aminokaproatik asit/gö. ④ Sodyum nitroksidifosfat-prekals nitroksidifosfat karışımı gö.

Adsorban : Al_2O_3 -GF₂₅₄/Sil GF₂₅₄

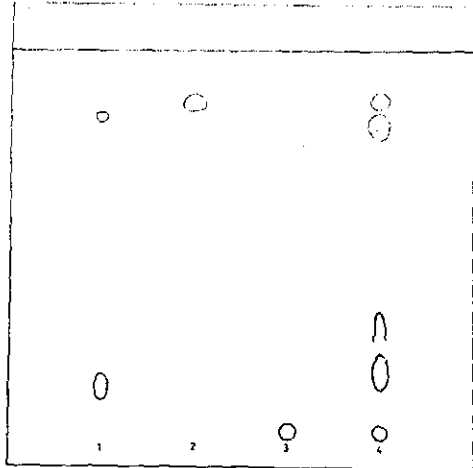
Solvan sistemi : Kloroform-metanol-etanol-dietilamin-benzen
(40:5:1:1:2)

Süre : 50 dakika

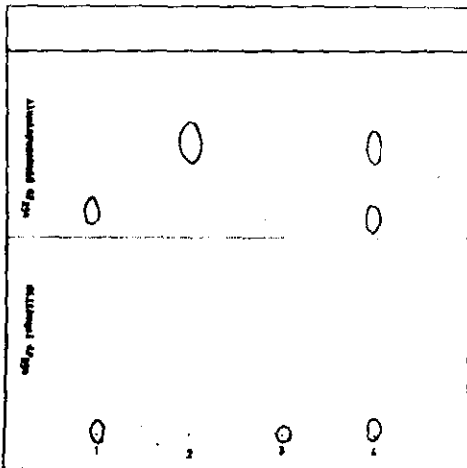
Adsorban: Al_2O_3 -GF₂₅₄/Sil GF₂₅₄

Solvan sistemi : Etilasetat-amonyak (50:0.5)

Süre : 1 saat



Şemsiş 4 : ① Sodyum nitroksidifosfat/gö. ② Prekals nitroksidifosfat/gö. ③ 6-aminokaproatik asit/gö. ④ Sodyum nitroksidifosfat-prekals nitroksidifosfat karışımı gö.

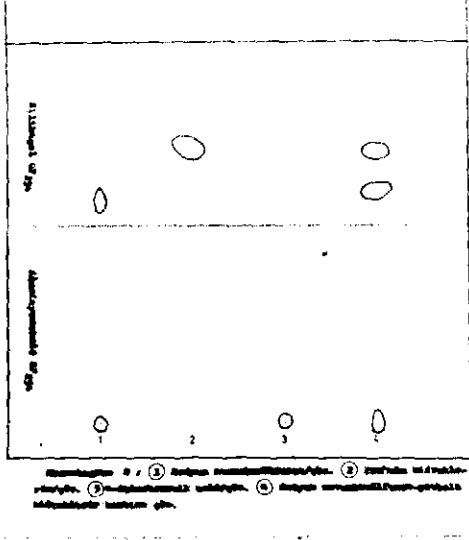


Şemsiş 7 : ① Sodyum nitroksidifosfat/gö. ② Prekals nitroksidifosfat/gö. ③ 6-aminokaproatik asit/gö. ④ Sodyum nitroksidifosfat-prekals nitroksidifosfat karışımı gö.

Adsorban : Sil GF₂₅₄ / Al_2O_3 -GF₂₅₄
(çift tabaka)

Solvan sistemi : Etilasetat-aseton-dietilamin-dimetilformamid
(80:50:6:3.5)

Süre : 55 dakika



Adsorban : Al_2O_3 GF₂₅₄/Sil GF₂₅₄
(çift tabaka)

Solvan sistemi : Etil asetat -
amonyak (80:6)

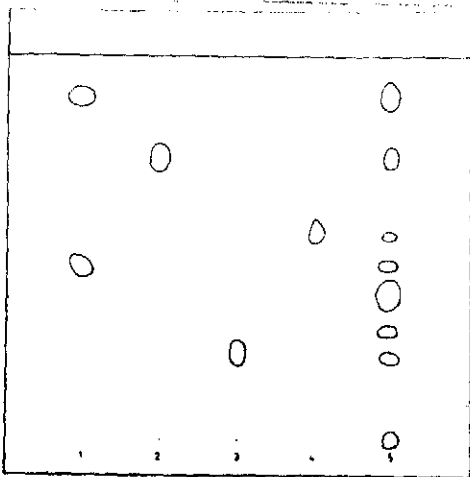
Süre : 40 dakika

Bütün kromatogramlarda maddelerin tatbikinde aynı sıra takib edilmiştir.

- 1- Sodyum novaminsülfonat % 1'lik metanolik çözeltisinden
0.5 ul.
- 2- Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisinden
0.5 ul.
- 3- 4.Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisinden
0.5 ul.
- 4- % 10Prokain hidroklorür - % 50 sodyum novaminsülfonat
çözeltileri 1/1 karışımından 0.4 ul.

4 no.lu tatbikkombine ampullerdeki durumu daha açık bir şekilde göstermek amacıyla yapılmıştır.

Yapılan bu denemelerden sonuç olarak en iyi netice Silikagel GF₂₅₄ adsorbanı ve kloroform - metanol - etanol - di-
etilamin - dimetil formamid - benzen (94:10:2:4:8:4) solvan
sistemi ile alınmış ve bütün teşhis, tayinlerde bu kromatog-
rafi sistemi kullanılmıştır. Bu arada kullanılan sistemin
inert olmaması nedeniyle herhangi bir parçalanmaya sebep ola-
bileceği düşünülmüş ve bu husus incelenmiştir. Bunun için
prokain hidroklorür'ün metanolik çözeltisi hazırlanarak tat-
bik edilmiş ve develope edildikten sonra lekeler tespit edil-
diğinde solvan sisteminin herhangi bir parçalanmaya sebep ol-
madığı sonucuna varılmıştır. Buna ait kromatogram verilmiş-
tir.



Şekil 1 - ① Sıvı çözeltisi, ② Sıvı çözeltisi, ③ Sıvı çözeltisi, ④ Sıvı çözeltisi, ⑤ Sıvı çözeltisi

Adsorban : Silikagel GF₂₅₄

Solvan sistemi : Kloroform -
metanol - benzen - etanol -
DEA - DMF (94:10:4:2:8:4)

Süre : 45 dakika

Katı madde miktarının yüksek oluşu nedeniyle adsorbanın kaplanmasında tabaka kalınlığı değiştirilerek (0.2 - 0.25 - 0.3 mm) denenmiş ve 0.3 mm kalınlığın ayırırda yeterli ve uygun sonuç verdiği görülmüş ve çalışmada bu kalınlık kullanılmıştır.

b - Reaktif seçimi ve çeşitli reaktiflerin hassasiyetinin tayini :

Reaktif seçiminde prokain hidroklorür ve sodyum novaminsülfonat ile renk veren ve vermesi muhtemel olan reaktifler hazırlanarak 0.25 - 50 mcg konsantrasyon aralığında numune çözeltileri Hamilton enjektörü ile tatbik edilerek, develope edilen plaklara püskürtülmüş ve her reaktifin hangi konsantrasyonda kullanılan kromatografi sisteminde, ana maddeler için hassas olduğu tespit edilmiş, bu değerler tablolanmıştır (Tablo 2).

Tabloda "+" işaretlenen durumlar reaktifin renk verdiği konsantrasyonu göstermektedir. Ayrıca tabloda reaktifle prokain hidroklorür ve sodyum novaminsülfonat'ın verdiği renklerde belirtilmiştir.

TABLO 2 : Reaktif hassasiyet tablosu

Reaktif No:	Prokain hidroklorür (mcg)						Sodyum novaminstülfonat (mcg)					
	0.1	0.25	0.50	1.00	2.5	5.00	0.1	0.25	0.5	1.00	2.5	5.00
1	Kırmızı - mor											
	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
2	Sarı zemin - Portakal											
	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3	Beyaz(pembe zemin)											
	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
4	Koyu sarı (beyaz zemin)						Sarı (beyaz zemin)					
	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
5												
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Yeşil-taba (navi zemin)						Yeşil (navi zemin)					
	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
7												
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Kahverengi (beyaz zemin)						Kahverengi (beyaz zemin)					
	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
9												
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Mor (beyaz zemin)											
	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
11	Sarı(beyaz zemin)											
	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

Reaktiflerin formülü ve hazırlanışı :

1- 0.5 g sodyum naftokinon -4- sülfonat, 95 ml suda çözülür ve 5 ml buzlu asetik asid ilave edilir. Çözünmeyen kısımlar süzülerek uzaklaştırılır. Lekeler 30' sonunda görülür (Smyth ve McKeown, 1964).

2- Dragendorff Munier ve Macheboeuf reaktifi

Çözelti A : 0.85 g bizmut III nitrat 10 ml buzlu asetik asid ve 40 ml suda çözülür.

Çözelti B : 8 g potasyum iyodür 20 ml suda çözülür.

Depo çözelti : A ve B çözeltilerininin eşit hacimleri karıştırılır. Karışım renkli şişede uzun süre saklanabilir.

Püskürtme çözeltisi : 1 ml depo çözelti 2 ml buzlu asetik asid ve 10 ml su ile kullanılmadan önce seyreltilir (Munier ve Macheboeuf, 1951).

3- Ninhidrin reaktifi :

Püskürtme çözeltisi A : 0.3 g ninhidrin 100 ml 1-butanol'de çözülür ve 3 ml buzlu asetik asid ilave edilir.

Püskürtme çözeltisi B : % 0.2'lik ninhidrin etanolik çözeltisi.

Uygulamada lekelerin şiddetle tespitine kadar 110°C' de ısıtılır (Fahmy, Niederwieser, Pataki ve Brenner, 1961).

4-Ehrlich reaktifi :

Püskürtme çözeltisi A : 1 g 4-dimetilaminobenzaldehid 25 ml % 37'lik hidroklorik asid ve 75 ml metanol karışımında çözülür.

tisi ilave edilerek, 15 ml su ile seyreltilir (Hofmann ve Wunsch, 1958).

11- Püskürtme çözeltisi A : Vanilin'in 2.propanoldeki % 2'lik çözeltisi

Püskürtme çözeltisi B : Potasyum hidroksid'in % 1'lik etanolik çözeltisi

Uygulama : A püskürtülür, 10 dakika 110°C'de ısıtılır, B püskürtülür aynı işlem tekrarlanır (Curzon ve Giltrow, 1953).

12- 1 g vanilin 100 ml % 97'lik sülfürik asidte çözülür. Uygulama : Kromatogram 120°C'de lekelerin renk şiddeti maksimum oluncaya kadar ısıtılır (Tyihak, Vagujfalvi ve Hagony, 1963).

13- Püskürtme çözeltisi : % 37'lik formaldehid çözeltisinin 1 ml ile % 97'lik sülfürik asidin 10 ml sinin karışımı (Kucharczyk, Fohl ve Vymetal, 1963).

14- Püskürtme çözeltisi A : 3 g sulfanilamid 200 ml suda çözülür. 6 ml % 36'lık hidroklorik asid ve 14 ml 1.butanol ilave edilir. Kullanılmadan önce 20 ml'ye 0.3 g sodyum nitrit ilave edilir.

Püskürtme çözeltisi B : % 10'luk sodyum karbonat sudaki çözeltisi

Uygulama : A püskürtüldükten 5-10 dakika sonra B püskürtülür. (Dyeing Reagents, 1971).

15- Püskürtme çözeltisi A : % 1'lik sodyum nitrit N hid-

roklorik asidteki çözeltisi.

Püskürtme çözeltisi B : % 0.2'lik 1.naftol N potasyum hidroksidteki çözeltisi.

Uygulama : A püskürtüldükten 1 dakika sonra B püskürtülür ve 60°C'de kurutulur (Clarke, 1969).

16- Püskürtme çözeltisi : % 0.1'lik 4.nitroanilin sudaki çözeltisininin 10 ml si % 0.2'lik sodyum nitrit sudaki çözeltisininin 10 ml si ile karıştırılır ve % 10'luk potasyum karbonat sudaki çözeltisinden 20 ml ilave edilir (Sturm ve Scheja, 1964).

17- 2.Naftol'ün 2N sodyum hidroksidteki % 4'lük çözeltisi. (Clarke, 1969)

18- Püskürtme çözeltisi : 0.16 g o.toluidin 30 ml buzlu asetik asidte çözülür, su ile 500 ml ye tamamlanır ve 1 g potasyum iyodür ilave edilir (Hashmi, Chugtai, Adil ve Qureshi, 1967).

19- Ultraviyole ışığı CAMAG uv.lamba ile sağlanmıştır.

20- Püskürtme çözeltisi : 0.1 M demir (III) klorür ve 0.1 M potasyum heksasiyanoferrat (III)'ün 1/1 oranındaki karışımı (Eble ve Brooker, 1962).

21- Demir (III) klorür çözeltisi sudaki % 5 lik çözeltisi (Hashmi ve diğ, 1967).

22- Püskürtme çözeltisi : 0.5 g potasyum permanganat 15 ml % 97'lik sülfirik asidte çözülür (Ertel ve Horner, 1962).

23- Püskürtme çözeltilisi : 1 ml doymuş gümüş nitrat çözeltisi 20 ml aseton ile karıştırılır. Çöken gümüş nitrat'ın tamamı çözününceye kadar damla damla su ilave edilir ve bu arada devamlı karıştırılır (Burke, Potter ve Parkhurst, 1960).

c- Adsorban tabakalarının hazırlanması :

6 adet 20 x 20 boyutunda plak için 30 g Silikagel GF₂₅₄ tartılıp 60 ml distile su ile 2 dakika kadar şiddetle çalkalandı. Sülfokromik karışıma batırılarak temizlenmiş ve distile su ile yıkanmış cam plaklar üzerine bir yayıcı aleti ile 0.3 mm kalınlıkta yayıldı, 30 dakika laboratuvar şartında bekletilip daha sonra sirkülasyonlu etüvde 120°C'de, kaplama kenarları üste gelecek şekilde raflı plak taşıyıcıya yerleştirilerek, 20 dakika tutularak aktive edildi ve 24 saat içinde kullanıldı.

Maddeler, plakların alt ucundan 2 cm kadar yukarsına tatbik şablonu yardımı ile Hamilton enjektörü kullanılarak tatbik edildi. Tatbik lekeleri kuruyuncaya kadar oda sıcaklığında tutuldu. Bu arada solvan sistemi hazırlanıp developman tankına konuldu ve doyması için 1 saat bekletildi. Solvan plakların tepesine 2 cm kalıncaya kadar (18 cm) developpe edildi. Çıkarılıp oda sıcaklığında kurutulup gerekli teşhis ve tayinler yapıldı.

3- Miktar tayini metodunun seçimi

Miktar tayini metodunun seçiminde spektrofotometrik metodun denenmesine gidilmemiştir. Prokain hidroklorür enjeksiyonluk çözeltilerinin yanında sodyum novaminsülfonat'lı kombine çözeltilerin bulunması ve her iki maddenin parçalanma ürünleri, ayrıca diğer teşekkül eden maddelerin ortamda bulunması nedeniyle bu kadar çok maddenin absorpsiyon sahasındaki etkileşimlerinin giderilemeyeceği veya çok sıhhatli neticeler elde edilemeyeceği düşünüldüğünden direkt spektrofotometrik uygulamaya gidilememiştir.

İnce tabaka kromatografisi ile ayırdıktan sonra elüe ederek spektrofotometrik ölçerek tayinde, uygulamada alınan neticeler tatminkar olmamıştır.

Bu nedenle spektrofotometrik ölçüm yapılması yerine ince tabaka kromatografisinde ayrılan maddenin elüsyon ortamında uygun bir reaktifle renkli bileşiği haline geçirilmesi ve sonra kolorimetrik ölçüm yapılması ile daha hassas netice alınacağı düşünülmüş ve denenmiştir.

Kolorimetrik metodun seçiminde de öncelikle literatürde prokain hidroklorür için kayıtlı olanlar denenmiştir. Ancak bu metodlardan diazo reaksiyonuna dayananlar işlemin uzun olması ve bu kadar işlemin hassasiyet üzerinde etkili olacağı düşünüülerek deneylerin dışında bırakılmıştır.

Literatürde kayıtlı metodlardan bir kısmı da kullanılan kimyasal maddelerin (cis - akonitik anhidrid, iyodetilendi-

klorür, vb.) temini mümkün olmadığından denenememiştir (Feldmann ve diğ. 1960; Hayashi ve diğ. 1962).

Temini mümkün olan maddelere ait metodların uygulanmasında ise başlıca iki nedenle istenilen neticenin alınması mümkün olmamıştır.

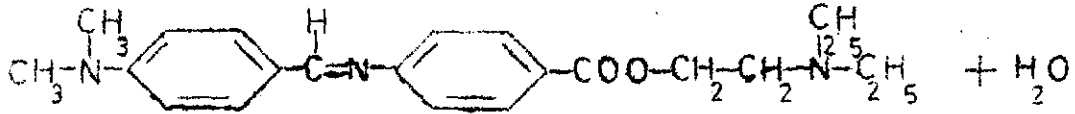
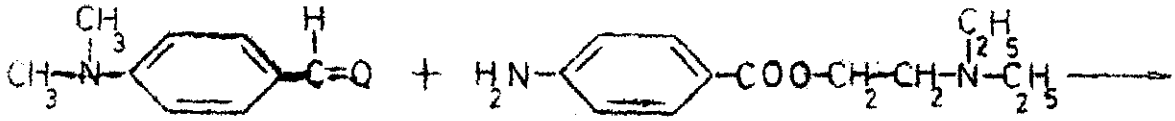
a- Hazırlanan serilerin % 1.5-10 gibi değişik konsantrasyon aralığı göstermesi nedeniyle metodun hassasiyet hududunun belli bir değerden (50 mcg/ul) büyük olması halinde şartlarımızda tatbik imkanı bulunamamıştır (Pellerin ve diğ. 1963; Salvesen, 1966; Bose ve diğ. 1961; vb.).

b- Denenmesi olanağı olan diğer grubun tatbikatında ise metodun Silikagel tabakalarına uygulanmasında boyanın adsorban tarafından ölçülebilir değerde adsorbe edilmesi nedeniyle netice alınamamıştır (Aoki ve diğ. 1962; Gupta ve diğ. 1969; vb.).

Bu arada 4-dimetilaminobenzaldehid'le reaksiyona dayanan ve Zabrak ve Farkas, 1971 tarafından fenazon grubu maddeler için uygulanan metodun prokain hidroklorür'e uygulanması yapıldı. Reaksiyon hassasiyet hududu uygun olduğundan ve tatbikte iyi netice alındığından bu metodun prokain hidroklorür tayini içinde tatbik edilebileceği sonucuna varıldı ve uygulandı.

Prokain hidroklorür, 4-dimetilaminobenzaldehid'le şu formüle göre reaksiyon vermektedir.

Formül 1 : Prokain hidroklorür - 4-dimetilaminobenzaldehid reaksiyon mekanizması :



Literatürde bu formüle uygun yürüyen reaksiyonun asid ortamda maddenin kantitatif tayinine uygulaması yapılmıştır (Unterman ve diğ. 1964; Yamagishi, 1951). Ancak bu iki uygulamayı tatbik imkanı bulunamadı, Yamagishi, 1951'in çalışmasının aslı Japonca olarak temin edilmiş okunamamış, diğer çalışmanın ise aslı temin edilememiş ve özetten gerekli bilgi alınamamıştır. Bu nedenle Zabrak ve diğ., 1971 metodu değiştirilerek tatbik edilmiştir.

Metodta enjeksiyonluk çözeltiden 1 ml (uygun konsantrasyonda) alınıp, 1 ml su ilave edilmiş, 4 ml metanol, 3 ml pH:4 tampon (Ph.Hung. VI, tamponu) ve 1 ml reaktif ilave edilip (1 g 4-dimetilaminobenzaldehid + 100 ml 96° etanol ve 10 ml der. hidroklorik asid) karıştırılıp 15 dakika rengin maksimum

şiddetine erişmesi için beklemiş ve 20-30 dakika sonra 420 nm. de ölçmüştür. Renk iki saat dayanıklıdır. Çalışmada bu metod ince tabaka kromatografisinde ayırmayı takiben değiştirile- rek uygulanmıştır.

4- Miktar tayini metodunda kurbun çizimi ve standard sapması :

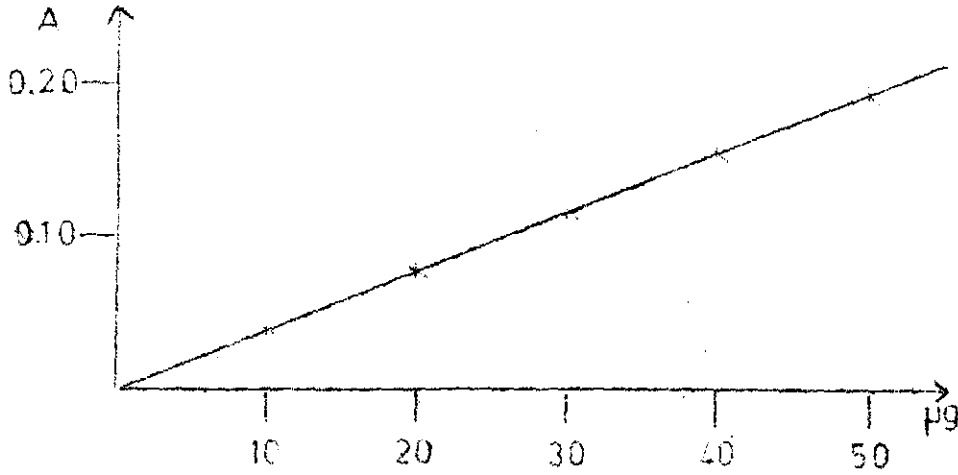
Daha önce hazırlanışı anlatılan Silikagel GF₂₅₄ ince ta- bakalarına (0.3 mm) Hamilton enjektörü (5 µl) ile tatbik şab- lonu üzerinde 3 cm aralıklarla 10-50 mcg miktarlarda prokain hidroklorür'ün susuz metanoldeki (a/h) çözeltisinden tatbik edildi. Kloroform - metanol - etanol - dietilamin - dimetil- formamid - benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sisteminde, 18 cm sürüklemeyi takiben kromatogramlar uv.'de tetkik edilerek le- keler tespit edildi ve lekenin merkezi ortada kalacak şekil- de 1.5 x 1.5 cm'lik kareler çizildi, işaretlenen Silikagel GF₂₅₄ tabakaları önce spatül daha sonra jilette kazınarak, ince, şeffaf, parlak kağıt üzerinde toplandı, leke ile aynı büyüklükte alınan maddesiz Silikagel tabakası boş tecrübe i- çin kullanıldı.

İnce kağıt üzerinde toplanan, madde bulunan Silikagel ta- bakası huni ile santrifüj tübüne aktarıldı, 1 ml distile su, 4 ml metanol ile huni yıkanarak, kalması muhtemel adsorban tübe alındı. Bunu takiben 3 ml "Mc. Ilvaine" pH:4 tamponu ilave edilerek çalkalandı. Daha sonra 1 ml reaktif (1 g 4-dimetil-

- "Mc. Ilvaine tamponu" (pH:4): 0.1M Sitrik asid çözeltisi 61.45 ml + 0.2M Disodyum fosfat çözeltisi ad 100 .

aminobenzaldehid + 100 ml 96°'lik etanol + 10 ml der.hidro-
klorik asid) ilave edildi, tekrar karıştırıldı. 15 dakika
5000 devirde santrifüj edildi. Berrak kısımlar aktarılarak
spektrofotometrede 420 nm.'de okunarak tayin edildi.

Bu metodla prokain hidroklorür'ün 10-50 µg konsantras-
yon aralığında standart eğrisini çizerken her konsantrasyon
için onar ölçme yapıldı. Bu ölçmelere ait standart sapma tab-
losu ve çizilen eğri verilmiştir (Grafik 1 ; Tablo 3).



Grafik 1 : Prokain hidroklorür'ün standart eğrisi

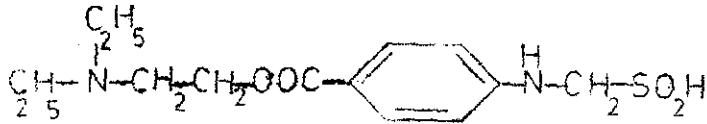
Metodun kesinlik derecesi : Metodun kesinlik derecesini standart sapma cinsinden ifade etmek alışıl gelmiş bir yoldur. Bu nedenle çalışmada standart kurbun çiziminde kullanılan beş konsantrasyon (10-50 mcg) için yapılan onar ölçmeden alınan sonuçların aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hataları hesaplanarak tablo lanmıştır.

Madde miktarı (mcg)	Deney sayısı	Aritmetik ortalama	Standart sapma \bar{s}	Standart hata \bar{h}
10	10	9.625	0.603	0.190
20	10	20.00	0.833	0.263
30	10	29.625	0.603	0.190
40	10	39.750	0.527	0.166
50	10	49.75	0.790	0.249

Tablo 3 : Prokain hidroklorür'ün 4-dimetilaminobenzaldehid ile kolorimetrik tayininde metodun kesinlik derecesi.

5- Teşekkül eden maddelerin sentezi

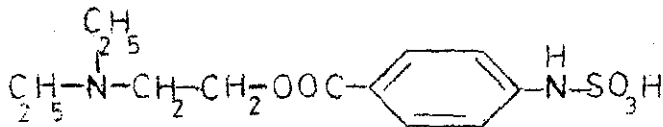
a- 4-(2-dietilaminoetoksikarbonil)anilinometilen-sülfinat



Bu maddenin sentezi Hardie, Williams, Halverstadt ve Johnson (1953) metoduna göre yapıldı. Bunun için 9 g (0.033 mol) proka-in hidroklorür, 5.3 g (0.034 mol) sodyum formaldehidsülfoksilat ve 100 ml iso.propanol yedi saat geri çeviren soğutucuda ısıtıldıktan sonra dekante edilerek çözücü ayrıldı. Ayrılan solvanda jelatinimsi bir kütle oluştu ve berrak kısımda 5°C'de 10 gün bekletme neticesi meydana gelen kristaller alındı.

Toplanan kristaller metanolde kristallendirilerek temizlendi.

b- 4-Aminobenzoik asidi(2-dietilaminoetil ester) N₁-sülfon asidi



Bu maddenin sentezi Picher ve diğ.(1960) metoduna göre yapıldı. Metoda göre ekimoleküler oranda prokain baz ve potasyum piro-sülfat ince toz edilerek su buharında 10 dakika karıştırılarak ergitildi ve bu ergime ürünü sıcak suda çözüldü. Çözme esnasında hızla düşen pH değeri soda çözeltisi ilave edilerek pH:7'de tutuldu,soğutuldu,alkalilendirildi.

Reaksiyona girmemiş prokain baz eter ekstraksiyonu ile ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra çözelti seyreltik sülfürik asid ile asidlendirildi.

Araştıracıya göre,asidlendirilen çözeltinin buzdolabında bekletilmesinde parlak renksiz kristaller oluşur. Bu kristaller emilerek ayrılır,soğuk su ile yıkanıp vakumda kurutulur.

Ancak metodun uygulanmasında buzdolabında oluşan kristallerin saflandırılması aynı usulle gerçekleştirilemedi. Bu arada araştıracınının 200 mg maddeyi göndermesi nedeni ile değişik yolla saflandırma da denenmedi.

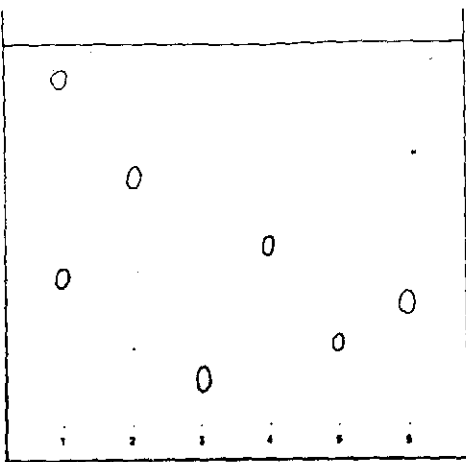
III- BULGULAR

A- Miktar tayini sonuçları ve

ince tabaka kromatografisinde gözlenen neticeler

Hazırlanan bütün serilerde 10 ve 180 gün bekletme sonunda ki prokain hidroklorür miktarı tayin edildi ve tablolandı. Tablodaki her değer üç ölçmenin ortalama değeri ve yüzde prokain hidroklorür kaybı olarak gösterildi.

Ayrıca bütün seriler 180 gün sonunda Silikagel GF₂₅₄ adsorbantı ve kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen(94:10:2:4:8:4) sisteminde developpe edilerek durum gözlemlendi ve her seri için miktar tayini tablosu ile birlikte kromatogram da verildi. Her kromatograma teşekkül eden maddeler şahid olarak konulduğundan aynı kromatografi sisteminde maddelerin tanıma için hepsini içeren örnek kromatogramın verilmesi uygun görüldü (Kromatogram 10). Maddeler,



- 1)Sodyum novaminsülfonat metanolik çöz.
- 2)Prokain hidroklorür metanolik çöz.
- 3)4-Aminobenzoik asid etanolik çöz.
- 4)2-Dietilaminoetanol
- 5)4-Aminobenzoik asid(2-dietilaminoetil ester)N₁sülfon asidi metanolik çöz.
- 6)4-(2-Dietilaminoetoksikarbonil)anilinometilen sülfinat metanolik çöz.

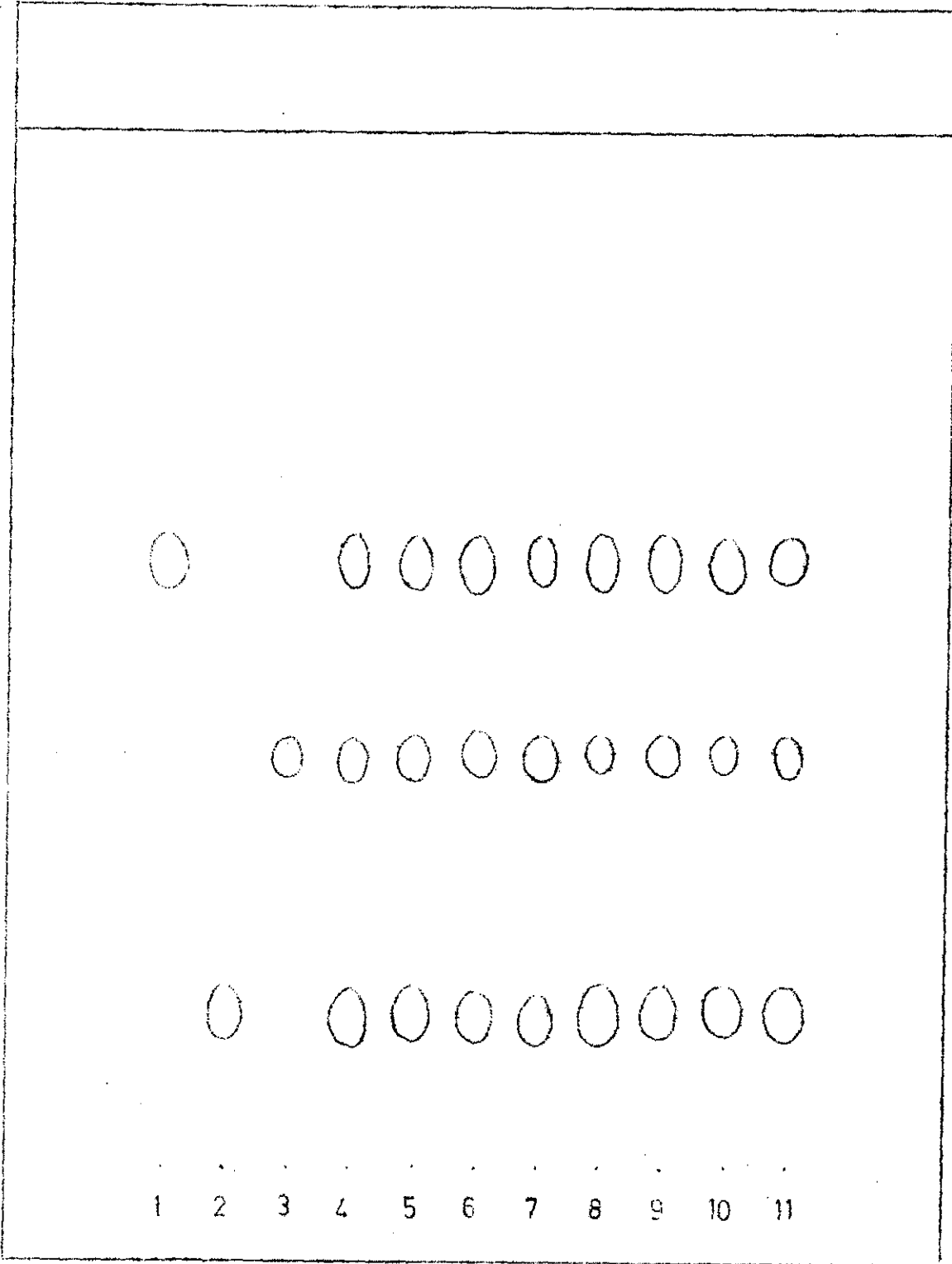
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	1.66	2.49	2.49	3.32	1.66	2.91	2.91	3.32
180	4.16 A	5.27 B	4.71 C	7.49 D	4.16 E	6.66 F	5.83 G	8.33 H

Tablo 4 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile % 1.5 konsantrasyonda (a/h) prokain hidroklorür taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-1 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (A-1) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yollarda gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol; 4) A-1 serisi "A" çözeltisi; 5) A-1 serisi "B" çözeltisi; 6) A-1 serisi "C" çözeltisi; 7) A-1 serisi "D" çözeltisi; 8) A-1 serisi "E" çözeltisi; 9) A-1 serisi "F" çözeltisi; 10) A-1 serisi "G" çözeltisi; 11) A-1 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 11 : A-1 serisi çözeltilerin, Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

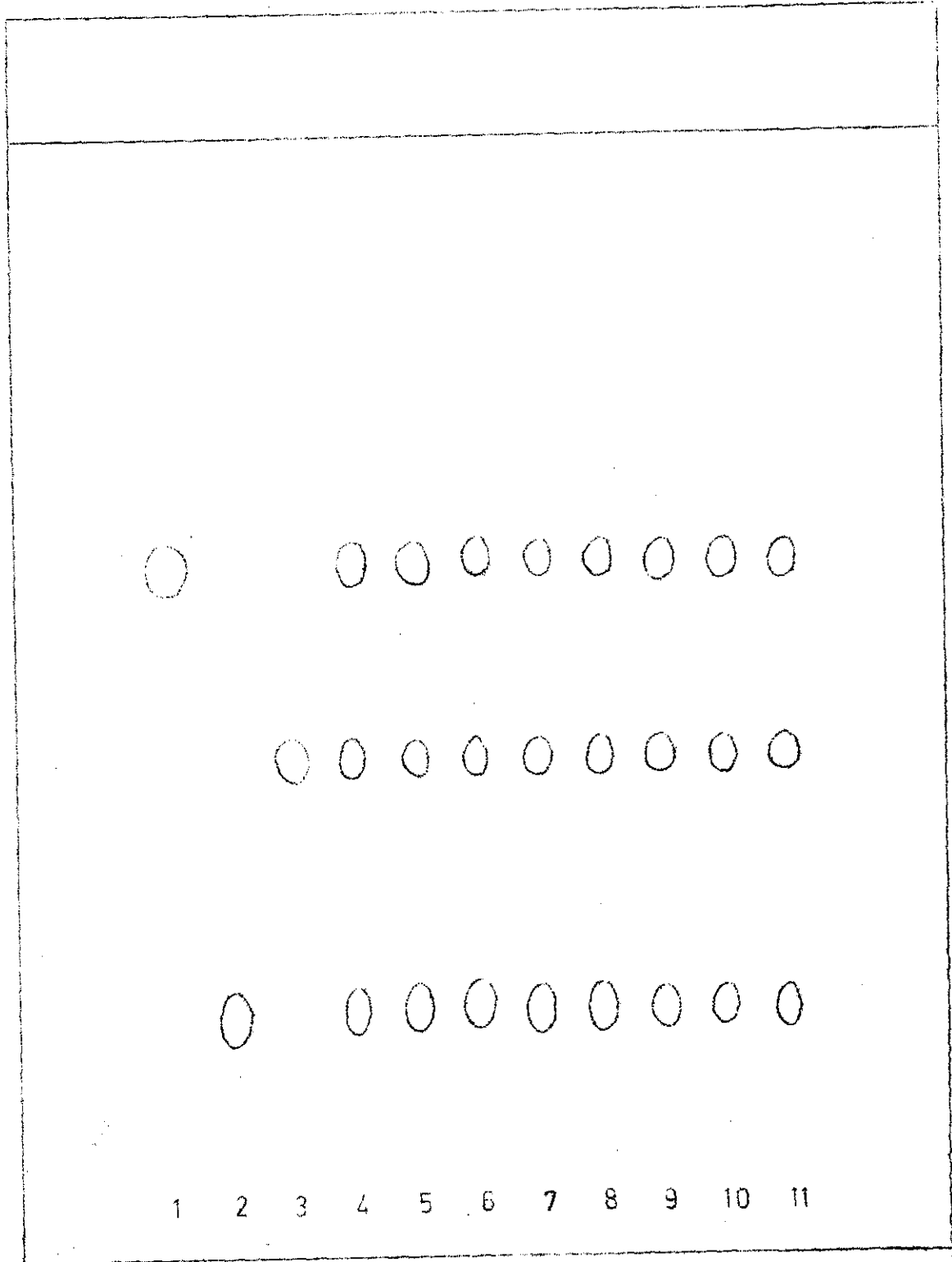
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	1.33	2	2	4	1.33	3	3	4
180	5 A	6.33 B	5.66 C	8 D	5 E	8 F	7 G	9 H

Tablo 5 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile % 5 konsantrasyonda (a/h) prokain hidroklorür taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-2 serisi) enjektabl çözeltilerin 10. ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (A-2) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.5 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol; 4) A-2 serisi "A" çözeltisi; 5) A-2 serisi "B" çözeltisi; 6) A-2 serisi "C" çözeltisi; 7) A-2 serisi "D" çözeltisi; 8) A-2 serisi "E" çözeltisi; 9) A-2 serisi "F" çözeltisi; 10) A-2 serisi "G" çözeltisi; 11) A-2 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 12 : A-2 serisi çözeltilerin, Silikagel GF²⁵⁴ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

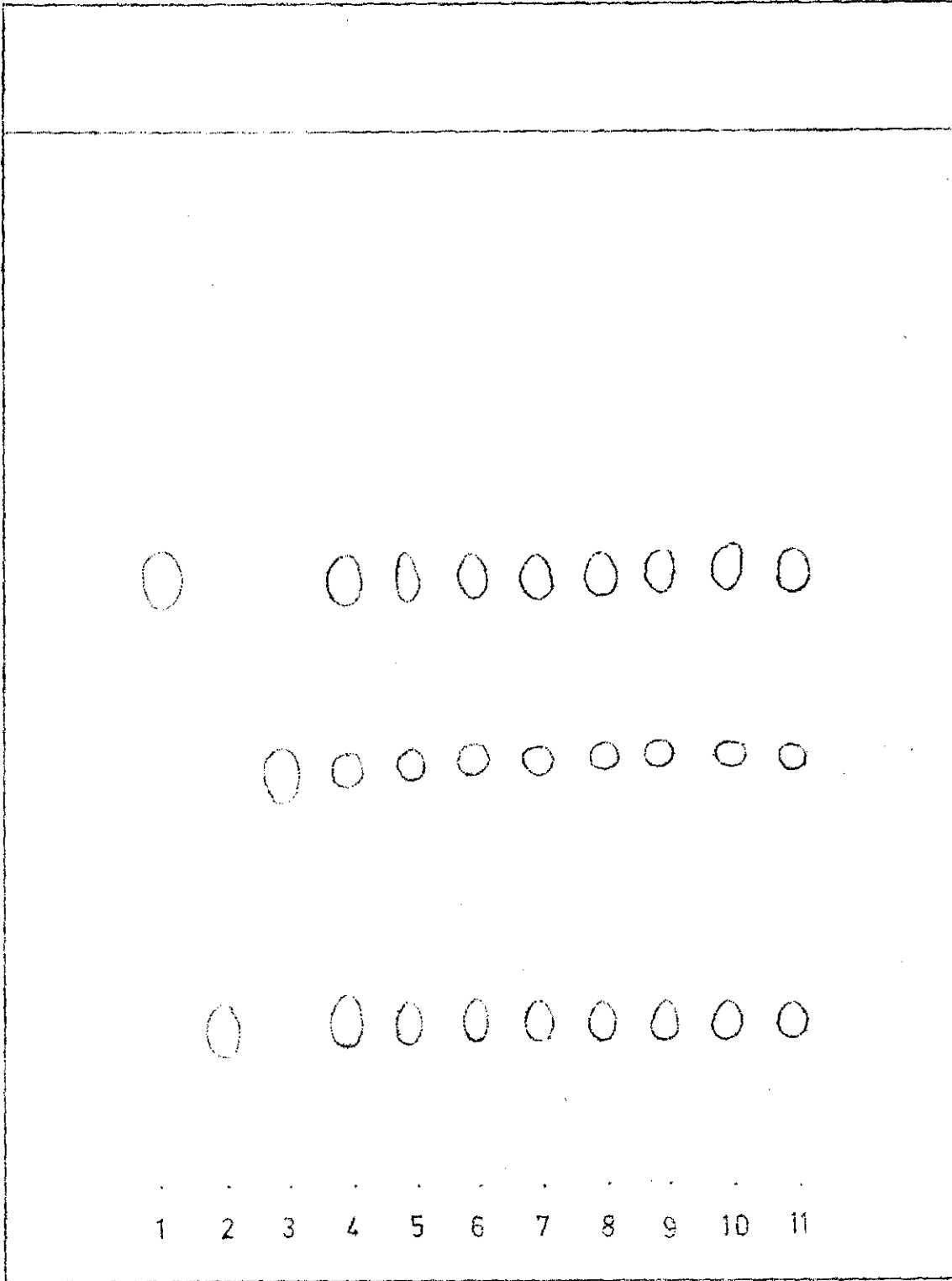
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	1.25	2.5	1.87	3.95	1.25	3.54	3.21	4.37
180	6.25 _A	7.06 _B	6.66 _C	8.75 _D	6.25 _E	8.12 _F	7.5 _G	9.37 _H

Tablo 6 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile % 10 konsantrasyonda (a/h) prokain hidroklorür taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-3 serisi) enjektabl çözeltilerin 10. ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (A-3) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 ml) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol;
- 4) A-3 serisi "A" çözeltisi; 5) A-3 serisi "B" çözeltisi;
- 6) A-3 serisi "C" çözeltisi; 7) A-3 serisi "D" çözeltisi;
- 8) A-3 serisi "E" çözeltisi; 9) A-3 serisi "F" çözeltisi;
- 10) A-3 serisi "G" çözeltisi; 11) A-3 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 13 : A-3 serisi çözeltilerin, Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-diethilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

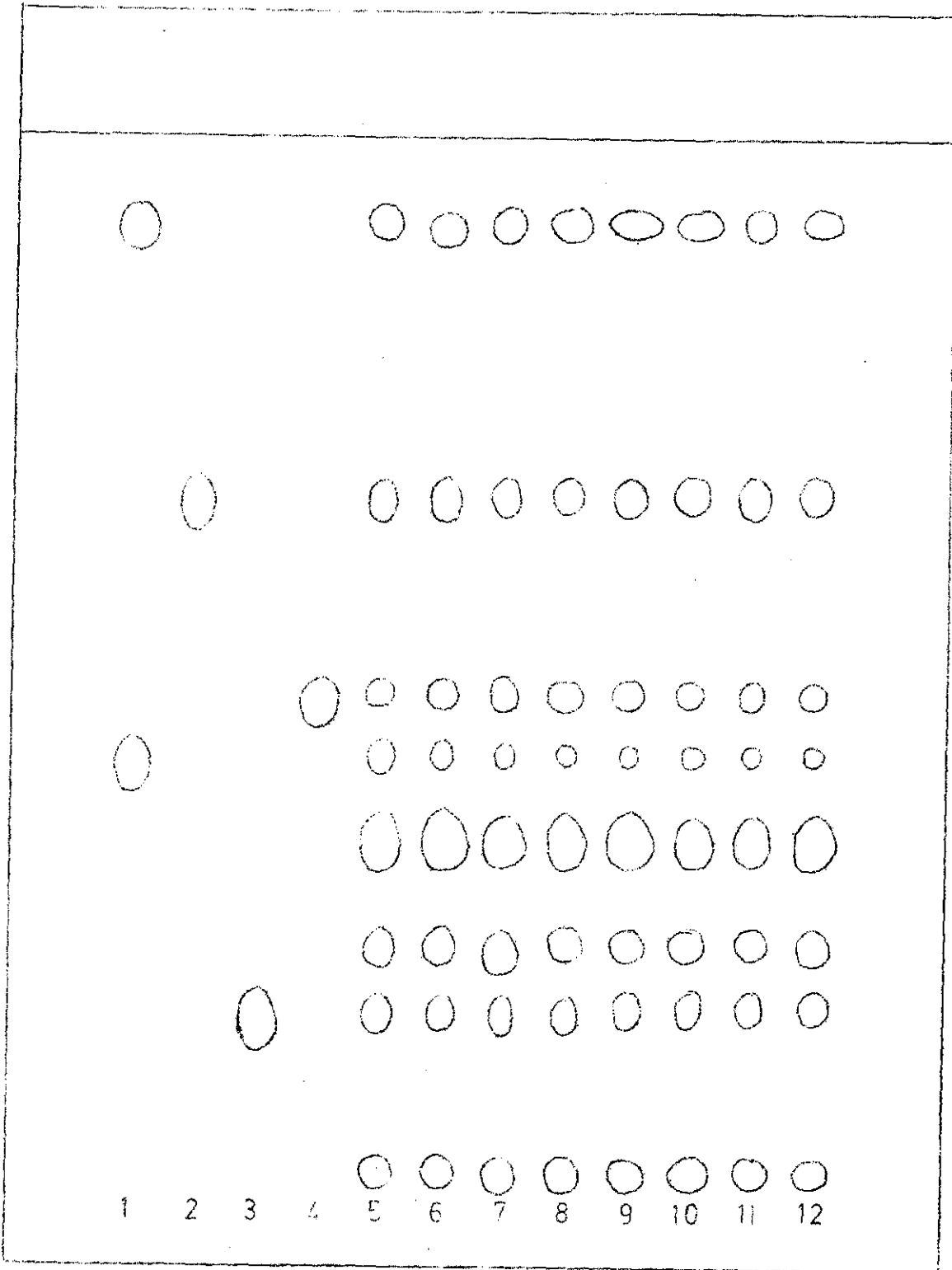
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	12.5	13.6	13.05	15.82	12.5	14.99	14.16	16.66
180	60. A	62.33 B	60.83 C	64.16 D	60. E	63.33 F	62.5 G	65. H

Tablo 7 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile % 1.5 prokain hidroklorür, % 50 sodyum novaminsülfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-4 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10. ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (A-4) enjektabl çözeltilerde 180. gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2 ml) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat % 1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4) Dietilaminoetanol;
- 5) A-4 serisi "A" çözeltisi; 6) A-4 serisi "B" çözeltisi;
- 7) A-4 serisi "C" çözeltisi; 8) A-4 serisi "D" çözeltisi;
- 9) A-4 serisi "E" çözeltisi; 10) A-4 serisi "F" çözeltisi;
- 11) A-4 serisi "G" çözeltisi; 12) A-4 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 14 : A-4 serisi çözeltilerin, Silikagel GF²⁵⁴ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

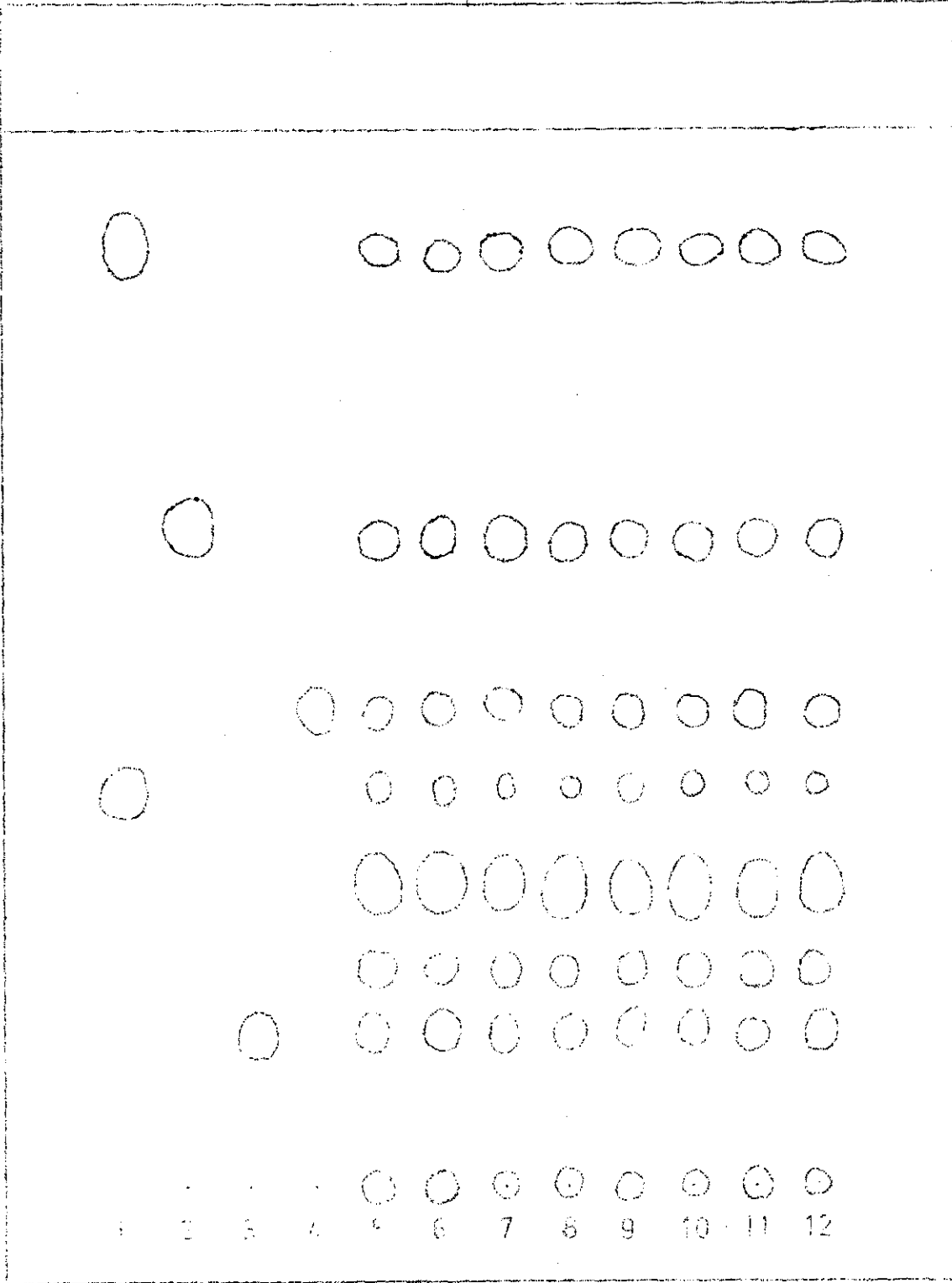
Süre -gün	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	20	21.33	20.66	24	20	23	22	25
180	62 _A	64 _B	63 _C	66.33 _D	62 _E	65.66 _F	65 _G	67 _H

Tablo 8 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile %5 prokain hidroklorür, %50 sodyum novaminsülfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-5 serisi)kombiñe enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (A-5) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.5 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4)Diethylaminoetanol;
- 5) A-5 serisi "A" çözeltisi; 6) A-5 serisi "B" çözeltisi;
- 7) A-5 serisi "C" çözeltisi; 8) A-5 serisi "D" çözeltisi;
- 9) A-5 serisi "E" çözeltisi; 10) A-5 serisi "F" çözeltisi;
- 11) A-5 serisi "G" çözeltisi; 12) A-5 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 15 : A₇5 serisi çözeltilerin, Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında, kloroform-metanol-etanol-diethylamin-dimetilformamid-benzen(94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

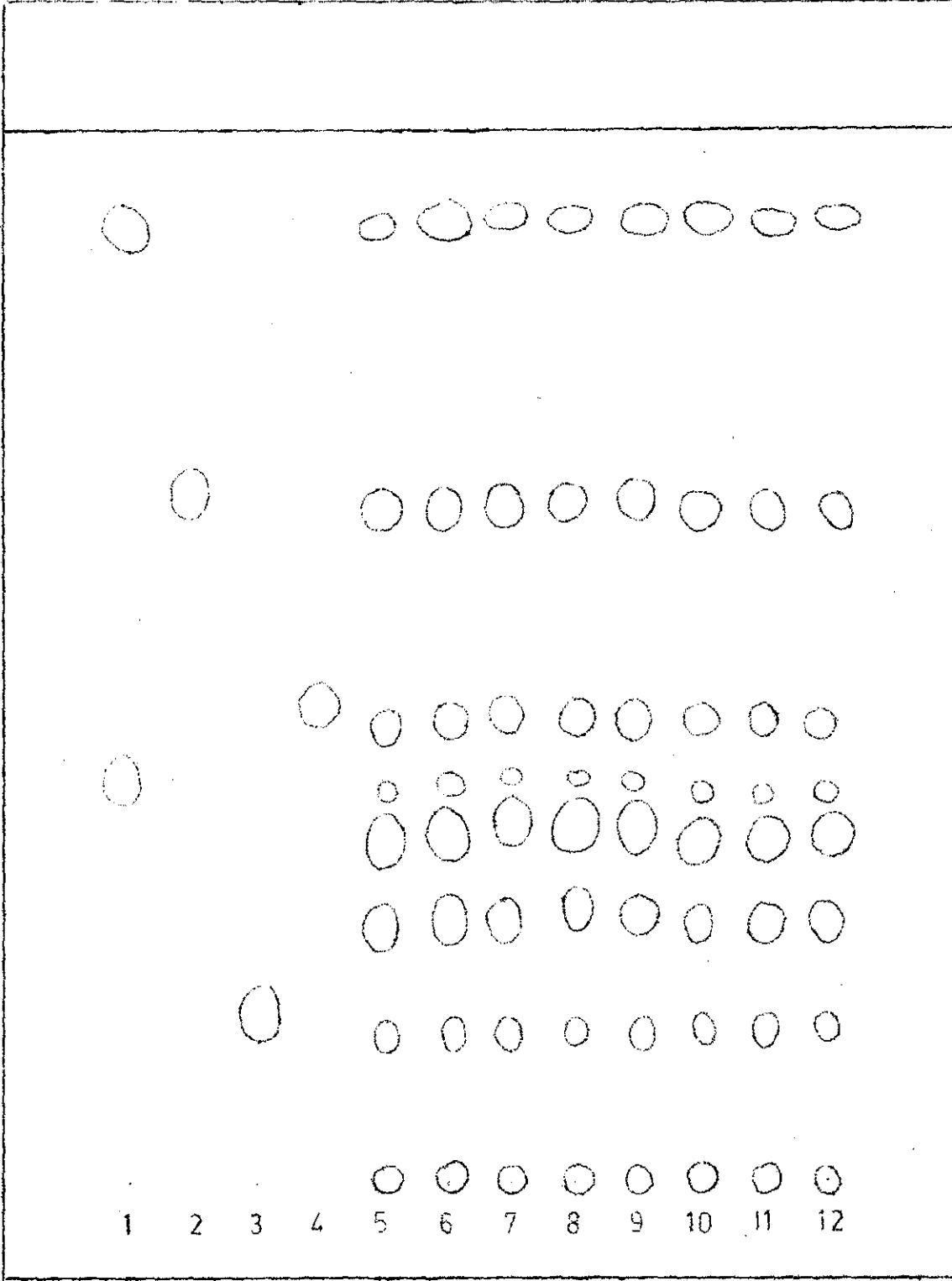
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	28.95	30.62	30	32.08	29.3	31.66	31.25	32.5
180	A 71.25	B 73.12	C 72.5	D 74.58	E 71.87	F 74.16	G 73.75	H 75

Tablo 9 : Kaynatılıp (30 dak), soğutulmuş distile su ile % 10 prokain hidroklorür, % 50 sodyum novaminsülfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (A-6 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10. ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak) .

Aynı seri (A-6) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Amino-benzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4) Dietilaminoetanol;
- 5) A-6 serisi "A" çözeltisi; 6) A-6 serisi "B" çözeltisi;
- 7) A-6 serisi "C" çözeltisi; 8) A-6 serisi "D" çözeltisi;
- 9) A-6 serisi "E" çözeltisi; 10) A-6 serisi "F" çözeltisi;
- 11) A-6 serisi "G" çözeltisi 12) A-6 serisi "H" çözeltisi.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Kromatogram 16 : A-6 serisi çözeltilerin, Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

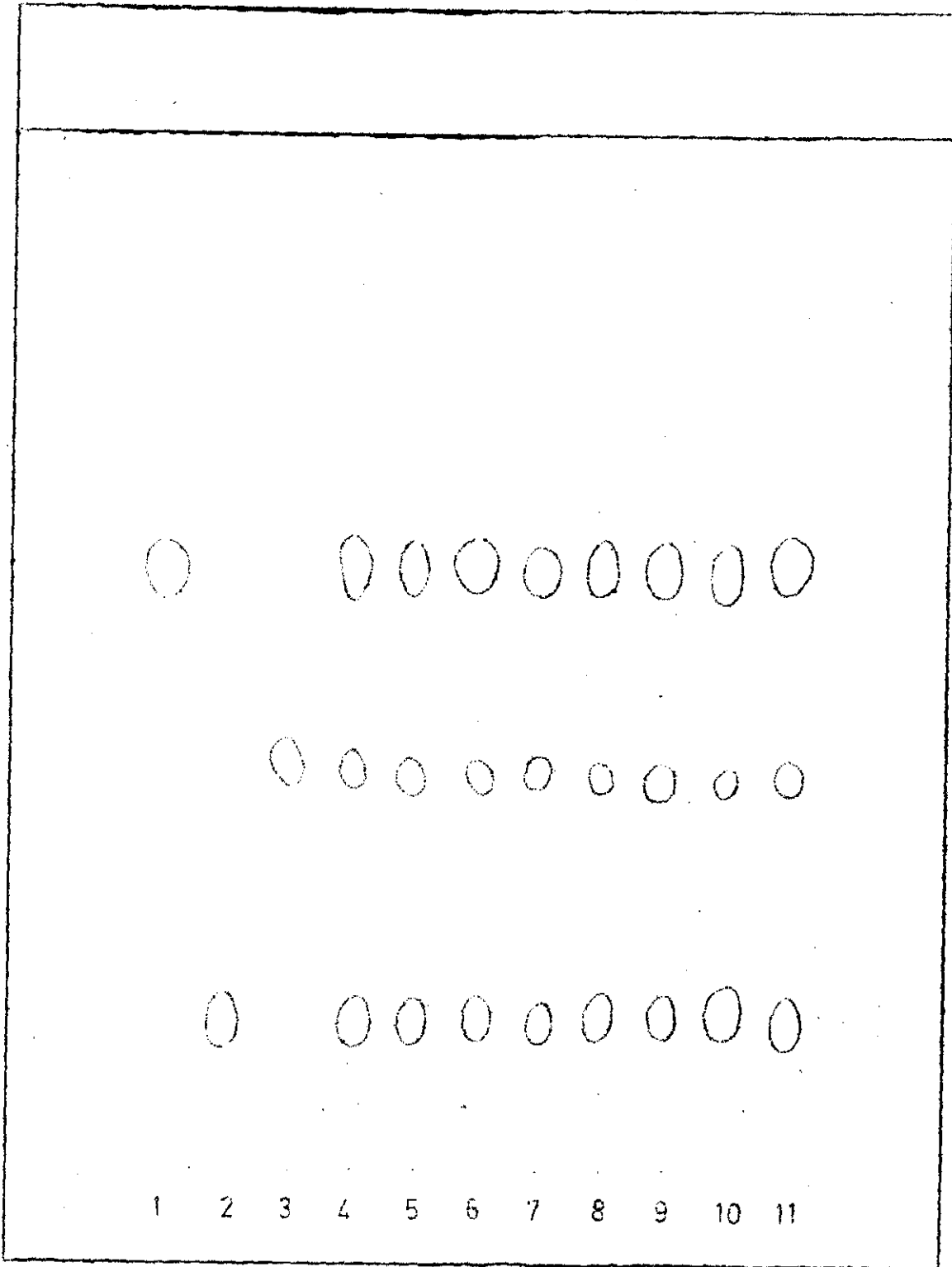
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	0.87	1.71	1.25	1.87	0.87	1.25	1.25	1.87
180	2.51 A	3.95 B	3.62 C	5.62 D	2.51 E	5 F	4.37 G	6.25 H

Tablo 10 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 1.5 konsantrasyonda prokain hidroklorür taşıyan (a/h) ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-1 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-1) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol;
- 4) B-1 serisi "A" çözeltisi ; 5) B-1 serisi "B" çözeltisi;
- 6) B-1 serisi "C" çözeltisi; 7) B-1 serisi "D" çözeltisi;
- 8) B-1 serisi "E" çözeltisi; 9) B-1 serisi "F" çözeltisi;
- 10) B-1 serisi "G" çözeltisi; 11) B-1 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 17 : B-1 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

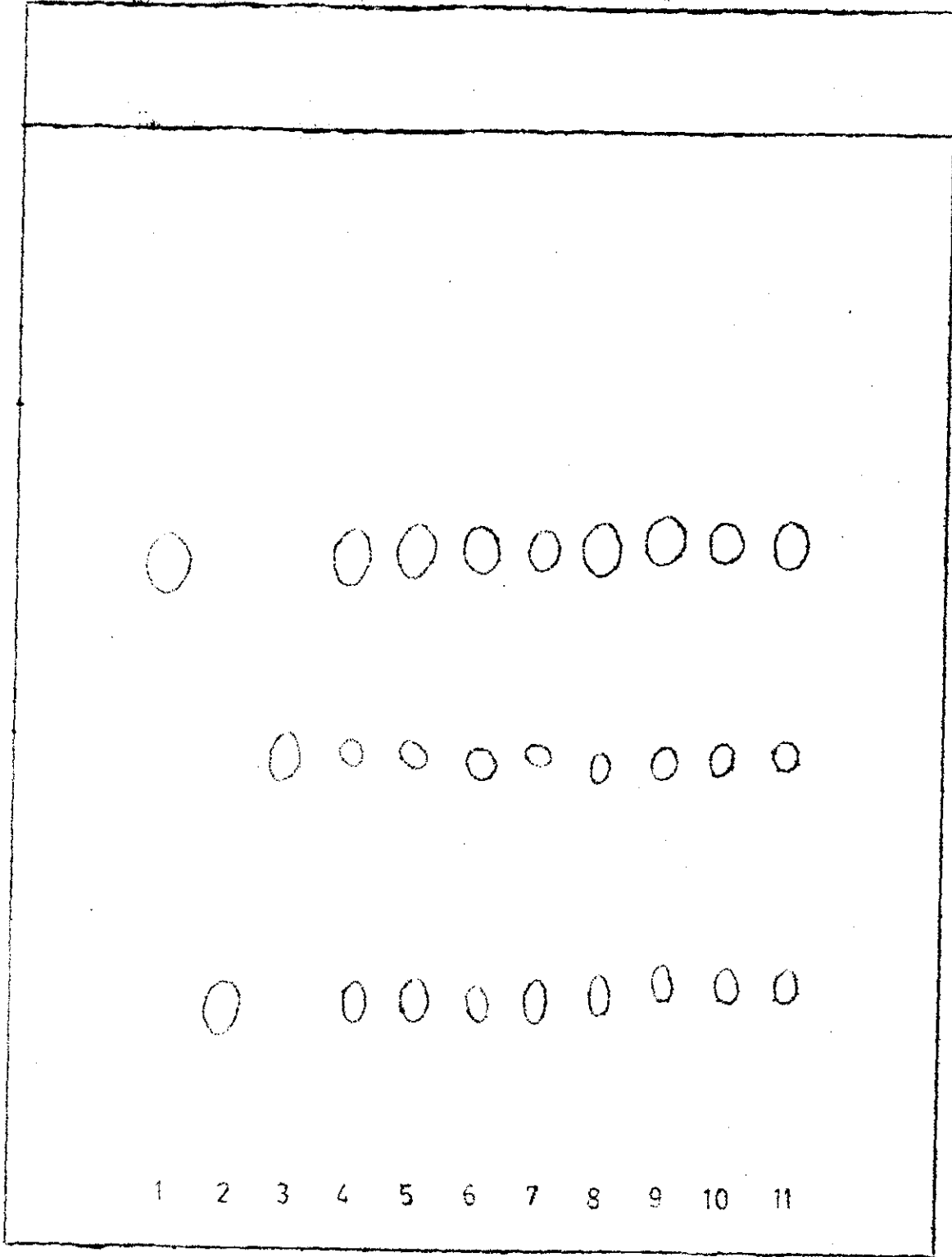
Süre -gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	0.66	0.8	0.8	2.3	0.66	1.33	1.33	2.3
180	3. A	4. B	4. C	6.33 D	3 E	5.66 F	5. G	7. H

Tablo 11 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 5 konsantrasyonda prokain hidroklorür taşıyan (a/h) ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-2 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-2) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.5 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4--Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol;
- 4) B-2 serisi "A" çözeltisi; 5) B-2 serisi "B" çözeltisi;
- 6) B-2 serisi "C" çözeltisi; 7) B-2 serisi "D" çözeltisi;
- 8) B-2 serisi "E" çözeltisi; 9) B-2 serisi "F" çözeltisi;
- 10) B-2 serisi "G" çözeltisi; 11) B-2 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 18 : B-2 serisi çözeltilerin Silikagel ~~GF~~₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

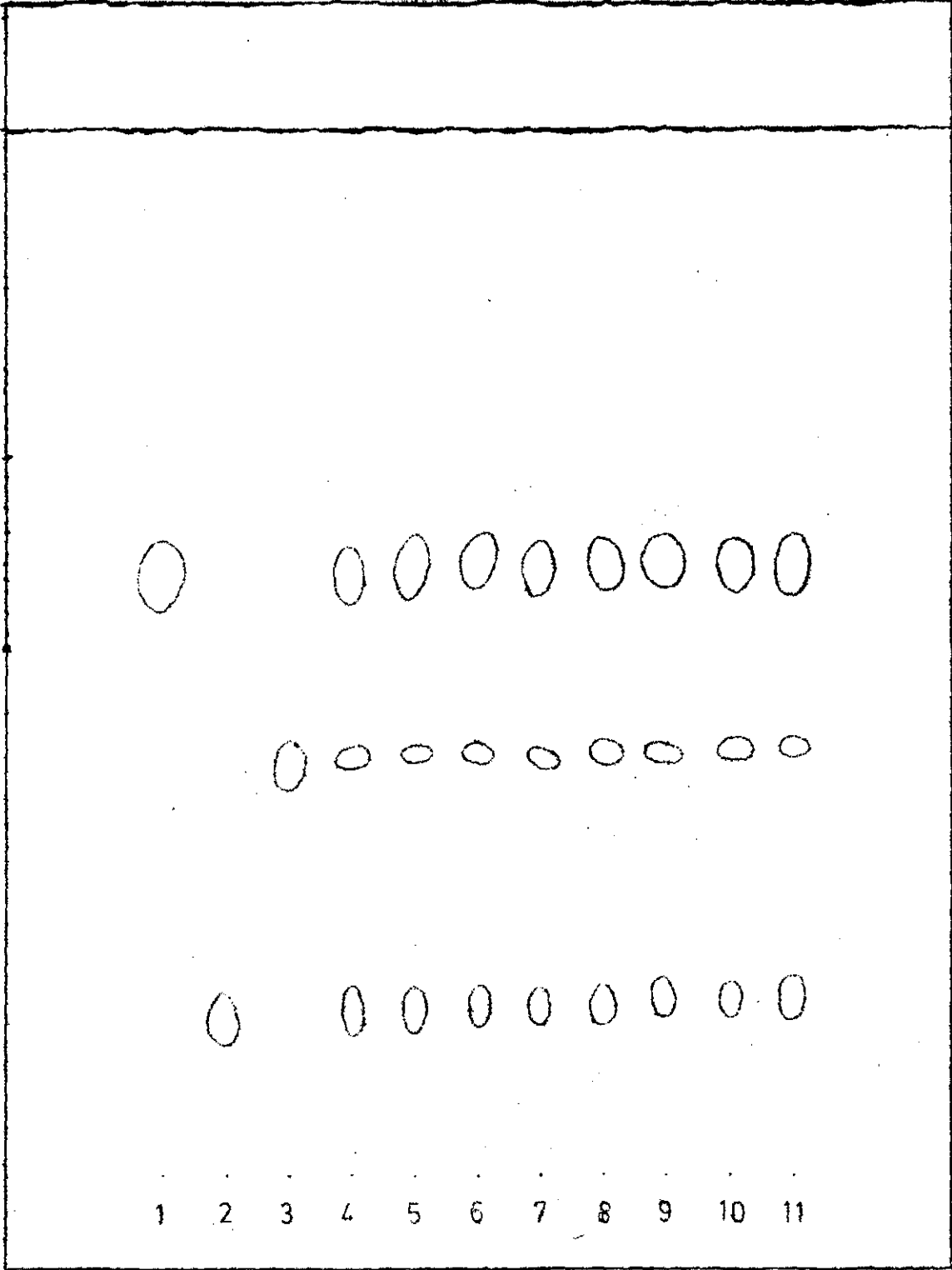
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	0.41	0.83	0.51	2.5	0.41	1.87	1.25	3.12
180	4.37 _A	5.54 _B	4.95 _C	7.04 _D	4.37 _E	6.58 _F	6.12 _G	7.5 _H

Tablo 12 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 konsantrasyonda prokain hidroklorür taşıyan (a/h) ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-3 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar-tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-3) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 ml) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi;
- 3) Dietilaminoetanol;
- 4) B-3 serisi "A" çözeltisi;
- 5) B-3 serisi "B" çözeltisi;
- 6) B-3 serisi "C" çözeltisi;
- 7) B-3 serisi "D" çözeltisi;
- 8) B-3 serisi "E" çözeltisi;
- 9) B-3 serisi "F" çözeltisi;
- 10) B-3 serisi "G" çözeltisi;
- 11) B-3 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 19 : B-3 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-diethylamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

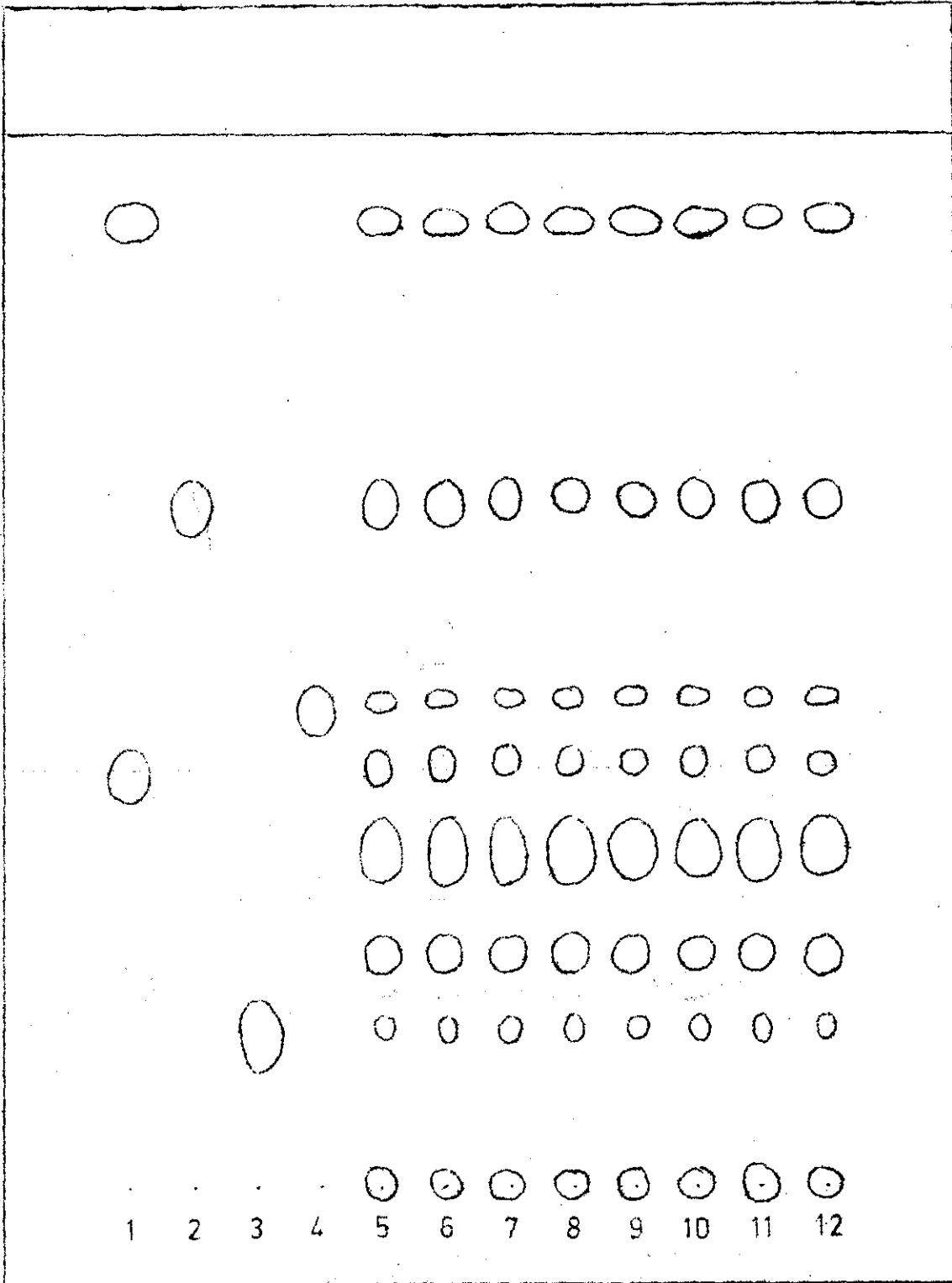
Süre	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
- gün-	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	10	11.66	10.83	13.60	10	13.05	12.5	14.16
180	58.33 _A	59.44 _B	58.88 _C	61.56 _D	58.33 _E	60.83 _F	60 _G	62.5 _H

Tablo 13 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 1.5 prokain hidroklorür, % 50 sodyum novamunsulfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-4 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak),

Aynı seri (B-4) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsulfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4) Dietilaminoetanol;
- 5) B-4 serisi "A" çözeltisi; 6) B-4 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-4 serisi "C" çözeltisi; 8) B-4 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-4 serisi "E" çözeltisi; 10) B-4 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-4 serisi "G" çözeltisi; 12) B-4 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 20 : B-4 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

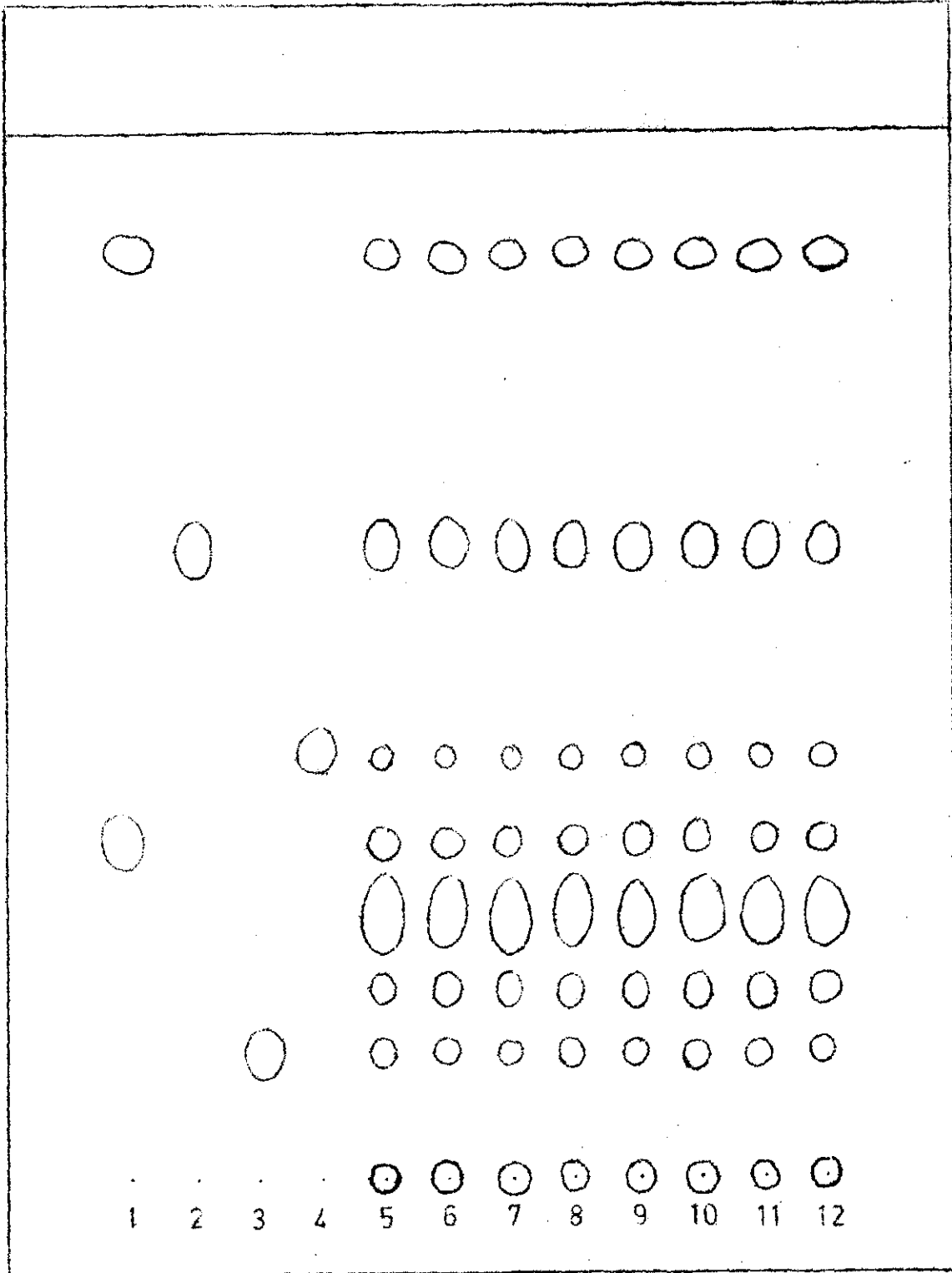
Süre - gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	17	19	18	21.23	17	20.66	20	22
180	60 _A	61.33 _B	60.66 _C	64 _D	60 _E	63 _F	62 _G	65 _H

Tablo 14 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile %5 prokain hidroklorür, %50 sodyum novaminsulfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-5 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-5) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.5 ml) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsulfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4) Dietilaminoetanol;
- 5) B-5 serisi "A" çözeltisi; 6) B-5 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-5 serisi "C" çözeltisi; 8) B-5 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-5 serisi "E" çözeltisi; 10) B-5 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-5 serisi "G" çözeltisi; 12) B-5 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 21 : B-5 serisi çözeltilerin Silikagel GF²⁵⁴ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

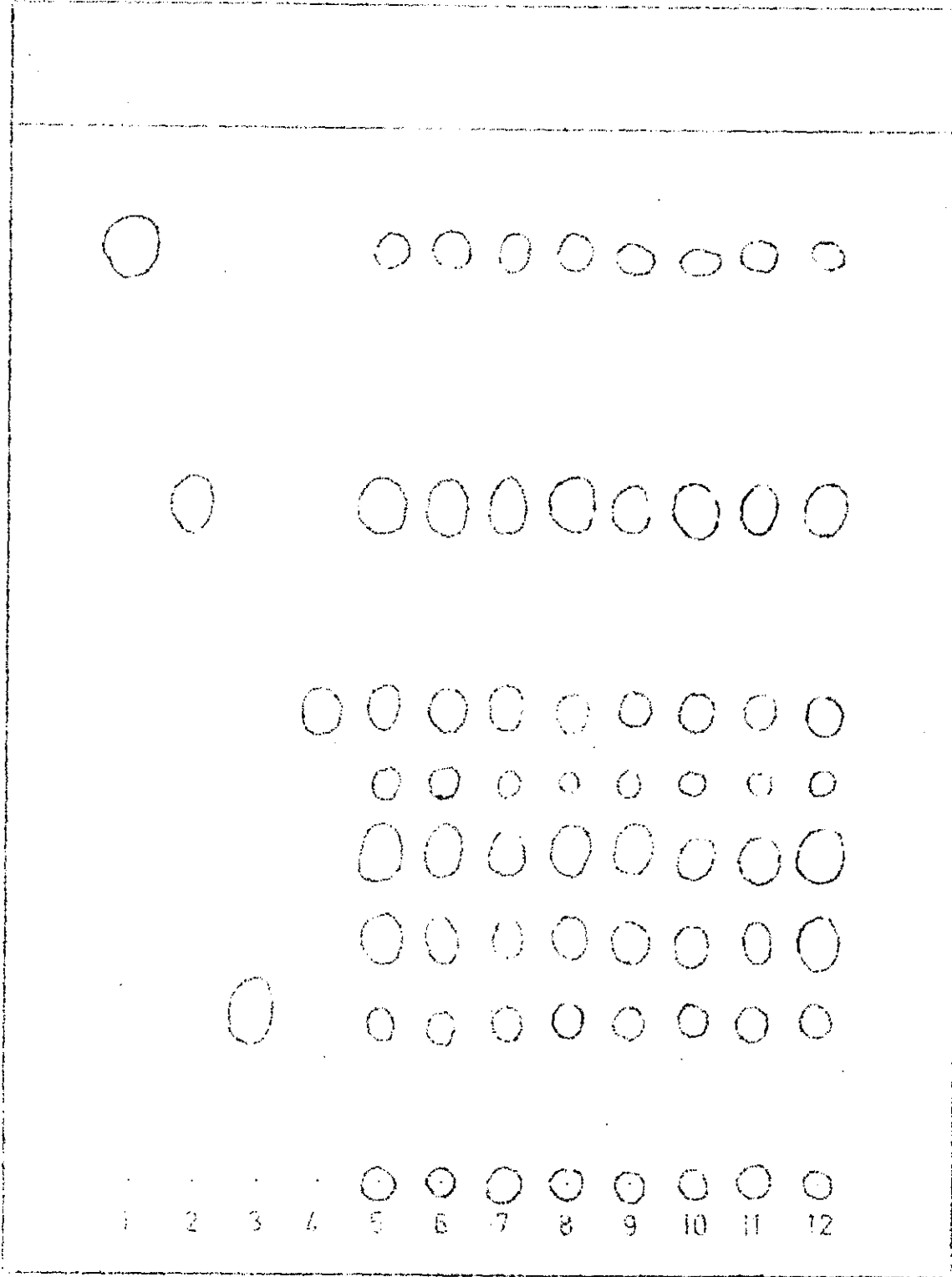
Süre - gün -	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	25.83	27.5	26.87	28.95	26.25	28.54	28.12	29.37
180	69.58 _A	71.25 _B	70.62 _C	73.12 _D	70 _E	72.5 _F	71.87 _G	73.75 _H

Tablo 15 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile %10 prokain hidroklorür, %50 sodyum novaminsülfonat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-6 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-6) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yollarda gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi;
- 3) 4-Aminobenzoikasid %1'lik etanolik çözeltisi;
- 4) Dietilaminoetanol;
- 5) B-6 serisi "A" çözeltisi;
- 6) B-6 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-6 serisi "C" çözeltisi;
- 8) B-6 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-6 serisi "E" çözeltisi;
- 10) B-6 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-6 serisi "G" çözeltisi;
- 12) B-6 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 22 : B-6 serisi çözeltilerin SilikagelGF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

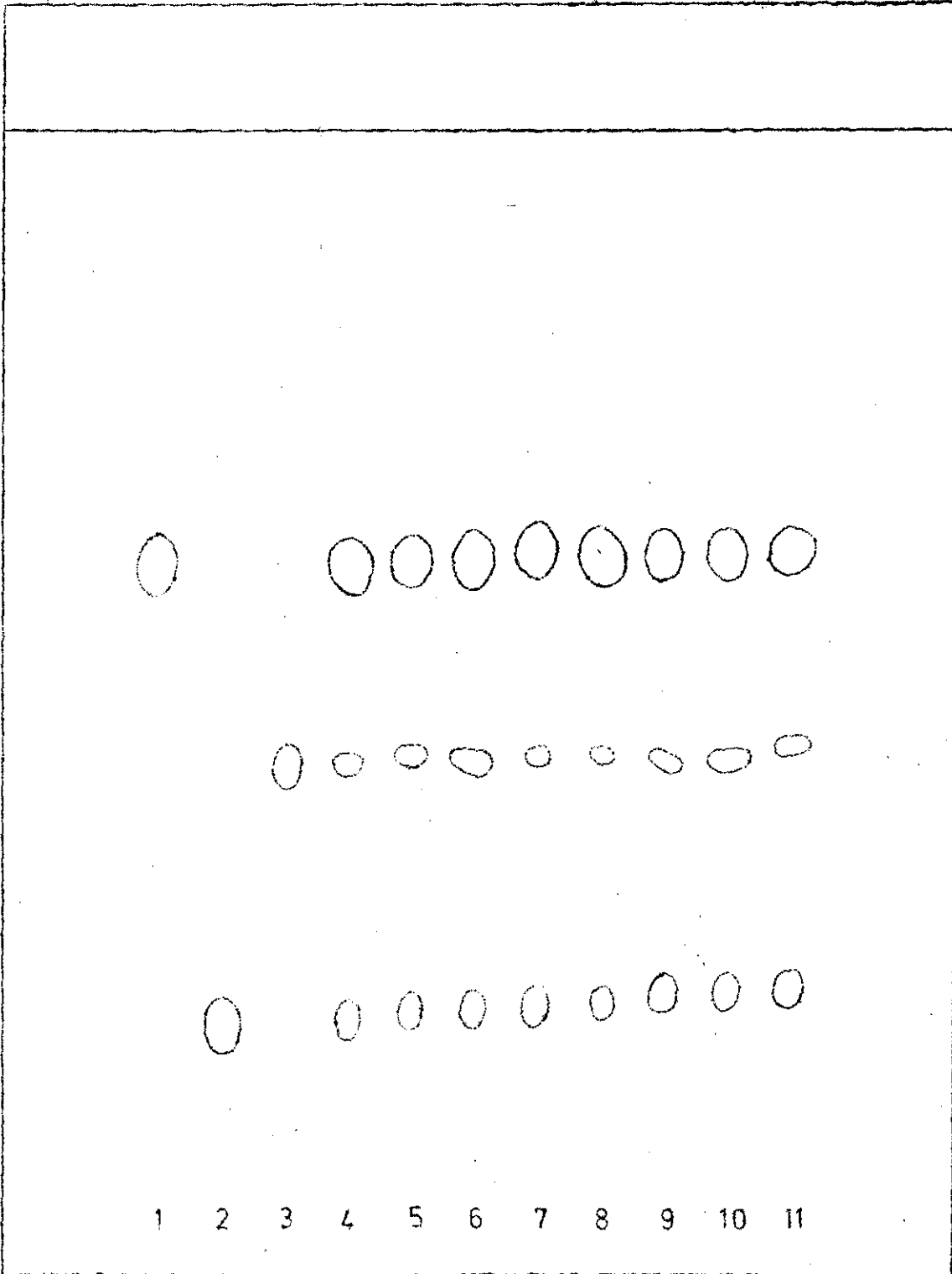
Süre -gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	1.86	3.54	3.12	4.37	2.5	3.95	3.54	5.54
180	7.04 A	8.75 B	8.12 C	10.20 D	7.5 E	9.79 F	9.37 G	10.62 H

Tablo 16 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile %10 prokain hidroklorür ve koruyucu olarak %0.005 tiyoüre (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-7 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180.gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-7) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 2)4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol çözeltisi; 4) B-7 serisi "A" çözeltisi; 5) B-7 serisi "B" çözeltisi; 6) B-7 serisi "C" çözeltisi; 7) B-7 serisi "D" çözeltisi; 8) B-7 serisi "E" çözeltisi; 9) B-7 serisi "F" çözeltisi; 10) B-7 serisi "G" çözeltisi; 11) B-7 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 23 : B-7 serisi gözeltilerin Silikagel GF²⁵⁴ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

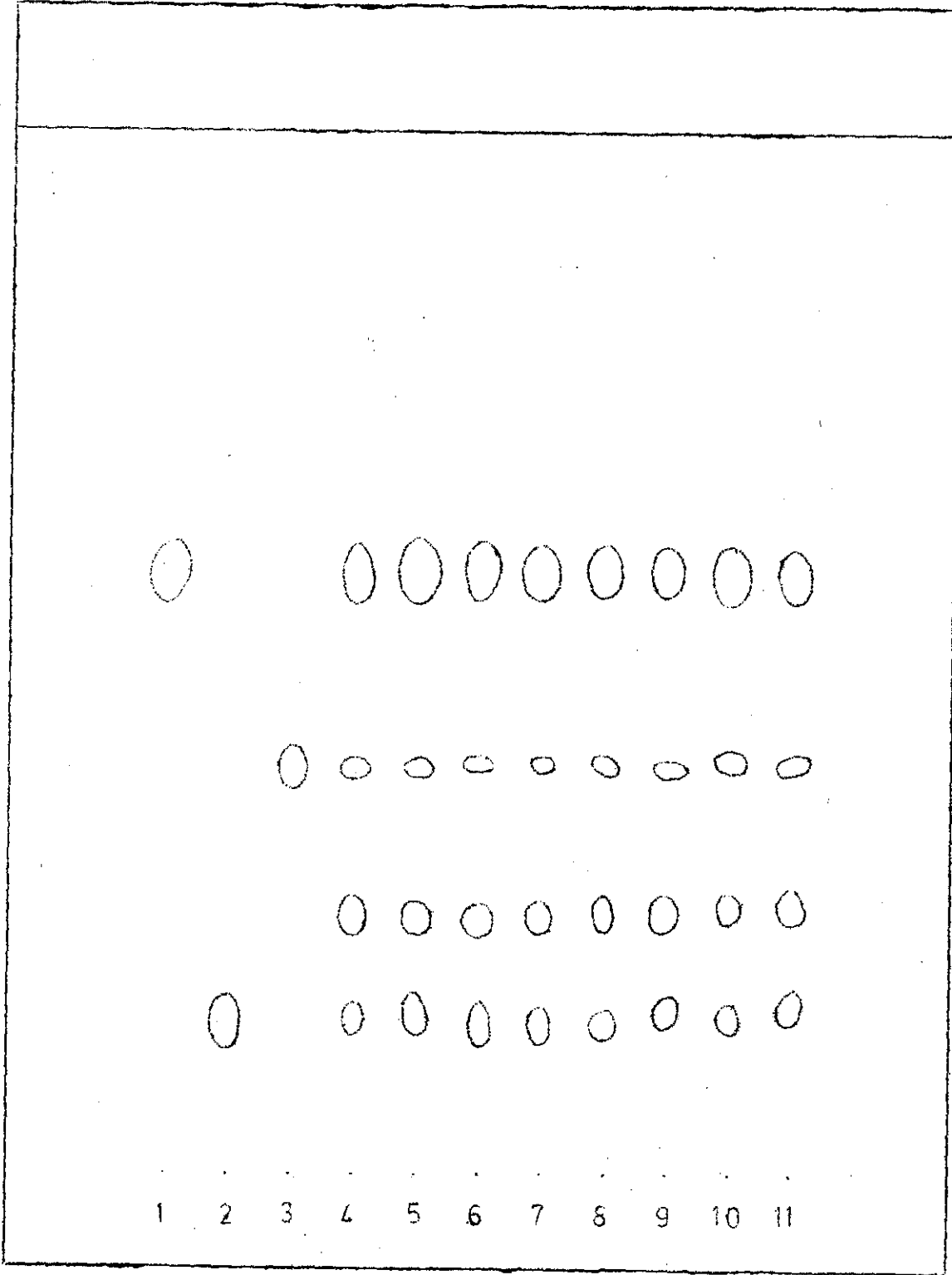
Süre -gün-	KAYNATILMIŞ				SOĞUTULMUŞ			
	AZOTLU		AZOTSUZ		AZOTLU		AZOTSUZ	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	13.33	15	14.37	16.45	13.75	16.04	15.62	16.87
180	30.62 A	32.08 B	31.66 C	31.75 D	31.2 E	33.12 F	32.5 G	34.37 H

Tablo 17 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 prokain hidroklorür ve koruyucu olarak %0.15 sodyum formaldehidsülfoksilat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-8 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-8) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) 4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi;
- 3) Dietilaminoetanol;
- 4) B-8 serisi "A" çözeltisi;
- 5) B-8 serisi "B" çözeltisi;
- 6) B-8 serisi "C" çözeltisi;
- 7) B-8 serisi "D" çözeltisi;
- 8) B-8 serisi "E" çözeltisi;
- 9) B-8 serisi "F" çözeltisi;
- 10) B-8 serisi "G" çözeltisi;
- 11) B-8 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 24 : B-8 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

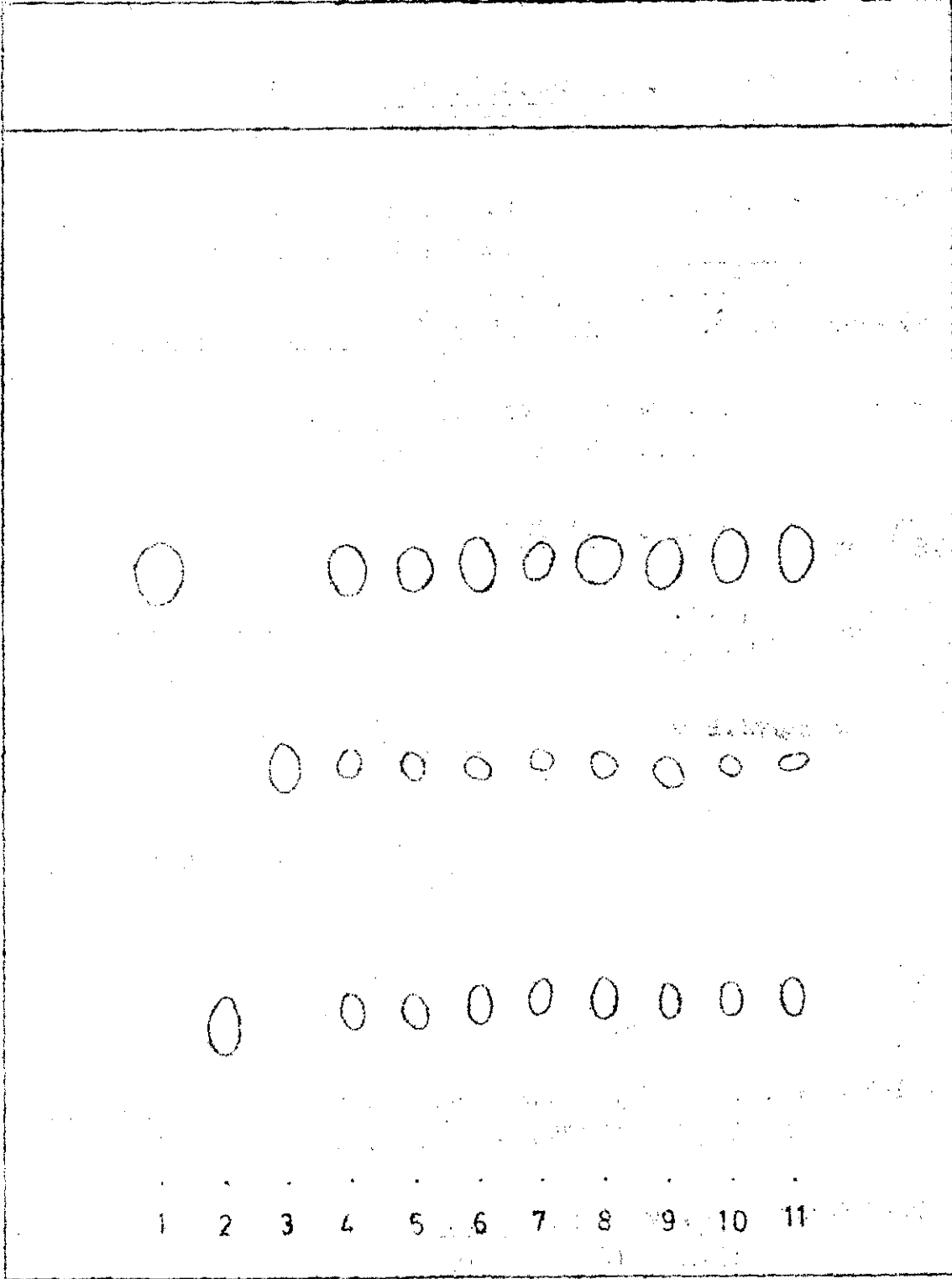
Süre -gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	0.41	0.83	0.52	2.5	0.41	1.87	1.25	3.12
180	4.37 _A	5.54 _B	4.95 _C	7.04 _D	4.37 _E	6.58 _F	6.12 _G	7.04 _H

Tablo 18: Kaynatılmış,soğutulmuş,azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 prokain hidroklorür ve koruyucu olarak % 0.075 konsantrasyonda disodyum edetat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-9 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-9.) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 2)4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 3)Diethylaminoetanol;
- 4) B-9 serisi "A" çözeltisi; 5) B-9 serisi "B" çözeltisi;
- 6) B-9 serisi "C" çözeltisi; 7) B-9 serisi "D" çözeltisi;
- 8) B-9 serisi "E" çözeltisi; 9) B-9 serisi "F" çözeltisi;
- 10) B-9 serisi "G" çözeltisi; 11) B-9 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 25 : B-9 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

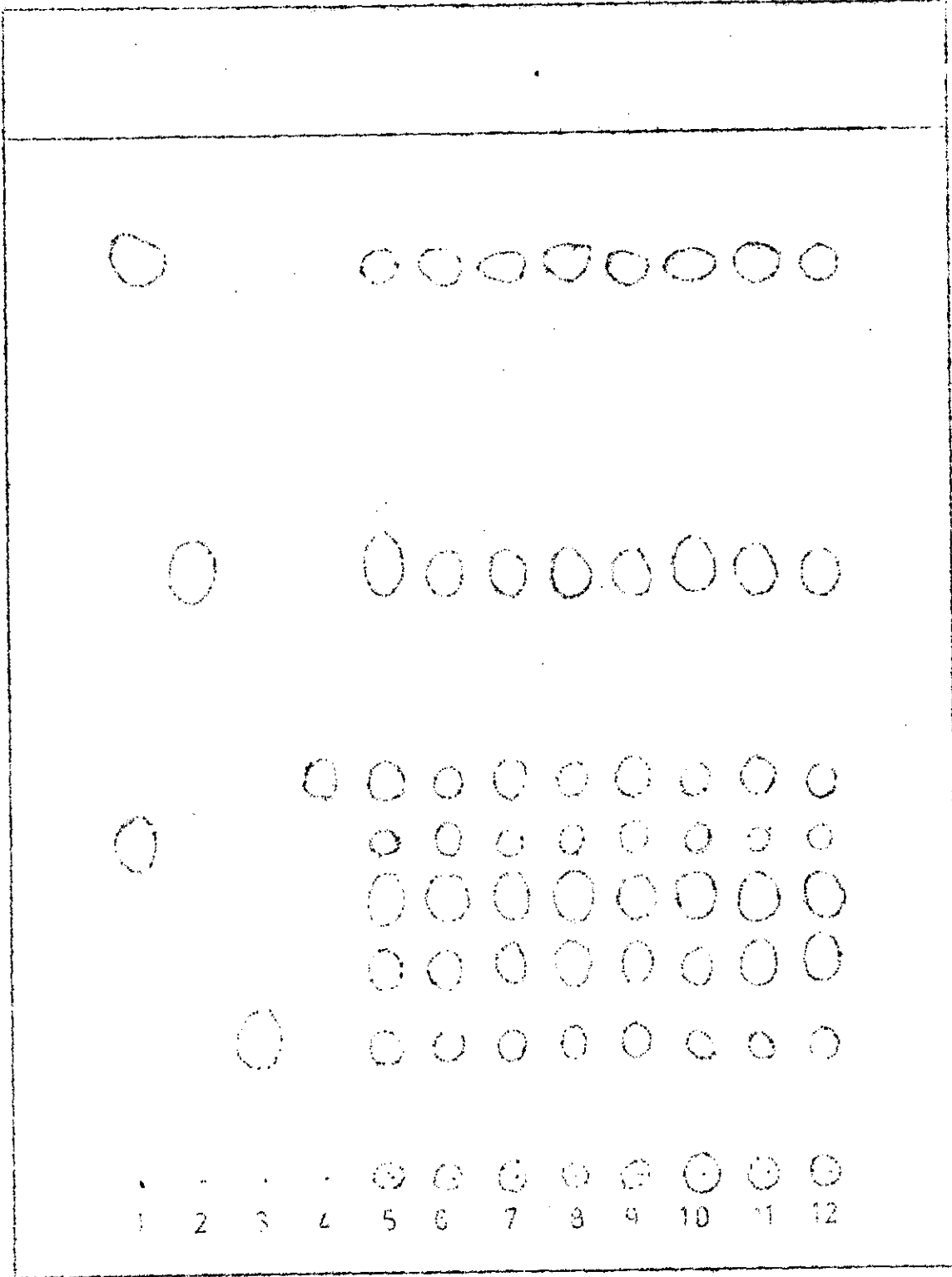
Süre	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	32.08	33.75	33.12	35.20	32.5	34.79	34.37	35.62
180	74.58 _A	75.83 _B	74.41 _C	77.5 _D	75 _E	76.87 _F	76.25 _G	78.12 _H

Tablo 19 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 prokain hidroklorür, % 50 sodyum novaminsülfonat ve koruyucu olarak % 0.005 tiyoüre (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-10 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-10) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Amino-benzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi 4) Dietilaminoetanol;
- 5) B-10 serisi "A" çözeltisi; 6) B-10 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-10 serisi "C" çözeltisi; 8) B-10 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-10 serisi "E" çözeltisi; 10) B-10 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-10 serisi "G" çözeltisi; 12) B-10 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 26 : B-10 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

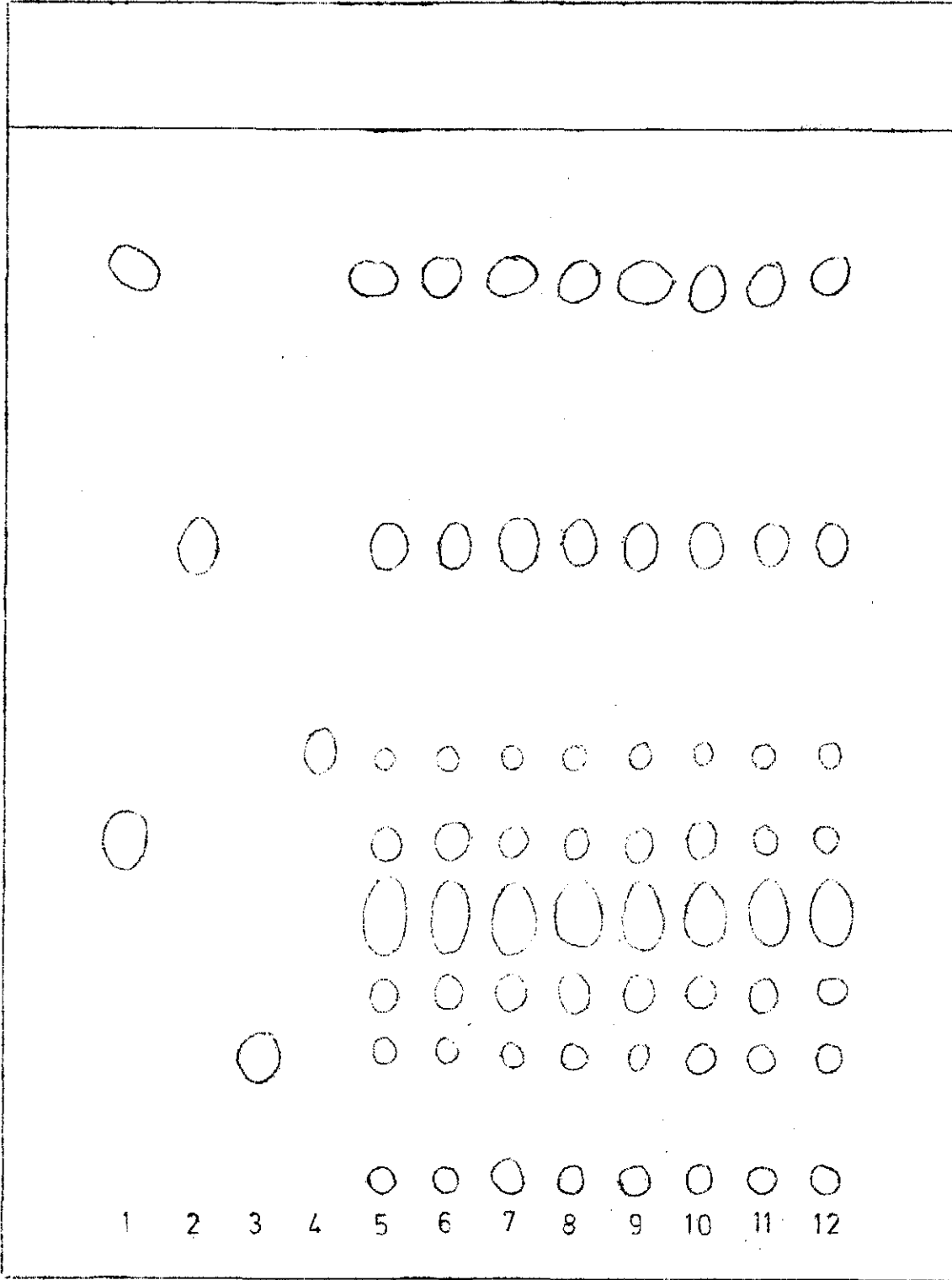
Süre -gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	53.95	55.62	55.	57.08	54.37	56.66	56.25	57.5
180	76.25 A	77.5 B	76.87 C	78.95 D	76.25 E	78.54 F	78.12 G	79.37 H

Tablo 20 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 prokain hidroklorür, %50 sodyum novaminsülfonat ve koruyucu olarak % 0.15 sodyum formaldehidsulfoksilat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-11 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180. gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak):.

Aynı seri (B-11) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsülfonat % 1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 4) Dietilaminoetanol;
- 5) B-11 serisi "A" çözeltisi; 6) B-11 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-11 serisi "C" çözeltisi; 8) B-11 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-11 serisi "E" çözeltisi; 10) B-11 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-11 serisi "G" çözeltisi; 12) B-11 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 27 : B-11 serisi çözeltilerin, Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

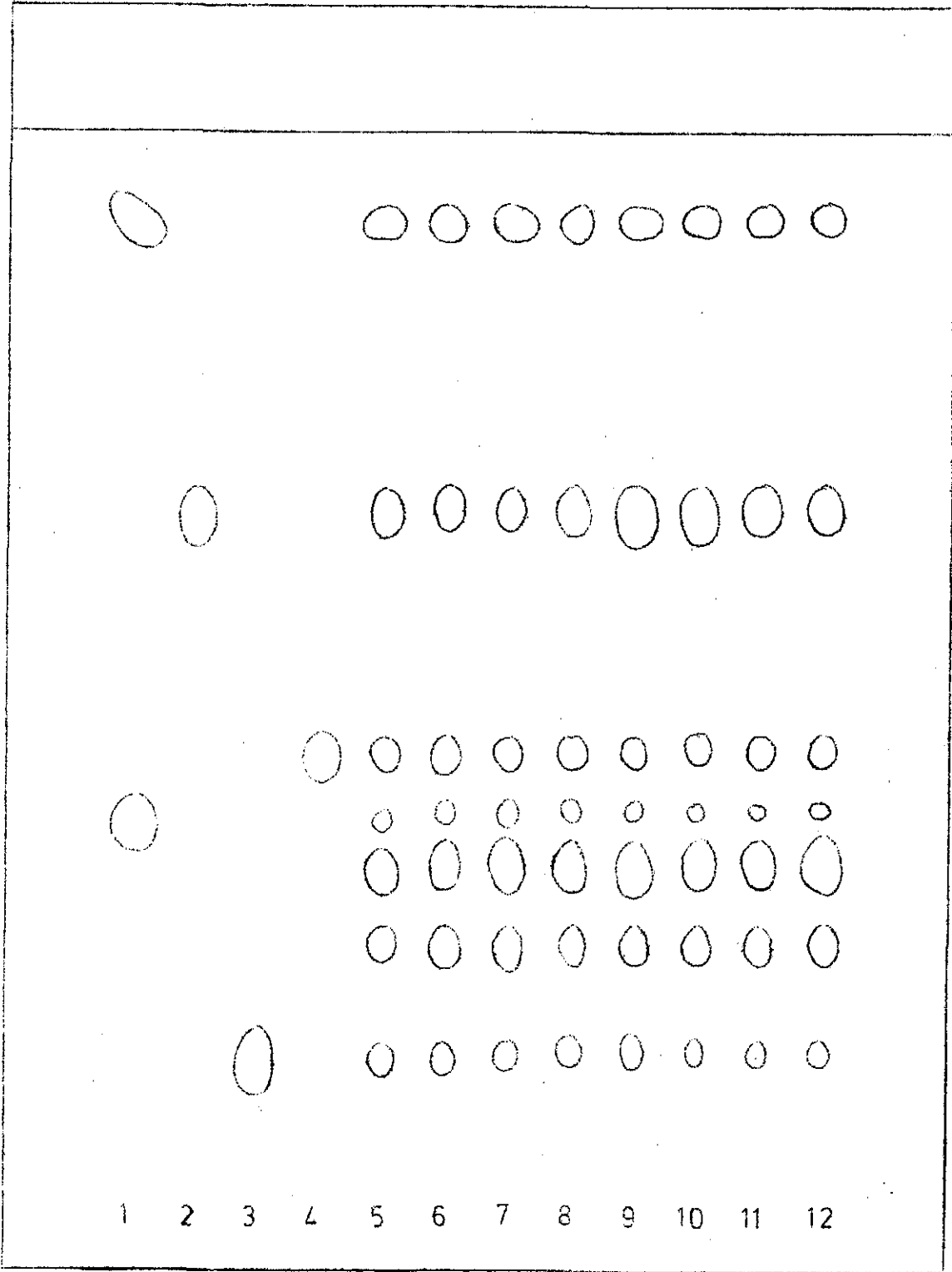
Süre -gün-	R E N K L İ				R E N K S İ Z			
	Azotlu		Azotsuz		Azotlu		Azotsuz	
	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C	100°C	120°C
10	24.37	25.83	25.	27.5	24.41	26.87	26.25	28.12
180	68.12 A	69.58 B	69.16 C	71.25 D	68.75 E	70.62 F	70 G	71.87 H

Tablo 21 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 10 prokain hidroklorür, %50 sodyum novaminsulfonat ve koruyucu olarak %0.075 disodyum edetat (a/h) taşıyan ve genel şemaya göre dallandırılarak hazırlanmış (B-12 serisi) kombine enjektabl çözeltilerin 10 ve 180.gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (B-12) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

- 1) Sodyum novaminsulfonat %1'lik metanolik çözeltisi;
- 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3)4-Aminobenzoik asid %1'lik etanolik çözeltisi; 4)Diethylaminoetanol;
- 5) B-12 serisi "A" çözeltisi; 6) B-12 serisi "B" çözeltisi;
- 7) B-12 serisi "C" çözeltisi; 8) B-12 serisi "D" çözeltisi;
- 9) B-12 serisi "E" çözeltisi; 10) B-12 serisi "F" çözeltisi;
- 11) B-12 serisi "G" çözeltisi; 12) B-12 serisi "H" çözeltisi.



Kromatogram 28 : B-12 serisi çözeltilerin **Silikagel GF₂₅₄** tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

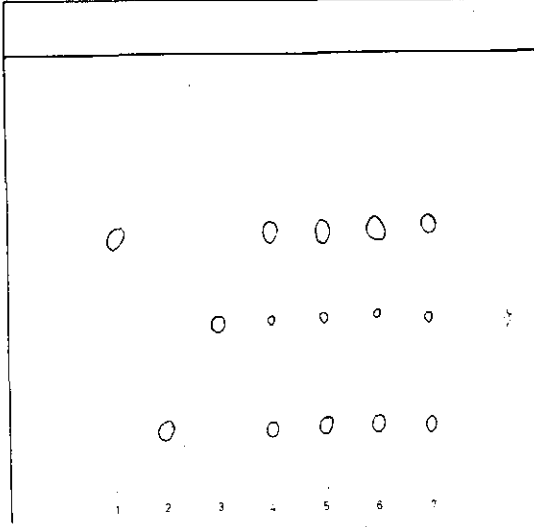
% Kons. a/h	R E N K L İ		R E N K S İ Z	
	Azotlu A	Azotsuz B	Azotlu C	Azotsuz D
1.5	0	0	0	0
5	0	0	0	0
10	0	0	0	0

Tablo 22 : Kaynatılmış, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 1.5, % 5 ve % 10 konsantrasyonda (a/h) prokain hidroklorür taşıyan, GELMAN GA-8 filtreden süzülerek sterilize edilen (C-1, C-2, C-3 serisi) enjektabl çözeltilerin 10 gün sonundaki miktar tayini sonuçları(yüzde kayıp olarak).

Aynı seri (C-1), (C-2), (C-3) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2, 0.5, 0.4 µl) çözelti tatbik edilmiştir.

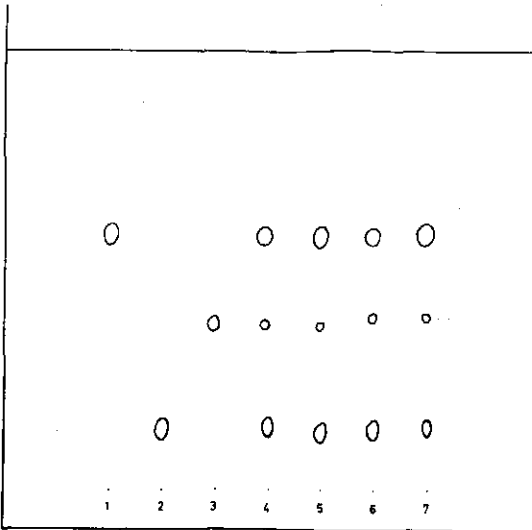
Uygulanada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

Kromatogram 29 'de 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol; 4) C-1 serisi "A" çözeltisi; 5) C-1 serisi "B" çözeltisi; 6) C-1 serisi "C" çözeltisi; 7) C-1 serisi "D" çözeltisi.



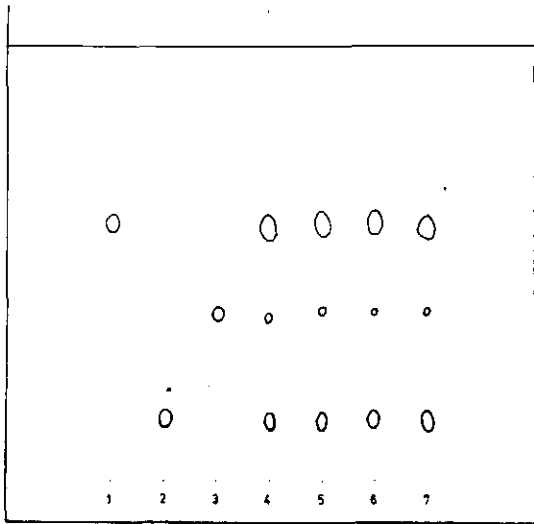
Kromatogram 29 : C-1 serisi
çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ ta-
bakalarında kloroform-metanol-
etanol-dietilamin-dimetilforma-
mid-benzen (94:10:2:4:8:4) sol-
van sistemi ile gözlenmesi.

Kromatogram 30 'de 1) Prokain hidroklorür % 1'lik metano-
lik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözel-
tisi; 3) Dietilaminoetanol; 4) C-2 serisi "A" çözeltisi;
5) C-2 serisi "B" çözeltisi; 6) C-2 serisi "C" çözeltisi;
7) C-2 serisi "D" çözeltisi.



Kromatogram 30 : C-2 serisi
çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ ta-
bakalarında, kloroform-metanol-
etanol-dietilamin-dimetilforma-
mid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan
sistemi ile gözlenmesi.

Kromatogram 31 'de 1) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 2) 4-Aminobenzoik asid % 1'lik etanolik çözeltisi; 3) Dietilaminoetanol; 4) C-3 serisi "A" çözeltisi; 5) C-3 serisi "B" çözeltisi; 6) C-3 serisi "C" çözeltisi; 7) C-3 serisi "D" çözeltisi.



Kromatogram 31 : C-3 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında, kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

% Kons. a/h	R E N K L İ		R E N K S İ Z	
	Azotlu A	Azotsuz B	Azotlu C	Azotsuz D
1.5	4.16	5.83	8.33	10
5	5	7	10	12
10	10.62	12.5	13.75	15.62

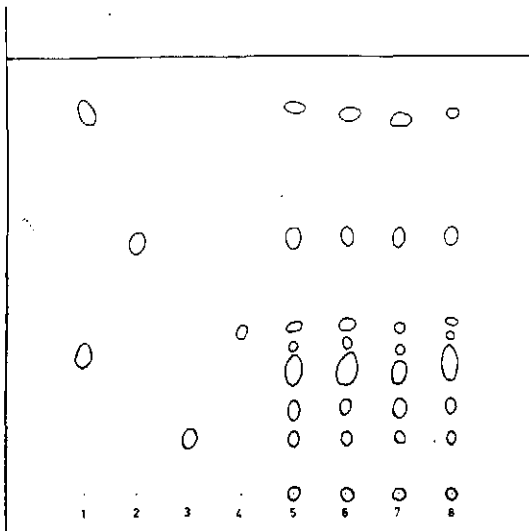
Tablo 23 : Kaynatılmış, soğutulmuş azot gazı geçirilmek (2 saat) suretiyle moleküler oksijeni minimuma indirilmiş distile su ile % 1.5, %5, % 10 prokain hidroklorür ve her üç kon-

santrasyon için de % 50 sodyum novaminsulfonat (a/h) taşıyan GELMAN GA-8 filtreden süzülerek sterilize edilen (C-4), (C-5), (C-6) serisi kombine enjektabl çözeltilerin 10 gün sonundaki miktar tayini sonuçları (yüzde kayıp olarak):

Aynı seri (C-4), (C-5), (C-6) enjektabl çözeltilerde 180 gün sonundaki durum kromatografik yolla da gözlenmiştir. Kromatografide miktar tayini için kullanılan kromatografi sistemi ve aynı miktarda (2,0.5,0.4 ul) çözelti tatbik edildi.

Uygulamada test maddeleri ve ampuller şu sıra takip edilerek tatbik edilmiştir.

Kromatogram 32 'de 1) Sodyum novaminsülfonat %1'lik metanolik çözeltisi; 2) Prokain hidroklorür %1'lik metanolik çözeltisi; 3) 4-Aminobenzoik asid %1'lik metanolik çözeltisi; 4) Di- etilaminoetanol; 5) C-4 serisi "A" çözeltisi; 6) C-4 serisi "B" çözeltisi; 7) C-4 serisi "C" çözeltisi; 8) C-4 serisi "D" çözeltisi.



Kromatogram 32 : C-4 serisi çözeltilerin Silikagel GF₂₅₄ tabakalarında kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen (94:10:2:4:8:4) solvan sistemi ile gözlenmesi.

B- Teşekkül eden maddelerin ince tabaka kromatografisinden elüsyonla elde edilişi

Maddelerin ince tabaka kromatografisinden elüsyonla kazanılmasında daha önce hazırlanışı anlatılan adsorban tabakalarına %10 prokain hidroklorür-%50 sodyum novaminsülfonat ampullerinden 120°C'de sterilize edilerek hazırlanmış ve aynı şartlarda bekletilmiş seriden preparatif tatbik edilerek, kloroform-metanol-etanol-dietilamin-dimetilformamid-benzen(94:10:2:4:8:4) sisteminde developpe edildi. Bunu takiben havada bırakılarak solvanın uçması temin edildi ve uv ışık altında lekeler işaretlenerek her maddeye ait bölge kazınarak ayrı kaplara aktarıldı. Bundan sonra işleme her madde için ayrı ayrı devam edildi.

a- 4-(2-Dietilaminoetoksikarbonil)anilinometilensülfonat

Toplanan adsorban metanol ile ekstre edildi, metanol porsiyonları bir araya toplanıp kantitatif süzgeç kağıdından ve G₃ cam filtreden süzüldü ve düşük ısıda rotavaporda yoğunlaştırıldı, alınan bir numunenin ince tabaka kromatografisinde saflığı kontrol edildi, saf olduğu görüldüğünde kuruluğa kadar uçuruldu. Bakiye metanol-eter karışımından kristallendirildi.

b- 4-Aminobenzoik asid(2-dietilaminoetilester)N₁sülfon asidi

Maddeye ait bölgeden toplanan adsorbana a' maddesi için uygulanan işlemler tatbik edildi. Ancak bakiyenin kristalizasyonunda eter kullanıldı.

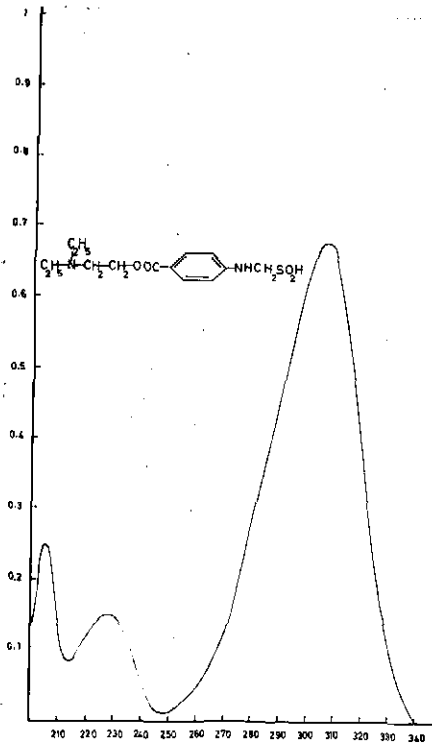
C- Teşekkül eden maddelerin spektral analizi :

Sodyum novaminsülfonat-prokain hidroklorür kombine enjektabl çözeltilerinde teşekkül eden maddelerin yapılarının aydınlatılmasında mukayese imkanını sağlamak amacıyla sentez yoluyla kazanılan maddelerinde spektral analizi yapılmıştır. Mukayesenin kolay olması için sentezle kazanılan maddelerin ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan maddelerin spektrumları birlikte verilmiştir.

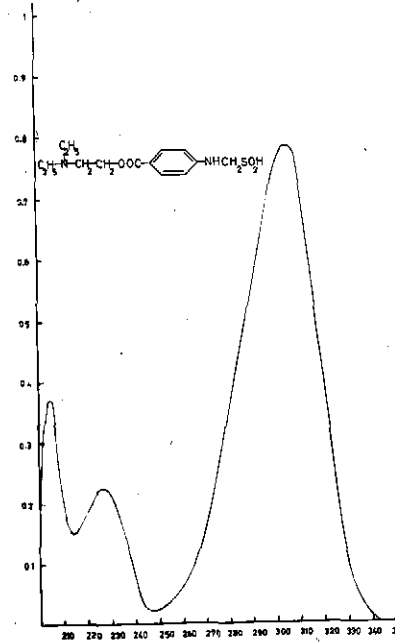
Her iki yolla elde edilen maddelerin spektrumlarında tuttukları kristal suyu miktarının dışında farklılık olmadığından değerlendirmede sadece preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan maddelere ait olanlar açıklanacaktır.

a - 4-(2-Dietilaminoetoksikarbonil) anilinometilen sülfinat :

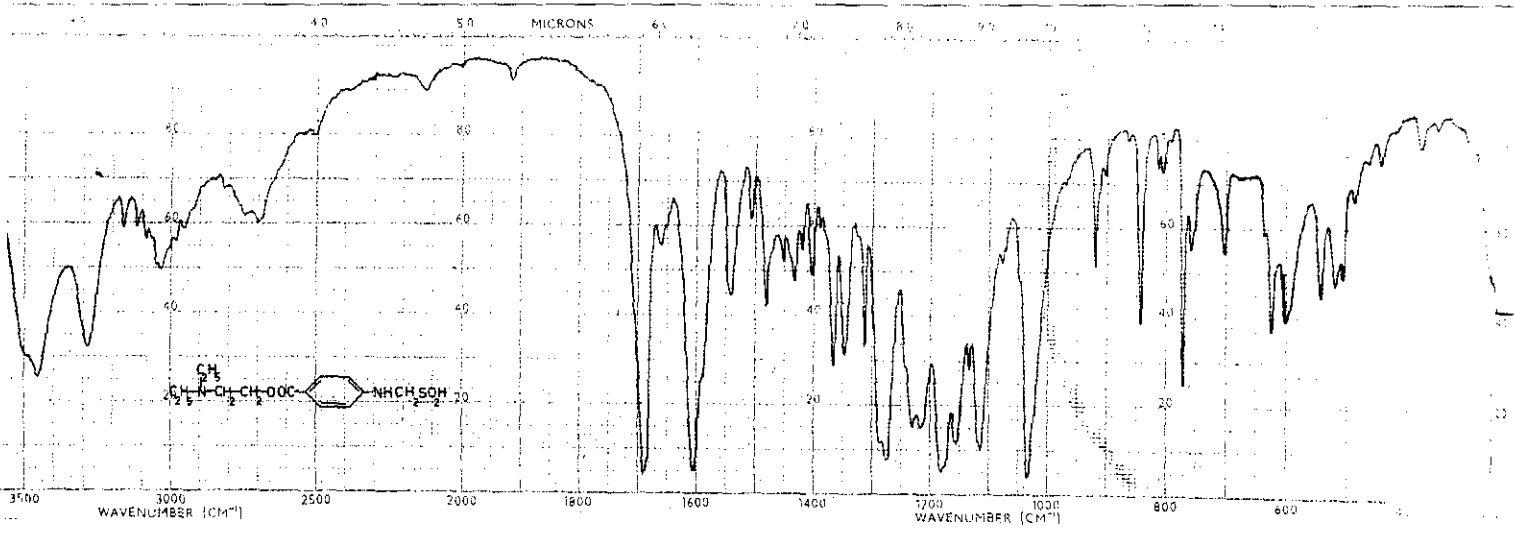
aa - UV Spektral Analizi : İki şekilde de elde edilen maddelerin 1 mg'ı 100 ml. susuz metanolde çözüldü, dakikada 50 nm tarama hızı ile şahid olarak susuz metanol kullanılarak UV spektrumları alındı (Spektrum 1 ve 2).



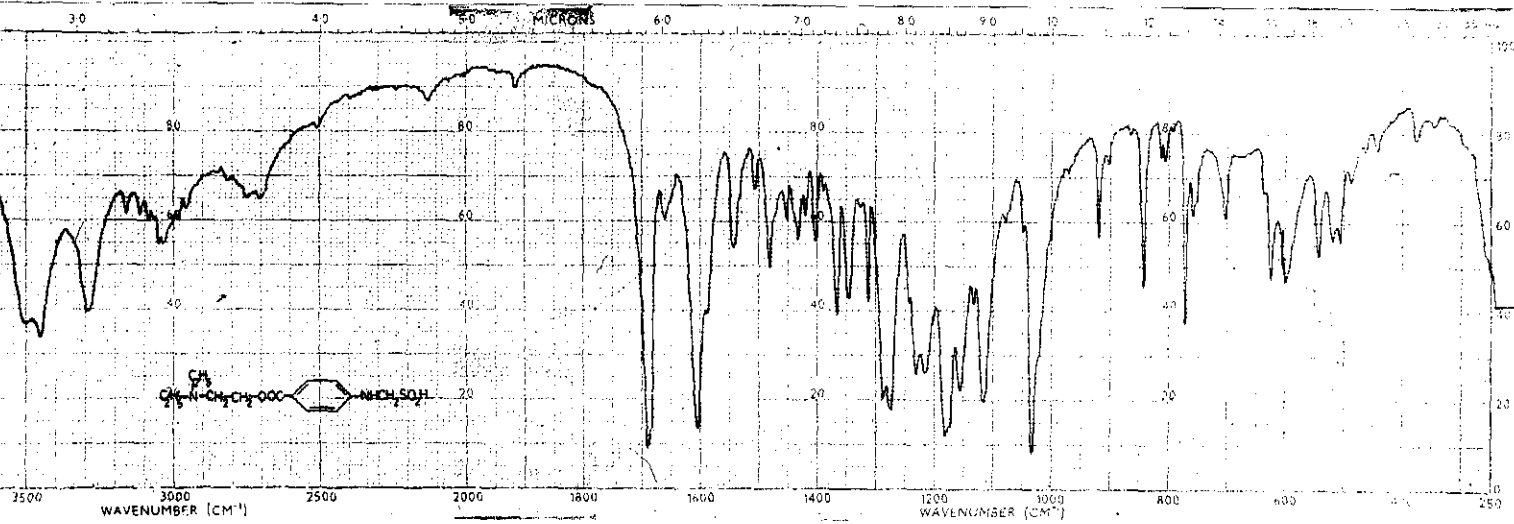
Spektrum 2 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-(2-Dietilaminoetoksikarbonil) anilinometilen sülfinat'a ait UV spektrumu



bb - IR Spektral Analizi : Spektrumlar potasyum bromür pelletinde alınmıştır.



Spektrum 3 : Sentezle kazanılan 4(2dietilaminoetoksi-karbonil) anilinometilen sülfinat'a ait IR spektrumu

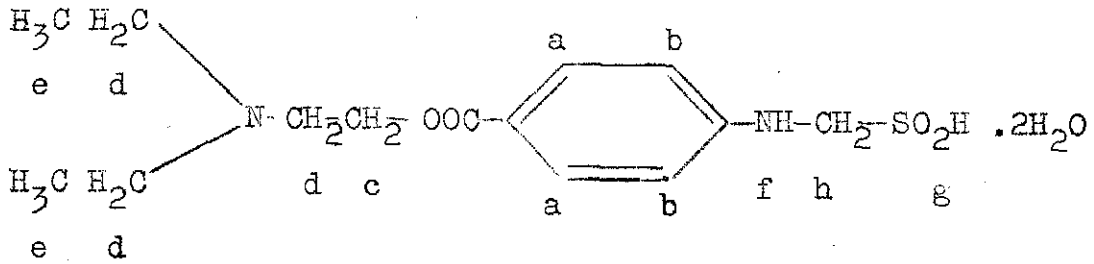


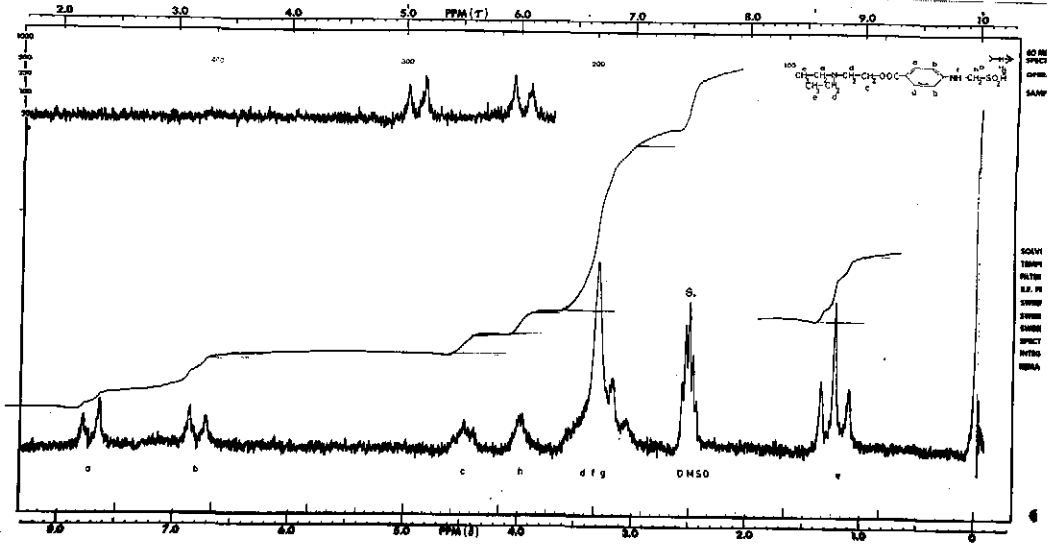
Spektrum 4 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-(2-Dietilaminoetoksi-karbonil) anilinometilen sülfinat'a ait IR spektrumu

Spektrum 4'te karakteristik pikler : 1605, 1540, 1480 cm^{-1} , de aromatik halka (C=C gerilme) ; 843 cm^{-1} , de benzen halkası p-disübsititüsyonunu gösteren (C-H eğilme) ; 1690 cm^{-1} , de ester (C=O gerilme) ve 1120 cm^{-1} , de ester (-C-O gerilme) ; 1400 cm^{-1} , de tersiyer alifatik amin (C-N gerilme); 3285 cm^{-1} , de aromatik amin (N-H gerilme) ; 1290, 1275 cm^{-1} , de aromatik amin (C-N gerilme); 1180, 1035 cm^{-1} , de sülfirik asid (S=O gerilme); 920 cm^{-1} , de (S-O gerilme), 3505, 3450 cm^{-1} (O-H gerilme) ve 1230, 1215 cm^{-1} , de $\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}^+$ hidronyum bantları gözlenmiştir.

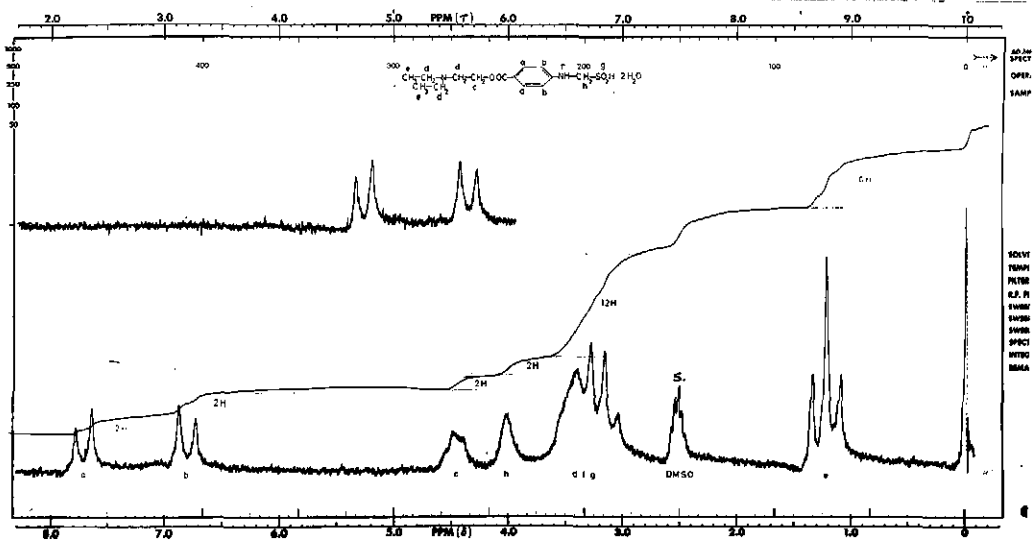
cc \rightarrow NMR Spektral Analizi :

Spektrumlar DMSO-d_6 ' da (internal referans olarak TMS kullanılmıştır) alınmıştır.





Spektrum 5 : Sentezle kazanılan 4-(2-Diethylaminoetoksikarbonil) anilinometilen sülfinat'a ait NMR spektrumu

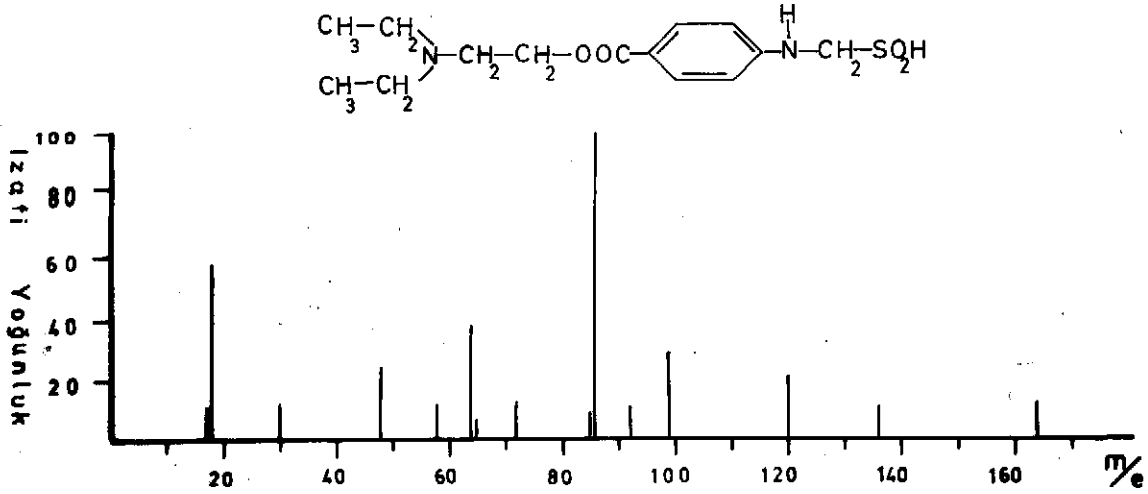


Spektrum 6 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-(2-Diethylaminoetoksikarbonil) anilinometilen sülfinat'a ait NMR spektrumu

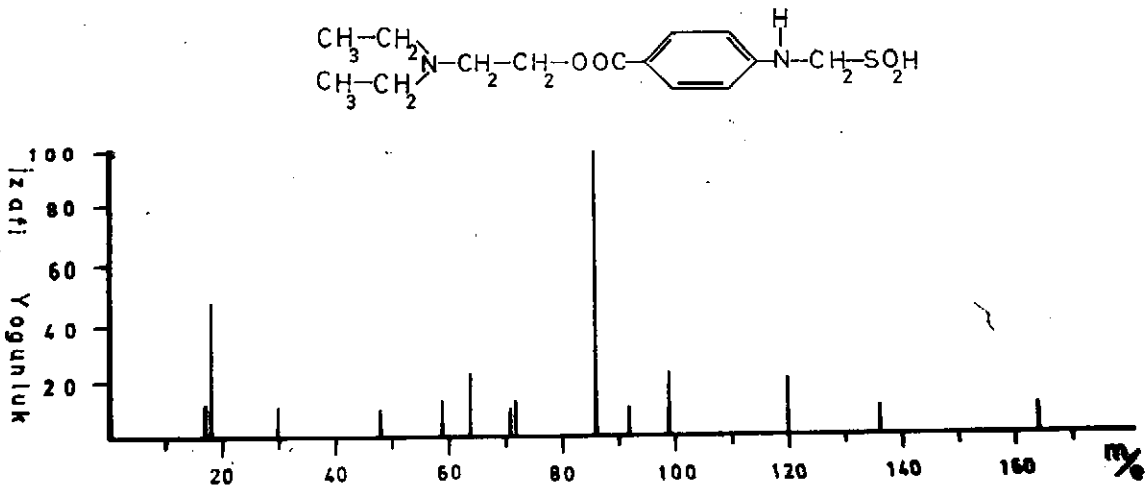
Spektrum 6'da şu sinyaller gözlenmiştir

- 1.36 ppm Etil gruplarındaki (e) metil protonlarına ait triplet (Entegral değeri 6H)
- 3.1-3.6 ppm Tersiyer amin grubu (d) protonları, $2H_2O$ protonları ve aromatik amin (f) protonları ile sülfirik asid (g) protonlarına ait yaygın sinyal
(Entegral değeri 12H)
- 4.42 ppm Ester fonksiyonunu yapan karbon atomundaki (c) protonlarına ait yaygın sinyal
(Entegral değeri 2H)
- 4.01 ppm Aromatik amine bağlı (f) metilen protonlarına ait yaygın sinyal
(Entegral değeri 2H)
- 6.68 ppm Amin grubuna göre orto pozisyonundaki (b) aromatik halka protonlarına ait dublet
(Entegral değeri 2H)
- 7.8 ppm Açıl grubuna göre orto pozisyonundaki (a) aromatik halka protonlarına ait dublet
(Entegral değeri 2H)

dd - Kütle Spektral Analizi :



Spektrum 7: Sentezle kazanılan 4-(2-Dietilaminoetoksi-karbonil) anilinometilen sülfinat'a ait kütle spektrumu



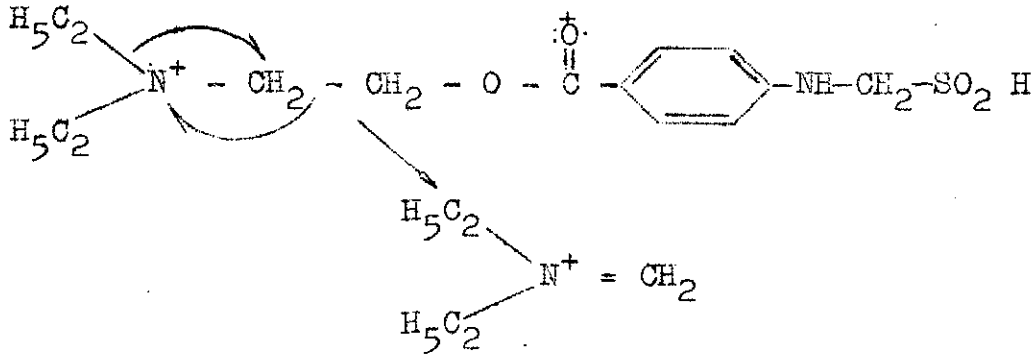
Spektrum 8 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-(2-dietilaminoetoksi-karbonil) anilinometilen sülfinat'a ait kütle spektrumu

Spektrum 8'de şu sinyaller gözlenmiştir.

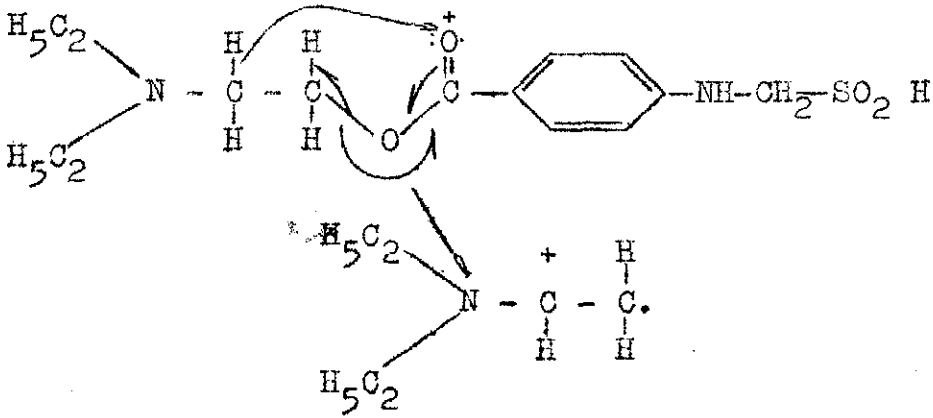
Kütle spektrumlarında saha desorpsiyon kimyasal iyonizasyon yöntemi ile çalışılmadığından sadece elektron iyonizasyon yöntemi uygulandığından molekül piki veya ilk molekül fragmantasyonu tespit edilememiştir (Walter, 1970).

Spektrumdaki % 100'lük baş pikin en fazla elektron akseptör δ bağından olacağı açıktır.

Primer parçalanmalarda :



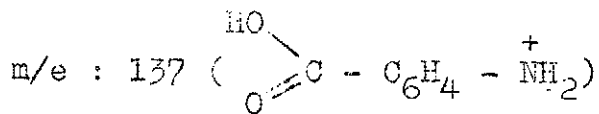
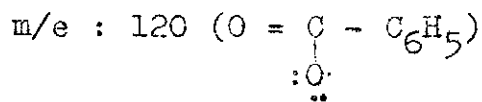
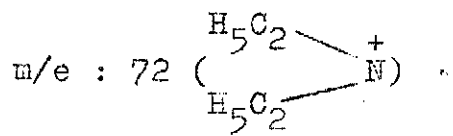
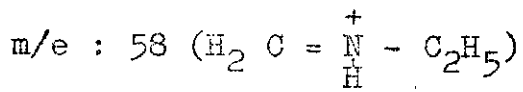
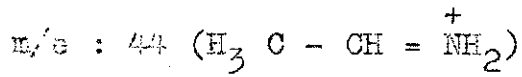
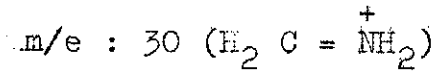
m/e : 86



m/e : 99

anyonları teşekkül etmektedir.

Sekonder parçalanmalarda :



anyonları teşekkül etmektedir.

ee- Elemanter Analiz :

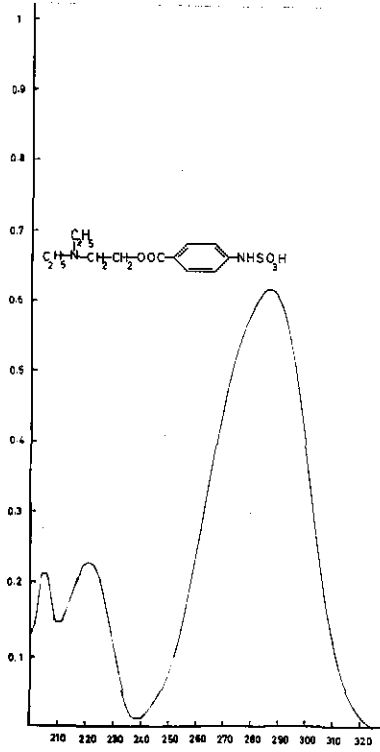
Hesaplanan : C:47.97 ; H:6.32 ; N:7.99 ; S:9.15

Bulunan : C:48.29 ; H:6.94 ; N:8.01 ; S:9.23

b- 4-Aminobenzoik asid (2-dietilaminoetilesteri)

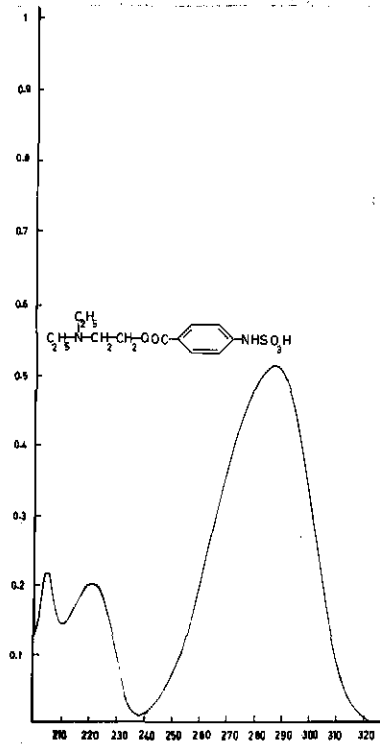
N₁ sülfon asidi :

aa - UV Spekt~~ral~~ Analizi : İki şekilde de elde edilen maddelerin 1 mg'ı 100 ml. susuz metanolde çözüldü, dakikada 50 nm tarama hızı ile şahid olarak susuz metanol kullanılarak UV spektrumları alındı. (Spektrum 9 ve 10).



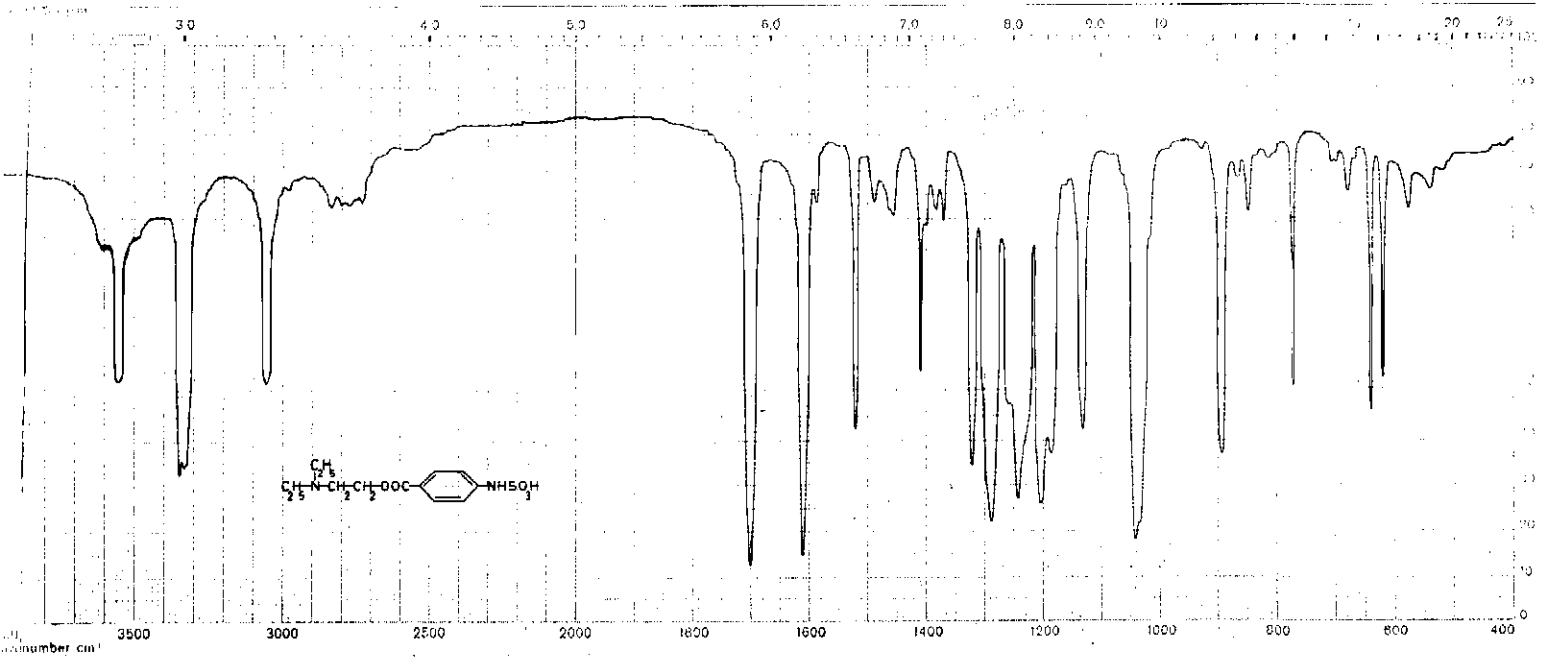
Spektrum 9 : Sentezle kazanılan
4-Aminobenzoik asid (2-dietilaminoetilesteri) N₁ sülfon asidi'ne ait UV spektrumu

Spektrum 10: Beklemiş kombineline çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-aminobenzoik asid(2-dietilaminoetilesteri)N₁ sülfon asidi'ne ait UV spektrumu

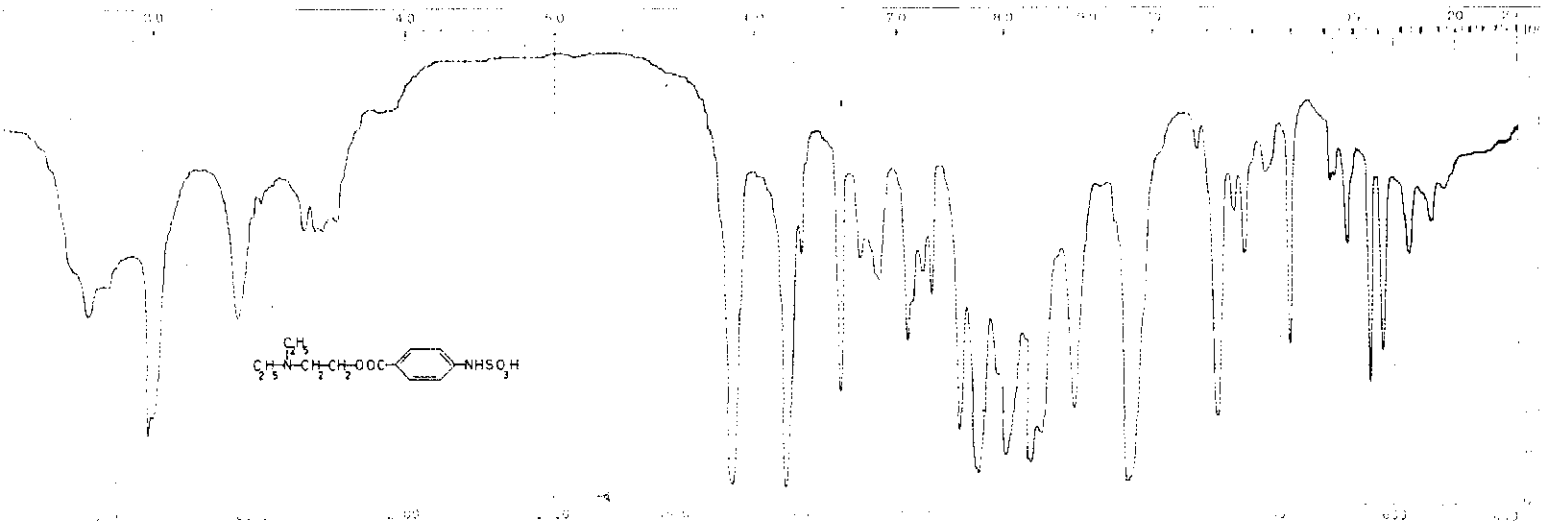


Spektrum 10'da maksimumlar 205 nm, 220 nm ve 287 nm'de tespit edilmiştir.

bb- IR Spektral Analizi : Spektrumlar potasyum bromür pelletinde alınmıştır.



Spektrum 11 : Sentezle kazanılan 4-aminobenzoik asid (2-dietilaminoetilesteri) N₁ sülfon asidi'ne ait IR spektrumu

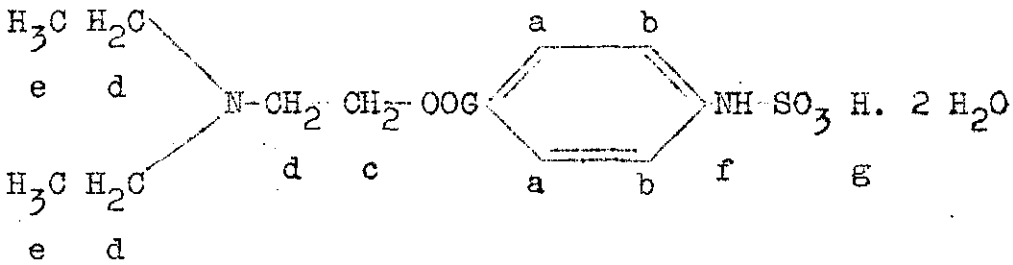


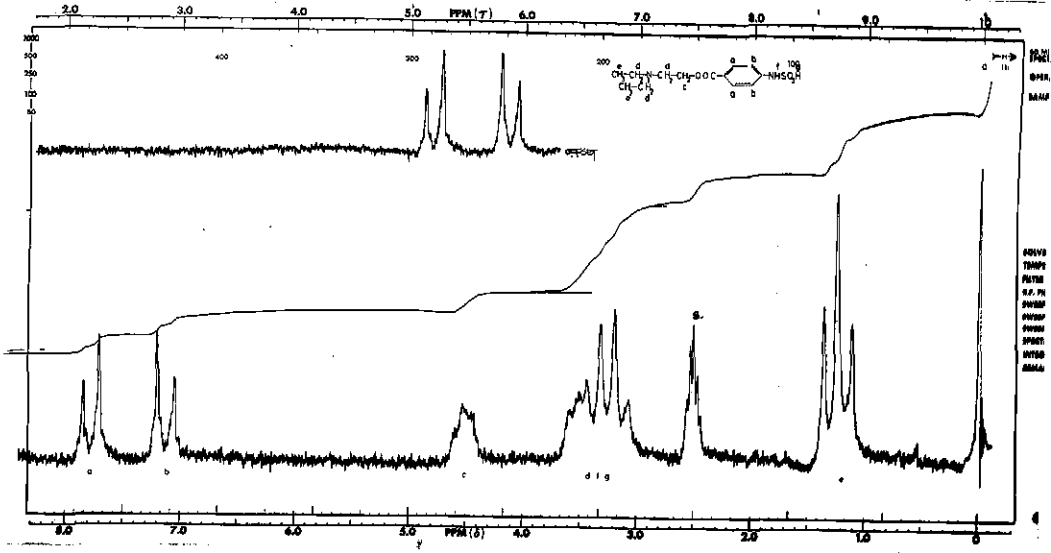
Spektrum 12 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-aminobenzoik asid (2-dietilaminoetilesteri) N₁ sülfon asidi'ne ait IR spektrumu

Spektrum 12'de karakteristik pikler : 1610, 1520, 1455 cm^{-1} , de aromatik halka (C = C gerilme) ; 848 cm^{-1} , de benzen halkası p-disüstitüsyonunu gösteren (C - H eğilme) ; 1700 cm^{-1} ester grubu (- C = O gerilme) ve 1130 cm^{-1} ester grubu (- C - O gerilme) ; 1410 cm^{-1} , de alifatik amin (C - N gerilme) ; 3350 cm^{-1} 'de aromatik amin (N - H gerilme) ; 1290 cm^{-1} , de aromatik amin (C - N gerilme) ; 1040 cm^{-1} , de sülfonik asid (S = O gerilme) ; 890 cm^{-1} , de (S - O gerilme), 3550 cm^{-1} , de (O - H gerilme) ; 1200 cm^{-1} , de $\text{SO}_3^- \text{H}_3\text{O}^+$ hidronyum bantları gözlenmiştir.

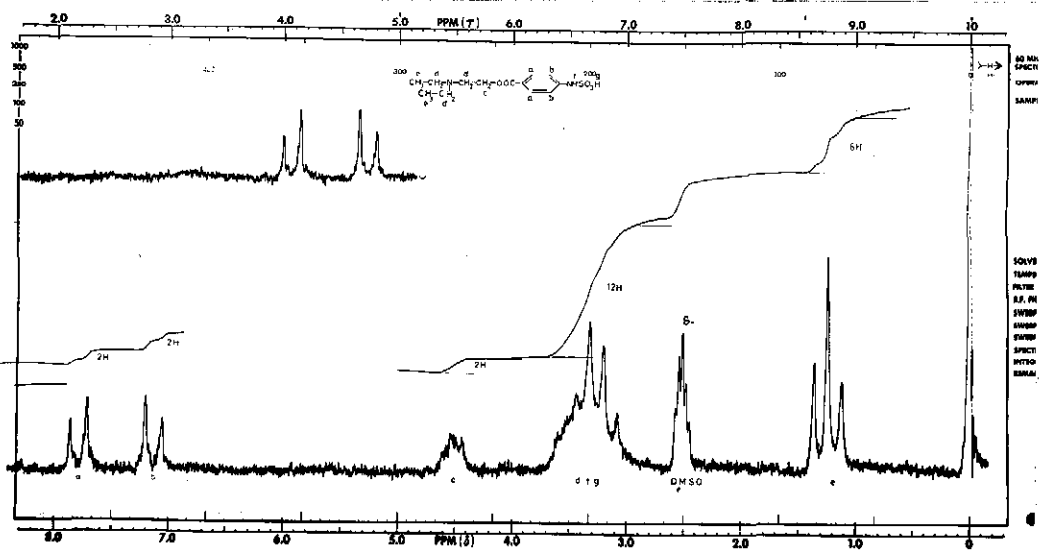
cc - NMR Spektral Analizi :

Spektrumlar DMSO-d_6 ' da (internal referans olarak TMS kullanılmıştır) alınmıştır.





Spektrum 13 : Sentezle kazanılan 4-aminobenzoik asid
(2-diethylaminoetilesteri) N₁ sülfon asidi'ne ait NMR spektrumu



Spektrum 14 : Beklemiş kombine çözeltilerden preparatif
ince tabaka kromatografisi ile ayrılan 4-aminobenzoik asid
(2-diethylaminoetilesteri) N₁ sülfon asidi'ne ait NMR spektrumu

Spektrum 14' te şu sinyaller gözlenmiştir :

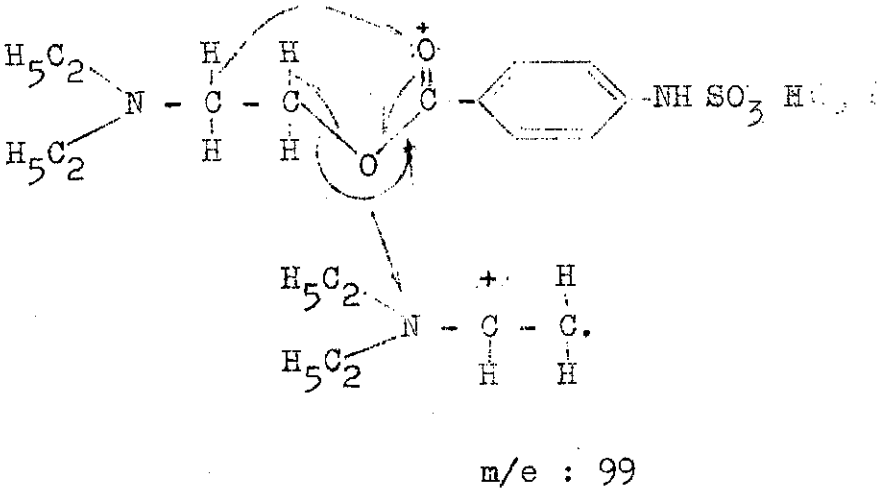
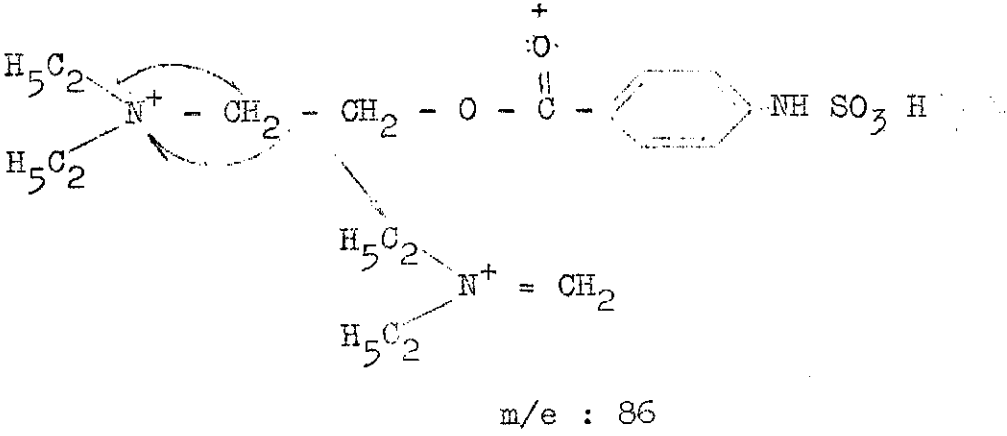
- 1.36 ppm Etil gruplarındaki (e) metil protonlarına ait triplet
(Entegral değeri 6H)
- 3.22-3.40 ppm Tersiyer amin grubu (d) protonları, H₂O protonları ve aromatik amin (f) protonları ile sülfonik asid (g) protonlarına ait yaygın sinyal.
(Entegral değeri 12 H)
- 4.42 ppm Ester fonksiyonunu yapan karbon atomundaki (c) protonlarına ait yaygın sinyal
(Entegral değeri 2H)
- 7.02 ppm Amin grubuna göre orto pozisyonundaki (b) aromatik halka protonlarına ait dublet
(Entegral değeri 2H)
- 7.71 ppm Açıl grubuna göre orto pozisyonundaki (a) aromatik halka protonlarına ait dublet
(Entegral değeri 2H)

Spektrum 16'da şu sinyaller gözlenmiştir :

Kütle spektrumlarında saha desorpsiyon kimyasal iyonizasyon yöntemi ile çalışılmadığından sadece elektron iyonizasyon yöntemi uygulandığından molekül piki veya ilk molekül fragmentasyonu tespit edilememiştir (Walter, 1970).

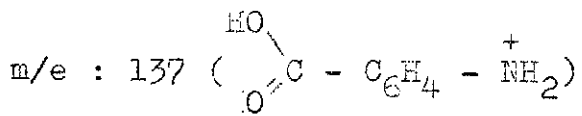
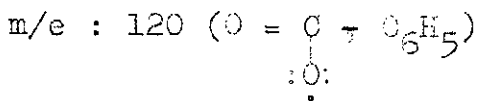
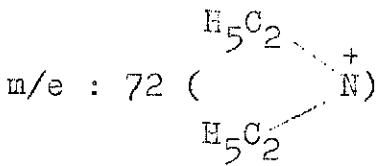
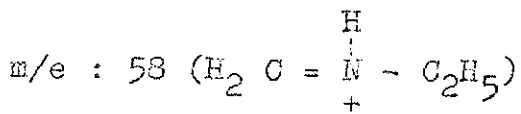
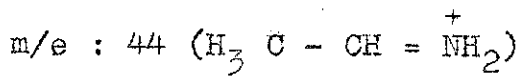
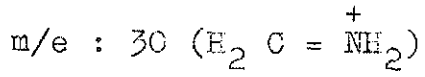
Spektrumdaki % 100'lük baş pikin en fazla elektron akseptör δ bağından olacağı açıktır.

Primer parçalanmalarda :



anyonları teşekkül etmektedir.

Sekonder parçalanmalarda :



anyonları teşekkül etmektedir.

IV- TARTIŞMA VE HÜKÜM

Bu çalışmada kombine çözeltilerde sodyum novaminsülfo-
nat'ın, prokain hidroklorür stabilitesi üzerindeki etkisi araş-
tırılmıştır.

Çalışmada kombine çözeltilerde teşekkül eden maddelerin
ayrılarak teşhisinde ve buradan miktar tayinine geçişte ince
tabaka kromatografisi yöntemi uygulanmıştır.

Her iki maddenin ince tabaka kromatografisi ile teşhi-
sine ait literatürde kayıtlı çeşitli adsorbanlar, solvan sis-
temleri ve reaktifler denenmiştir.

Ancak kombine çözeltilerin teşhisinde bu sistemler ile
sonuç alınamamıştır. Amacımıza uygun sonuç Silikagel GF₂₅₄ ad-
sorbanı ve kloroform-metanol-benzen-etanol-dietilamin-dimetil-
formamid (4:10:4:2:4:8) solvan sisteminde alınmıştır. Denenen
reaktiflerden, bu sistem için U.V. ışığı ve Ehrlich reaktifi en
hassas bulunmuş ve kullanılmıştır. 2-Dietilaminoetanol'ün teş-
hisi Dragendorff reaktifi ile yapılmıştır.

Amacımız kombine çözeltilerdeki etkileşimin gözlenmesi
olduğundan, mukayese imkanını yaratmak için kombine çözeltiler-
le aynı şartlarda prokain hidroklorür içeren seriler hazırlan-
mıştır.

Sonucun kesinlikle gözlenebilmesi için stabilite üzerin-
de etkin ısı, ışık, oksijen gibi faktörler ayrıca konsantrasyon
faktörü göz önüne alınarak bu şartları minimum seviyede tutarak

seriler hazırlanmıştır.

Stabilitede etkili faktörlerin tetkiki için yapılan gruplamada

1- Oksijenin etkisinin araştırılması amacıyla enjektabl preparatlar kaynatılıp, soğutulmuş, azot gazı geçirilmek suretiyle moleküler oksijeni (polarografik yöntemle saptanarak) minimuma indirilmiş distile su kullanılarak hazırlanmış ve ayrıca ampullerden bir grup azot atmosferinde muhafaza edilmiştir.

2- Işığın etkisinin araştırılması amacıyla enjektabl preparatlar renkli ve renksiz ampullerde muhafaza edilmiştir.

3- Isının etkisinin araştırılması amacıyla enjektabl preparat tiplerinde sterilizasyon 100°C ve 120°C 'de ve steril filtrasyon suretiyle yapılmıştır.

4- Bu gruplamalar oksidasyon şartlarının minimuma indirilmesini amaçladığından enjektabl çözeltilere çeşitli antioksidanların ilavesi ile de bir seri preparat hazırlanmıştır.

Miktar tayini metodunun seçiminde de öncelikle literatürde kayıtlı spektrofotometrik ve kolorimetrik metodlar Silikagel GF₂₅₄ tabakalarına uygulanmıştır.

Spektrofotometrik ve bir kısım kolorimetrik metodların bu uygulamasında maddenin ve boyanın adsorban tarafından ölçülebilir değerde adsorbe edilmesi nedeniyle netice alınamamıştır.

Diğer bir grup kolorimetrik uygulamada ise serilerimizin konsantrasyon aralığının % 1.5-10 gibi geniş farklılık göstermesi metodların hassasiyet hudutlarının dışında kalmasına neden olduğundan sonuç alınamamıştır.

Ancak Zabrak ve diğ. (1971)'in fenazon grubu maddelerin

tayinine uyguladıkları kolorimetrik metod değiştirilerek uygulandığında sonuç tatminkar olmuş ve miktar tayininde bu metod kullanılmıştır.

Miktar tayini ve kromatografik bulgulara nazaran ;

a - Prokain hidroklorür içeren serilerde gözlenen neticeler genellikle literatür bulgularına paraleldir.

Bu serilerde, her üç konsantrasyon (% 1.5-5-10) için de Schou (1959) un kabul ettiği parçalanma nispetinin (% 10) üzerinde bir parçalanma tespit edilmemiştir.

Bu çözeltilerde oksijenin (suda ve havada bulunan) parçalanmayı belli miktarda önlediği ancak bunun önemli ölçüde olmadığı görülmüştür.

Antioksidanların ilavesinde çözeltilerin genellikle renksiz kaldığı ancak kullanılan antioksidana bağlı olarak parçalanmanın değişik oranlarda etkilendiği görülmüştür.

İdeal şartın renkli, azotlu, steril filtrasyonla hazırlanma olduğu görülmüş, sterilizasyon ısısının en önemli faktör olduğu, hava oksijeni ve ışığın daha az etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

b - Prokain hidroklorür ve sodyum novaminsülfonat içeren seriler prokain hidroklorür içeren serilerle aynı şartlarda hazırlanmış ve deney şartları da sabit tutulmuştur.

Sonuç olarak kombine çözeltilerde sodyum novaminsülfonat varlığının prokain hidroklorür stabilitesini önemli ölçüde etkilediği gözlenmiştir. Bu etki değişik serilerdeki şartlara göre farklı oranlarda olmakla beraber en ideal durumda dahi Schou (1959) un hudutları içinde bulunmamaktadır.

Ayrıca kombine çözeltilerde iki madde isole edilerek sodyum novaminsülfonat'ın prokain hidroklorür'le etkileşim gösterdiği ispatlanmıştır. İsole edilen maddelerin daha önce değişik amaçla yapılan sentezinde LD₅₀' leri yapılmış ve lokal anestezik etkilerinin olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmada isole edilen maddelerin sentezi yapılan maddelerle aynı olduğu spektral analizlerle ispatlandığından, bu sonuç prokain hidroklorür'ün sodyum novaminsülfonat'lı çözeltilerde lokal anestezik etkisinde bir azalmayı göstermektedir.

Sonuç olarak özetlenirse bu iki maddenin kombine çözelti halinde denediğimiz en ideal şartta dahi prokain hidroklorür açısından ilaç olarak kullanılma hududunun içinde olmadığı görülmüştür. Bu nedenle maddelerin ayrı ampullerde verilmesinin daha uygun olacağı görüşü benimsenmiştir.

Ö Z E T

Bu çalışmada enjektabl çözeltilerde sodyum novaminsülfonat'ın prokain hidroklorür stabilitesi üzerinde etkili olup olmadığı araştırılmıştır.

Işık,ısı,oksijen ve konsantrasyon gibi faktörlere göre çeşitli değişkenlerin etkisinde yürütülen çalışmada prokain hidroklorür miktarı ince tabaka kromatografisinde ayırmayı takiben kolorimetrik metodla yapılmıştır.

Sodyum novaminsülfonat-prokain hidroklorür kombine çözeltilerinden elde edilen kolorimetrik ve kromatografik bulgular aynı şartlarda hazırlanan ve bekletilen prokain hidroklorür çözeltileri bulguları ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak sodyum novaminsülfonat'ın prokain hidroklorür stabilitesi üzerinde önemli ölçüde etkili olduğu saptanmıştır.

Ayrıca,etkileşim neticesi kombine çözeltilerde teşekkül eden maddeler tecrid edilerek spektral analizleri yapılmış ve yapıları aydınlatılmıştır.

K A Y N A K L A R

- 1 - Agren, A., CONGR. SCI. FARM. CONF. COMUN.: 21, Pisa (1961)
- 2- Algeri, E. J., ve J. T. Walker, AM. J. CLIN. PATHOL.:
22, 37 (1952)
- 3 - Altinkurt, T., DOKTORA TEZİ .: İst. Univ. Scz. Fak. , 1967
- 4 - Alt'schuler, G. N., Yu. S. Porodnova ve Yu. A. Makarov :
VHIM. FARM. ZH. 3(7), 38 (1969) - Ref. C.A. 71, 128640
(1969)
- 5 - Alwas, I., ve A. B. Narbutt-Mering, ACTA POLON. PHARM. :
15, 31 (1958)
- 6 - Amâl, E., FARMASOTİK KİMYA III. Arif Kitabevi Matbaası,
İstanbul, 1965.
- 7 - Amâl, E., E. Gürsu, ve S. Demir. INT. SYMP. CHROMATOGR.
ELECTROPHORESIS : 5 th., (1968) - Ref.: C.A.: 72,
28191 (1970)
- 8 - Andersen, H., DANSK. TIDS. FARM. : 25, 372 (1951)
- 9 - Ansbacher, S., SCIENCE : 93, 164 (1941)

- 10- Aoki, K., Y. Iwayama, ve N. Yata, YAKUGAKU ZASSHI :
82, 918 (1962)
- 11- Arancibia, A., ve M. Sacre, PHARMACO ED. PRAT. : 19 (11)
567 (1964)
- 12- Aras, K. ve G. Erşen, TIBBİ BİYOKİMYA VİTAMİNLER, Ankara
Üniversitesi Basımevi, 1967
- 13- Asahina, H., ve Y. Shiuchi, EISEI SHIKENJO HOKOKU . :
76, 65 (1958)
- 14- Aslan, A., ŞARHİ MEBLÂĞERE, 1974
- 15- Auerbach, M. E. ve M. E. Tuckerman, J. AM. PHARM. ASSOC. :
48, 194 (1959)
- 16- Aven, A. ve J. F. Foldes, SCIENCE . : 114, 206 (1951)
- 17- Bacco, G. D., BOLL. CHIM. FARM. : 99, 208 (1960)
- 18- Baeschlin, E. ve J. C. Etter, SCHWEIZ. APOTHE. ZTG. : 106 (26)
935 (1968)
- 19- Baggiolini, L. ve B. Dewald, J. CHROMATOGR. : 30 (1) 256
(1967)
- 20- Balica, Ch. ve Il. Stefan, REV. CHIM. (Bucharest) . : 24 (5)
390 (1973) - Ref.: C.A.: 80, 52419 (1974)
- 21- Bandelin, F. J. ve C. R. Kemp, IND. ENG. CHEM. ANAL. ED. : 18,
470 (1946) - Ref.: Lit. 42'ye göre
- 22- Banfi, R. F. ve R. J. Wikinski, REV. ASOC. BİOQUİM. ARG. : 29
(153) 100 (1964)

- 23- Baptista, A. AN.ACAD.BRASIL.CHEM. : 39 (2) 257 (1967)
- 24- Barakat, M.Z., S.K.Shabab, ve M.El-Shabrawi, DRUG.STANDARDS. :
27, 27 (1959)
- 25- Bartos, J., ANN.PHARM.FRANC. : 19, 610 (1961)
- 26- Bassl, A., H.J.Heckermann ve E.Baumann, J.PRAKT.CHEM. :
36 (5-6) 265 (1967)
- 27- Bastide, P., ve G.Dastugue, THERAPIE. : 8, 744 (1953)
Ref.: C.A.: 48, 5370 (1954)
- 28- Belles, Q.C., E.W.Sievert ve F.L. Wash, J.LAB.CLIN.MED. :
46 (4) 628 (1955)
- 29- Belovsova, E.M. ve I.I.Seifullina, ZH.OBSHCH.KHIM. : 40
(11) 2532 (1970) - Ref.: C.A.: 74, 125017 (1971)
- 30- Beral, H., E.Demetrescu, V.Stoicescu P.Grintesco ve I.
Calafeteanu, PHARM.ZEITUNG 102, 11 (1963) - Ref.:
C.A.: 58, 13723 (1963)
- 31- Beral, H., C.Ivan ve V. Stoicescu, REV.CHIM (Bucharest)
16 (5) 294 (1965)
- 32- Bernsntein, V.N., UCHENYE ZAPISKI PYATIGORSK FARM.INST. :
2, 219 (1957) - Ref.: C.A.: 55, 907 (1961)
- 33- Bertetti, J., ANN.CHIM. (Rome) : 44, 495 (1954)
- 34- Bessot, L., ANN.PHARM.FRANC. : 8, 520 (1950)
- 35- Bican-Fister, T., ACTA PHARM.JUG. : 12, 73 (1962)
- Ref.: C.A.: 58, 13721 (1963)

- 36- Bican-Fister, T., B. Pavelic ve J. Merkas, ACTA PHARM. JUG. :
23, 17 (1973)
- 37- Biggs, A. I., J. PHARM. PHARMACOL. : 4, 479 (1952)
- 38- Biglino, G., IL. FARMACO ED. SCI. : 12 (1) 237 (1957)
- 39- Blagojevic, B., S. Hague ve K. Nikolic, ACTA PHARM. JUG. :
17 (2) 123 (1967)
- 40- Bluemer, T. ve J. A. Patel, AMER. J. HOSP. PHARM. : 27 (12)
1009 (1970)
- 41- Boichinov, Khr., FARMATSIIYA. : 11 (3) 33 (1961)
- Ref.: C.A.: 55, 23927 (1961)
- 42- Boltze, E. H., H. Hofmann, ve H. Katzmann, PHARMAZIE : 10,
713 (1955)
- 43- Boltze, E. H. ve H. Katzmann, ARZNEIMITTEL-FORSCH. : 5, 637
(1955)
- 44- Bonnard, J., J. PHARM. BELG. : 21 (7-8), 363 (1966)
- 45- Bose, P. C., L. V. Kannan, ve G. K. Ray, J. SCI. IND. RESEARCH. :
20 D, 214 (1961)
- 46- Braun, E., ARCH. KLIN. CHIR. : 69, 541 (1903) - Ref.: Lit.
56 'a göre
- 47- Brealey, L. ve K. A. Proctor, J. PHARM. PHARMACOL. : 7, 830 (1955)
- 48- Brezezicka, M. B., FARM. POL. : 27 (5) 345 (1971)
- 49- Bridenbough, L. D. ve D. J. Moore, ANESTHESIOLOGY. : 25 (3)
372 (1964)

- 50- Briggs, A.L. ve O.E.Callow, QUART.J.PHARM.PHARMACOL.: 14,
127 (1941)
- 51- BRITISH PHARMACOPOEIA (B.P.), The Pharmaceutical Press,
London (1968)
- 52- BRITISH PHARMACEUTICAL CODEX (B.P.C.) The Pharmaceutical
Press, London (1968)
- 53- Brodie, B.B., F.A.Lief, ve R.Poet, J.PHARMACOL.EXPTL.THERAP.:
94, 359 (1948)
- 54- Büchi, J., V.Lorini, ve X.Perlia, PHARM.ACTA HELV.: 47,
(1-2-3) 15 (1972)
- 55- Bullock, E., ve J.S.Cannell, QUART.J.PHARM.: 14, 241 (1941)
- 56- Burger, A.I., MEDICINAL CHEMISTRY, Wiley-Interscience,
Newyork (1970)
- 57- Burke, V.J., A.D.Potter ve R.M.Parkhurst, ANAL.CHEM.: 32,
727 (1960)
- 58- Bushkova, K.M., Ts.I.Shakh ve A.D. Kostinskaya, FARM.ZH.
(Kiev) 25 (2) 57 (1970) - Ref.:C.A.: 73, 69921
(1970)
- 59- Burghardt, H., H.Jaeger, ve M.Von Stackelberg, J.ELECTRO-
ANAL.CHEM.INTERFACIAL ELECTROCHEM.: 17 (1/2) 191
(1968)
- 60- Cannell, J.S., J.PHARM.PHARMACOL.: 3, 741 (1951)
- 61- Cardini, C., E.T. Bucci ve A.Calo, BOLL.CHIM.FARM.: 108
(3) 180 (1969)

- 62- Carter, A.B., C.L. Hebert, W.S. Dewald ve A.W. Talley,
ANESTHESIOLOGY.: 15, 480 (1954)
- 63- Castagnola, L., A. Marangoni, A. Massarotti, ve A. Riva,
SCHWEIZ. MONATSSCHR. ZAHNHEILK.: 67, 621 (1958)
- 64- Castoriano, M., HAROKIBACH HAIVRI.: 14 (1) 19 (1970)
- 65- Cheramy, P., J. PHARM. CHIM.: 30, 408 (1924) - Ref.: C.A.:
19, 1325 (1925)
- 66- Clarke, E.G.C., J. PHARM. PHARMACOL.: 8, 202 (1956)
- 67- Clarke, E.G.C. ISOLATION and IDENTIFICATION of DRUGS The
Pharmaceutical Press, London, (1969)
- 68- Coste, M. J. ve L. J. Chanal.: TRAV. SOC. PHARM. MONTPELLIER.:
29 (1) 67 (1969)
- 69- Crieep, L.H., M.D. Pittsburgh ve C.C. Ribeiro, : J.A.M.A. :
151 (14) 1185 (1953)
- 70- Curry, A.S. ve H. Powell, NATURE. : 173, 1143 (1954)
- 71- Curzon, G. ve J. Giltrow, NATURE. : 172, 356 (1953)
- 72- Dalby, R.R. ve C. Ellison, BRIT. DENTAL J.: 64, 85 (1938).
- Ref.: C.A.: 32, 3074 (1938)
- 73- Davydova, V.A., SB. NAUCHN. TR. TSENTR. APTECHN. NAUCHN. ISSLED.
INST. : 5, 105 (1964)
- 74- Deckers, J. ve A. Mueller, J. CHROMATOGR.: 17 (3) 618 (1965)

- 75- Deliyannis, A., CHIM. CRONIKA : 19 (5/6) 45 (1954)
- Ref.: C.A.: 48, 14117 (1954)
- 76- Dement'eva, N.N. ve M.I. Kuleshova, FARMATSIYA (Moscow)
20 (4) 17 (1971)
- 77- Denisov, M.D., FARMATSEVT ZH. (Kiev) : 19 (4) 45 (1964)
- 78- DEUTSCHES ARZNEIBUCH KOMMENTAR, (D.A.B. VI^{te}) Wissenschaft-
liche Verlagsgesellschaften MBH, Stuttgart (1968)
- 79- Dittmer, H.H., PHARM. PRAXIS : 2, 22 (1964)
- 80- Dominguez-Gil, A., ACTA CIENT. COMPOSTELANA : 7 (1-2) 83
(1970) - Ref.: C.A.: 75, 112828 (1971)
- 81- Dominguez-Gil, A. ve R. Cadorniga, FARMACO ED. PRAT. :
26 (7) 405 (1971a) - Ref.: C.A.: 75, 132963 (1971)
- 82- Dominguez-Gil, A. ve R. Cadorniga, FARMACO ED. PRAT. : 26
(9) 518 (1971 b) - Ref.: C.A.: 76, 66759 (1972)
- 83- Dragonesco, A.L., ANN. PHARM. FRANCO. : 5, 101 (1947)
- 84- Drost, R. H. ve J. P. Reith, PHARM. WEESEBLAD : 102, 1379 (1967)
- 85- Dubach, D. D. ve W. E. Moore, J. PHARM. SCI. : 61, (3) 386 (1972)
- 86- Duguenois, P., ANAL. CHIM. ACTA : 1, 50 (1947)
- 87- Dzottsoti, S. Kh., AZERBAIDZHAN KHIM. ZHUR. : 3, 137 (1961)
- 88- DYEING REAGENTS for thinlayer and paper chromatography,
E. Merck, Darmstadt, 1971

- 89- Eble, J.N. ve R.M. Brooker, EXPERIENTIA : 18, 524 (1962)
- 90- Eckert, T., DEUT. APOTHEKER-ZTG. : 27 (95) 646 (1955)
- 91- Eckert, T., ARZNEIMITTEL-FORSCH. : 12, 8 (1962)
- 92- Egli, R.A., DEUT. APOTHEKER-ZTG. : 110 (27) 987 (1970)
- 93- Egli, R.A., Z. ANAL. CHEM. : 259, 277 (1972)
- 94- Einhorn, A., ANN. : 131, 371 (1909) - Ref.: Lit.402'ye göre
- 95- Eissner, J., ARCH. PHARM. : 268, 322 (1930)
- 96- Ellert, H., I. Grabowska, ACTA POL. PHARM. : 14, 197 (1957)
- 97- Erbe, S.: Ger. (East) 41. 306 (1965)
- 98- Ereşeva, V.S., L.N. Porvikava, R.I. Petrova, Z.S. Morunova ve
O.K. Sivitskaya, APTECLN. DELO : 9 (3) 60 (1960)
- Ref.: C.A.: 60, 15680 (1964)
- 99- Espen, J.V., J. PHARM. BELG. : 7, 531 (1952) - Ref.: C.A.:
47, 9558 (1953)
- 100- Espersen, T., DANSK. TIDS. FARM. : 32, 99 (1958) - Ref.: C.A.:
52, 14084 (1958)
- 101- Ertel, H. ve L. Horner, J. CHROMATOGR. : 7, 268 (1962)
- 102- EXTRA PHARMACOPOEIAE (Martindale) 26. baskı, The Pharmace-
utical Press, London (1973)

- 103- Fales, H.M., G. I. A. Milne ve N. C. Law, ANAL. CHEM. : 43, 1697 (1971)
- 104- Fahmy, R. A., A. Niederwieser, G. Pataki ve M. Brenner, HELV. CHIM. ACTA. : 44, 2022 (1961)
- 105- Fastovskaya, A. Ya., N. P. Sleptsova, P. A. Kornienko ve V. S. Pugin, POROSH. MET. : 11 (9) 85 (1971) - Ref.: C.A.: 75, 143352 (1971)
- 106- Fastovskaya, A. Ya., N. P. Sleitsova, P. A. Kornienko ve V. S. Pugin, KHIM. FARM. ZH. : 5 (7) 46 (1971) - Ref.: C.A.: 75, 101260 (1971)
- 107- Feldmann, E. G., J. Mahler ve H. M. Koehler, J. AM. PHARM. ASSOC. : 47 (9) 676 (1958)
- 108- Feldmann, E. G., J. AM. PHARM. ASSOC. SCI. ED. : 48, 197 (1959)
- 109- Feldmann, E. G., H. M. Koehler, J. DENTAL RESEARCH. : 39 (2) 313 (1960)
- 110- Fike, W. W., ANAL. CHEM. : 38 (12) 1697 (1966)
- 111- Fildes, P., Lancet : 238, 955 (1940) - Ref.: C.A.: 34, 4413 (1940)
- 112- Fine, S. D., J. ASSOC. OFFIC. AGR. CHEMISTS. : 32, 663 (1949)
Ref.: C.A.: 43, 9368 (1949)
- 113- Finnegan, R. A., J. PHARM. SCI. : 54, 928 (1965)
- 114- Fischbach, E., H. Welch ve E. Q. King, J. AM. PHARM. ASSOC. : 38, 544 (1949)

- 115- Fischer, ., 1863 -Ref. 9 Lit,12'ye göre
- 116- Fischer,R. ve N.Otterbeck, SCI.PHARM. : 26, 76 (1958)
- 117- Flaschka,H., A.Holasek ve A.M.Amin, ARZNEIMITTEL-FORSCH. :
4, 38 (1954)
- 118- Foldes,F.F., D.L.Davis ve O.J.Flekss, ANESTHESIOLOGY :
17, 187 (1956)
- 119- Foster,J.S. ve J.W.Murfin, ANALYST.: 86, 32 (1961)
- 120- Frazier,W.M. ve F.W. Geisz, J.AM.HOSP.PHARM. 17, 288
(1960)
- 121- Fresen,J.A., PHARM. WEEKBL.NED. : 102 (28 659 (1967)
- 122- Fukuzawa,J. ve T.Fujiyo, YAKUZAIGAKU. : 16, 22 (1956)
- 123- Fuwa,T., T.Kido. ve H.Tanaka, YAKUZAIGAKU. : 24 (2) 123
(1964)
- 124- Gageeva,L.A., A.Z.Khizhnik ve P.L.Senov, APTECHNOE DELO. :
15 (3) 41 (1966) - Ref.: C.A.: 65, 8670 (1966)
- 125- Gal'perina,A.M., FARM.ZHUR. : 14 (3) 36 (1959) - Ref.:
C.A.: 55, 25164 (1961)
- 126- Gautier, J.A; J.Renault ve J.Rabiant, , ANN.PHARM.FRANC. :
17, 491 (1959) - Ref.: C.A.: 54, 7068 (1960)
- 127- Gelebart,F., ANN.PHARM.FRANC. : 17, 278 (1959)
- 128- Gengrinovich,A.I. ve Ya.K.Kadyrov. APTECHNOE.DELO. :
1(1) 46 (1952) - Ref.: C.A.: 46, 5260 (1952)

- 129- Gerlach, H. ve H. J. Senf, PHARM. ZEITUNG. : 105 (2) 93 (1966)
-Ref.: C.A.: 64, 14029 : (1966)
- 130- Giuffre, R., G. Moricca, R. Cavaliere. ve A. Massa, CLIN. CHIM. ACTA. : 8, 54 (1963) - Ref.: C.A.: 59, 7939 (1963)
- 131- Golcz, H., B. Kedzia, M. Schulz ve W. Kedzia, FARM. POL. : 27 (5-6) 411 (1967)
- 132- Gonzalez, M. E. S., ANALES FAC. QUIM. FARM. UNIV. CHILE : 15, 118 (1963)
- 133- Göber, E., A. Felsing ve D. Pfeifer, PHARMAZIE. : 222, 234 (1971)
- 134- Grier, W., J. PHARM. SCI. : 53 (10) 1208 (1964)
- 135- Grigorescu, E. ve A. Verbuta, REV. MED. (Targu-Lures). : 13 (3-4) 349 (1967)
- 136- Grossman, L. I., J. AM. DENTAL ASSOC. : 24, 1558 (1937)
- 137- Guagnini, O. A. ve E. E. Vonesch, ARCH. FARM. BIOQUIM. TUCUMAN. : 4, 269 (1949) - Ref.: C.A.: 44, 7025 (1950)
- 138- Guagnini, O. A. ve E. E. Vonesch, ANALES ASOC. QUIM. ARGENTINA : 40, 118 (1952)
- 139- Gupta, V. D. ve M. F. Ferguson, AMER. J. HOSP. PHARM. : 26 (7) 408 (1969)
- 140- Gupta, V. D., IND. J. PHARM. : 35 (2) 77 (1973)

- 141- Gurevich, I. Ya., O. O. Ogorodnova ve O. R. Zharbina,
APTECHNOE. DELO.: 15 (1) 29 (1966) - Ref.: C.A. :
64, 17362 (1966)
- 142- Gurrieri, S. ve S. Musumeci, BOLL. SEDUTE ACCAD. GIOENIA. SCI.
NAT. COTONIA. : 5, 489 (1960) - Ref.: C.A.: 57,
15242 (1962)
- 143- Guseva, L. N., APTECHNOE. DELO.: 12 (4) 62 (1963) - Ref.:
C.A.: 61, 11850 (1964)
- 144- Gustavii, K. ve G. Schill, ACTA PHARM. SUEC.: 3 (4) 241
(1966)
- 145- Gussyakov, V. P., N. M. Likholet ve I. M. Kutna, FARM. ZHUR. (Kiev)
23 (6) 56 (1968)
- 146- Güven, K. C. ve A. Hıncal, ECEACILIK BÜLTENİ.: 8 (11-12)
202 (1966)
- 147- Hadicke, L., PHARM. ZHALLE.: 94, 384 (1955) - Ref.: C.A.:
53, 2533 (1959)
- 148- Hague, S. ve L. Arsenijevic, ABH. FARM. (Belgrade).: 17 (3)
115 (1967)
- 149- Hamada, A., Y. Takeda ve K. Goukon, EISEI KAGAKU. : 14 (6)
308 (1968)
- 150- Hammoudo, Y. ve S. A. Salakawy, PHARMAZIE. : 26 (3) 181 (1968)
- 151- Hannig, B. ve W. Karan, PHARM. ZHALLE. : 95 (5) 187 (1955)
- 152- Hardie, W. R., A. R. Williams, I. F. Halverstadt ve F. F. Johnson
J. AM. PHARM. ASSOC.: 48, 436 (1954)

- 153- Harthou, J.G.L. ve R.W.U.Mayer, FARM.REVY. : 53, 507
(1954)
- 154- Hartley, F., PHARM.J. : 140, 461 (1938) - Ref.: C.A.: 32,
9401 (1938)
- 155- Hashmi, M.H., F.R.Chugtai, A.S.Adil ve T. Qureshi, MICRO-
CHEM.ACTA (Pien).: 1118 (1967)
- 156- Hauschild, F., PHARMAZIE. : 5, 105 (1950)
- 157- Havinga, E., REC.TRAV.CHIM.PAYS-BAS. : 60, 897 (1941)
- Ref.: Ber.Physiol.: 129, 346 (1942)
- 158- Hayashi, M., T.Unemoto ve K.Miyaki, CHEM.PHARM.BULL. :
10, 533 (1962)
- 159- Haywood, P.E. ve M.S.Moss, ANALYST, LOND. : 93, 537 (1968)
- 160- Heacock, R.A. ve M.E.Mahon, J.CHROMATOGR.: 17, 338 (1965)
- 161- Hentrich, K. ve S.Pfeifer, PHARM.ZHALLE. : 106 (11) 735
(1967)
- 162- Herken, H. ve W.Kalow, KLIN.WOCHSCHR. : 29, 90 (1951)
- 163- Hincal, A., DOKTORA TEZİ.: İst.Univ.Ecz.Fak. , 1967
- 164- Higuchi, T. ve L.W.Busse, J.AM.PHARM.ASSOC. : 39, 411
(1950)
- 165- Higuchi, T., A.Havinga. ve L.W.Busse, J.AM.PHARM.ASSOC. :
39, 405 (1950)

- 166- Hill, J.A., ANAL. CHEM. : 19, 932 (1947)
- 167- Hoehlein, H., PHARMAZIE : 22 (1) 27 (1967)
- 168- Hofmann, E. ve A. Jüsch, NATURWIS. : 45, 338 (1958)
- 169- Hortobagyi, G., G. Hangay, B. Lukats, G. Muranyi. ve A. Zandrands, RADIOSTERIL MED. PROD. RECOM. CODE. PRACT. PROC. SYMP. RESULTS PANEL MEET : 25 (1967) - Ref.: C.A.: 70, 31660. (1969)
- 170- Hotz, M., DISS. Eidgen. Techn. Hochschule Zürich : (1923)
-Ref.: Lit.42'ye göre
- 171- Hucknall, E. ve G.E. Turfitt, J. PHARM. PHARMACOL. : 1, 462 (1949)
- 172- Hughes, W.H. ve H.C. Stewart, J. PHARM. PHARMACOL. : 9, 431 (1957)
- 173- Ikeda, K., PHARM. BULL. (Japan) : 5, 101 (1957)
- 174- Inazu, K. ve Yamamoto, R., VITAMINS (Japan) 34 (3) 328 (1966 a)
- 175- Inazu, K. ve Yamamoto, R., IBID : 34 (3) 334 (1966 b)
- 176- İzgü, E., TÜRK HİJYEN TECRÜBİ BIOL. DERGİSİ : 1, 14 (1967)
- 177- Jaminet, F., J. PHARM. BELG. : 6, 81 (1951)
- 178- Jatzkewitz, H., HOPPE-SEYLER'S Z. PHYSIOL. CHEM. : 292, 94 (1953) - Ref.: C.A.: 47, 8163 (1953)
- 179- Jendrassik, E. ve E. Falcsik-szabo, BIOCHEM. Z.: 261, 110 (1933) - Ref.: C.A.: 27, 419 (1933)

- 180- Jindra, A. ve J. Rentz, J. PHARM. PHARMACOL. : 4, 645 (1952)
- 181- John, St., C.V., J. AM. PHARM. ASSOC. SCI. ED. : 37, 343 (1948)
- 182- Johnson, L.Y. ve T.E. Byers, J. ASSOC. OFFIC. AGR. CHEMISTS :
43 (2) 255 (1960)
- 183- Kagan, O.M., FARM. ZH. (Kiev) : 16 (6) 22 (1961)
- 184- Kagan, F.Yu. ve G.A. Vaisman, FARM. ZH. (Kiev) : 24 (4) 80
(1969)
- 185- Kalinowski, K., ACTA POL. PHARM. : 13, 47 (1956)
- 186- Kalinowski, K. ve Z. Zwierzchowki, ACTA POL. PHARM. : 15,
175 (1958) - Ref.: C.A.: 52, 17617 (1958)
- 187- Karlen, E. ve A. Agren, ACTA CHEM. SCAND. : 14, 197 (1960)
- 188- Kayaalp, S.O. FARMAKOLOJİ DERS NOTLARI III : (1973)
- 189- Kedzia, E., H. Golcz, M. Schulz ve W. Kedzia, FARM. POL. :
23 (3) 227 (1967)
- 190- Keenan, G.L., J. ASSOC. OFFIC. AGR. CHEMISTS : 29, 327 (1946)
C.A.: 41, 857 (1967)
- 191- Kelemen, E., B. Tanos ve J. Halmagyi, BIOCHEM. J. : 47, 138
(1950)
- 192- Khakimov, Kh. Kh. ve M. A. Azizov, DOKLADY. AKAD. NAUK. UZBEK.
SSR. : 10, 31 (1958) . . . 53, 20230 (1958)
- 193- Khizhnik, A.Z., FARM. ZH. (Kiev) : 25 (1) 47 (1970)
- Ref.: C.A.: 73, 28985 (1970)

- 194- Khizhnik, A.Z. ve V.Ya. Lebedenko, FARM.ZH.(Kiev) : 25
(5) 26 (1970) - Ref.: C.A.: 74, 91243 (1971)
- 195- Kirichenko, L.O., FARM.ZH.: 17 (5) 68 (1962)
- 196- Kisch, L. ve E. Strauss, EXP.MED.SURG. : 1, 66 (1943)
- Ref.: C.A.: 37, 3113 (1943)
- 197- Knizshko, P.O., A.I. Zakin. ve V.A. Grizo, NEKOTORYE
VOПРОSY FARMATSII SБОРНИК НАУЧ. ТРУДОВ. ВYSSH. FARM.
УЧЕБ. ЗАВЕДНИИ УКР. ССР.: 66 (1956)
- Ref.: C.A.: 53, 6538 (1959)
- 198- Bnotz, F., SCIENTIA PHARM. : 38 (1) 26 (1970)
- 199- Kohen, V. ve N. Russeva, PHARMAC. : 1, 3 (1968)
- 200- Koldaev, B.G. ve Z.M. Fateeva, MED.PROM.S.S.S.R. : 11 (1)
26 (1957) - Ref.: C.A.: 53, 22802 (1959)
- 201- Kotik, E.M., APPELOCHNOE DELO. : 13 (6) 67 (1964)
- Ref.: C.A.: 62, 6342 (1965)
- 202- Köehler, H.M. ve J.J. Hefferren, J.PHARM.SCI.: 53 (7)
745 (1964)
- 203- Köehler, H.M. ve E.G. Feldmann, ANAL.CHEM. : 32, 28 (1960)
- 204- Körber, G., KRAANKENHAUS-APOTHEKER. : 15 (1) 1 (1965)
- 205- Krikova, N.I., MED.PROM. S.S.S.R. : 10 (2) 41 (1956)
- 206- Krynskaya, N.B., LABORATORNOE DELO. : 3 (2) 27 (1957)

- 207- Kubiak, Z., P. Materski, FARM. POLSKA. : 16, 26 (1961)
- 208- Kubiak, Z., FARM. POLSKA. : 3, 230 (1971)
- 209- Kucharczyk, N., J. Fohl. ve J. Vymetal, J. CHROMATOGR. : 11, 55 (1963)
- 210- Kudymov, G.I. ve A.A. Kiseleva, TR. PERU. FARM. INST. : 3, 129 (1969) - Ref.: C.A.: 75, 101340 (1971)
- 211- Kudymov, G.I., TR. PERU. FARM. INST. : 3, 103 (1969)
- Ref.: C.A.: 75, 40532 (1971)
- 212- Kuhnert, M.B. ve H. Grima, MICROCHEM. ACTA. : 427 (1957)
- 213- Lachmann, L., J. AM. PHARM. ASSOC. : 45, 290 (1956) - Ref. :
Lit., 3'e göre
- 214- Ladenburg, Ber. 14, 1878 (1881) - Ref.: Lit., 236'a göre
- 215- Lane, E.S., J. CHROMATOGR. : 18, 426 (1965)
- 216- Lapiere, C., ANAL. CHIM. ACTA : 1, 337 (1947)
- 217- Larrea, R.R., CONGR. FARM. BIOQUIM. PERUANO. y. CONVENCION. FARM. NORTE. ACTAS. y. TRABAJAS. : 256 (1953)
- 218- Laszlovszky, J. ve L. Barcza, GYOGYSZERESZET. : 7 (5-6) 192 (1963)
- 219- Lauffs, A., APOTH. ZTG. : 42, 621 (1927) - Ref.: Lit., 42'e göre
- 220- Law, N.C., V. Aandahl, H.M. Pales. ve G. T.A. Milne, CLIN. CHIM. ACTA : 32, 221 (1971)

- 221- Lenartowicz, K., FARM. POLSKA : 27 (3) 229 (1971)
- Ref.: C.A.: 75, 80332 (1971)
- 222- Lenartowicz, K., FARM. POESKA : 3, 273 (1972)
- 223- Livett, B.H. ve R.M.Lee, BIOCHEM. PHARMACOL. : 17 (3)
385 (1968)
- 224- Luk'yanchikova, G.I. ve V.N.Bernshtein, SB. NAUCEN. DOKL. SSSR. KHIM. OTD. USES. KHIM. OESHCHESTVA. Im. D.I. MEYDELJEVA. : 1, 31 (1960) - Ref.: C.A.: 59, 3719 (1963)
- 225- Luk'yanchikova, G.I., MED. PRON. S.S.S.R. : 15 (8) 43 (1961)
- 226- Luk'yanchikova, G.I. ve V.N.Bernshtein, PEREDOVYE METODY KHIM. TEKHNOL. i. KONTROL. ya. PROIZ. Sb. : 257 (1964)
- Ref.: C.A.: 62, 12977 (1965)
- 227- Macek, E., J. Vecerkova ve J. Stanislavova, PHARMAZIE. : 20
(10) 605 (1965)
- 228- Machek, G. ve F. Lorentz, SCI. PHARM. : 30, 25 (1962)
- 229- Maillard, L.C. ve C.A. Hebd, SEANCES ACAD. SCI. : 154, 66
(1912) - Ref.: Lit. 150'e göre
- 230- Marchesi, L., BOLL. CHIM. FARM. : 90, 135 (1951)
- Ref.: C.A.: 45.8205 (1951)
- 231- Marshall, E.F., PROC. SOC. EXPER. BIOL. MED. : 36, 422 (1937)
- Ref.: C.A.: 32, 8466 (1938)

- 232- Martonfi, L., I. Formanek, C. Szanthy, S. Neumann ve I. Vereph,
REV. MED. (Targu-Mures).: 11 (2) 192 (1965)
- 233- Massa, V., A. Puech, G. Kister ve S. Im, J. PHARM. BELG. :
24 (7-8) 365 (1969)
- 234- Massatsch, C., PHARM. ZTG. : 83 (9) 210 (1947)
- 235- Massingill, J. L. ve J. E. Hodgkins, ANAL. CHEM. : 37 (7)
952 (1965)
- 236- MERCK INDEX, 8. baskı, Merck and Co., Inc. Rahway, N. J.,
U.S.A (1968)
- 237- Merz, E. W., ARCE. PHARM..: 270, 135 (1965)
- 238- Messerschmidt, W., DEUT. APO THEKER. ZTG. : 111 (17) 597
(1971)
- 239- Micheel, F., ve H. Schweppe, MICROCHIM. ACTA.: : 53, (1954)
- 240- Miszczuk-Lucka, B. M. ve I. Taborska, PRZEMISL. CHEM..: 11,
706 (1955) - Ref.: C.A.: 52, 20896 (1958)
- 241- Moffat, A. C. ve B. Clare, J. PHARM. PHARMACOL. : 26, 665 (1974)
- 242- Moldaver, B. L. ve T. M. Sakovan, FARM. ZH. (Kiev).: 23 (3) 28
(1968)
- 243- Moraga, E. D., B. Aranguiz ve R. O. Belmar, REV. REAL. ACAD.
CIENC. EXACTAS. FIS. NATUR. MADRID : 62 (4) 851 (1968)
- 244- Morita, M., YAKUGAKU ZASSHI : 82, 50 (1966)
- 245- Moss, M. S., SYMPOSIUM; PHARMACEUTICAL SOCIETY of GREAT
BRITAIN. : (1965)

- 246- Munier, R. ve M. Macheboeuf, BULL. SOC. CHIM. BIOL. : 33, 846 (1951)
- 247- Murata, T. ve T. Ochiai, KUMAMOTO PHARM. BULL. : 4, 15 (1959)
- 248- Murav'ev, I. A., V. D. Fonomarev ve O. Zapiski, PYATIGORSKII FARM. INST. : 4, 193 (1959) - Ref.: C.A.: 56, 2516 (1962)
- 249- Mustafa, A., R. Abu-Eittah ve S. Elgendi. APPLIED SPECTROSCOPY. : 23 (3) 254 (1969)
- 250- Münzel, K., J. Buchi ve O. E. Schultz, GALENTISCHES PRAKTIKUM (1959); Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. Stuttgart.
- 251- Nakamura, G. R., BULL. NARCOTICS U. N. DEPT. SOCIAL AFFAIRS : 12 (4) 17 (1960) - Ref.: C.A.: 56, 11710 (1962)
- 252- Nakamura, G. R. ve B. P. Parker, J. CHROMATOGR. : 52 (1) 107 (1970)
- 253- Nanikawa, R. ve S. Kotoku, DEUT. Z. GES. GERICHTL. MED. : 58 (1) 55 (1966)
- 254- Neville, G. A., J. CAN. SPECTROSC. : 14 (3) 44 (1969)
- 255- Nishiyama, Y., K. Teshima, Y. Nakashima ve H. Kawata, J. OSAKA CITY-MED. CENTER. : 3, 247 (1954) - Ref.: C.A.: 49, 7124 (1955)
- 256- Noirfalise, A. ve G. Mees, J. CHROMATOGR. : 31, 594 (1967)
- 257- Novakova, E. ve J. Vecerkova, CESK. FARM. : 22 (8) 347 (1973)

- 258- O'Brien, K.P. ve R.C. Sullivan, BULL. NARCOTICS. : 2, 35
(1970)
- 259- Oelssner, W., PHARMAZIE. : 7, 133 (1952)
- 260- Oelssner, W., ARCH. PHARM. : 288, 186 (1955)
- 261- Okazaki, K. ve N. Kitamura, J. PHARM. SOC. JAPAN. : 72, 1056
(1952) - Ref.: C.A.: 46, 11046 (1952)
- 262- Ono, S., R. Onishi ve K. Kawamura, YAKUGAKU ZASSHI : 86 (1)
11 (1966)
- 263- Ooteghem, M. ve K. Steiger, PHARM. ZEITSCHRIFT : 93, 325 (1958)
- 264- Ostrowski, Yu. L. ve I. I. Stepuro, VEŠEŠI. AKAD. NAVUK. BELARUS.
SSR. SER. BIOL. NAVUK. : 2, 67 (1971)
- Ref.: C.A.: 75, 47439 (1971)
- 265- Overgaard, K. S., ACTA PHARMACOL. TOXICOL. : 1, 153 (1945)
- Ref.: C.A.: 40, 6155 (1946)
- 266- Örtenblad, B. ve K. Jonsson, ACTA CHEM. SCAND. : 5, 510 (1951)
- 267- Palmieri, V. M. ve C. Romano, ARCH. ITAL. SCI. FARMACOL. : 2
(3) 345 (1952)
- 268- Palumbo, M. ve S. Sacca, FARMACO. ED. PRAT. : 17, 65 (1962)
- Ref.: C.A.: 56, 14937 (1962)
- 269- Papp, E. ve E. Pungor, Z. ANALYT. CHEM. : 250 (1) 31 (1970)
- 270- Parafinska, Z., ACTA POL. PHARM. : 20 (5) 395 (1963)
- 271- Patil, N., ARCH. PHARM. : 295, 106 (1962)

- 272- Pechtold, F., ARZNEIMITTEL-FORSCH. : 14(9-12)1056(1964)
- 273- Pellerin, F., J.A.Gautier, O.Barat ve D.Demay, CHIM.ANAL. :
45, 395 (1963)
- 274- Pellerin, F. ve J.F.Letavernier, ANN.PHARM.FRANC. : 31 (3)
161 (1973)
- 275- Petrova, I. ve M.Yankova, PHARMAZIE. : 24 (7) 391 (1969)
- 276- PHARMACOPEE FRANÇAISE, 9.baskı, Les Presses de l'Impri-
merie, Maisonneuve, 57 Sainte-Ruffine, 1970
- 277- PHARMACOPOEA HELVETICA, 6.baskı, Office central fédéral
des imprimeries et du matériel, Berne, 1971
- 278- PHARMACOPOEA HUNGARICA, 6.baskı, Akademiai Kiado, Buda-
pest, 1970
- 279- PHARMACOPOEA NORDICA, Editio Danica, Arnold Basck,
Copenhagen, 1963 - Ref.: Lit. 36 'a göre
- 280- Picher, H. ve H.F.Dibbern, ARCH.PHARM. : 293, 383 (1960)
- 281- Portnov, A.I. ve K.M.Zaitseva, NEKOTORYE VOPROSY.FARMATSII.
SBORNIK.NAUCH.TRUDOV VESCH.FARM.UCELEB.ZAVEDENII UKR.
SSR. : 29 (1956) - Ref.: C.A.: 53, 6538 (1959)
- 282- Pozzo, A.D., ESTRATTO DA BOLLETTINO CHIMICO FARMACEUTICO :
108, 230 (1969)
- 283- Princep, G.V., FARM.NUEVA. : 30 (344) 396 (1965)
- Ref.: C.A.: 64, 4869 (1966)

- 284- Pro, M.J., R.A.Nelson, W.P.Butler ve A.P.Mathers, J.ASSOC. OFFIC.AGR. CHEMISTS. : 39, 957 (1956)
- 285- Prucha, M., CESK.STOMATOL. : 65 (5) 374 (1965)
- 286- Przybilka, A., DEUT.APOTHEKER-ZTG. : 102, 543 (1962)
- 287- Przybilka, A., DEUT.APOTHEKER-ZTG. : 104 (19) 623 (1964)
- 288- Quercia, V., IL.FARMACO.ED.PRAT. : 25 (2) 122 (1970)
- 289- Rader, B.R. ve E.S.Aranda, J.PHARM.SCI. : 57 (5) 847 (1968)
- 290- Ramusino, F.C. ve R.Monacelli, ANN.CHIM. : 42, 331 (1952)
- 291- Ravasse, J., ANN.PHARM.FRANÇ. : 3, 135 (1945)
- 292- Reisch, J.: TETRAHEDRON LETT. 2, 4513 (1967)
- 293- Riegel, E.R. ve K.W.Buchwald, J.AM.CHEM.SOC. : 51, 484 (1929)
- 294- Richter, J., ARZNEIMITTEL-FORSCH. : 4, 686 (1954)
- 295- Richter, J., ARZNEIMITTEL-FORSCH. : 7, 200 (1957)
- 296- Rippie, E.G., D.J.Lamb ve P.W.Romig, J.PHARM.SCI. : 53 (11) 1346 (1964)
- 297- Riva, A. ve E.Gatti, PHARM.ACTA HELV. : 32, 97 (1957 a)
- 298- Riva, A. ve E.Gatti, PHARM.ACTA HELV. : 32, 155 (1957 b)
- 299- Rosenthaler, L., PHARM.ACTA HELV. : 35, 385 (1960)

- 300- Rossi, O.A., ANNALES FARM. BIOQUIM. : 10, 82 (1939)
- Ref.: C.A.: 34, 7532 (1940)
- 301- Roth, H.J., DEUT. APOTHEKER-ZTG. : 112 (35) 1329 (1972)
- 302- Röder, E., E. Mutschler ve H. Rochelmeyer, PHARM. ACTA. HELV. :
44 (10) 644 (1969)
- 303- Runge, F., H.J. Engelbrecht ve H. Franke, PHARMAZIE : 12, 8
(1957) - Ref.: C.A.: 52, 5830 (1958)
- 304- Russu, C., V. Pelloni, ve M. Sterescu, REV. CHIM. : 14, 48
(1963 a)
- 305- Russu, G., V. Pelloni ve M. Sterescu, FARMACIA (Bucharest) :
11 (11) 689 (1963b) - Ref.: C.A.: 60, 11854 (1964)
- 306- Sabon, F. ve H. Grignon, TRAV. SOC. PHARM. MONTPELLIER : 6,
41 (1947) - Ref.: C.A.: 38, 1114 (1948)
- 307- Sakurai, H. ve T. Miki, YAKUZAIGAKU : 16 (4) 32 (1957)
- 308- Salvesen, B. ve M. Johnsgard, MEDDR. NORSK. FARM. SELSK. : 28
(10-11) 279 (1966)
- 309- Samejima, M. ve I. Sugimoto, YAKUZAIGAKU : 26 (1) 23 (1966)
- 310- Samejima, M., I. Sugimoto ve I. Utsumi, YAKUGAKU ZASSHI :
86 (10) 900 (1966 a)
- 311- Sanchez, J.A., ANNALES ASOC. QUIM. ARGENTINA : 23, 431 (1925)
- Ref.: C.A.: 20, 2300 (1926)
- 312- Sarsunova, M., PHARMAZIE : 18 (11) 748 (1963) - Ref.:
C.A.: 60, 9100 (1964)

- 313- Scherer, R.P., BRIT. : 1, 242, 547 (1971)
- Ref.: C.A. : 75, 121403 (1971)
- 314- Schmidt, G., DTSCH. Z. GES. GERICHTL. MED. : 49, 259 (1959)
- 315- Schmidt, H.W., PHARM. ACTA HELV. : 36, 423 (1961)
- 316- Schou, S.A., PHARM. ACTA HELV. : 34, 309 (1959)
- 317- Schroeter, L.C., J. PHARM. SCI. : 50, 891 (1961)
- 318- Schultz, O.E. ve H. Göerner, DEUT. APOTHEKER-ZTG. : 93, 585 (1953) - Ref.: C.A.: 47, 12763 (1953)
- 319- Schultz, O.E. ve H. Göerner, ARCH. PHARM. : 288, 520 (1955)
- 320- Schulek, E. ve I. Floderer, Z. ANAL. CHEM. : 102, 186 (1935)
- Ref.: C.A.: 29, 7869 (1935)
- 321- Seeges, W.H., H.P. Smith., I.D. Warner ve K.M. Brinkhous, J. BIOL. CHEM. : 12, 751 (1939)
- 322- Sejournet, G.P., Fr. : 1, 330, 122 (1963)
- 323- Senov, P.L., N.T. Bubon ve V.E. Starostenko, FARMATSIYA (Moscow) : 21 (1) 47 (1972) - Ref.: C.A.: 76, 131569 (1972)
- 324- Sharshunova, M., V. Shvarts ve F. Pereni, MED. PROM. S.S.S.R. : 18 (12) 5 (1964) - Ref.: C.A.: 62, 10291 (1965)
- 325- Siegel, F.P., F.D. Hiteş, S.V. Susina ve M.I. Blake, J. PHARM. SCI. : 53 (8) 978 (1964)
- 326- Silva, E. ve H.F. Bulhães, ANAL. FAC. FARM. UNIV. RECIFE : 2, 203 (1959)

- 327- Simon, I.S. ve Yu.V. Shostenko, APTECHNOE DELO : 13 (6)
41 (1964) - Ref.: C.A.: 62, 6342 (1965)
- 328- Simon, I.S. ve Yu.V. Shostenko, MED.PROM. S.S.S.R. : 19
(3) 33 (1965) - Ref.: C.A.: 63, 438 (1965)
- 329- Sirbu, I. ve P. Bebesel, REV. CHIM. (Bucharest). : 10, 641
(1959) - Ref.: C.A.: 57, 15240 (1962)
- 330- Slooten, G., GER. : 1, 074, 215 (1960)
- 331- Smyth, R.B. ve G.G. McKeown, J. CHROMATOGR.: 16, 454 (1964)
- 332- Soehring, K. ve M. Pape, PHARMAZIE : 4, 64 (1949)
- 333- Sovdek, D. ve B. Kovkalova, ACTA FAC. PHARM. BRUN. BRATISLAV. :
4, 9 (1962) - Ref.: C.A.: 57, 3732 (1962)
- 334- Starobinets, G.L. ve S.D. Kurkina, VESTSI AKAD. NAUK BELARUS
SSR. SER. KHIM. NAVUK. : 2, 46 (1971)
- Ref.: C.A.: 75, 25276 (1971)
- 335- STATE PHARMACOPOEIA of the USSR (S.P) IX. baskı Moskova
(1961)
- 336- Steele, J.A., J. CHROMATOGR. : 19 (2) 300 (1965)
- 337- Stefanescu, D., N. Tuchel ve E. Lenhard, FARMACIA. : 5, 501
(1957) - Ref.: C.A.: 52, 14971 (1958)
- 338- Steiger, K. ve M. Bergmann, PHARM. ACTA HELV. : 22, 613
(1947)
- 339- Steiger, K. ve F. Hippenmeyer, PHARM. ACTA HELV. : 24, 443
(1949) - Ref.: C.A.: 44, 3673 (1950)

- 340- Steiger, K. ve E. Kühni, FEETSCHER. PAUL. CASPARIS : 198
(1949) - Ref.: C.A.: 46, 7541 (1952)
- 341- Stewart, J.T. ve D.M. Lotti, J. PHARM. SCI.: 59 (6) 838 (1970)
- 342- Sturm, A. ve H.W. Scheja, J. CHROMATOG. : 16, 194 (1964)
- 343- Sullivan, R.C. ve K.P. O'Brien, BULL. NARCOTICS. : 20 (3) 31
(1968)
- 344- Sunshine, I., W.W. Fike ve H. Landesman, J. FORENSIC SCI. :
11 (3) 428 (1966)
- 345- Svrakov, D., S. Nikolov ve M. Kirov, FARMATSIYA (Moscow) :
20 (4) 53 (1971) - Ref.: C.A.: 75, 101253 (1971)
- 346- Takahashi, T., J. Okada ve M. Hori, J. PHARM. SOC. JAPAN : 76,
1180 (1956)
- 347- Takenaka, H., H. Ito, T. Hayashi ve T. Otake, GIFU YAKKA
DAIGAKU KIYO. : 16, 118 (1965)
- 348- Tan, H.S. D. Shelton, J. PHARM. SCI.: 63 (6) 916 (1974)
- 349- Tanaka, N. ve K. Harada, YAKUGAKU ZASSHI.: 81, 903 (1961)
- Ref.: C.A.: 55, 24644 (1961)
- 350- Tanzawa, K., O. Hoshino ve T. Ukita, EISEI KAGAKU. : 12, 129
(1966)
- 351- Tappi, G. ve M.A. Magnomi, ARCH. ITAL. SCI. FARMACOL. : 4 (3)
449 (1954)
- 352- Teodorescu, N., S. Creanga ve Gh. Zuchi, FARMACIA (Bucharest):
15 (4) 213 (1967) - Ref.: C.A.: 67, 57283 (1967)

- 353- Terp, F., ACTA PHARMACOL. : 5, 353 (1949)
- 354- Terp, P., ACTA PHARMACOL. TOXICOL. : 6, 269 (1950)
- Ref.: C.A.: 49, 2678 (1955)
- 355- Testa, B. ve J.C. Etter, CAN. J. PHARM. SCI. : 10 (1) 20 (1975)
- 356- Tetyueva, L.A., APTECHNOE DELO. : 3, 12 (1954)
- Ref.: C.A.: 49, 2678 (1955)
- 357- Tewari, S.N., Z. ANAL. CHEM. : 208 (3) 240 (1965)
- 358- Thomas, R.E. ve M. Woodward, AUSTRALASIAN J. PHARM. : 44, 890 (1963)
- 359- Thomis, G.N. ve A.Z. Kotionis, ANAL. CHIM. ACTA : 14, 457 (1956)
- 360- Thomis, G.N. ve A.Z. Kotionis, ANAL. CHIM. ACTA : 16, 201 (1957)
- 361- Ting, K.S., J.M. Coon ve A.C. Conway, J. LAB. CLIN. MED. : 34, 822 (1949)
- 362- Tokar, G. ve I. Simonyi, MAGYAR KEM. FOLYOIRAT : 64 (10) 379 (1958) - Ref.: C.A.: 54, 16747 (1960)
- 363- Tokar, G. ve I. Simonyi, ACTA CHIM. ACAD. SCI. HUNG. : 25 (3) 313 (1960)
- 364- Tokunaga, K., KAGAKU KEISATSU KENKYUSHO HOKOKU. : 17 (1) 96 (1964)
- 365- Tomasch, E. ve J. Majer, ACTA POL. PHARM. : 17, 139 (1960)

- 366- Toribio,A.M., GALENICA ACTA (Madrid). : 4, 111 (1951)
- Ref.: C.A.: 47, 11662 (1953)
- 367- T'u,S.C., YAO HSUEH HSUEH PAO : 5, 107 (1957)
- Ref.: C.A.: 56, 8843 (1962)
- 368- Tueller,N. ve A.Buergin, PHARM.ACTA HELV.: 45, 298 (1970)
- 369- Tulus,R. ve G.İskender, İSTANBUL ECZ.FAK.MEC. : 5 (3)
130 (1969)
- 370- TÜRK FARMAKOPESİ : Milli Eğitim Basımevi, İstanbul 1974
- 371- Tyihak,E., D.Vagujfalvi ve P.L.Hagony, J.CHROMATOGR. :
11, 45 (1963)
- 372- Unger,H., PHARMAZIE.: 8, 30 (1953) - Ref.: C.A.: 50,
17161 (1956)
- 373- UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 18.baskı, Mack Publishing
Co., Easton, Pa., 1970
- 374- Unterman,H.W. ve E.Constantin, FARMACIA (Bucharest) :
12 (5) 301 (1964) - Ref.: C.A.: 62, 1515 (1965)
- 375- Uri,J. ve P.Adler, CURRENT RESEARCHES ANESTHESIA ANALGESIA.:
29, 229 (1950)
- 376- Utsumi,I. ve K.Harada, ANN.REPT.G.TANABE.Co.Ltd. : 1,
59 (1956)
- 377- Vacek,J., A.Skorkovska, Z.Votava, Z.Horakova ve H.Matous-
kova, ČESKOSLOV.FARM.: 2, 185 (1953)

- 378- Vaisman, G.A., M.M. Pushkova ve O.M. Kogan, FARMATSEVT. ZH. :
17 (1) 15 (1956) - Ref.: C.A.: 57, 2333 (1962)
- 379- Vaisman, G.A. ve M.M. Yampol'skaya, ISSLEDOVAN. V. OBLAGDI. IONOOBMBENNOI. KHROMATOG. AKAD. NAUK. SSSR. OTDEL. KHIM. NAUK. TRUDY. SOVESHCHANIYA : 171 (1957)
- Ref.: C.A.: 52, 2342 (1958)
- 380- Vaisman, G.A., FARMATSEVT. ZH. : 14 (4) 20 (1959)
- Ref.: C.A.: 59, 9741 (1963)
- 381- Vaisman, G.A., M.I. Gurevich ve E.S. Skvirskaya, APTECHNOE DELO. : 10 (5) 11 (1961) - Ref.: C.A.: 56, 10294 (1962)
- 382- Vaisman, G.A. ve D.V. Yashchenko, FARMATSEVT. ZH. (Kiev) :
18 (2) 33 (1963)
- 383- Vajgand, V.J. ve T.J. Pastor, BULL. SOC. CHIM. BEOGRAD :
31 (1) 9 (1966)
- 384- Varigin, Yu.A., EKSP. KHIM. ANESTEZIOL. : 76 (2) (1973)
- Ref.: C.A.: 79, 23560 (1973)
- 385- Vasiliev, R., B. Wermescher, A. Cosmin, M. Mangu ve I. Burnea, LUCRARILE PREZENTATE CONF. NATL. FARM. BUCHAREST :
147 (1958) - Ref.: C.A.: 53, 4653 (1959)
- 386- Vasiliev, R., M. Mangu, A. Cosmin ve I. Burnea, REV. CHIM. (Bucharest) : 15 (4) 223 (1964)
- 387- Vasiliev, R., I. Burnea, M. Mangu, A. Cosmin, ACTA PHARM. JUG. :
19 (1) 3 (1969)
- 388- Vastagh, G. ve Gy. Zöllner, MAGYAR KEM. FOLYOIRAT. : 56, 356
(1950) - Ref.: C.A.: 46, 682 (1952)

- 389- Vastagh, G., PHARM. ACTA HELV.: 27, 33 (1952)
- 390- Vegh, A., G. Szasz ve P. Kertesz, ACTA PHARM. HUNG. : 31, 1 (1961)
- 391- Viorika, F. ve E. Demetrescu, APTECHNOE DELO : 9 (2) 77 (1960) - Ref.: C.A.: 54, 23192 (1960)
- 392- Vitte, G. ve E. Boussemart, BULL. TRAV. SOC. PHARM. BORDEAUX : 88, 181 (1951)
- 393- Vlahovic, V. L. ve M. Kranjcevic, PHARM. GLASNIK : 14, 214 (1958) - Ref.: C.A.: 52, 16693 (1958)
- 394- Voicu, A., I. Popa ve Gh. Dorş, FARMACIA (Bucharest) : 18 (9) 539 (1970)
- 395- Vonesch, E. E., ARCH. FARM. BIOQUIM. TUCUMAN : 4, 197 (1949)
- 396- Vonesch, E. E. ve O. A. Guagnini, ARCH. FARM. BIOQUIM. TUCUMAN : 4, 317, (1950)
- 397- Vonesch, E. E. ve O. A. Guagnini, REV. FARM. (Buenos Aires) : 94, 104 (1952) - Ref.: C.A.: 46, 11581 (1952)
- 398- Wachsmuth, H., CHIM. ANAL. : 29, 276 (1947)
- 399- Wachsmuth, H., R. Denissen ve L. V. Koeckhoven, J. PHARM. BELG. : 14, 386 (1959)
- 400- Wachsmuth, H. ve L. V. Koeckhoven, J. PHARM. BELG. : 14, 459 (1959)
- 401- Wagner, G., ARCH. PHARM. : 286, 232 (1953)

- 402- Wagner, C. ve U. Zimmer, PHARM. ACTA HELV.: 30 (10/11) 385
(1955)
- 403- Wagner, G., ARCH. PHARM.: 289, 121 (1956)
- 404- Wailles, J.L., MONTANA PHARMACIST: 7 (1) 7 (1955)
- Ref.: C.A.: 50, 5979 (1956)
- 405- Wallace, D.H. ve H.L. Hausen, J. AM. DENT. ASSOC.: 28, 100 (1941)
- 406- W. Walter, MASSENSPEKTROMETRIE, Akademische Verlagsgesellschaft. Frankfurt 1970.
- 407- Wang, C.H. ve Y.H. Yuan, BULL. INST. CHEM. ACAD. SINICA : 15,
42 (1968) - Ref.: C.A.: 70, 61405 (1969)
- 408- Wankmüller, A., PHARMAZIE : 4, 510 (1949)
- Ref.: C.A.: 44, 4199 (1950)
- 409- Wanman, G.A., PHARM. ZH.: 14, 20 (1959)
- Ref.: C.A.: 59, 9741 (1963)
- 410- Weiss, F., PHARM. ZHALLE.: 92, 311 (1953)
- 411- Welsh, L.H., J. AM. PHARM. ASSOC. SCI. ED.: 36, 373 (1947)
- 412- Willi, A.V., PHARM. ACTA HELV.: 33, 635 (1958)
- 413- Willstaedt, H., BIOCHEM. Z. : 269, 182 (1934)
- 414- Wilson, C.O., O. Gisvold, R.F. Derge, TEXT BOOK of ORGANIC
MEDICINAL and PHARMACEUTICAL CHEMISTRY. J.B. Lippin-
cott Company Philadelphia (1971)
- 415- Winefordner, J.D. ve M. Tin, ANAL. CHIM. ACTA : 32 (1) 64
(1965)

- 416- Wisniewski, W. ve Z. Furmanczyk, ACTA POL. PHARM. : 18, 291
(1961)- Ref.: C.A.: 56, 8847 (1962)
- 417- Wisniewski, W., Z. F. Furmanczyk ve T. Olszewska, ACTA POL. PHARM. : 22 (6) 603 (1965)
- 418- Wisniewski, W. ve T. Kindlik, DISSNES. PHARM. WARSZ. : 18
(2) 225 (1966)
- 419- Wisniewski, W. ve Z. Furmanczyk, WISS. Z. HUMBOLDT. UNIV. BERLIN. NATH. NATURWISS. REIHE. : 16 (2) 243 (1967)
- Ref.: C.A.: 69, 80165 (1968)
- 420- Wisniewski, W., Z. Furmanczyk ve E. Pasnik, ACTA POL. PHARM.: 25 (1) 59 (1968)
- 421- Woods, D. D., BRIT. J. EXPTL. PATH. : 21, 74 (1940)
- Ref.: C.A.: 34, 7408 (1940)
- 422- Woods, L. A., J. Cochin, E. J. Fornefeld, F. G. Mahon ve M. H. Seevers, J. PHARMACOL. EXPTL. THERAP.: 101, 188 (1950)
- 423- Wolff, D. ve B. Hühnerbein, PHARM. PRAX. BERL.: 8, 201 (1968)
- 424- Yamagishi, M., ANN. REPT. TAKEDA RESEARCH LAB. : 10, 35 (1951)
- 425- Yatabe, M. ve H. Oki, KAGAKU KEISATSU KENKYUSHO HOKOKU. :
17 (2) 167 (1964)
- 426- Yavors'kii, N. P., FARMATSEVT. ZH. (Kiev).: 20 (1) 29 (1965)
- 427- Yu-Mou-Ting, YO HSUEH T'UNG PAO. : 7 (4) 101 (1959)
- Ref.: C.A.: 54, 25571 (1960)

- 428- Zabrak, D. ve S. Farkas, ACTA PHARM. HUNG. : 41, 173 (1971)
- 429- Zakrzewski, Z., PHARM. POLSKA : 26 (12) 1033 (1970 a)
- 430- Zakrzewski, Z., PHARM. POLSKA : 26 (9) 819 (1970 b)
- Ref.: C.A.: 75, 25482 (1971)
- 431- Zelikson, Yu. I., APTECHNOE DELO : 15 (4) 46 (1966)
- 432- Zollner, E., MACYAR. KEM. FOLYAI RAT. : 60, 178 (1954)
- 433- Zöllner, E. ve G. Vastagh, PHARM. ZHALLE. : 94, 3 (1955)
- 434- Zöllner, E. ve G. Vastagh, PHARM. ZHALLE. : 96, 199 (1957)