

11112

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜLKEMİZDE İNDAPAMİD İÇEREN PREPARATLARDA, İNDAPAMİD
MİKTAR TAYİNİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Ecz. SÜREYYA ÖLGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. DOĞU NEBİOĞLU**

Ankara - 1990

Çalışmalarım süresince bilimsel katkıları ve sürekli denetimi ile bana yön veren hocam, sayın Doç.Dr.Dogu NEBİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarımı yürüttüğüm süre esnasında bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan başta Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof.Dr.Rahmiye ERTAN olmak üzere, tüm öğretim üye ve yardımcılara teşekkür ederim.

Tezimin bilgisayarda yazımı için bana olanaklar sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen sayın Metin ÖZKAN ve Bilfo-paş Bilgisayar Pazarlama A.Ş. çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Standart madde ve preparat teminindeki ilgilerinden dolayı Drifen ilaç Sanayii A.Ş. ve İLTAS ilaç Sanayii ve Ticaret A.Ş'ne teşekkür ederim.

Manevi desteklerinden ve yardımlarından dolayı aileme teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER -----	1
1.1. Giriş ve Amaç -----	1
1.2. Genel Bilgiler -----	3
1.2.1. Hipertansiyonun tanımı -----	3
1.2.2. Hipertansiyon çeşitleri -----	3
1.2.2.1. Esansiyel hipertansiyon -----	3
1.2.2.2. Sekonder hipertansiyon -----	4
1.2.3. Hipertansiyonda tedavi -----	4
1.2.3.1. İlaçla tedavi -----	4
1.2.3.1.A. Diüretik ilaçlar -----	6
1.2.4. Indapamid hakkında genel bilgiler -----	7
1.2.4.1. Indapamid'in sentez yöntemleri -----	8
1.2.4.2. Indapamid'in etki özellikleri -----	10
1.2.4.3. Antihipertansif etki mekanizması ---	12
1.2.4.4. Indapamid'in farmakokinetik özel- likleri -----	12
A. Absorbsiyon ve plazma konsant- rasyonları -----	12
B. Dağılımı -----	13
C. Metabolizma ve atılım -----	13
1.2.4.5. Indapamid ile ilgili çalışmalar ----	14
A. Toksikolojik çalışmalar -----	14
A.1. Akut toksisite -----	14
A.2. Subakut ve kronik tok- sisite -----	14

B. Etki özelliği ile ilgili çalışmalar -----	14
B.1. Hipertansiyonda kullanılışı -----	14
B.2. Diğer ilaçlarla karşılaştırılması -----	15
B.3. Yan etkileri -----	16
1.2.4.6. Dozajı ve ilaç olarak kullanımını -----	17
1.2.4.7. Diğer ülkelerdeki kullanımını ve preparat isimleri -----	17
1.3. Indapamid için Geliştirilmiş Analiz Yöntemleri -----	18
1.3.1. Farmakopelerdeki durum -----	18
1.3.2. Literatürlerdeki durum -----	18
1.3.3. Uygulanan değişik yöntemler -----	19
1.3.3.1. Florometri -----	19
1.3.3.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK) ---	19
1.3.3.3. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) -----	20
1.3.3.4. Gaz kromatografisi -----	20
1.4. Kullanılan Yöntemlerle İlgili Genel Bilgiler -----	20
1.4.1. Spektrofotometrik yöntemler -----	21
1.4.1.1. UV bölgesinde yapılan uygulama -----	22
1.4.1.2. Görünür bölgede yapılan uygulama ---	23
1.4.1.3. IR bölgesinde yapılan uygulama -----	23
1.4.2. Titrimetrik yöntemler -----	24
1.4.2.1. Susuz ortam titrasyonları -----	24

2. MATERYAL VE YÖNTEM -----	26
2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler -----	26
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler -----	26
2.3. Kullanılan Standart maddelerin Tanınması ve Saflığının Araştırılması -----	27
2.4. Indapamid Hemihidrat İçin Uyguladığımız Miktar Tayini Yöntemleri -----	28
2.4.1. Spektrofotometrik yöntemler -----	28
2.4.1.1. UV bölgesinde yapılan çalışmalar ---	29
2.4.1.1.A. Referans yardımıyla uygulanan yöntem -----	29
2.4.1.2. Görünür sahada yapılan çalışmalar -----	31
2.4.1.3. IR spektrofotometresi ile yapılan çalışmalar -----	32
2.4.2. Titrimetrik yöntem -----	34
2.4.2.1. Susuz ortamda asidimetrik titrasyon -----	34
3. BULGULAR -----	36
3.1. Tanıma ile ilgili Sonuçlar -----	36
3.2. Kantitatif Analiz Sonuçları -----	39
3.2.1. UV bölgesinde yapılan çalışma sonuçları ----	39
3.2.1.1. Referans yardımıyla uygulanan yöntem -----	39
3.2.2. Görünür bölgede yapılan çalışma sonuçları -----	41
3.2.3. Titrimetrik yöntem sonuçları -----	42
3.2.3.1. Susuz ortamda asidimetrik yöntem	

	ile yapılan analiz sonuçları -----	42
4. TARTIŞMA VE SONUÇ -----		47
5. ÖZET -----		51
6. İNGİLİZCE ÖZET -----		53
7. KAYNAKLAR -----		55



1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Amaç

İndapamid, antihipertansif etkisi nedeniyle kullanılan sülfamilbenzamidoindolin türevi, diüretik bir bileşiktir. Türkiye'de indamid kapsül, Flupamid draje, Fludex tablet adı altında 2.5 mg'lık preparatları ilaç olarak çok yaygın kullanılmaktadır.

Bilindiği gibi ilaç olarak kullanılacak preparatların piyasaya sürülebilmesi için tüm analiz kontrollerinin yapılması gerekir. Kontrol yöntemleri içinde ise, bir ilacın formülüne uygun etken maddeyi gerekli miktarda içerip içermediğinin araştırılması son derece önem taşımaktadır. Böyle bir araştırmanın yapılabilmesi için en uygun yol, Farmakopelerin önerdiği yöntemleri uygulamaktır. Ancak, ilaç olarak kullanılan etken maddelerin sayılarının her geçen gün artması ve her maddeyle ilgili yeteri kadar yöntem geliştirilemiyor olması, bu tip etken maddelerin analiz yöntemlerinin Farmakopelerde yer almasını olumsuz yönde etkilemekte ve geciktirmektedir. Tez konusu olarak üzerinde çalıştığımız indapamid preparatlarından miktar tayinine yönelik olarak Türk Farmakopesi de dahil olmak üzere, diğer Farmakopelerde herhangi bir yöntemle rastlanılmamıştır. Ayrıca, literatür taramalarında da indapamid preparatlarına uygulanan miktar tayini yöntemleri bulunmamıştır.

Bu nokta göz önüne alınarak, tez kapsamında genel miktar tayini yöntemlerinden ve benzer yapıdaki bileşiklere uygulanan yöntemlerden yararlanılarak, indapamid preparatları

İçin de uygun bir kantitatif analiz yönteminin belirlenmesi amaçlanmıştır.



1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Hipertansiyonun tanımı

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp-damar hastalığıdır (43,48).

1.2.2. Hipertansiyon çeşitleri

Terapötik yönden hipertansiyon ikiye ayrılarak sınıflandırılmıştır.

1. Esansiyel (primer) hipertansiyon
2. Sekonder hipertansiyon

1.2.2.1. Esansiyel hipertansiyon

Bu hastalığın temel nedeni total periferik damar rezistansının yükselmesidir. Esansiyel hipertansiyonda, arteriyollerin ve diğer damarların düz kas hücreleri içinde normaldekenden fazla sodyum iyonu birikmiştir ve bunun sonucu intrasellüler serbest kalsiyum konsantrasyonu artmıştır. Esansiyel hipertansiyonlu hastaların bir kısmı sodyuma duyarlıdır ve bu kişilerin sodyum alımındaki artma kan basıncında belirgin yükselme yapar. Sodyuma duyarlı hastalarda primer bozukluğun böbreklerde olduğu ve böbreklerin sodyum itrah kapasitesinde bir azalma olduğu ileri sürülmüştür (43,48).

1.2.2.2. Sekonder hipertansiyon

Sekonder hipertansiyonun ise, bazı böbrek parenkiması hastalıkları, renovasküler hastalıklar, endokrin hastalıkları olarak sayılan; tiroit, sürrenal, paratiroit ve ön hipofiz hastalıkları gibi arteriyel kan basıncını yükselten primer patolojik bozukluklar sonucu oluştuğu ileri sürülmektedir (43,48).

1.2.3. Hipertansiyonda tedavi

Hipertansiyon tedavisinde günümüzde başlıca üç yöntem başvurulmaktadır (80).

1. İlaçla Tedavi
2. Cerrahi Tedavi
3. Fizik Tedavi

Olayın bizi ilgilendiren yönü ilaçla tedavidir.

1.2.3.1. İlaçla tedavi

Hipertansiyonda ilaç tedavisinin, antihipertansif ilaçlarla yapılması esastır. İlaçla tedavide ilke olarak, kan basıncının 140/90 mm-Hg'lık sınırın altındaki normal tansiyon düzeyine düşürülmesi öngörülür. Kan basıncı, hastanın yaşına ve istenmeyen etkiler meydana gelmeyecek şekilde ayarlanır.

Hipertansiyonda ilaçla tedavi, hastanın ağırlığı, hastalığın geçmişi, alt tipi ve ilaca verdiği cevap göz önünde tutularak değişik şekillerde uygulanmaktadır. Bu kalıpların yerleşmiş ve uzun süre denenmiş olan bir örneği, basamaklı tedavi (stepped care) denilen uygulamadır. Bu uygulamada hastanın

agırlığına ve ilaca verdiği cevaba göre diüretiklerden başlayarak bir, iki veya daha fazla sayıda ilaç, basamaklı bir şekilde kombine edilmek suretiyle kullanılır. Kombinasyondaki ilaçları yüksek dozda vermek gerekmediginden, bazı yan tesirler artmazsınız, hatta bazen yan etki azalmış olarak güçlü bir kombine antihipertansif etki sağlanır (22,42,43,48).

Diger bir tedavi yaklaşımı, esansiyel hipertansiyonun alt tipine göre ilk uygulanacak ilacın çeşitlendirilmesini öngören tedavi yaklaşımıdır. Buna göre ilk ilaç olarak β -blokör ve diüretik ilaçtan hangisinin etkili olduğu saptanır. Diüretik ilaç yerine veya diüretik ilaçla kombine olarak α -reseptör blokörü veya kalsiyum antagonisti bir ilaç kullanılabilir (22,42,43,48).

Hipertansiyonda ilaçla tedavi için değişik yaklaşımlar olduğu gibi, ilaçlar da etki yerleri ve vazodilatör etki oluşturma mekanizmalarına göre dokuz gruba ayrılırlar (48).

A- Diüretikler

B- Adrenerjik nöron blokörleri

C- Adrenerjik reseptör blokörleri

D- Santral etkili sempatolitik ilaçlar

E- Diger sempatolitik ilaçlar

F- Direk etkili vazodilatörler

G- Kalsiyum antagonistleri (kalsiyum kanal blokörleri)

H- Anjiyotensin antagonistleri (anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri)

I- Hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar

(48).

1.2.3.1.A. Diüretik ilaçlar :

Tez konusu olarak belirleyip çalışmalarımızı yürüttüğümüz Indapamidin de aralarında bulunduğu diüretik bileşikler, böbrek tubuluslarındaki etkileriyle su ve beraberinde sodyum kaybını artıran ilaçlardır. Bütün hipertansiyon çeşitlerinde gerek sistolik ve gerekse diyastolik kan basıncını düşürürler. Hafif hipertansiyon olgularında tek başlarına kullanıldıklarında, sağladıkları kan basıncı düşmesi, genellikle yeteri derecede olur ve başka bir antihipertansif ilaç kullanılmasına gerek kalmayabilir. Orta ve ağır hipertansiyon olgularında, daha güçlü bir antihipertansif ilaçla birlikte kullanılırlar. Böyle bir kombine uygulamanın başlıca iki yararı vardır (33,42, 43).

1- Diüretikler, diğer ilaçların antihipertansif etkilerini artırırlar.

2- Bu ilaçların yaptığı su ve tuz retansiyonuna bağlı hipovolemiyi önleyerek onlara karşı tolerans (psödötolerans) gelişmesini önlerler (22,43,48,80).

Antihipertansif tedavide en çok kullanılan diüretik ilaç türleri, tiazidler ile ftalimidin türevleridir (48).

Tiazid Türevleri -----	Günlük Doz (mg) -----
Hidroklorotiazid	25-50
Klorotiazid	500
Metiklorotiazid	2.5-5
Politiiazid	1-2

Hidroflumetiazid	25-50
Klopamid	5-10
Mefrusid	12.5-25

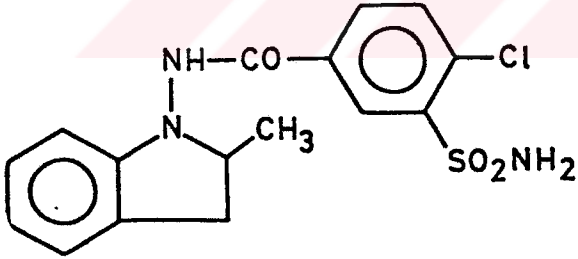
Ftalimidin Türevi Günlük Doz (mg)

Klortalidon 25-50

Sülfamilbenzamidoindolin Türevi Günlük Doz (mg)

INDAPAMID 2.5

1.2.4. indapamid hakkında genel bilgiler :



INDAPAMID

Şekil 1.1: Indapamid'in formülü.

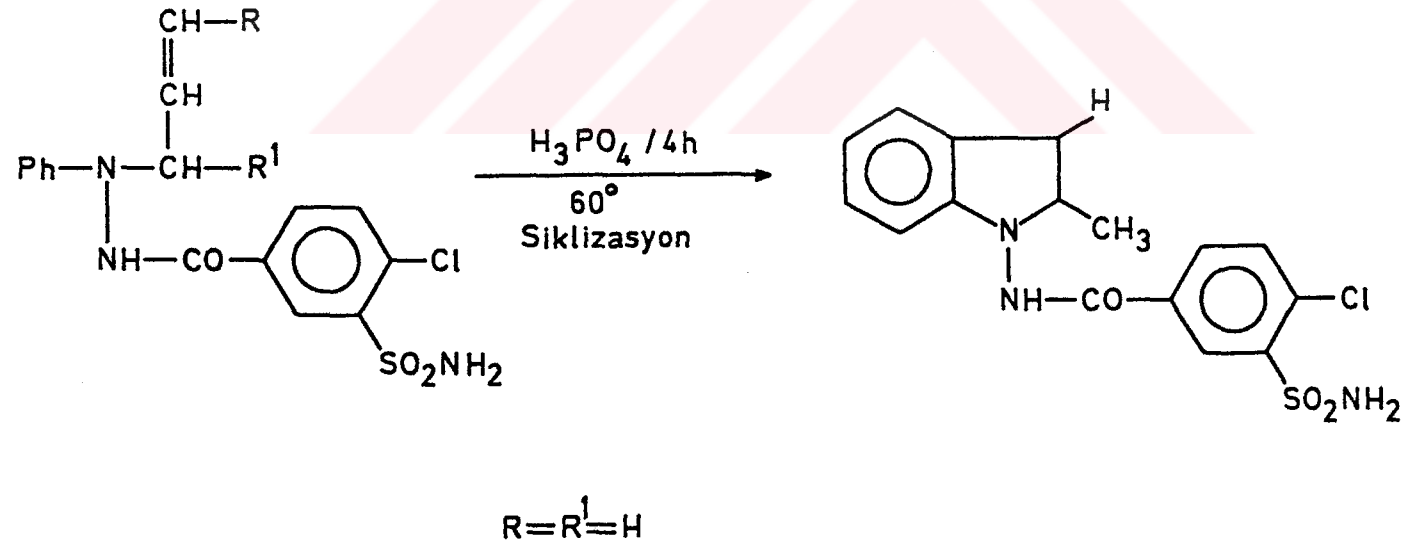
Indapamid, kimyasal okunuşu; 4-kloro-N-(2-metilindo-

lin-1-yl)-3-sülfamoil benzamid, şeklinde verilen klorosülfonamid'in bir indolin türevidir. Tiazid halka sistemi olmayan ve sülfonamid grubu içeren diğer diüretiklerden farklı kimyasal yapıdadır (14,19, 35).

1.2.4.1. Indapamid'in sentez yöntemleri :

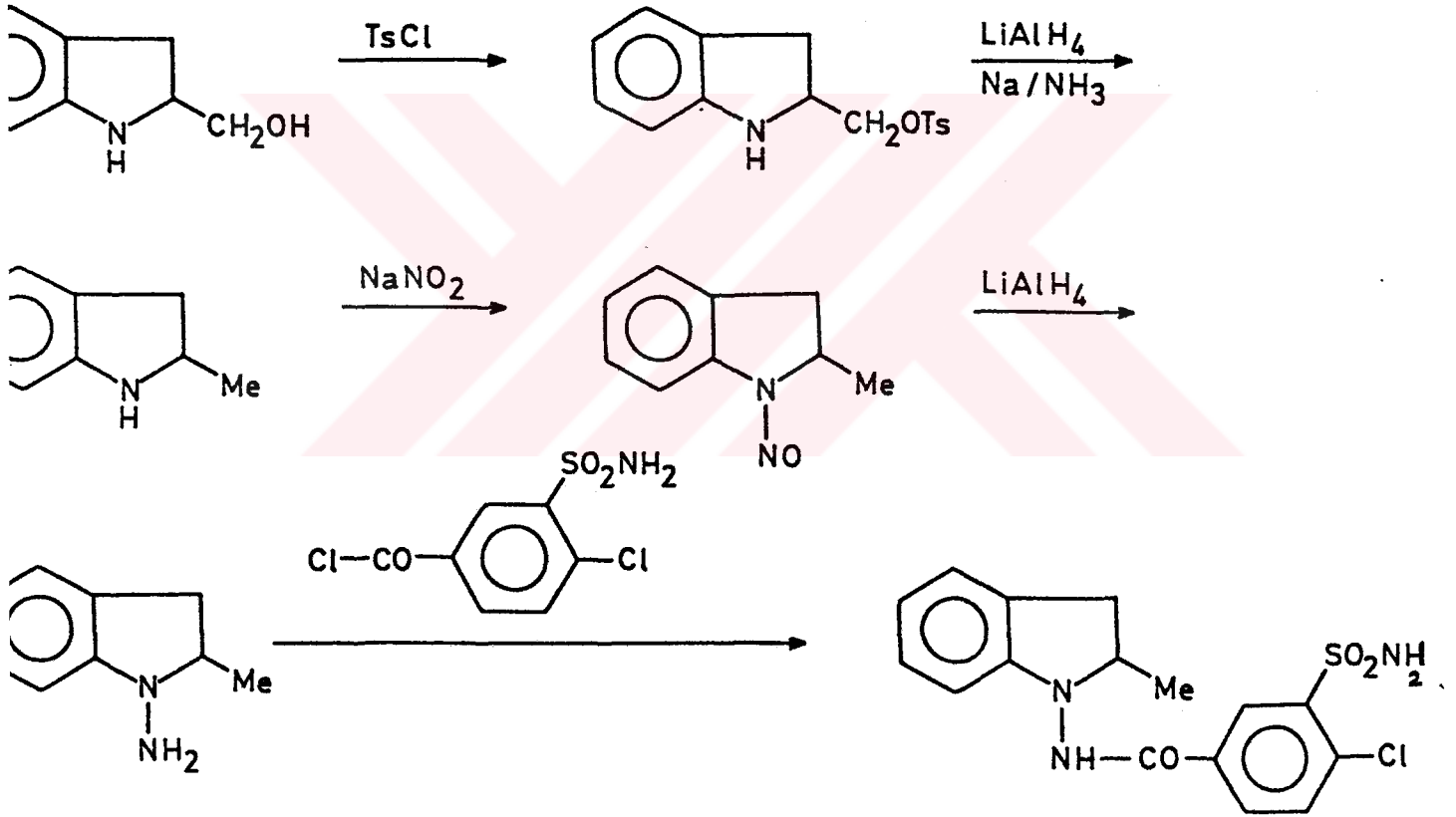
Araştırmacılar indapamid için ikideğişik sentez yöntemi önermişlerdir (3, 77).

N-allyl-N-fenilhidrazinlerden siklizasyon ile indolinleri elde eden Auerbach, Joseph; Kantor, Martin Leonard adlı araştırmacılar (3) bu yöntemi aynı zamanda indapamid'i elde etmek için de uygulamışlardır (Şekil: 1.2.a).



Şekil 1.2.a: Indapamid'in sentezi.

Diger bir sentez yöntemini de Japon araştışıcılar Sakata, Tasuke ve arkadaşları önermişlerdir (77). Bu yöntemin uygulanışında hareket maddesi olarak 2-hidroksimetil indolin seçilmiştir (Şekil: 1.2.b).



Şekil 1.2.b: Indapamid'in sentezi.

1.2.4.2. Indapamid'in etki özellikleri :

Indapamid'in etki özellikleri incelendiğinde çok değişik etkilerinin olduğu gözlenmiştir (17). Bunların başlıcaları şöyle sıralanmaktadır :

1. Renal etkileri

- a. Renal fonksiyonlar üzerine etkisi
- b. Diüretik etkisi
- c. Renin ve Aldosteron üzerine etkisi

2. Metabolik etkileri

- a. Sodyum dengesi üzerine etkisi
- b. Klorür üzerine etkisi
- c. Bikarbonat üzerine etkisi
- d. Kalsiyum ve fosfat üzerine etkisi
- e. Magnezyum üzerine etkisi
- f. Ürik asit üzerine etkisi
- g. Glukoz toleransı üzerine etkisi
- h. Lipid metabolizması üzerine etkisi

3. Kardiyovasküler etkileri

- a. Vasküler düz kaslar ve kardiyak kaslarda elektromekanik aktivite üzerine in-vitro etkisi
- b. Vasküler reaktivite ve periferel vasküler rezistans üzerine etkisi
- c. Kalp üzerine direk etkisi

4. Prostaglandin sentezi üzerine etkileri

Yukarda sınıflandırılan etki özellikleri, Indapamid kullanılarak deney hayvanlarında tek tek incelenmiştir (17). İncelemelerde indapamid'in glomerüler filtrasyon hızı ve renal

plazma akış hızını değiştirmediği bulunmuştur (17,32,70).

Indapamid'in tedavide kullanılan günlük 2.5 mg'lık tek dozunun hipertansiyonlu hastalarda diüretik etkiyi sağladığı ve daha yüksek dozlarda ise potent bir diüretik etkisi olduğu gözlenmiştir (45,55,31). Indapamid'in diüretik etki yöresi distal tubulusun proksimal segmentidir (32,70,71). Ayrıca diüretik etkisinin ortaya cıkışı, Aldosteron antagonizması etkisine bağlanmış; fakat bunu doğrular somut bir bulgu elde edilememiştir (13).

2.5 mg Indapamid, hipertansiyonlu hastalarda plazma renin aktivitesini devamlı olarak artırmaktadır (12,18,27,39,64,90). Renin α -2-globulin substratı ile etkileşerek, Anjiyotensin-1'in Anjiyotensin-2'ye cvrilmesini sağlamaktadır. Adrenal korteksten salgılanan Aldosteron için kısmi bir etken olabilir. Sonuçta salgılanan Aldosteron ise sodyum ve potasyumun dönüşümlü konsantrasyonlarını düzenlemektedir (13,16,21,27,55,63,72). Özetle, Indapamid sodyum iyonlarının atılımını artırma yani natriüretik etkisini bu şekilde göstermektedir (9,66,70,79).

Indapamid'in kalsiyumun içeri girişini inhibe ederek vasküler düz kaslardaki klonik (fazik) kontraksiyonu azalttığı gözlenmiş (12,29,61,64,88,89), ayrıca anjiyotensin, adrenalın, tiramin ve nikotinin oluşturduğu vazokonstriksiyonu da inhibe ettiği bulunmuştur (6,12,29,62).

1.2.4.3. Antihipertansif etki mekanizması :

Indapamid'in kan basıncını azaltmasına yönelik iki temel mekanizma yolu önerilmiştir. Bunlar; vasküler düz kasların relaksasyonu ve diüretik etkidir (16).

Vasküler düz kaslar üzerine indapamid'in etkisi kalsiyumun içeri akışını azaltma, vasküler reaktivite ve periferik arteriyel rezistansın azalması şeklindedir.

Indapamid kalsiyumun içeri girişini engelleyerek vasküler düz kaslarda ve kardiyak kaslardaki kasılmayı inhibe eder. Bunun sonucunda kan basıncı düşerek, hipotansif aktivite oluşur (12,29,61,64).

Birçok araştırmada ileri sürüldüğüne göre, indapamid vasküler reaktiviteyi azaltarak kan basıncını düşürür ve bu yolla antihipertansif etki oluşturur (5,10,15,28,39,65,87). Ayrıca kalp üzerine doğrudan etkiyerek sistolik ve diyastolik kan basıncını azaltmaktadır (24,26,41,50,62,64,87).

Indapamid, arteriyel ve venöz kanallarda Anjiyotensin Epinefrin ve Norepinefrin tarafından oluşturulan kontraksiyonu güçlü bir şekilde inhibe eder. Böylece müküler düz kasların reaktivitesinde bir azalma oluşturarak bunun sonucu yine antihipertansif etki sağlar (54).

1.2.4.4. Indapamid'in farmakokinetik özellikleri

A. Absorbsiyon ve plazma konsantrasyonları :

Yapılan çalışmalarda indapamid'in absorpsiyonunun hızlı ve iyi olduğu bulunmuştur (14,51,82). Indapamid'in kan kon-

santrasyon seviyesinin etki için uygun olduğu ve ayrıca kan konsantrasyon düzeyinin vücut ağırlığına bağlı olmadığı bulunmuştur (14).

B. Dağılımı :

Araştırmacılar Indapamid'in dağılıma potansiyelinin büyük olduğunu saptamışlardır (14,35,51). Indapamid, dağılımı sırasında kırmızı kan hücrelerine bağlanmaktadır (14,51,56).

Yapılan diğer çalışmalar, Indapamid'in yaklaşık % 76-79'unun insan vücudundaki plazma proteinerine bağlanarak dağıldığını ve izli Indapamid kullanılarak yapılan çalışmalar ise bileşimin iskelet kası ve serbest proteinlerden daha fazla vasküler kaslarda biriktiğini göstermiştir (14).

C. Metabolizma ve atılım :

C-14 ile etiketlenen Indapamid'in metabolizmasına yönelik çalışmalar, bileşimin vücutta çeşitli metabolitlere dönüştüğünü ortaya koymaktadır. Bu metabolitlerin kimyasal yapıları açıklanmıştır; fakat henüz farmakolojik aktiviteleri belirlenmemiştir (13,14,51).

Oral yolla ilaç olarak alınan Indapamid'in %60-70'i idrardan % 16-23'ü de dışkıyla atılmaktadır (14,51). Yine alınan ilacın % 7.3'ünden fazlası değişmeden atılıma uğramaktadır (13,14,51). Bu konuda yapılan bir çalışmada, günlük 2.5 mg'lık dozda 15 gün süreyle hipertansiyonlu hastaya verilen bileşimin yarılanma ömrü 17 saat olarak bulunmuştur (14).

Ayrıca Indapamid'in hipertansiyonlu hastalarda belir-

gin bir şekilde birikmediği de saptanmıştır (1).

1.2.4.5. Indapamid ile ilgili çalışmalar

A. Toksikolojik çalışmalar

A.1. Akut toksisite :

Indapamid düşük toksisiteye sahiptir. Medyan letal dozu LD-50= 410-557 mg/kg IP ve 557-635 mg/kg IV (sıçanlarda) bulunmuştur. Kobaylarda ise bu doz; 347-416 mg/kg IP ve 272-358 mg/kg IV olarak bulunmuştur (54,71).

A.2. Subakut ve kronik toksisite :

Indapamid'in yüksek dozlarda sıçanlarda iyi tolere edildiği ve kardiyak lezyonlara sebep olmadığı bulunmuştur

Ayrıca indapamid'in hiçbir karsinojenik etkisi yoktur.

Yapılan hayvan deneylerinde indapamid'in üreme sistemine hiçbir olumsuz ve teratojenik etkisi olmadığı bulunmuştur. Postnatal gelişme evresinde de indapamid'in hiçbir toksik etkisi görülmemiştir (71).

B. Etki özelliği ile ilgili çalışmalar

B.1. Hipertansiyonda kullanılışı :

Günlük 2.5 mg indapamid ile tedavi edilen hipertansiyonlu hastalarda sistolik ve diyastolik kan basıncında belirgin azalmalar saptanmıştır (15,26). β -blokör ilaçlarla birlikte alındığında da diyastolik kan basıncında azalma olduğu

görülmüştür (60). Indapamid ile tedavi edilen hipertansiyonlu hastalarda kan basıncı normal düzeye düşmüştür (58,60,76).

B.2. Diğer ilaçlarla karşılaştırılması :

Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda plasebo ile yapılan karşılaştırmalı tedavilerde, indapamid'in daha etkili olduğu bulunmuştur. Sistolik ve diyastolik kan basıncındaki düşüş plasebodan % 10-20 daha fazladır (17). Ayrıca yapılan diğer antihipertansif etki çalışmalarında indapamid'in bu etkisinin plasebodan daha iyi olduğu bulunmuştur (4,17).

Diğer antihipertansif ilaçlarla karşılaştırıldığında ise; 2.5 mg indapamid, 50-100 mg Hidroklorotiazid'in antihipertansif etkisine eşdeğer etki göstermektedir (63).

2.5 mg indapamid'in, 0.5 mg Siklopentiazid'in etkisinden daha fazla hipotansif etki gösterdiği gözlenmiştir (38,49).

2.5 mg indapamid'in oluşturduğu antihipertansif etki, 10-15 mg Pindolol (18), 100 mg Atenolol (23), 200 mg Metoprolol (53)'ün oluşturduğu antihipertansif etkilere eşdeğerdir.

β -adrenerjik blokaj ajanları diyastolik basıncı % 7-16 azaltırken, indapamid % 6-14 azaltmaktadır (17).

2.5 mg indapamid'in, 500 mg Metildopa kadar kan basıncını düşürdüğü saptanmıştır (59).

5 mg Bendrofluazid ve 2.5 mg indapamid kombine olarak hipertansiyonlu hastalara verildiğinde, diyastolik kan basıncının düştüğü, fakat sistolik veya arteriyel basınçta düşüş oluşmadığı gözlenmiştir (91).

β -adrenerjik blokörlerle indapamid'in kombinasyonu,

kan basıncını düşürmede diğer ilaçlarla kombinasyonundan daha etkilidir (18).

B-3. Yan etkileri :

İndapamid için yapılan çalışmaların yaklaşık % 75'inde serum potasyum konsantrasyonlarında belirgin bir azalma oluşturduğu bulunmuştur. Bu azalmaya rağmen potasyum konsantrasyonları yine de normal fizyolojik sınırlar içerisinde kalmıştır (68). Bütün bunlara rağmen azalan potasyumun yerine konulması gerektiği sonucuna varılmıştır (4,44). Ayrıca bu çalışmalarda hipokaleminin oluşturduğu başka olumsuz etkilere de rastlanılmaktadır. Bunlar arasında; elektrokardiyografik anomali, aritmi (bradikardi ve atrial fibrilasyon), kas kramppı, zafiyet, hipokloremi, ve alkalozis (75) sayılabilir.

İndapamid'in tedavide kullanılması sırasında, baş ağrısı (4,58), baş dönmesi ve benzer semptomlar (7,12,84), sinirlilik ve benzer şikayetler gibi santral sinir sistemine ilişkin yan etkileri olduğu da belirlenmiştir (17). Yorgunluk ve benzer semptomlara da sık sık rastlanılmıştır (7,23,44,67). Özellikle alt ekstremitelerde, müsküler kramp ve spazmlara neden olduğu gözlenmiştir (8,67).

Ortostatik hipotansiyon (7) ve palpasyonlar (23) gibi problemlere neden olmasına rağmen, İndapamid'in kardiyovasküler toleransının iyi olduğu söylenmektedir (17).

Gastrointestinal şikayetler olarak da; mide bulantısı, diyare, hazımsızlık, ağız kuruluğu ve konstipasyonlara neden olduğu saptanmıştır (7,44,67,86). Ayrıca araştırmacılar İndapa-

mid'in hepatitise neden olduğunu saptamışlardır (17). Yine bazı araştırmacılar da bileşimin impotens, libido azalması (24) ve ayrıca deride kızarıklık oluşturduğunu bulmuşlardır (37,47,81).

1.2.4.6. Dozajı ve ilaç olarak kullanımı :

Indapamid'in ödem ve hipertansiyon tedavisi için tavsiye edilen günlük dozu oral olarak 2.5 mg'dır. Antihipertansif tedavinin 1-2 ay sonrasında bu doz yetersiz olursa, günlük 5 mg'a kadar yükseltilebileceği ileri sürülmektedir (17,66). Buna rağmen günde 2.5 mg'ının ödem, hipertansiyon ve hipokalsiüri tedavisine uygun olduğu birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (52,57,73,74,78).

1.2.4.7. Diğer ülkelerdeki kullanımı ve preparat isimleri

Indapamid'in ülkemizden başka birçok ülkede değişik adlarla preparatları kullanılmaktadır. Bunlara verilebilecek örnekler;

Damide	(Benedetti, İtalya)
Extur	(Normon, İspanya)
Fludex	(Servier, Danimarka; Biopharma, Fransa, Hollanda; Servier, İsviçre).
Indaflex	(Lampugnani, İtalya)
Indamol	(Rorer, İtalya)
Indolin	(Herdel, İtalya)
İpamix	(Gentili, İtalya)

Lozide (Servier, Kanada)
Lozol (USV Pharmaceutical Corp., A.B.D)
Millibar (Lisapharma, Italya)
NatriliX (Servier, Avustralya; Itherepia, Almanya,
Servier, Italya; Servier, Güney Afrika,
Servier, İngiltere)
Pressural (Polifarma, Italya)
Tertensif (Servier, İspanya)

(17,73).

1.3. Indapamid İçin Geliştirilmiş Analiz Yöntemleri

1.3.1. Farmakopelerdeki durum :

Türk Farmakopesi (TF), Amerikan Farmakopesi (USP),
İngiliz Farmakopesi (BP), Avrupa Farmakopesi (EP), Japon Far-
makopesi (JP) Alman Farmakopesi (DAB)'inde yapmış olduğumuz
araştırmalarda Indapamid'in miktar tayini ile ilgili herhangi
bir analiz yöntemine rastlanılmamıştır.

1.3.2. Literatürlerdeki durum :

Literatürlerde ise, Indapamid'in biyolojik materyal-
lerde miktarının tayin edilebilmesi için geliştirilmiş olan
aletsel metodlar yer almaktadır (40). Buna rağmen tablet, dra-
je, kapsül gibi Türkiye piyasasında da mevcut Farmasötik formla-
rina uygulanan hiçbir analiz yöntemine rastlanılmamıştır. Farma-
sötik formları için yalnızca saflık tayinine yönelik olarak
uygulanan HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi-

ne rastlanılmıştır (46).

1.3.3. Uygulanan değişik yöntemler :

Yukarda da belirttiğimiz gibi miktar tayinine yönelik olarak geliştirilen hemen tüm yöntemler biyolojik sıvılar üzerinde uygulanmaktadır.

1.3.3.1 Florometri :

Biyolojik sıvılarda indapamid'in miktarının tayini için uygulanan yöntemlerden bir tanesi florometrik analiz yöntemidir(36).

Indapamid 100 C°'de NaOH'le floresans ürünü vermektedir. Indapamid 284 nm ve 356 nm'lerde eksitasyon ve emisyon dalga boylarına sahiptir. Bu yöntem, sıvı çözeltide 0.025 µg/ml konsantrasyonlarda duyarlıdır ve ilacın idrardaki miktarını tayin etmek için uygun bir yöntem olduğu bulunmuştur (34).

1.3.3.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK) :

Dört elüent sistem [etilasetat-metanol-% 30 amonyak (85:10:15), sikloheksan-toluen-dietilamin (65:25:10), etilasetat-kloroform (50:50) ve aseton] kullanılarak biyolojik

sıvılarda kromatografik yöntemle indapamid tayin edilmiştir (23).

1.3.3.3. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) :

Indapamid tedavisi sırasında plazma düzeyinin belirlenmesi (30), kan ve idrarda indapamid miktarının tayin edilmesi (19) ve ayrıca idrarda indapamid'in ve metabolitlerinin miktarının belirlenebilmesi için en çok başvurulan yöntem HPLC olmuştur (69). Indapamid'in tanımlanması için de bu yöntem kullanılmıştır (46).

1.3.3.4. Gaz kromatografisi :

Indapamid'in vücut sıvılarından izole edilmesi için gaz kromatografisi tekniği kullanılmıştır (11).

1.4. Kullanılan Yöntemlerle İlgili Genel Bilgiler

Indapamid'in miktar tayinine yönelik olarak tez kapsamında yürütülen çalışmalar iki grupta toplanmaktadır.

1. Spektrofotometrik yöntemler

- A. UV bölgesinde yapılan çalışmalar
- B. Görünür bölgede yapılan çalışmalar
- C. IR bölgesinde yapılan çalışmalar

2. Titrimetrik yöntemler

Susuz ortamda asidimetrik yöntem

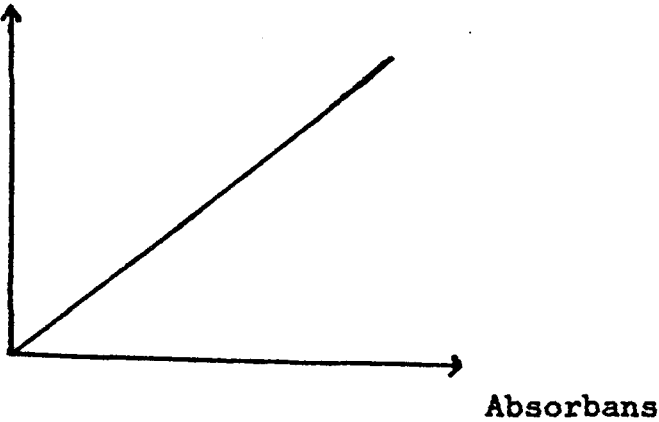
1.4.1. Spektrofotometrik yöntemler

Spektrofotometrik olarak uygulanan yöntemler; ilaç etken maddelerinin gerek doğrudan, gerekse değişik Farmasötik formları içinde kalitatif ve kantitatif analizlerine yönelik olarak çok yaygın kullanım alanı bulan yöntemlerdir.

Tüm spektroskopik analizlerin esası, madde çözeltisinden geçen enerji miktarı ile, madde içermeyen çözücünden geçen enerji miktarının karşılaştırılmasına dayanır ve böylece elde edilen geçirgenliğin ifadesi olarak bulunan T değeri $T = -\log A$ 'nın kullanılmasıyla analiz için gerekli hesaplamalar yapılır.

UV, IR ve görünür sahada yapılan nicel değerlendirmelerde Lambert-Beer yasası geçerlidir. Lambert-Beer kanununun gereği absorptans konsantrasyonla uyumluluk gösterir ve bunun sonucu olarak absorptansın konsantrasyonla değişimini veren grafik orjinden geçen bir doğru şeklindedir (Şekil 1.3).

Konsantrasyon



Şekil 1.3: UV Spektroskopisinde Konsantrasyon-Absorbans ilişkisi.

Spektrofotometrik yöntemlerle yapılan kantitatif tayinlerde genellikle iki yol izlenir.

1. Referans standart ile, miktar tayini yapılacak madde aynı koşullarda (dalga boyu, slit açıklığı, tabaka kalınlığı ve çözücü) karşılaştırılarak kantitatif tayin yapılır

2. Referans standardın değişik konsantrasyonlu çözeltileri hazırlanıp, bunların seçilen belli bir dalga boyunda absorbanları ölçülerek elde olunan konsantrasyon-absorbans doğrusundan yararlanarak numune çözeltideki madde miktarının tayini yoluna gidilir (25).

1.4.1.1. UV bölgesinde yapılan uygulama

Özellikle UV spektrofotometresiyle miktar tayini çok sık başvurulan yöntemlerden birisidir.

UV bölgesindeki ışının absorblanmasıyla, madde moleküllerinin enerji düzeylerinde değişimler olmaktadır. Bu değişimler sonucunda absorblanan ışının dalga boyu ve şiddeti, maddenin nitel ve nicel özelliğine bağlı olarak değişkenlik gösterip, maddenin kalitatif ve kantitatif analizine olanak sağlamaktadır.

Çalışmalarımız sırasında, UV alandaki ölçümlerin sonuçlarının matematiksel olarak değerlendirildiği bir diğer yöntemden daha yararlanılmıştır (2). Bu yöntemde, etken maddeyi değişik konsantrasyonlarda içeren bir dizi çözeltinin istenen dalga boylarındaki absorbanları ölçülmüş ve bu absorbanlardan yararlanarak ($Y=ax+b$) denkleminde a (egim) ve b (kesişim) değerleri bulunmuştur. Daha sonra tablet formundan hazır-

lanan çözeltinin absorpsiyonu okunarak doğru denkleminde (Y) yerine konmuş ve (x) değeri (konsantrasyon) buradan duyarlı olarak bulunmuştur. Elde edilen bu x değerlerinden yararlanarak da % saflık değeri hesaplanmıştır.

1.4.1.2. Görünür bölgede yapılan uygulama

Görünür bölgede absorpsiyonu olan herhangi bir ilaç maddesinin (renkli ya da renklendirilmiş madde çözeltisi) miktar tayini, maddenin belli konsantrasyondaki çözeltisinden uygun bir dalga boyunda ışık ışını geçirilerek yapılır. Seçilen dalga boyunda maddenin absorpsiyonu ölçülür ve bölüm 1.4.1.1.'de sözü edilen yöntemlerden herhangi birisine uygun biçimde madde miktarı hesaplanır.

1.4.1.3. IR bölgesinde yapılan uygulama

IR bölgesindeki çalışmalarda, molekülün IR sahadaki ışınları absorblaması esasından yararlanılır. Bir molekülün IR ışınlarını absorblaması için, belli nitel ve nicel özelliklere sahip olması gerekmektedir. IR bölgesi genellikle daha geniş bir alanı kapsamakla beraber, analizler için kullanılan IR bölgesindeki ışınların dalga boyu 2500-25000 nm'ler arasındadır. IR spektroskopisinde pratikte dalga boyu yerine, dalga sayısı olarak 2500 nm'ye 400 cm^{-1} , 25000 nm'ye de 4000 cm^{-1} değerleri eşdeğer olarak kullanılmaktadır.

IR yöntemi, herhangi bir bileşiğin içerdiği safsızlık ve kimyasal yolla oluşan yıkılma ürünlerinin saptanmasında veya madde yapılarının aydınlatılmasında çok yaygın kulla-

nıldığı gibi, ilaç etken maddelerinin nicel analizinde de uygulama alanı bulmuştur.

IR yöntemi ile yapılan nicel değerlendirmelerde de UV ve görünür saha spektroskopisinde olduğu gibi, Lambert-Beer yasası geçerlidir. Bu nedenle nicel çalışmalar açısından yöntemin uygulanması sırasında konsantrasyon ile maddenin belli dalga sayısındaki pikinin şiddeti arasındaki doğrusal ilişkiyi yararlanılır. Analiz sırasında elde olunan rakamlar, bu doğrusal ilişki temel alınarak grafiğe geçirilir ve böylece değerlendirilir. Sonuç almak açısından bir başka uygulama ise, madde ile analiz örneğinin aynı anda ve aynı koşullarda ölçülen absorpsiyon değerlerinin $C_x = C \cdot (A_x / A_s)$ formülünde yerine konularak sonuçların bulunduğu uygulamadır.

1.4.2. Titrimetrik yöntemler

1.4.2.1. Susuz ortam titrasyonları

Proton transferi ile yürütülen asit baz titrasyonları genelde sulu çözelti ortamında yapılmakla birlikte, asit-baz dengesi sadece sulu ortam olarak değerlendirilemez. Pek çok sayıdaki bileşik, asitlik ve bazlık kuvvetleri yeterli olmadığından sulu çözeltide titre edilemezler. Brönsted'in asit baz teorisi, susuz ortamda da geçerlidir. Organik bileşiklerle susuz ortamda çalışıldığında, proton transferini sağlayacak ortam su yerine başka bir çözücü ise, protoliz titrasyonları yapılabilir.

Zayıf asit ve bazların susuz ortamdaki titrasyonlarında ortamın çözücüsünün, tayini yapılan maddenin iyonlaşma, disosiyasyon, asitlik ve bazlık özellikleriyle uyum içinde

olacak, bu özellikleri olumsuz yönde etkilemeyecek şekilde olmasına özen gösterilir.

Susuz ortam titrasyonlarında ortamın mutlak kuruluğu önemli bir etken olduğundan ortamda su bulunması kesinlikle önlenmelidir.

Susuz ortam titrasyonlarında dönüm noktası metil oranj, metil kırmızısı, fenol ftalein, kristal viyole, kinaldin kırmızısı, timol mavisi gibi renkli indikatörler yardımıyla veya çoğu kez cam kalomel elektrot'un kullanıldığı potansiyometrik yöntemle saptanır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

UV spektrofotometresi: Pye- Unicam SP-1700

UV linear recorder: Pye- Unicam AR-25

IR spektrofotometresi: Pye- Unicam SP-1025, Perkin- Elmer 1330

Duyarlı terazi: Mettler H-10

Plak kaplayıcısı: Camac

Kalibrasyonu tam olan çeşitli boy jena camdan yapılmış balon joje, büret, mikrobüret, pipet, erlenmayer, beher, huni ve ayrıca ince tabaka kromatografisi (ITK) için 10x20 cm cam plaktan yapılmış malzemelerden yararlanılmıştır.

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımız sırasında yararlandığımız tüm kimyasal maddeler (Etanol, Sülfirik Asit, Dimetil Sülfoksit (DMSO), 1-Propanol, 2-Propanol, Kinaldin Kırmızısı, Sodyum Hidroksit Pellet, Sodyum Nitrit, Kieselgel HF-254, Kieselgel G, Fenil-izosiyanat ve Potasyum Bromür) Merck marka olup, içlerinden sadece etanol, yerli etanol olarak temin edilmiş ve adi basınçta distilasyon tekniğine göre distillenerek kullanılmıştır.

Kullanılan Standart Maddeler:

Açıklamalarda indapamid olarak söz ettiğimiz ve çalışmalarımızı üzerinde yürüttüğümüz bileşik: Indapamid, [4-kloro-N-(2-metil-1-indolin-1-yl)-3-sülfamoil benzamid], hemihidrat yapısındadır.

Indapamid hemihidrat: Drifen ilaç Sanayii A.Ş. ve İltas ilaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.'den sağlanmıştır.

Indapamid hemihidrat içeren Flupamid Draje ve Indamid Kapsül, her iki firmanın Ankara temsilciliklerinden sağlanmış ve çalışmalarımız sağlanabilen bu müstahzarlar üzerinden yürütülmüştür. Ayrıca Türkiyede 2.5 mg indapamid hemihidrat içeren indamid adlı kapsül ve flupamid adlı draje üretilmek üzere ruhsat almıştır.

2.3. Kullanılan Standart Maddelerin Tanınması ve Saflığının Araştırılması

Indapamid hemihidrat, beyaz renkli kristal tozdur. Alkali solüsyonlarda; metanol, etanol ve asetonda çözünür, suda çözünmez.

Etken madde olarak indapamid'in metanol ve etanoldeki çözeltisi UV spektrofotometresinde 242 nm'de maksimum absorpsiyon piki vermektedir (20).

Campbell, D.B. ve arkadaşları, indapamid'in IR spektrumu değerlendirmelerini şu şekilde vermektedirler; 3280 cm^{-1} (N-H), 1665 cm^{-1} (amid, C=O), 1335 cm^{-1} ve 1165 cm^{-1} (SO_2), 1290 cm^{-1} (C-N), 745 cm^{-1} (C=C)'de pikleri (13).

Ergime noktası: 160-162 C° olarak belirlenmiştir. (Ergime noktası ısıtma hızına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir), (20).

Saflık kontrolü amacıyla standart indapamid hemihidrat'ın UV ve IR spektrumları alınmış, ergime noktası tayin edilmiştir. Yine saflık kontrolü amacıyla ince tabaka kromatog-

rafisinden (İTK) yararlanılmıştır. Bu amaçla 0.3 mm kalınlığında adsorban kaplandıktan sonra 100 C°'de 1 h süreyle aktive edilmiş 10x20 cm'lik plaklar kullanılmıştır. Kromatografik amaçla yararlandığımız adsorban ve solvan sistemi aşağıda verilmiştir.

Adsorban= Kieselgel G: Kieselgel HF-254 (50:50)

Solvan sistemi= n-butanol: amonyak: su (4:1:3)

Drifen İlaç Sanayii A.Ş. ve İltaş İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.'den temin edilmiş olunan İndapamid hemihidratlar ve Flupamid draje ve İndamid kapsüllerin etanoldeki çözeltileri plaga tatbik edilmiştir. Sürüklenme işlemi tamamlandıktan sonra, açık havada kurutulmuş plaktaki lekeler UV lambası altında 254 nm'de incelenmiştir. Sonra Rf değerleri tayin edilmiştir. Sonuç olarak plak üzerinde aynı Rf değerlerinde beklenen lekeler elde edilmiştir. Böylece maddelerin saf ve standart ile aynı madde oldukları sonucuna varılmıştır.

2.4. İndapamid Hemihidrat İçin Uyguladığımız Miktar Tayini Yöntemleri

2.4.1. Spektrofotometrik yöntemler

İndapamid hemihidrat'ın farmasötik preparatlarında miktar tayini, spektrofotometrik yöntemle üç şekilde uygulanmıştır :

- 1- UV bölgesinde yapılan çalışmalar
- 2- Görünür bölgede yapılan çalışmalar

3- IR bölgesinde yapılan çalışmalar

2.4.1.1. UV bölgesinde yapılan çalışmalar

2.4.1.1.A. Referans yardımıyla uygulanan yöntem

Standart maddenin değişik konsantrasyonlu çözeltileri hazırlanıp, bunların seçilen dalga boyunda absorbanları okunmuştur. Bu değerlerden yararlanılarak konsantrasyon (x), absorban (y) olmak üzere en küçük kareler yöntemine göre, $y=ax+b$ doğru denklemi çıkarılmıştır. Daha sonra draje ve kapsüller toz edilerek hazırlanan çözeltilerin absorbanı okunmuştur. Doğru denklemde absorbanlar (y) değeri olarak, konsantrasyonlar (x) değeri olarak; $y=ax+b$ denklemine yerine konulmak suretiyle sonuçlar hesaplanmıştır.

Referans çözeltisinin hazırlanması :

25 mg Indapamid hemihidrat tam olarak tartılıp, 25 ml'lik balon jofede etanol ile çözülerek, gerekli hacme tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 ml'lik kısımlar 100 ml'lik balon jofelere alınarak, bu hacim içinde etanol ile seyreltilmiştir. Absorbanlar etanol çözeltisine karşı 242 nm'de okunmuştur. Absorbanlar (y), konsantrasyonlar (x) olmak üzere eğim (a) ve kesişim (b) değerleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır. Bu değerlere göre $y=ax+b$ denklemi kurulmuş ve determinasyon katsayısı hesaplanmıştır.

En küçük kareler yöntemine göre hesaplamalar aşağıda-

ki denklemler yardımıyla yapılmıştır.

$$a = \frac{N\sum xy - \sum x \sum y}{N\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{\sum y \sum x^2 - \sum y \sum xy}{N\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$r^2 = \frac{(\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{N})^2}{[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N}] \cdot [\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{N}]}$$

a = Doğrunun eğimi

b = Kesişim

N = Veri veya deney sayısı

r² = Determinasyon katsayısı

x = Konsantrasyon

y = Absorbans

numune çözeltisinin hazırlanması :

Yirmi adet draje hassas olarak tartılıp, havanda iyice toz edilmiştir. Aynı şekilde yirmi adet kapsülün içeriği hassas olarak tartılmıştır. Daha önce hazırlanan referans çözeltileri kullanılarak yöntem için uygun konsantrasyon saptanmıştır. Bu konsantrasyona eşdeğer miktarda draje ya da kapsül içeriği tam olarak tartılıp, etanolle 100 ml'ye tamamlanmış ve kantitatif süzgeç kagidından süzülmüştür. Süzüldükten sonra absorbansları etanol çözeltisine karşı 242 nm dalga boyunda okunmuştur. Bulunan bu değer daha önceden elde edilen doğru denkleminde yerine konarak konsantrasyon bulunmuş ve buradan draje veya kapsüllerdeki etken madde miktarına geçilmiştir.

2.4.1.2. Görünür sahada yapılan çalışmalar

Görünür bölgede, renkli bileşik oluşturarak bir çalışma yapılmıştır. Flupamid draje ve indamid kapsüllere ayrı ayrı bu yöntem uygulanmıştır.

Referans çözeltisinin hazırlanması :

25 mg indapamid hemihidrat tartılıp, 100 ml'lik balon jofede etanol ile gerekli hacme tamamlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltiden 1, 2, 3, 4, 5 ml çekilip 50 ml'lik balon jofelere konulmuştur. Uygulama sırasında balon jofeler ayrı ayrı buz banyosunda soğutularak her birine 2 ml Liebermann belirteci ilave edilip, sarı renk elde edilmiştir. Balon jofeler istenen hacme etanol ile tamamlanmıştır. 380 nm dalga boyunda, köre karşı absorbanları okunmuştur. Absorbanslar (y), konsantrasyonlar (x) olmak üzere eğim (a) ve kesişim (b) değerleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır. Bu değerlere göre $y=ax+b$ denklemi kurulmuş ve determinasyon katsayısı hesaplanmıştır. En küçük kareler yöntemine göre hesaplamalar, bölüm 2.4.1.1.'de sözünü ettiğimiz şekilde yapılmıştır.

Kör çözeltisi :

2 ml Liebermann belirteci buz banyosunda soğutularak 50 ml'ye balon jofede etanol ile tamamlanmıştır.

numune çözeltisinin hazırlanması :

20 adet draje tartılmış, havanda iyice toz edilmiştir. Kapsüller için ise, 20 adet kapsül içeriği tam olarak tartılıp havanda iyice karıştırılmıştır. Daha önce hazırlanan referans çözeltileri kullanılarak yöntem için uygun konsantrasyon saptanmıştır. Bu konsantrasyona eşdeğer olacak miktarda toz edilen analiz numunesi tam olarak tartılmış, 10 ml etanol ile 50 ml'lik balon jodede iyice çözülmüş ve buz banyosunda soğutulduktan sonra 2 ml Liebermann belirteci ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çözelti soğutulmuş etanol ile gerekli hacme tamamlanmıştır. Absorbanslar kör çözeltilisine karşı 380 nm dalga boyunda okunmuş ve bulunan bu değer daha önceden elde edilen doğru denkleminde yerine konularak konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Böylece elde edilen bu bulgulardan yararlanılarak tabletlerdeki etken madde miktarına geçilmiştir.

Kullanılan çözeltilerin hazırlanması :

Liebermann çözeltisi :

0.5 gr Sodyum nitrit tartılıp 50 ml'lik balon jodede derişik süfirik asitle 50 ml'ye çözümlenerek tamamlanmıştır.

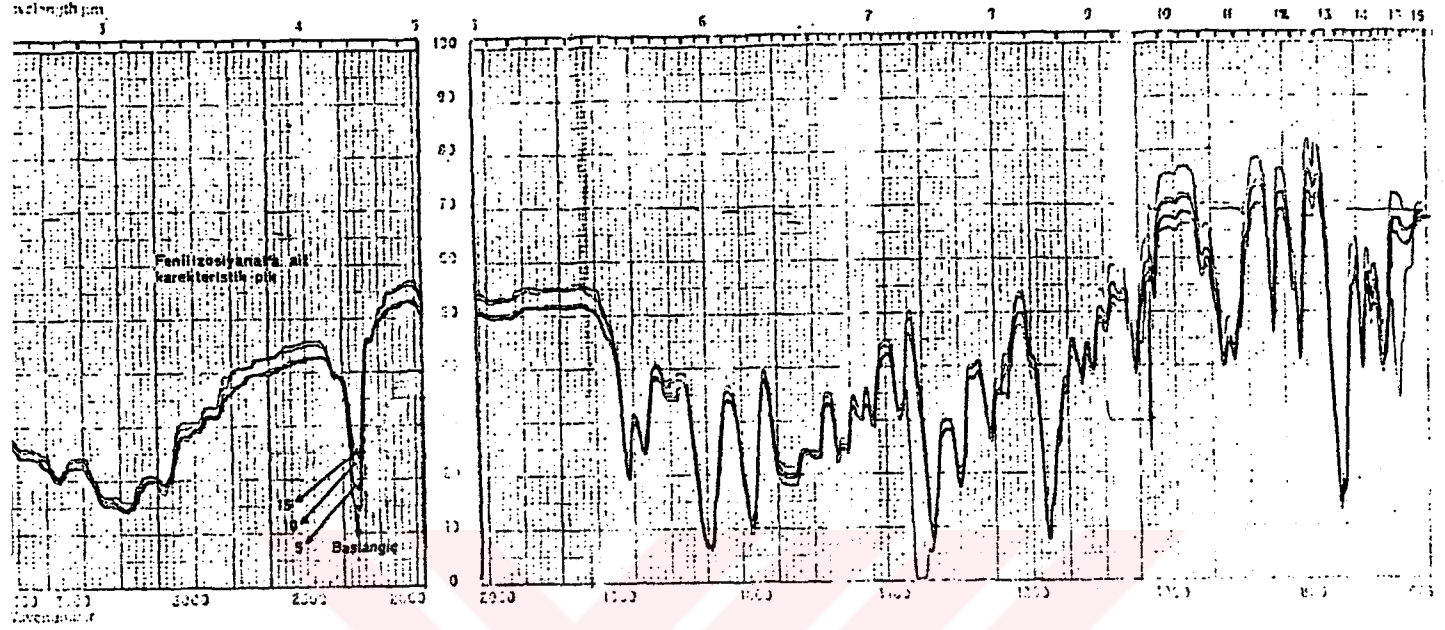
2.4.1.3. IR spektrofotometresi ile yapılan çalışmalar

IR yöntemi ile yaptığımız nicel çalışmalarda spektrum almak için KBr disklerini kullandık. Bu teknikte etken madde/KBr oranı yaklaşık %1 civarında tutulmuş ve 100-150 mg civarında etken madde tartılarak tablet hazırlanmıştır. Etken maddenin

KBr içinde homojen olarak dağılmasına özen gösterilmiş, disk kalınlığının aynı kalmasını sağlamak için farklı konsantrasyonlarda aynı ağırlıkta tabletler hazırlanmıştır.

Indapamid'in KBr içinde $625-3800 \text{ cm}^{-1}$ arası spektrumu alınmıştır ve karakteristik pik verdiği $625-1700 \text{ cm}^{-1}$ bölgesi dışında pik verebilecek bir internal standart maddenin seçimi için araştırma yapılmıştır (83). Zira yöntemin uygulaması sırasında yine Lambert-Beer kanununa göre absorpsiyon-konsantrasyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi esastır. Bu ilişkinin değerlendirilmesi ise, $y=ax+b$ doğru denkleminin kurulmasıyla ve deklemin kurulabilmesi ise özellikle internal standart maddenin vereceği bu absorpsiyon piklerinin minimum ve maksimum geçirgenlik değerlerinin base-line yöntemine göre saptanmasıyla mümkün olmaktadır. Maddelerin tek tek karakteristik piklerine bakılarak en uygun bileşiğin bu açıdan Fenilizosiyanat olduğu saptanmıştır.

Indapamid ve Fenilizosiyanat'ın birlikte IR spektrumu alındığında karakteristik piklerinin birbirine karışmadığı görülmüş; ancak belli zaman dilimlerinde çekilen spektrumlarda, Fenilizosiyanat'ın 2280 cm^{-1} 'deki karakteristik pikinin zamana bağlı olarak belirgin ölçüde küçüldüğü gözlenmiştir. Bu durumun, genelde siyanat türevleri için geçerli olan uçuculuk özelliğinden kaynaklandığı ve sonuçta da Fenilizosiyanat'ın spektrum almak için hazırlanan tablet içinde belirlenen konsantrasyonunu koruyamadığı gözlenmiştir (Şekil: 2.1).



Şekil 2.1 : Fenilzosiyanat ve Indapamid karışımının zaman değişimli IR spektrumu.

Internal standart arama çalışmalarımız devam etmiş, fakat uygun olabileceğini düşündüğümüz bazı maddelerin kısıtlı olanaklarımızla sağlanamaması, mevcut maddelerin ise aynı şekilde uçuculuk özelliği göstermesi nedeniyle bu yöntemin uygulanması mümkün olamamıştır.

2.4.2. Titrimetrik yöntem

2.4.2.1. Susuz ortamda asidimetrik titrasyon

Literatürde diüretik, antihipertansif etkili bir bileşik olan Xipamid için verilen yöntem Indapamid hemihidrat'a uygulanmıştır (85).

Reaksiyonun Indapamid yapısında bulunan amid üzerinden yürümesi söz konusudur. Sonuçta amid (-CONH-), imid (-COH=N-) yapısına dönüşmektedir ki, imid yapısındaki OH'ın zayıf asitlik özelliğinden yararlanılarak titrimetrik yöntemin uygulanması mümkün olmaktadır.

Bu amaçla 25 mg civarında tam tartılmış indapamid hemihidrat 25 ml Dimetil sülfoksitte çözülmüş, üç damla Kinaldin kırmızısı ilave edilerek 0.1 N NaOH ile, sarı renge kadar titre edilmiştir.

Flupamid draje ve indamid kapsüllere bu yöntem ayrı ayrı uygulanmıştır. Bu amaçla 20 draje veya kapsül hassas olarak tartılıp, havanda iyice toz edilmiştir. 25 mg saf maddeye eşdeğer miktarda toz, tam tartılarak diğer işlemler aynen tekrarlanmıştır.

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı :

0.1 N NaOH :

4 gr NaOH tam tartılıp 1-propanol içinde çözüle-
rek 1000 ml'ye tamamlanmıştır (85).

Kinaldin kırmızısı çözeltisi :

0.100 gr Kinaldin kırmızısı tartılıp, 2-propanolde
çözülerek 50 ml'ye tamamlanmıştır (85).

3. BULGULAR :

3.1. Tanıma ile ilgili Sonuçlar

Indapamid hemihidrat'ın tanınması ile ilgili alışmalar Drifen ilaç Sanayi A.ř ve İltaş ilaç Sanayi ve Ticaret A.ř'den temin edilen saf maddeye ayrı ayrı uygulanmıştır.

Ergime noktaları :

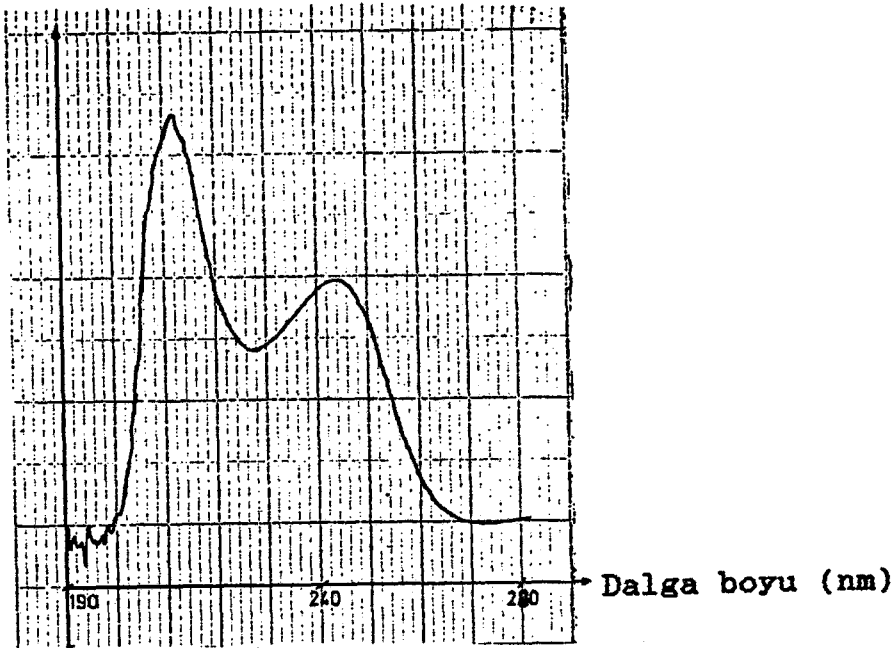
Her iki firmadan temin edilen indapamid hemihidrat için 162 C° olarak bulunmuştur. Saptamış olduğumuz bu bulgu literatürde (20) indapamid için verilmiş olan ergime noktası değerleri ile uygunluk göstermektedir.

UV spektrumları :

Her iki firmadan elde edilen ve standart olarak kullandığımız indapamid hemihidrat'ın etanol içinde alınan spektrumları şekil 3.1.a ve şekil 3.1.b'de görölmektedir. Standart maddelerin literatürde (20) belirtildiği gibi 242 nm dalga boyunda absorpsiyon pikleri verdiği görölmüştür.

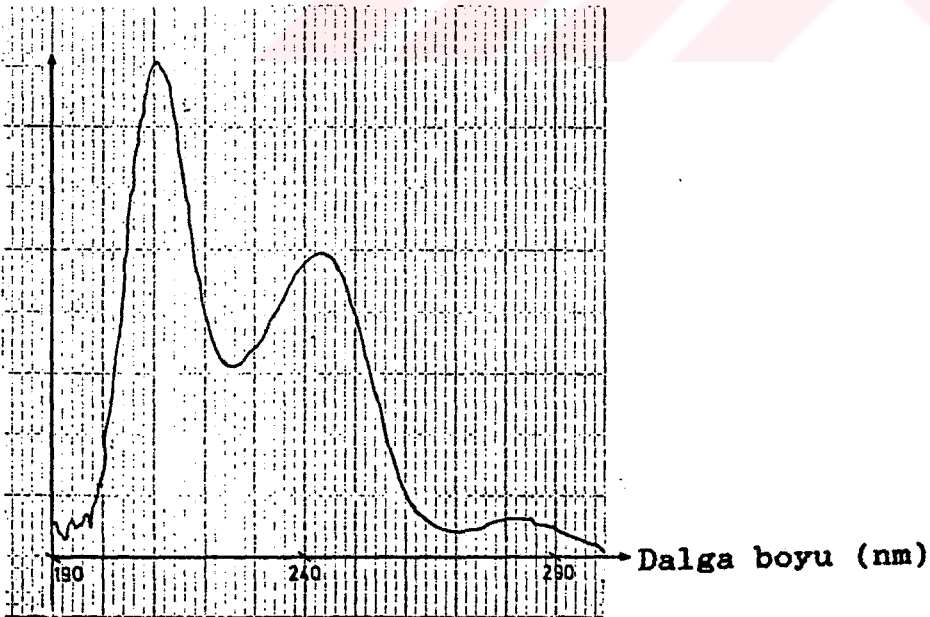
Saptamış olduğumuz bu değerler literatürde (20) indapamid için verilmiş olan maksimum absorpsiyon değerleri ile uygunluk göstermektedir.

Absorbans



Sekil 3.1.a : Drifen'den temin edilen Indapamid hemihidrat'ın UV spektrumu

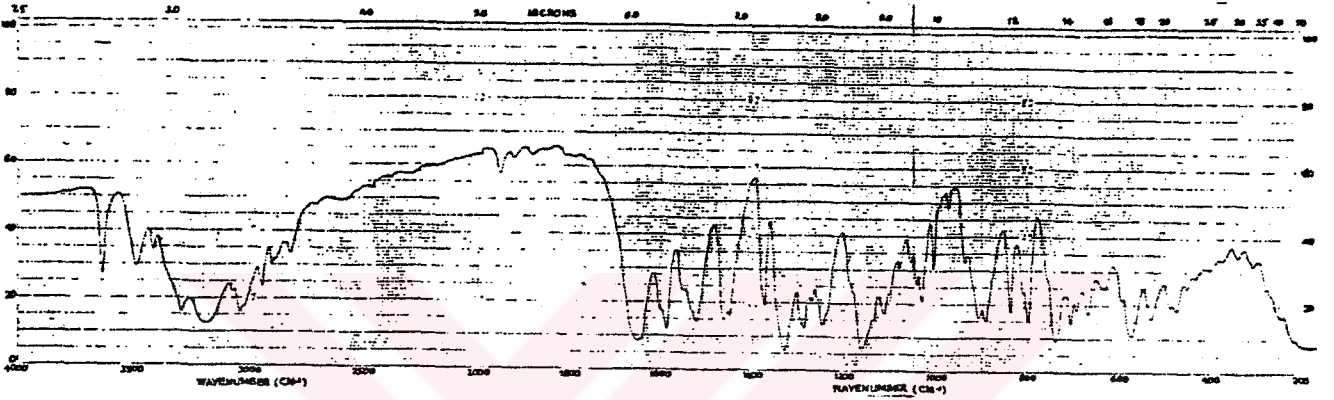
Absorbans



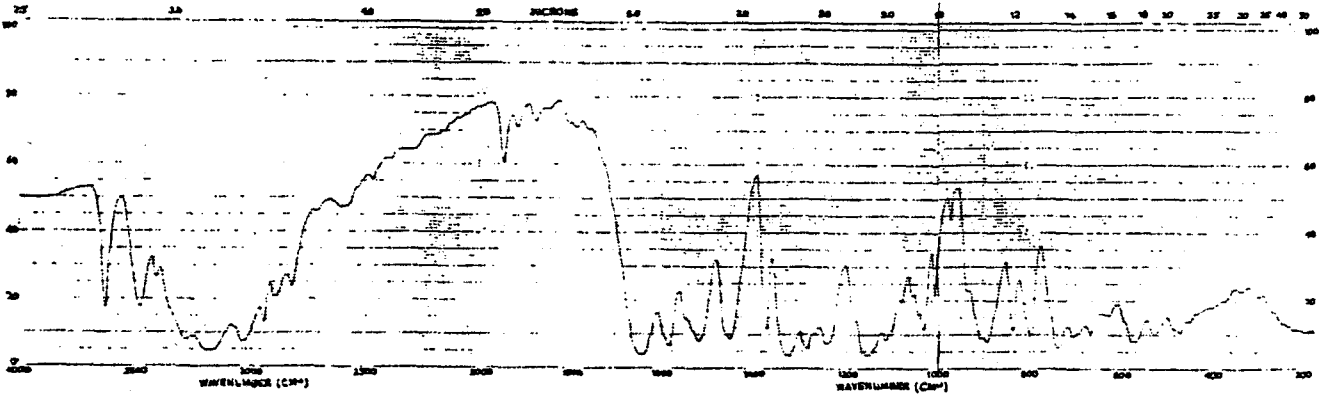
Sekil 3.1.b : Iltas'dan temin edilen Indapamid hemihidrat'ın UV spektrumu.

IR spektrumları :

Her iki firmadan temin olunan, KBr diskine basılmış Indapamid hemihidrat'ın 200 cm^{-1} ve 4000 cm^{-1} arasındaki IR spektrumları şekil 3.1.c ve şekil 3.1.d'de görülmektedir.



Şekil 3.1.c : Drifen'den temin edilen Indapamid hemihidrat'ın IR spektrumu



Şekil 3.1.d : İltas'dan temin edilen Indapamid hemihidrat'ın IR spektrumu.

Bu spektrumlardan da görüldüğü gibi Indapamid'in yapısında 3280 cm^{-1} 'de NH, 1665 cm^{-1} de amid, 1335 cm^{-1} ve 1165 cm^{-1} 'de SO_2 , 1290 cm^{-1} 'de C-N, 745 cm^{-1} 'de C=C pikleri bulunmaktadır. Bu sonuçlar literatürde (13) verilen değerlerle uygunluk göstermektedir.

İTK analizi, bölüm 2.3 'de anlatılan solvan sisteminde saf Indapamid hemihidrat ve farmasötik preparatları için uygulandığında aynı Rf değerleri elde edilmiştir. Rf = 0.58.

3.2. Kantitatif Analiz Sonuçları

3.2.1. UV bölgesinde yapılan çalışma sonuçları

3.2.1.1. Referans yardımıyla uygulanan yöntem

Flupamid draje ve indamid kapsüllere bölüm 2.4.1.1.A' da anlatılan kantitatif analiz işlemi 10'ar kez uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar tablo 3.1 ve tablo 3.2'de yer almaktadır.

Tablo 3.1 : UV bölgesinde referans yardımıyla Flupamid draje-lerden elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan indapamid hemihidrat mg/draje	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar : 2.5 mg/draje \bar{X} = 2.54 S= 0.01 $S/\bar{X}.100= 0.31$ Güven aralığı = 2.53-2.55 Doğru denklemi: $y= 0.0597 x + 0.0035$
1	2.53	
2	2.54	
3	2.55	
4	2.55	
5	2.54	
6	2.53	
7	2.53	
8	2.53	
9	2.53	
10	2.54	

Tablo 3.2 : UV bölgesinde referans yardımıyla indamid kapsül-lerden elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan indapamid hemihidrat mg/kapsül	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar : 2.5 mg/kapsül \bar{X} = 2.56 S= 0.01 $S/\bar{X}.100= 0.28$ Güven aralığı = 2.55-2.57 Doğru denklemi : $y= 0.0669 x + 0.0222$
1	2.57	
2	2.55	
3	2.56	
4	2.55	
5	2.57	
6	2.56	
7	2.55	
8	2.57	
9	2.56	
10	2.56	

\bar{X} = Ortalama değer

S = Standart sapma

$S/\bar{X}.100$ = Varyasyon katsayısı (Bağıl sapma)

$\bar{X} \pm S$ = Güven aralığı

3.2.2 Görünür bölgede yapılan çalışma sonuçları

Flupamid draje ve indamid kapsüllerde Liebermann belirtici ile oluşturulan renkli çözeltilerin görünür bölgedeki analizleri bölüm 2.4.1.2 'de anlatılmıştır. Yöntem her iki farmasötik preparat şekline de 10'ar kez uygulanmıştır. Analiz bulguları tablo 3.3 ve tablo 3.4 'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3 : Görünür bölgede referans yardımıyla Flupamid drajelerden elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan indapamid hemihidrat mg/draje	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar :
1	2.52	2.5 mg/draje
2	2.51	$\bar{X}= 2.50$
3	2.49	S= 0.01
4	2.49	$S/\bar{X}.100= 0.50$
5	2.52	Güven aralığı =
6	2.49	2.49-2.51
7	2.49	Doğru denklemi :
8	2.51	$y= 0.0420 x - 0.0260$
9	2.50	
10	2.49	

Tablo 3.4 : Görünür bölgede referans yardımıyla indamid kapsül-lerden elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan indapamid hemihidrat mg/kapsül	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar :
1	2.50	2.5 mg/kapsül
2	2.51	$\bar{X} = 2.49$
3	2.49	$S = 0.01$
4	2.49	$S/\bar{X}.100 = 0.40$
5	2.50	Güven aralığı =
6	2.48	2.48-2.50
7	2.48	Doğru denklemi :
8	2.49	$y = 0.0403 x + 0.0236$
9	2.50	
10	2.50	

3.2.3. Titrimetrik yöntem sonuçları

3.2.3.1. Susuz ortamda asidimetrik yöntem ile yapılan analiz sonuçları

0.1 N NaOH kullanılarak, uygulaması bölüm 2.4.2.1'de anlatılan yöntem, indapamid hemihidrat, flupamid draje ve indamid kapsül preparatlarına 10'ar kez uygulanmıştır. Bulgular tablo 3.5, 3.6, 3.7, 3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5 : Titrimetrik yöntemin Indapamid hemihidrat (DRIFEN)'a uygulanmasıyla elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan Indapamid hemihidrat %'si (DRIFEN)	
1	102.32	
2	101.86	
3	101.11	$\bar{X} = 101.67$
4	101.62	$S = 0.42$
5	101.79	$S/\bar{X} \cdot 100 = 0.41$
6	102.07	Güven aralığı =
7	102.03	101.25-102.09
8	101.11	
9	101.44	
10	101.32	

Tablo 3.6 : Titrimetrik yöntemin Indapamid hemihidrat (ILTAS)'a uygulanmasıyla elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan Indapamid hemihidrat %'si (ILTAS)	
1	101.62	
2	100.69	
3	100.76	$\bar{X} = 100.82$
4	100.84	$S = 0.47$
5	100.56	$S/\bar{X} \cdot 100 = 0.46$
6	100.58	Güven aralığı =
7	100.05	100.35-102.29
8	100.49	
9	101.27	
10	101.33	

Tablo 3.7 : Titrimetrik yöntemin Flupamid drajelere uygulanması ile elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan İndapamid hemihidrat mg/draje	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar : 2.5 mg/draje \bar{X} = 2.55 S= 0.01 $S/\bar{X}.100=$ 0.12 Güven aralığı = 2.54-2.55
1	2.54	
2	2.55	
3	2.55	
4	2.54	
5	2.55	
6	2.55	
7	2.54	
8	2.54	
9	2.55	
10	2.55	

Tablo 3.8 : Titrimetrik yöntemin İndamid kapsüllere uygulanması ile elde edilen analiz bulguları.

Numune No	Bulunan İndapamid hemihidrat mg/kapsül	Preparat içinde var olduğu belirtilen miktar : 2.5 mg/kapsül \bar{X} = 2.51 S= 0.01 $S/\bar{X}.100=$ 0.76 Güven aralığı = 2.50-2.52
1	2.49	
2	2.50	
3	2.53	
4	2.52	
5	2.53	
6	2.54	
7	2.49	
8	2.50	
9	2.51	
10	2.53	

Flupamid draje ve indamid kapsüllere uyguladığımız bütün yöntemlerin istatistiksel sonuçları tablo 3.9 ve 3.10'da görülmektedir.

Tablo 3.9 : Flupamid drajelere uygulanan yöntemlerin istatistiksel karşılaştırılması.

	UV bölgesindeki yöntem	Görünür bölgedeki yöntem	Titrimetrik yöntem
n	10	10	10
\bar{X}	2.54	2.50	2.55
S	0.01	0.01	0.01
$S/\bar{X}.100$	0.31	0.50	0.12
Güven aralığı	2.53- 2.55	2.49- 2.51	2.54- 2.56

Tablo 3.10 : Indamid kapsüllere uygulanan yöntemlerin istatistiksel karşılaştırılması.

	UV bölgesindeki yöntem	Görünür bölgedeki yöntem	Titrimetrik yöntem
n	10	10	10
\bar{X}	2.56	2.49	2.51
S	0.01	0.01	0.02
$S/\bar{X}.100$	0.28	0.40	0.76
Güven aralığı	2.55- 2.57	2.48- 2.50	2.50- 2.53

Ayrıca, draje ve kapsüllere uygulanan bütün yöntemler için t değerleri bulunarak, yöntemlerin birbiriyle karşılaştırılması yapılmıştır. Bu istatistikî sonuçlar tablo 3.11'de yer almaktadır.

Tablo 3.11 : Flupamid draje ve indamid kapsüller için uygulanan aynı yöntemlere ilişkin karşılaştırmalı istatistikî değerleri.

Yöntem	t değeri	p
UV alan	-5.438	$p < 0.01$
Görünür alan	2.090	$p > 0.01$
Titrimetrik	6.532	$p < 0.01$

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Giriş ve amaç kısmında belirttiğimiz gibi, Indapamid hemihidrat'ın nicel analizine ait herhangi bir yönteme, Türk farmakopesi de dahil olmak üzere hiçbir farmakopede rastlanılmamıştır. Bu nedenle tez kapsamındaki çalışmalarımızı Indapamid hemihidrat'ın, o tarihlerde Türkiye piyasasında mevcut olan iki preparatı (Flupamid draje ve Indamid kapsül) üzerinden yürüttük.

Bu amaçla, Indapamid hemihidrat, kapsül ve drajelerine uyguladığımız yöntemler başlıca iki grupta toplanabilir.

1. Spektroskopik yöntemler

1.1. UV bölgesinde yapılan çalışmalar

1.2. Görünür bölgede yapılan çalışmalar

1.3. IR bölgesinde yapılan çalışmalar

2. Titrimerik yöntemler

2.1. Susuz ortamda asidimetrik titrasyon

Çalışmalarımızın başlangıcında, her iki firmadan temin edilen Indapamid hemihidrat'ın tanınma ve saflığının araştırılması amacıyla ergime noktası tayin edilmiş, İTK'da vermiş olduğu lekeler incelenmiş, UV ve IR spektrumları alınmıştır. Elde edilen bulguların literatürlerle (13,20) karşılaştırılmasından sonra, Indapamid hemihidrat'ın uygun özellikte olduğu ve standart madde olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Spektrofotometrik yöntemle yapılan değerlendirmelerde ise, temel olarak Lambert-Beer yasasından yararlanılmıştır. Yapılan çalışmalarda $y=ax+b$ doğru denkleminde (b) değerleri

hesaplanmış ve her etken madde için $y=ax+b$ denklemi oluşturularak sonuçlar değerlendirilmiştir. Değişik çözücülerde ve belli dalga boylarında saptanan Absorbans değerleri (Y) olarak denklemde yerine konmuş ve konsantrasyon değerleri (X) olarak bulunarak, buradan da madde miktarı hesaplanmıştır. Böylece spektrofotometrik nicel değerlendirmelerde sıklıkla kullanılan, aynı konsantrasyona getirilmiş standart ve numune absorbans değerlerinin karşılaştırılması veya konsantrasyon-absorbans arasındaki doğrusal ilişkinin grafikte gösterilmesini esas alan, grafik yönteminden farklı matematiksel bir yöntem uygulanmıştır.

Spektrofotometrik yöntemlerden ilki UV bölgesinde uygulanmış ve böylece bölüm 2.4.1.1.A'da açıklandığı gibi elde edilen bulgulardan yararlanılarak, doğru denklemi oluşturulmuştur. Bu yöntemde, her seferinde yeni bir referans çözelti hazırlamaya gerek yoktur. Bundan dolayı, oldukça pahalı olan çözeltilerden daha az harcama olanağı doğmaktadır. Ayrıca, bu yöntem grafik yöntemi ile elde edilen konsantrasyon-absorbans doğrusundan daha duyarlı sonuç vermektedir. Çünkü, grafik yönteminde ölçülen absorbans değerlerinden yararlanılarak saptanan konsantrasyonu, her zaman grafik kağıdında duyarlı bir şekilde saptamak güçtür. Ancak, uyguladığımız bu yöntemde standart maddenin değişik konsantrasyonlardaki çözeltilerini hazırlarken, gerekli hacme tamamlama sırasında balon joje çizgisinden sapmalar, yani uygulayıcıdan gelen hatalar olabilmektedir. Bu da yerine göre sonuçları olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Spektrofotometrik yöntemle görünür bölgede bir uygulama daha yapılmıştır. Bölüm 2.4.1.2'de anlatıldığı şekilde

Liebermann belirteci ile renkli bileşik oluşturularak yöntem görünür sahada uygulanmıştır. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlar, UV bölgesinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla hemen hemen aynı duyarlılıktadır. Ancak yöntemin esasını teşkil eden reaksiyonun özelliğine bağlı olarak, uygulama sırasında gerekli ölçüde soğutma ve karıştırma işlevi yerine getirilemediği takdirde, sağlıklı sonuç almak mümkün olmamakta ve bu da gereksiz tekrarlara ve dolayısıyla zaman kaybına yol açmaktadır.

Tez çalışmaları sırasında, IR spektrofotometresi yardımıyla uygulamaya çalıştığımız bir diğer spektroskopik yöntem daha vardır: Bu yöntemde daha önce de sözünü ettiğimiz gibi, etken madde konsantrasyonu ile maddenin belli bir dalga sayısında vermiş olduğu karakteristik pikin, absorbanans değeri arasındaki doğrusal ilişkiden yararlanılmaya çalışılmıştır. Çalışmalarda KBr tablet tekniği kullanılmış ve KBr tablet tekniğinde etken madde/KBr oranı %1 civarında tutularak hesaplar için uygun pikler elde edilmiştir. Ancak, çalışmada nicel saptamanın yapılabilmesi için indapamid'in karakteristik pikinin olmadığı bölgede ($1700-3800 \text{ cm}^{-1}$) pik veren ve internal standart olarak yararlanmaya çalıştığımız, Fenilizosiyanat'ın uçuculuk özelliği göstermesi giderek piklerin kaybolmasına neden olmuş ve kantitatif analiz amacıyla kullanılmasını engellemiştir. Amaca yönelik uygun bir başka internal standartın kullanılması, IR yöntemiyle de sonuç alınmasını sağlayacaktır kanısındayız.

Bir diğer yöntem olarak da indapamid hemihidrat içeren draje ve kapsüllere susuz ortamda asidimetrik titrasyon uygulanmıştır. Bölüm 2.4.2.1'de anlatıldığı gibi indapamid hemi-

hidrat Dimetil sülfoksit (DMSO)'de çözülmüş ve kinaldin kırmızı indikatörü varlığında 0.1 N NaOH ile sarı renge kadar titre edilmiştir. Yöntem, yapılan diğer analizlere oranla daha uzun sürmektedir. Fakat elde edilen sonuçların duyarlılığı yöntemin uygulanabilirliğini göstermektedir. Ancak yöntem için düşünülebilecek eksiklik, uygulama sırasında fazla miktarda madde ile çalışılıyor olması ve buna bağlı olarak da piyasada mevcut preparatlarda etken maddenin düşük miktarlarda bulunması nedeniyle, çok sayıda draje ve kapsüle gerek duyulmasıdır.

Indapamid hemihidrat, Flupamid draje ve indamid kapsüllere uyguladığımız ve iki ana grupta toplanan yöntemlerden elde edilen bulgular, (Tablo 3.9, 3.10 ve 3.11) bu yöntemlerin her birinin indapamid hemihidrat'ın draje ve kapsül formlarından miktarının tayini için uygun ve duyarlı birer yöntem olduğunu vurgulamaktadır. Bununla birlikte, yöntemlerin herbirinin getirdiği kendine özgü bazı güçlükler ve uygulama sırasında titizlik gösterilmesi gereken özellikleri vardır. Bütün bu güçlük ve özelliklerin, analizin uygulanacağı koşullar ve olanaklar ile birlikte değerlendirilmesi, kullanılacak yöntemin seçimi için belirleyici olmaktadır. Bu çerçevede, özellikle UV bölgede uygulanan ve sonuçların doğru denklemi yardımıyla alındığı spektrofotometrik yöntem, (tablo 3.11) gerek duyarlık, gerekse doğruluk ve anlamlılık açısından diğerlerine üstünlük göstermektedir. Bunların yanında, son derece kolay ve çabuk uygulanabilmesi nedeniyle, bu yöntem, tarafımızdan diğerlerine tercih edilebilecek bir yöntem olarak belirlenmiştir. Ayrıca, bugün için rutin analiz yapan hemen her laboratuvarında, UV spektrofotometresinin mevcut olması da bu tercihi kolaylaştırmaktadır.

5. ÖZET

Ülkemizde indapamid içeren Preparatlarda, indapamid Miktar Tayini Üzerinde Çalışmalar.

Sülfamilbenzamidoindolin türevi olan indapamid hemihidrat'ın 2.5 mg'lık Flupamid draje ve indamid kapsül preparatları ülkemizde diüretik-antihipertansif amaçla çok yaygın kullanılmaktadır. Ancak hiçbir farmakope indapamid hemihidrat'ın miktar tayinine ilişkin bir yöntem yer vermemektedir. Bu nedenle tez çalışmalarında uygun bir yöntem bulmak için, özellikle yapısal ve farmakolojik yönden benzer bileşikler için uygulanan titrimetrik ve spektrofotometrik miktar tayini yöntemlerinin, indapamid hemihidrat'a uygulanması ve birbiriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Buna yönelik olarak, diğer yöntemlerin denenmesi yanında diüretik-antihipertansif bir bileşik olan Xipamid için geliştirilmiş olan susuz ortamda asidimetrik miktar tayini yöntemi de indapamid hemihidrat'a uygulanmıştır.

Deneysel kısımda uyguladığımız yöntemleri başlıca iki ana grupta toplayabiliriz:

1. Spektrofotometrik yöntemler (UV ve Görünür Alanda)
2. Titrimetrik yöntemler (Asidimetrik-Susuz Ortam Titrasyonu)

Deneysel kısımdan elde edilen bulgulara göre, yöntemler arasında doğruluk ve duyarlılık açısından belirgin bir farklılık olmamakla birlikte, UV alanda uygulanan ve sonuçların doğru denklemi yardımıyla alındığı spektrofotometrik yöntem duyarlık ve doğruluk yanında uygulanabilirliğinin de son

derece yeterli olması nedeniyle diğerklerine tercih edilebilecek bir yöntem olarak belirlenmiştir.



6. SUMMARY

Studies on the Quantitative Analysis Methods of Indapamide for Indapamide Containing Preparations Which are Available in Our Country.

Indapamide hemihydrate is a sulfamoylbenzimidazole derivative and its dragie and capsule forms under the names of Flupamide and Indamide, containing 2.5 mg active ingredient, are used very frequently in our country as diuretic-antihypertensive agent. But, there is no specific method in the Pharmacopoeia related with quantitative analysis of Indapamide hemihydrate. For this reason, in our study we have aimed to arranged and compare some assay methods for Indapamide, which are especially used for some other structurally and pharmacologically similar compounds. As a result of this aim, we have also arranged and used a non-aqueous titration method, which was developed for another diuretic-antihypertensive agent; Xipamide.

The methods are applied in experimental part would be classified in two major categories;

1. Spectrophotometric (UV and Visible) Methods,
2. Titrimetric (Non-aqueous) Method

According to the statistical results of experimental data, there is no significant difference among the methods, from the accuracy and the sensitivity point view. But, the spectrophotometric method used in UV region and the results received by using linear equation, would be preferable in comparison with others, because of its high applicability, in

addition to its accuracy and sensitivity.



7. KAYNAKLAR

- 1- ACCHIARDO, S.R. and SKOUTAKIS, V.A.: Clinical efficacy, safety and pharmacokinetics of indapamide in renal impairment. American Heart Journal, Suppl.1, 106: 237-244, 1983.
- 2- ATAY, O.: Benzodiazepin etken maddesi içeren psikoaktif ilaçların nitel ve nicel saptanmalarının irdelenmesi üzerine çalışmalar, A.Ü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Kürsüsü Doktora Tezi. Ankara, 1980.
- 3- AUERBACH, J., KANTOR, M.L.: Indolines. Eur.Pat.Appl.EP 54, 892 (Cl.CO710209/08), 1982. Ref: CA : 97: 198104 f, 1982.
- 4- BELING, S., VUKOVICH, R.A., NEISS, E.S., ZISBLATT, M., WEBB, E., LOSI, M.: Long term experience with indapamide. American Heart Journal, 106: 258-262, 1983.
- 5- BOER, W.H., SHAH, P., MARQUEZ-JULIO, A., LEENEN, F.H.H.: Effects of indapamide on blood pressure, sympathetic tone and pressor reactivity in hypertensive subjects. Clin. Pharmacol. and Ther., 33: 228, 1983.
- 6- BORKOWSKI, R.K., FINCH, L.: A comparison of the cardiovascular effects of centrally administered clonidine and adrenaline in the anaesthetized rat. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 31: 16-19, 1979.
- 7- BOWKER, C.H. and MURPHY, M.A.: A multicentre open trial of indapamide in general practice. Postgraduate Medical Journal, Suppl. 2, 57: 53-56, 1981.
- 8- BRETAG, A.H., DAWE, S.R., KERR, D.I.B., MOSKWA, A.G.: Myotonia as a side effect of diuretic action. British Journal of Pharmacology, 71: 467-471, 1980.
- 9- BROOKS, B.D., BOER, W.H., MARQUEZ-JULIO, A., LEENEN, F.H.H.: Effects of indapamide on renal sodium handling and plasma volume in hypertensive subjects. Clin. Pharmacol. and Ther., 33: 229, 1983.
- 10- BURGESS, C.D., Mc KEE, C.E.L., WILSON, C.A. and WARREN, D.J.: The effect of indapamide on muscle blood flow in hypertensive patients. Postgraduate Medical Journal, Suppl.2, 57: 23-25, 1981.
- 11- CAMPBELL, D.B.: Separation of drugs from body fluids: (1) low-volume extraction, and (2) problems associated with plasma protein. Methodol. Dev. Biochem., 5: 105-106, 1976. Ref: CA : 100666r, 1977.

- 12- CAMPBELL, D.B., MOORE, R.A.: The pharmacology and clinical pharmacology of indapamide. Postgraduate Medical Journal, Suppl.2, 57: 7-17, 1981.
- 13- CAMPBELL, D.B. and PHILLIPS, E.M.: Short term effects and urinary excretion of the new diuretic, indapamide, in normal subjects. Europ. J. Clin. Pharmacol., 7: 407-414, 1974.
- 14- CAMPBELL, D.B., TAYLOR, A.R., HOPKINS, Y.W., WILLIAMS, J.R.B.: Pharmacokinetics and metabolism of indapamide: A review. Curr. Med. Res. and Opin., Suppl.1, 5: 13-24, 1977.
- 15- CARRETA, R., et al.: Effect of indapamide on the baroreceptor reflex in essential hypertension. Eur. J. Clin. Pharmacol., 24: 579-583, 1983.
- 16- CARUSO, F.S., SZABODI, R.R., VUKOVICH, R.A.: Pharmacokinetics and clinical pharmacology of indapamide. American Heart Journal, Suppl.1, 106: 212-220, 1983.
- 17- CHAFFMAN, M., HEEL, R.C., BROGDEN, R.N., SPEIGHT, T.M., AVERY, G.S.: Indapamide: A review, of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy in hypertension. Drugs, 28: 189-235, 1984.
- 18- CHALMERS, J.P., et al.: Effects of once daily indapamide and pindolol on blood pressure, plasma aldosterone concentration and plasma renin activity in a general practice setting. Eur. J. Clin. Pharmacol., 22: 191-196, 1982.
- 19- CHOI, R.L., ROSENBERG, M., GREBOW, P.E., HUNTLEY, T.E.: High performance liquid chromatographic analysis (HPLC) of indapamide (RCH 2555) in urine, plasma and blood. Journal of chromatography. 230: 181-187, 1982.
- 20 - CLARKE, E.G.C.: Isolation and identification of drugs, Second edition, The Pharmaceutical Press, London, 1986.
- 21 - DANIELSEN, H., PEDERSEN, E.B., SPENCER, E.S.: Effect of indapamide on the renin-aldosterone system and urinary excretion of potassium and calcium in essential hypertension. British Journal of Clinical Pharmacology, 18: 229-231, 1984.

- 22 - DIPALMA, J.R.: Pharmacology in medicine, Fourt edition, Mc-Graw Hill Book Company, New York, 1972.
- 23 - DIVITIIS, D., DI SOMMA, S., PETITTO, M., FAZIO, S., LIGOURI, V.: Indapamide and atenolol in the treatment of hypertension: double-blind comparative and combination study. *Curr. Med. Res. and Opin.*, 8: 493-500, 1983.
- 24 - DUNN, F.G., HILLIS, W.S. TWEDDEL, A., RAE, A.P., LORIMER, A.R.: Non-invasive cardiovascular assessment of indapamide in patients with essential hypertension. *Postgraduate Medical Journal, Suppl.2*, 57: 19-22, 1981.
- 25 - ERGENÇ, N., GURSOY, A. ATEŞ, Ö.: İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini. 3. baskı, Oğul Matbaacılık, İstanbul, 1984. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3185.
- 26 - FERRARA, L.A, et al.: Once a day indapamide therapy in hypertension effects on the heart and peripheral arterial circulation. *Jpn. Heart J.*, 24: 731-737, 1983.
- 27 - FERRIER, P.C, et al.: Studies on the mechanism of acute glucose-induced aldosterone suppression, role of corticotrophine. *Acta Endocrinologica*, 103: 391- 399, 1983.
- 28 - FINCH, L., HICKS, P.E., MOORE, R.A.: Changes in vascular reactivity in experimental hypertensive animals following treatment with indapamide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 29: 739-743, 1977.
- 29 - FURMAN, B.L., RAZAK, T.B.A.: A further examination of the possible effects of indapamide on glucose tolerance and insulin secretion in the rat and mouse. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 33: 735-737, 1981.
- 30 - GAETANI, E., LAURERI, C.F., VITTO, M.: Determinazione dell'indapamide nel plasma mediante HPLC. *Boll. Chim. Farm.*, 125: 35-37, 1986.
- 31- GENSINI, G., ESSERTE, P., GIAMBARTOLOMEI, A.: A systemic hemodynamic evaluation of indapamide. *Clinical Therapeutics*, 5: 475-482, 1983.
- 32 - GOLDBERG, B., FURMAN, K.I.: Observations on the effects of a new diuretic-S1520. *South African Medicinal Journal*, 48: 113-118, 1974.
- 33- GOODMAN, L.S., GILMAN, A.: The pharmacological Basis of Therapeutics, Third edition, The Macmillan Company, New York, 1970.

- 34 - GREBOW, P.E., JOHNSTON, M.M., MELLETT, L.B.: Indapamide: measurement by a fluorescence assay. *Curr. Med. Res. and Opin., Suppl.1*, 5: 9-12, 1977.
- 35 - GREBOW, P.E., et al.: Pharmacokinetics and bioavailability of indapamide- A new antihypertensif drug. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 22: 295-299, 1982.
- 36 - GREBOW, P.E., TREITMAN, A., YEUNG, A.K.: Fluorometric assay for urinary indapamide. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67: 1117-1120, 1978.
- 37 - GREER, I.A.: Skin reactions and fever with indapamide. *British Medical Journal*, 295: 1313, 1987.
- 38 - GRIFFITH, D., JAMES, I., DAVIS, J., WOLLARD, M., WADDELL, G.: Comparision of the antihypertensive effects of indapamide and cyclopenthiazide. *Postgraduate Medical Journal, Suppl.2*, 57: 39-41, 1981.
- 39 - GRIMM, M., et al.: Correction of altared noradrenaline reactivity in essential hypertension by indapamide. *British Heart Journal*, 46: 404-409, 1981.
- 40 - GUVEN, K.C., BERGIŞADI, N., PEREMECİ, E.: Studies on the stability and assay of Indapamide in stimulated gastric and intestinal media. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 28: 99-102, 1986.
- 41 - HAIAT, R., LELLOUCH, A., LANFRANCHI, J., WITCHITZ, S.: continuous electrocardiographic recording (Holter method) during indapamide treatment: a study of 40 cases. *Postgraduate Medical Journal, Suppl.2*, 57: 68-69, 1981.
- 42 - HAMER, J.: *Drugs for Heart Disease*, First Published, Chapman and Hall Company, London, 1979.
- 43 - HERFINDAL, E.T., HIRCHMAN, J.L.: *Clinical Pharmacy and Therapeutics*, Third edition, Williams and Wilkins, U.S.A., 1984.
- 44 - HORGAN, J.H., O'DONOVAN, A., TEO, K.K.: Echocardiographic evaluation of left ventricular function in patients showing an antihypertensive and biochemical response to indapamide. *Postgraduate Medical Journal, Suppl.2*, 57: 64-67, 1981.
- 45 - IMBS, J.L., SCHMIDT, M., VELLY, J., SCHWARTZ, J.: Comparison of the effect of two groups of diuretics on renin secretion in the anaesthetized dog. *Clinical Science and Molecular Medicine*, 52: 171- 182, 1977.

- 46 - JANE, I., McKINNON, A.: High-performance liquid chromatographic (HPLC) analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents. *Journal of Chromatography*, 323: 191-225, 1985.
- 47 - KANDELA, D., GUEZ, D.: Skin reactions and fever with indapamide. *British Medical Journal*, 296: 573, 1988.
- 48 - KAYAALP, S.O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 3. baskı, cilt 2, Ulucan Matbaası, Ankara, 1985.
- 49 - KHAN, A.U.: A study comparing indapamide with cyclopenthi-
azide in geriatric patients. *Postgraduate Medical Journal*, Suppl.2, 57: 42- 43, 1981.
- 50 - KIRSTEN, R., MOLZ, K.H., TZONEV, I., NELSON, K.: Clinical evaluation of muzolimine and indapamide during treatment for essential hypertension. *Z. Kardiol.*, Suppl.2, 74: 66- 72, 1985.
- 51 - KLUNK, L.J., RINGEL, S., NEISS, E.S.: The disposition of C¹⁴-indapamide in man. *J. Clin. Pharmacol.*, 23: 377-384, 1983.
- 52 - KREEFT, J.H., LANGLOIS, S., OGILVIE, R.I.: Comparative trial of indapamide and hydrochlorothiazide in essential hypertension with forearm plethysmography. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 6: 622-626, 1984.
- 53 - KUBIK, M.M., COOTE, J.H.: Comparison of the antihypertensive effects of indapamide and metoprolol. *Postgraduate Medical Journal*, Suppl.2, 57: 44-50, 1981.
- 54 - KYNEL, J., OHEIM, K., SEKI, T.: Antihypertensive action of indapamide. *Arzneim-Forsch. (Drug Res.)*, 25: 1491-1495, 1975.
- 55 - LEARY, W.P., ASMAL, A.C., SAMUEL, P.: The comparative effects of SE-1520, frusemide and cyclopenthi-
azide in healthy subjects. *Curr. Ther. Res.*, 15: 571- 577, 1973.
- 56 - LETTIERI, J.T., PORTELLI, S.T.: Effects of competitive red blood cell binding and reduced hematocrit on the blood and plasma levels of [C¹⁴] indapamide in the rat. *J. of Pharmacol. and Exp. Ther.*, 224: 269-272, 1983.
- 57 - MAGRINI, F., GIULIANO, B., DE GIOVANNI, F., CERATI, D., MACCHI, G., MONDADORI, C.: Systemic and pulmonary hemodynamic effects of indapamide in patients with mild arterial hypertension. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 7: 281-285, 1985.

- 58- MARAIS, C.A.: Indapamide in a single daily dose in the treatment of hypertension. S. Afr. Med. J., 59: 900-902, 1981.
- 59- MEINE, H.: Indapamide in ambulant treatment of hypertension: a comparative study with alpha-methyldopa. Postgraduate Medical Journal, Suppl.2, 57: 37-38, 1981.
- 60- MIMRAN, A., ZAMBROWSKI, J.J., COPPOLANI, T.: The anti-hypertensive action of indapamide: results of a french multicentre study of 2,184 ambulant patients. Postgraduate Medical Journal, Suppl.2, 57: 60- 63, 1981.
- 61- MIRONNEAU, J., GARGOUIL, Y. : Action of indapamide on excitation-contraction coupling in vascular smooth muscle. Eur. J. Pharmacol., 57: 57-67, 1979.
- 62- MIYAZAKI, M., MORISHITA, S., TODA, N.: Vasodilator effect of indapamide in dog mesenteric vasculature. Japan Journal of Pharmacology, 39: 402-405, 1985.
- 63- MORLEDGE, J.H.: Clinical efficacy and safety of indapamide in essential hypertension. American Heart Journal, Suppl.1, 106: 229-232, 1983.
- 64- NOVECK, J.R., Mc MAHON, F.G., QUIROS, A., GILES, T.: Extrarenal contributions to indapamide's antihypertensive mechanism of action. American Heart Journal, 106: 221-229, 1983.
- 65- NOVECK, R.J., et al.: Hemodynamic effects of a new anti-hypertensive-diuretic, indapamide, in healthy male volunteers. Clin. Pharmacol. Ther., 31: 257, 1982.
- 66- ONESTI, G., et al.: A phase I, single-dose toleration study of indapamide. Clin. Pharmacol. and Ther., 21: 113, 1977.
- 67- PASSERON, J., PAULY, N., DESPRAT, J.: International multicentre study of indapamide in the treatment of essential arterial hypertension. Postgraduate Medical Journal , Suppl.2, 57: 57-59, 1981.
- 68- PEREZ-STABLE, E., CARALIS, P.V.: Thiazide-induced disturbances in carbohydrate, lipid and potassium metabolism. Amer. Heart J., 106: 245- 251, 1983.
- 69- PIETTA, P., CALATRONI, A.: High-performance liquid chromatographic assay for monitoring indapamide and its major metabolite in urine. Journal of Chromatography, 228: 377-381, 1982.
- 70- PITONE, J., et al.: Site of action of indapamide in the human nephron. Clin. Pharmacol. Ther., 23: 125, 1978.

- 71- PRUSS, T., WOLF, P.S.: Preclinical studies of indapamide, a new 2-methylindoline antihypertensive diuretic. *Amer. Heart J.*, 106: 208-211, 1983.
- 72- REYES, A.J., LEARY, W.P., VAN DER BYL, K.: Urinary magnesium output after a single dose of indapamide in healthy adults. *S. Afr. Med. J.*, 64: 820-822, 1983.
- 73- REYNOLDS, J.E.F., PARFITT, K., PERSONS, A.v., SWEETMAN, S.C.: Martindale 29, twenty-ninth edition, The Pharmaceutical press, United Kingdom, pp.:993, 1989.
- 74- RICCIARDELLI, B., et al.: Hemodynamic effects of indapamide in chronic treatment of essential hypertension. *Curr. Ther. Res.*, 36: 201-209, 1984.
- 75- RODAT, G., HARMELIN, J.P.: Hypokaliemie á 0.9 mEq au cours d'un traitement par l'indapamide. *La Nouvelle Presse Medicale*, 7: 3054, 1978.
- 76- ROWLANDS, D.B., GLOVER, D.R., YOUNG, M.A., STALLARD, T.J., LITTER, W.A.: Once daily indapamide in the treatment of the elderly and young hypertensive. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 27: 397-405, 1984.
- 77- SAKATA, T., UESHIMA, Y., HIROYUKI, M., SHUZO, M., MATAICHI, T., KIHACHIRO, O.: Synthesis of R-(-) and S-(+)-4-chloro-N-(2-methyl-1-indolinyl)-3-sulfamoyl-benzamide. *Iyakuin Kenkyu*, 11: 388-394, 1980. Ref: C.A.: 94 : 156676 b, 1981.
- 78- SCALABRINO, A. et al.: Clinical investigation on long-term effects of indapamide in patients with essential hypertension. *Curr. Ther. Res.*, 35: 17-21, 1984.
- 79- SLOTKOFF, L.: Clinical efficacy and safety of indapamide in the treatment of edema. *Amer. Heart J.*, 106: 233-237, 1983.
- 80- SONEL, A.: *Kardiyoloji*, 1.Baskı, Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara, 1976.
- 81- STRICHER, B.H.: Skin reactions and fever with indapamide. *Br. Med. J.*, 296: 863, 1988.
- 82- SZABADI, R., COSTELLO, R., CARUSO, F.S., VUKOVICH, R.A.: Single and multiple oral dose pharmacokinetics of indapamide, a new diuretic-antihypertensive. *Clinical Research* 30: 635-A, 1982.
- 83- The Sadtler Standart Spektra, Sadtler Research laboratories, Philadelphia, PA., 1971.

- 84- TURNER, P., VOLANS, G.N., ROGERS, H.J.: A preliminary controlled evaluation of the antihypertensive effect of indapamide. *Curr. Med. Res. Opin.*, 4: 596-601, 1977.
- 85 - TUBINGEN, H.R.J.: Zur titration sehr schwacher scuren. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 124: 1167-1170, 1984.
- 86- VAN HEE, W., THOMAS, J., BREMS, H.: Indapamide in the treatment of essential arterial hypertension in the elderly. *Postgraduate Medical Journal*, Suppl.2, 57: 29-33, 1981.
- 87- VELASCO, M., URBINA-QUINTANA, A., HERNANDEZ-PIERETTI, O.: Cardiovascular hemodynamic effects of indapamide and atenolol in hypertensive patients. *Curr. Ther. Res.*, 31: 1007-1017, 1982.
- 88- WILDT, D.J., HILLEN, F.C.: A comparative study on possible calcium antagonistic properties of indapamide and other drugs potentially interfering with calcium transport in isolated vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 102: 401-410, 1984.
- 89- WILDT, D.J., VAN DE HILLEN, F.C., DE GROOT, G.: Further study of possible direct vascular actions of indapamide in the conduit and renal arteriolar vessels of spontaneously hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 147: 327-334, 1988.
- 90- WITCHITZ, S., GIUDICELLI, J.F., EL GUEDRI, H., KAMOUN, A., CHICHE, P.: Effets diurétiques et anti-hypertenseurs de l'indapamide comparaison avec le furosimide. *Thérapie*, 29: 109-118, 1974.
- 91- ZACHARIAS, F.J.: A comparative study of the efficacy of indapamide and bendrofluazide given in combination with atenolol. *Postgraduate Medical Journal*, Suppl.2, 57: 51-52, 1981.

ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Samsun'da doğdum. Samsun Samikefeli ilkokulu, ilkadım Ortaokulu ve Ondokuz Mayıs Lisesini bitirdim. 1983 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim ve 1987 yılında mezun olarak aynı yıl Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. 1988 yılının ağustos ayında ise araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen Farmasötik Kimya Anabilim Dalında görevimi sürdürmekteyim.

Y. G.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi