

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

80845

ANTİBAKTERİYEL FLOROKİNOLONLARIN ANALİZLERİ

Ecz. İncilay SÜSLÜ

Hacettepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitü Yönetmeliğinin
Analitik Kimya İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

80845

TEZ DANIŞMANI

T.C. NÖR
DOÇ. DR.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Prof. Dr. Ayla Tamer

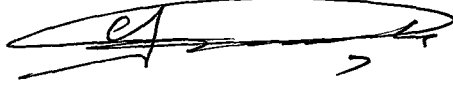
ANKARA

1999

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Analitik Kimya Programında Bilim Uzmanlığı tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı :



Prof. Dr. Ayla TAMER (Hacettepe Üniversitesi)

Üye :



Prof. Dr. Sedef KIR (Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

:



Prof. Dr. Feyyaz ONUR (Ankara Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. N. Sezgin İLGİ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada, enoksasin ve ofloksasin'in miktar tayini için, bromfenol mavisi (BFM) ve bromkrezol moru (BKM) ile oluşturduğu iyon çiftlerinin kloroforma ekstraksiyonuna dayanan basit ve hassas iki spektrofotometrik yöntem önerilmiştir.

Enoksasin-BFM ve -BKM iyon çifti kompleksleri Mc-ilvaine sitrat tamponu pH 4 ve ftalat tamponu pH 3.3'de oluşturulmuş ve kloroforma ekstre edilmiştir. Kloroform ekstraktları λ_{maks} 412 nm ve λ_{maks} 410 nm'de ölçülmüştür. Ofloksasin-BFM ve -BKM iyon çifti kompleksleri de ftalat tamponu pH 3 ve pH 3.1'de oluşturulmuş ve kloroforma ekstre edilmiştir. Kloroform ekstreleri de λ_{maks} 414 nm ve λ_{maks} 408 nm'de ölçülmüştür. Enoksasin-BFM ve -BKM ve ofloksasin-BFM ve -BKM iyon çifti komplekslerinin konsantrasyonları ile absorbans arasındaki ilişkide konsantrasyonun doğrusal olduğu aralık sırasıyla enoksasin için 2-20 ppm, 0.77-17.62 ppm ve ofloksasin için 0.87-17.35 ppm, 0.58-14.46 ppm olarak bulunmuştur. Alt teşhis sınırları, enoksasin-BFM için 0.80 ppm ve -BKM için 0.51 ppm; ofloksasin-BFM için 0.58 ppm ve -BKM için 0.51 ppm'dir.

İyon çiftinin bileşimi Job yöntemi ile saptanmıştır.

Saf enoksasin ve ofloksasin'in 0.5 N asetik asit içinde spektrofotometrik yöntemle miktar tayini yapılmıştır. Yöntem bu ilaçların, farmasötik preparatlarındaki analizlerine uygulanmıştır. Kalibrasyon eğrilerinin doğrusal oldukları aralıklar enoksasin için λ_{maks} 268 nm'de 0.2-20 ppm ve λ_{maks} 338 nm'de 0.28-40 ppm, ofloksasin için λ_{maks} 293 nm'de 0.3-21 ppm'dir. Alt teşhis sınırları enoksasin için 0.08 ppm (λ_{maks} 268 nm), 0.10 ppm (λ_{maks} 338 nm) ve ofloksasin için 0.20 ppm (λ_{maks} 293 nm)'dir.

Önerilen yöntemler farmasötik preparatlardaki enoksasin ve ofloksasin'in rutin nicel analizleri için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Enoksasin, Ofloksasin, Bromfenol Mavisi, Bromkrezol Moru, İyon Çiftleri, Spektrofotometri, Sülfonftalein Boyalar

ABSTRACT

In this study, two simple and sensitive spectrophotometric methods for the determination of enoxacin and ofloxacin were proposed which were based on their extraction into chloroform as ion pairs with Bromophenol Blue (BPB) and Bromocresol Purple (BCP).

Enoxacin-BPB and -BCP ion pair complexes were formed in Mc-Ilvaine citrat buffer at pH 4 and in phthalat buffer at pH 3.3 and extracted into chloroform extracts were measured at λ_{max} 412 nm and λ_{max} 410 nm. Ofloxacin-BPB and -BCP ion pair complexes were also formed in phthalat buffer at pH 3.0 and pH 3.1 and extracted into chloroform extracts were also measured at λ_{max} 414 nm and λ_{max} 408 nm respectively. The relationship between the absorbance and the concentration of enoxacin- BPB, -BCP and ofloxacin-BPB, -BCP ion pair complexes was found to be linear in the range of concentration for enoxacin 2-20 ppm, 0.77-17.62 ppm and for ofloxacin 0.87-17.35 ppm, 0.58-14.46 ppm respectively. The detection limits were 0.80 ppm for enoxacin-BPB and 0.51 ppm for -BCP; 0.58 ppm for ofloxacin-BPB and 0.51 ppm for -BCP.

The composition of the ion pair was established by Job's method.

Pure enoxacin and ofloxacin in 0.5 N acetic acid were determined by spectrophotometric method. The method was applied to the analysis of these drugs in pharmaceutical preparations. The calibration graphs were linear over the range 0.2-20 ppm at λ_{max} 268 nm and 0.28-40 ppm at λ_{max} 338 nm for enoxacin and 0.30-21 ppm at λ_{max} 293 nm for ofloxacin. The detection limits were 0.08 ppm (λ_{max} 268), 0.10 ppm (λ_{max} 338) for enoxacin and 0.20 ppm (λ_{max} 293 nm) for ofloxacin.

The proposed methods can be used for routine quantitative analysis of enoxacin and ofloxacin in pharmaceutical preparations.

Key words: Enoxacin, Ofloxacin, Bromophenol Blue, Bromocresol Purple, Ion Pairs, Spectrophotometry, Sulphonphthalein Dyes.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübesinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Ayla Tamer'e, manevi desteklerini esirgemeyen Analitik Kimya Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma, yardım ve anlayışlarıyla her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
I.GİRİŞ ve AMAÇ	1
II.GENEL BİLGİLER	2
II.1. Kinolon grubu Antibiyotikler	2
II.1.1. Sınıflandırılmaları	2
II.1.2. Yapı-Aktivite İlişkileri	4
II.1.3. Antibakteriyel Spektrumları	5
II.1.4. Etki Mekanizmaları	5
II.1.5. Rezistans Gelişmesi	6
II.1.6. Farmakokinetik Özellikleri	7
II.1.7. Kullanıldıkları Yerler	8
II.1.8. Yan Etkileri	11
II.1.9. İlaç Etkileşmeleri	12
II.2. ENOKSASİN	13
II.2.1.Enoksasin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
II.2.2. .Enoksasin'in Analiz Yöntemleri	14
II.2.2.1. Spektrofotometrik Yöntemler	14
II.2.2.1.1. UV-GB Spektrofotometrisi	14
II.2.2.1.2. Türev Spektrofotometrisi	14
II.2.2.1.3. Fluoresans Spektrofotometrisi	14
II.2.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	14
II.2.2.3. Elektrokimyasal Yöntemler	17
II.2.2.4. Kapiller Elektroforez Yöntemi	18
II.2.2.5. Mikrobiyolojik Yöntemler	18
II.3. OFLOKSASİN	19
II.3.1.Ofloksasin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	19
II.3.2. Ofloksasin'in Analiz Yöntemleri	20
II.3.2.1. Spektrofotometrik Yöntemler	20
II.3.2.1.1. UV-GB Spektrofotometrisi	20
II.3.2.1.2. Türev Spektrofotometrisi	21
II.3.2.1.3. Fluoresans Spektrofotometrisi	22

	Sayfa
II.3.2.2. Kromatografik Yöntemler	22
II.3.2.2.1. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri	22
II.3.2.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	23
II.3.2.3. Elektrokimyasal Yöntemler	25
II.3.2.4. Kapiller Elektroforez Yöntemi	27
II.3.2.5. Mikrobiyolojik Yöntemler	27
III. DENEYSEL KISIM	28
III.1. Kullanılan Standart Maddeler ve Farmasötik Preparatlar	28
III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
III.3. Kullanılan Cihazlar	29
III.4. Kullanılan Cam Malzemeler ve Temizliği	29
III.5. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	29
III.6. Enoksasin'in Miktar Tayini İçin Uygulanan UV-GB Spektrofotometrik Yöntemler	31
III.6.1. Enoksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemi	31
III.6.1.1. Miktar Tayini İçin UV Spektrumunda Dalga Boyu Seçimi	31
III.6.1.2. Kalibrasyon Çalışmaları	31
III.6.1.3. Yöntemin Tablete Uygulanması	31
III.6.2. Enoksasin'in Bromfenol Mavisi ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi	32
III.6.2.1. Yöntem	32
III.6.2.2. Yöntemin Optimizasyonu	32
III.6.2.2.1. Mc-ilvaine Sitrat Tamponunun pH'sı	32
III.6.2.2.2. Karıştırma Süresi	32
III.6.2.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı	33
III.6.2.2.4. Kompleksin Stabilitesi	33
III.6.2.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları	33
III.6.2.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması	34
III.6.3. Enoksasin'in Bromkrezol Moru ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi	35
III.6.3.1. Yöntem	35
III.6.3.2. Yöntemin Optimizasyonu	35
III.6.3.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	35
III.6.3.2.2. Karıştırma Süresi	35
III.6.3.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı	36
III.6.3.2.4. Kompleksin Stabilitesi	36
III.6.3.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları	36
III.6.3.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması	37

	Sayfa
III.7. Ofloksasin'in Miktar Tayini İçin Uygulanan UV-GB Spektrofotometrik Yöntemler	38
III.7.1. Ofloksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemi	38
III.7.1.1. Miktar Tayini İçin UV Spektrumunda Dalga Boyu Seçimi	38
III.7.1.2. Kalibrasyon Çalışmaları	38
III.7.1.3. Yöntemin Tablete Uygulanması	38
III.7.2. Ofloksasin'in Bromfenol Mavisi ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi	39
III.7.2.1. Yöntem	39
III.7.2.2. Yöntemin Optimizasyonu	39
III.7.2.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	39
III.7.2.2.2. Karıştırma Süresi	39
III.7.2.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı	40
III.7.2.2.4. Kompleksin Stabilitesi	40
III.7.2.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları	40
III.7.2.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması	41
III.7.3. Ofloksasin'in Bromkrezol Moru ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi	42
III.7.3.1. Yöntem	42
III.7.3.2. Yöntemin Optimizasyonu	42
III.7.3.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	42
III.7.3.2.2. Karıştırma Süresi	42
III.7.3.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı	43
III.7.3.2.4. Kompleksin Stabilitesi	43
III.7.3.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları	43
III.7.3.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması	44
IV. BULGULAR	45
IV.1. Enoksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular	45
IV.1.1. Miktar Tayini Yapılacak Dalga Boyunun Seçimi ve Kalibrasyon Çalışmaları	45
IV.1.2. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	48
IV.2. Enoksasin-Bromfenol Mavisi İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Ait Bulgular	50
IV.2.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar	51
IV.2.1.1. Mc-ilvaine Sitrat Tamponunun pH'sı	51
IV.2.1.2. Karıştırma Süresi	52
IV.2.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı	52

	Sayfa
IV.2.1.4. Kompleksin Stabilitesi	53
IV.2.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları	53
IV.2.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	54
IV.3. Enoksasin-Bromkrezol Moru İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Ait Bulgular	55
IV.3.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar	56
IV.3.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	56
IV.3.1.2. Karıştırma Süresi	57
IV.3.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı	57
IV.3.1.4. Kompleksin Stabilitesi	58
IV.3.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları	58
IV.3.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	60
IV.4. Ofloksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular	61
IV.4.1. Miktar Tayini Yapılacak Dalga Boyunun Seçimi ve Kalibrasyon Çalışmaları	61
IV.4.2. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	63
IV.5. Ofloksasin-Bromfenol Mavisı İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Ait Bulgular	64
IV.5.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar	65
IV.5.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	65
IV.5.1.2. Karıştırma Süresi	66
IV.5.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı	66
IV.5.1.4. Kompleksin Stabilitesi	67
IV.5.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları	67
IV.5.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	69
IV.6. Ofloksasin-Bromkrezol Moru İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Ait Bulgular	70
IV.6.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar	71
IV.6.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	71
IV.6.1.2. Karıştırma Süresi	72
IV.6.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı	72
IV.6.1.4. Kompleksin Stabilitesi	73
IV.6.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları	73
IV.6.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar	75
V. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	76
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	96

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

		Sayfa
Şekil II.1.	1. jenerasyon grubu kinolonlar	2
Şekil II.2.	2. jenerasyon grubu kinolonlar	3
Şekil II.3.	Temel Kinolon Yapısı	4
Şekil II.4.	Enoksasin'in açık formülü	13
Şekil II.5.	Ofloksasin'in açık formülü	19
Şekil IV.1.	Enoksasin'in 0.5 N asetik asit içindeki UV spektrumu (8 ppm derişiminde)	45
Şekil IV.2.	0.5 N asetik asit içindeki enoksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 268 nm)	47
Şekil IV.3.	0.5 N asetik asit içindeki enoksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 338 nm)	47
Şekil IV.4.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (8 ppm derişiminde)	50
Şekil IV.5.	Mc-ilvaine sitrat tamponunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiğı	51
Şekil IV.6.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranı	52
Şekil IV.7.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 412 nm)	53
Şekil IV.8.	Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (6.41ppm derişiminde)	55
Şekil IV.9.	Potasyumhidrojen ftalat tamponunda enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiğı	56

	Sayfa
Şekil IV.10. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranı	57
Şekil IV.11. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 410 nm)	59
Şekil IV.12. Ofloksasin'in 0.5 N asetik asit içindeki UV spektrumu (8 ppm derişiminde)	61
Şekil IV.13. 0.5 N asetik asit içindeki ofloksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 293 nm)	62
Şekil IV.14. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (10.84 ppm derişiminde)	64
Şekil IV.15. Potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiğı	65
Şekil IV.16. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranı	66
Şekil IV.17. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 414 nm)	68
Şekil IV.18. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (14.46 ppm derişiminde)	70
Şekil IV.19. Potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiğı	71
Şekil IV.20. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranı	72
Şekil IV.21. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 408 nm)	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge IV.1.	Enoksasin'in çeşitli derişimlerinde her iki dalga boyunda okunan absorbens değeri (n=10)	46
Çizelge IV.2.	Enoksasin'in her iki dalga boyunda alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemleri ve korrelasyon katsayısı	48
Çizelge IV.3.	λ_{maks} 268 nm'de Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm'lik çözelti ve n=7)	48
Çizelge IV.4.	λ_{maks} 338 nm'de Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm'lik çözelti ve n=7)	49
Çizelge IV.5.	Çeşitli pH değeriindeki Mc-ilvaine sitrat tamponunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksine ait absorbens değeri (8 ppm'lik çözelti ve n=3)	51
Çizelge IV.6.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar	52
Çizelge IV.7.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbens değeri (λ_{maks} 412 nm, n=6)	53
Çizelge IV.8.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemleri ve korrelasyon katsayısı	54
Çizelge IV.9.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi yönteminde Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm'lik çözelti ve n=5)	54
Çizelge IV.10.	Çeşitli pH değeriindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksine ait absorbens değeri (6.41ppm'lik çözelti ve n=3)	56

		Sayfa
Çizelge IV.11.	Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar	57
Çizelge IV.12.	Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı absorbens değerleri (λ_{maks} 410 nm, n=6)	58
Çizelge IV.13.	Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı	59
Çizelge IV.14.	Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi yönteminde Enoksetin® tablete ait sonuçlar (7.35 ppm'lik çözelti ve n=5)	60
Çizelge IV.15.	Ofloksasin'in çeşitli derişimlerde okunan absorbens değerleri (λ_{maks} 293 nm, n=6)	62
Çizelge IV.16.	Ofloksasin'in λ_{maks} 293 nm'de alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı	63
Çizelge IV.17.	λ_{maks} 293 nm'de Tarivid® tablete ait sonuçlar (4 ppm'lik çözelti ve n=6)	63
Çizelge IV.18.	Çeşitli pH değerlerindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksine ait absorbens değerleri (8.23 ppm'lik çözelti ve n=3)	65
Çizelge IV.19.	Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar	66
Çizelge IV.20.	Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbens değerleri (λ_{maks} 414 nm, n=6)	67

	Sayfa
Çizelge IV.21. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı	68
Çizelge IV.22. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi yönteminde Tarivid® tablete ait sonuçlar (12.30 ppm'lik çözelti ve n=6)	69
Çizelge IV.23. Çeşitli pH değerlerindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksine ait absorbans değerleri (7.23 ppm'lik çözelti ve n=3)	71
Çizelge IV.24. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar	72
Çizelge IV.25. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbans değerleri (λ_{maks} 408 nm, n=6)	73
Çizelge IV.26. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin tayin edilebilen en küçük derişimi, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı	74
Çizelge IV.27. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi yönteminde Tarivid® tablete ait sonuçlar (8.61 ppm'lik çözelti ve n=7)	75
Çizelge V.1. Geliştirilen tüm yöntemler için analitik veriler ve istatistiksel sonuçlar	79
Çizelge V.2. Geliştirilen yöntemlerin tabletlere uygulanmasıyla elde edilen değerler ve istatistiksel sonuçlar	80

I. GİRİŞ ve AMAÇ

Önemleri gün geçtikçe artan kinolon grubu antibakteriyel ilaçlar gram (-) ve gram (+) bakterilerin dirençli mutantlarına karşı aktif ve geniş spektruma sahip sentetik antibiyotikler olup son senelerde idrar yolları ve sistemik bakteriyel enfeksiyonların tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (1-5).

Kinolon grubu antibakteriyel ilaçların ilk üyesi olan nalidiksik asitin tedavide kullanılmaya başlaması ile bu grup üzerindeki yapı-aktivite ve sentez çalışmaları artmış ve aktiviteleri üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Yapı-aktivite çalışmalarında daha aktif ve daha geniş antibakteriyel spektruma sahip ilaçların yer aldığı, 6. konumda flor ve 7. konumda piperazinil grubu taşıyan ve florokinolonlar adı verilen bu grupta yeni ilaçların geliştirilmesi yönündeki çalışmalar sürdürülmektedir (2, 5, 6).

Buna paralel olarak söz konusu ilaçlar ve metabolitleri üzerinde yapılan analiz çalışmaları da önem kazanmış olup literatürde spektrofotometrik (7-9), spektrofluorometrik (10, 11), yüksek basınçlı sıvı kromatografik (12-15), elektroanalitik (16-18), kapiller elektroforez (19, 20) ve mikrobiyolojik (21, 22) yöntemlerle analizleri yer almaktadır. Genel bilgiler kısmında üzerinde çalışılacak maddelerin analizleri daha detaylı verilmektedir.

Bu çalışmada florokinolon grubundan yeni bir bakteriyel ilaç olan ve Türkiye piyasasına girmiş bir preparatı bulunan enoksasin üzerinde çalışılması planlanmış ve söz konusu maddenin literatürde bulunan analiz yöntemleri değerlendirildiğinde son senelerde iyon çifti oluşumuna dayanan spektrofotometrik miktar tayini çalışmalarının artmasına rağmen bu madde ile ilgili böyle bir çalışmanın olmadığı görülmüştür. Bu nedenle, enoksasin'in preparatlarda analizleri için boyar maddelerden bromfenol mavisi ve bromkrezol moru kullanılarak iyon çifti kompleksi oluşturulmasına dayanan spektrofotometrik yöntemler geliştirilmesi planlanmış ve çalışmamıza florokinolonların prototipi olan ofloksasin de alınmıştır. Söz konusu maddelerin analizleri için deneysel şartların optimize edilerek yöntemlerin geliştirilmesi ve bu yöntemlerin gerek enoksasin gerekse ofloksasin preparatlarına uygulanabilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

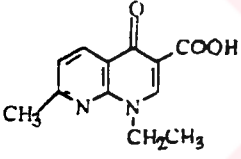
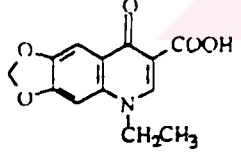
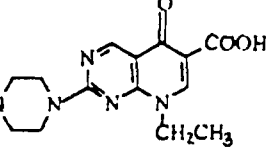
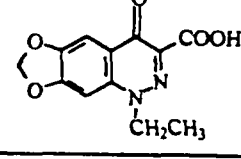
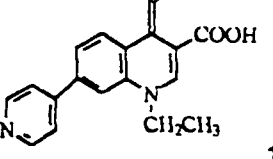
II. GENEL BİLGİLER

II. 1. Kinolon Grubu Antibiyotikler

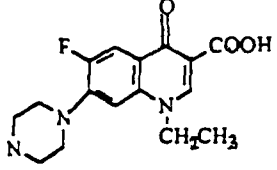
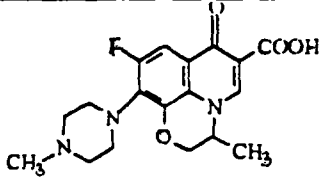
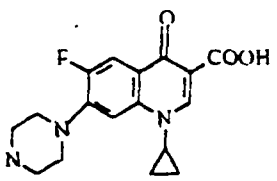
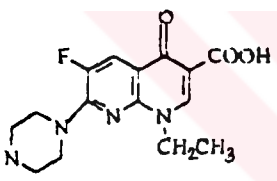
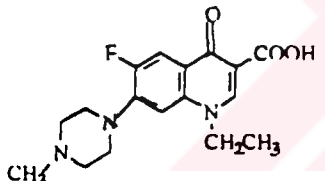
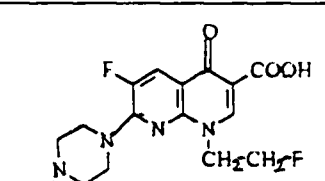
1962 yılında ilk kinolon türevi olan ve antibakteriyel etkiye sahip, özellikle gram (-) bakterilere karşı etkili olan nalidiksik asitin tedaviye girmesiyle bu grup antibiyotikler devri başlamıştır. Kinolon yapısında 7. konumda piperazinil halkası ve 6. konumda florür atomu taşıyan kinolon veya 1,8 naftridin halkasını taşıyan bileşikler florokinolonlar adını alırlar. Bu bileşiklerde antibakteriyel aktivite artmış ve antibakteriyel spektrum genişlemiştir (2, 6, 23).

II.1.1.Sınıflandırılmaları

Kinolonlar, sentez edildikleri tarih ve antibakteriyel spektrum genişliklerine göre 1. ve 2. jenerasyon grubu olarak sınıflandırılırlar (24).

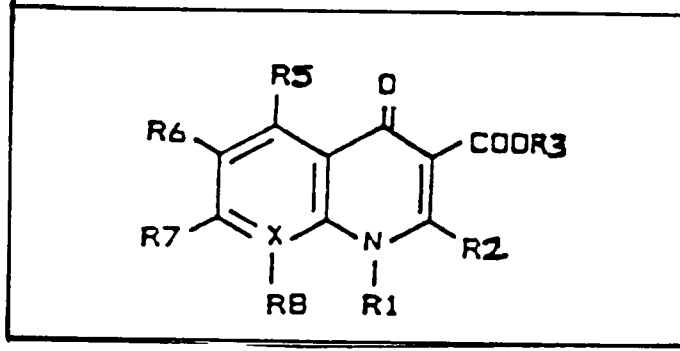
 1962	Nalidiksik Asit
 1972	Oksolinik Asit
 1977	Pipemidik Asit
 1977	Sinoksasin
 1981	Rosoksasin

Şekil II.1. 1.jenerasyon grubu kinolonlar

 1984	Norfloksasin
 1985	Ofloksasin
 1987	Siprofloksasin
 1987	Enoksasin
 1991	Pefloksasin
 1992	Fleroksasin

Şekil II.2. 2. jenerasyon grubu kinolonlar

II. 1.2. Yapı-Aktivite İlişkileri



Şekil II.3. Temel Kinolon Yapısı

Kinolon grubu bileşiklerin uygun farmakokinetik özelliklere ve antibakteriyel aktiviteye sahip olmaları için aşağıdaki yapıya sahip olmaları gerekmektedir (2, 3, 6).

- Bisiklik aromatik özellik göstermelidir.
 - Antibakteriyel aktivite için 3-karboksilat ve 4-karbonil grubu olmalı ve bunlar molekül içi H bağı yapabilmelidir.
 - 1. konumdaki serbest proton mutlaka bir alkil grubu ile süstitüe edilmelidir. N-1 süstitüsyonu ile aktivite artar ve genelde etil ve siklopropil grupları daha fazla aktiftir.
 - Enzime bağlanma bölgesi olduğundan 2. pozisyonda süstitüsyon olmamalıdır. 5. konumda da süstitüsyon olmamalıdır.
 - 6. konumda flor atomunun varlığı DNA jiraz'ın inhibisyonunu ve hücreye geçişi artırır.
 - 7. konumdaki süstitüentler antibakteriyel aktiviteyi artırır ve özellikle in-vivo aktivite için bazik gruplar gereklidir. 7. konumdaki özellikle piperazin halkası ile aktivite artmıştır ve bu piperazin halkasına bir metil grubunun süstitüsyonu absorpsiyonu artırır ve yarılanma ömrünü uzatır.
6. konumda flor ve 7. konumda piperazin halkası taşımalarından dolayı enoksasin ve ofloksasin uygun farmakokinetik özelliklere sahiptirler ve birçok bakteri türüne karşı etkilidirler.

II. 1. 3. Antibakteriyel Spektrumları

Geniş spektrumlu antibiyotiklerden olan florokinolonlar enterobakterilere ve diğer gram (-) organizmalara karşı yüksek aktiviteye sahiptirler (4, 5, 23, 25). *Haemophilus influenza* ve *parainfluenza*, *Haemophilus ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* ve *Moraxella catarrhalis* gibi gram (-) bakteri ve basillere karşı etkili olduğu gibi enterotoksik *Escherichia coli*, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri, *Vibrio* türleri ve *Campylobacter jejuni*'yi içeren tüm enterik patojenler florokinolonlar tarafından inhibe edilmektedir (1, 4, 23, 25).

Enoksasin ve ofloksasin de bu belirtilen gram (-) bakterilere karşı çok duyarlıdır. (26-34).

Kinolonlar *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili olup diğer *Pseudomonas* türlerine karşı etkileri azdır (5, 23, 25). Enoksasin ve ofloksasin için de bu geçerlidir (29-32). Kinolonlar *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve diğer stafilokoklara etkili olmalarına rağmen streptokok ve enterokok'lara karşı etkileri azdır (1, 4). Enoksasin'in *Streptococcus pneumoniae* ve stafilokok gibi gram (+) bakterilere karşı etkileri az olup bunlara rezistans gelişebilmektedir (26, 27, 31, 32). Ofloksasin ise *staphylococcus* ve *streptococcus* türlerine karşı oldukça duyarlıdır (30-34).

Siprofloksasin ve ofloksasin *Mycobacterium tuberculosis* ve *Mycoplasma pneumoniae*'ye karşı aktiviteye sahiptirler (30-34).

Haemophilus ducreyi ve *Ureaplasma urealyticum* tüm florokinolonlar tarafından inhibe edilirler. Ayrıca siprofloksasin, ofloksasin *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *mycoplasma* ve *legionella* türlerine karşı in-vitro etkiye sahiptirler (1, 4, 23, 25, 30-34).

II. 1. 4. Etki Mekanizmaları

Kinolonların temel hedefi DNA jiraz enzimidir. DNA jiraz enzimi iki tane A ve iki tane B olmak üzere dört alt birimden oluşmuş tetramer yapılı bir enzim olup DNA'nın negatif süpersarmal hale gelmesini sağlar (1, 6). Kinolonlar, DNA jiraz enzimini inhibe ederler ve böylece DNA replikasyonunu ve bakteri kromozomlarının birbirinden ayrılmasını ve DNA transkripsiyonunu bozarlar. Bu şekilde DNA zedelenmiş olur. Bu ilaçlar sadece DNA jiraz enziminin A-alt birimini etkilerler, diğer birimlerine dokunmazlar. Bu alt birimlerden birinin

inaktivasyonu DNA'nın negatif süpersarmal duruma geçmesini engeller (5, 6, 25). Ayrıca bu ilaçların yüksek konsantrasyonlarında RNA ve protein sentezi de inhibe olmaktadır (4, 6, 25, 26, 33). Enoksasin ve ofloksasin de aynı şekilde DNA jiraz enzimini inhibe etmektedirler (26, 30, 33).

Florokinolonların etkisine maruz kalan bakteriler bölünemezler, anormal şekilde uzayarak ölürlür. Bazılarının ayrıca siprofloksasin ve ofloksasin de olduğu gibi bakteri stoplazma membranını zedeledikleri ve hücre içeriğinin dışarıya çıkmasına neden oldukları ileri sürülmüştür (5).

İnsan hücrelerinin çekirdeğinde DNA'nın kıvrılmasında rol oynayan benzer bir enzim olan topoizomeraaz II enzimi vardır. Fakat insan DNA'sı süpersarmal haline sokulamaz. Florokinolonların topoizomeraaz II enzimi üzerindeki inhibitör etkinliği, bakteri DNA jirazı üzerindeki göre daha düşüktür. Bu nedenle kinolonlar öldürücü etkilerini selektif olarak sadece bakteride yaparlar, insan hücrelerinde belirgin bir toksik etkileri yoktur (5, 33).

II. 1. 5. Rezistans Gelişmesi

Klinikteki kullanımlarının artmasına bağlı olarak florokinolonlara rezistans geliştiği bildirilmiştir. En çok rezistans gelişen bakteriler diğer antibiyotiklerde olduğu gibi *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* ve *Echerichia coli*'dir. Halen florokinolonlara karşı rezistans sıklığı düşüktür. İdrarda genelde yüksek dozlarda bulunduklarından, kateterli hastalar hariç, idrar yolları enfeksiyonlarının tedavisi sırasında rezistans gelişmesi çok seyrek görülür (1, 5).

Kinolonlara karşı hedef enzimde (DNA jiraz) ve bakterinin dış membranında değişiklik olmak üzere 2 şekilde rezistans gelişmektedir (1, 3, 4, 5, 32-34).

I. rezistans türü; DNA jirazın A alt biriminin sentezini düzenleyen kromozomal *gyrA* genindeki tek basamaklı mutasyona bağlıdır. Bu tür rezistans seyrek olarak görülür.

II. rezistans türünde ise; bakterilerin dış duvarları içinden geçen porusların yapısının bozulması sonucu, bakteri hücresinin içine girmesi gereken florokinolon miktarının azalmasıdır. Gram (-) bakterilerin dış membranındaki protein ve lipopolisakkaritlerin ve protein sentezinin değişmesi sonucu görülür.

Mutasyonlar sonucu rezistansa neden olan genler plazmid üzerinde değil, kromozomlar üzerindedir. Diğer antimikrobiyal ilaçlar için ortak olan plazmid aracılı rezistans kinolonlar için bildirilmemiştir (5, 27, 32, 33).

II. 1. 6. Farmakokinetik Özellikleri

Absorbsiyonları: Florokinolonlar; lipofilik bileşikler olup, mide-bağırsak kanalından çok iyi absorbe edilirler ve genelde ağız yolundan kullanılırlar. Gastro-intestinal kanal absorpsiyon oranları farklıdır. Ofloksasin için % 95-100, enoksasin için % 88'dir. Absorbsiyonları hızlıdır. Enoksasin'in farmakokinetik özellikleri norfloksasin ve siprofloksasin'den daha üstündür. Ofloksasin'in serum konsantrasyonu siprofloksasin'den fazladır. Besinlerle birlikte alınmaları enoksasin ve ofloksasin'de de olduğu gibi florokinolonların absorpsiyon hızlarını azaltır, fakat absorpsiyon miktarlarını değiştirmezler (1, 5, 25, 30, 33-35).

Dağılımları: Florokinolonlar, vücutta yaygın bir dağılım gösterirler ve birçok sıvı ve dokuya geçebilirler (2, 3, 4, 25). Kinolonların düşük proteine bağlanma oranları, kan pH'larında yüksek lipofilitate göstermeleri ve küçük molekül büyüklüğüne sahip olmaları vücut sıvı ve dokularına geçişlerinde en önemli faktörlerdir (36). HPLC analizleri sonucu bu bileşiklerin nötral pH'larda lipofilitelerinin yüksek olduğu görülmüştür (5, 36). pH=7.4'de en az iyonize (= en fazla lipofilik durumda) olduklarından dağılmaya en elverişli durumdadırlar. Amfoter bileşikler olduklarından pH'nın asidik veya bazik olduğu ortamlarda toplanabilirler. Dağılım hacimleri 2 L/kg'dan fazladır. Dağılım hacmi en düşük olan ofloksasin (1-2.5 L/kg) ve en yüksek olan siprofloksasin'dir (5, 30, 32, 33).

Enoksasin ve ofloksasin'de olmak üzere florokinolonların böbrekler, akciğerler, bronş mukozası, çizgili kas, kalp kası ve prostattaki konsantrasyonları plazmadan daha yüksektir ve bu dokulardaki konsantrasyonları birçok patojen için gerekli minimum inhibisyon konsantrasyonunun üzerindedir. Enoksasin ve ofloksasin idrar, safra, burun salgısı, bronş salgısı, tükürük, balgam, gözyaşı ve plevral sıvıda diğer antimikrobik ilaçlara göre yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar (5, 36). Bunlara ek olarak enoksasin ve ofloksasin cilde, sinüs mukozasına, orta kulak sıvısına, aqueus humor sıvısına, vajinal sıvıya, myocardioma, myometrium, fallop tüpleri ve servikse de geçmektedirler (26-30, 32-34, 36, 37).

Enoksasin'in siprofloksasin ve norfloksasin gibi yeni kinolonlardan daha yüksek doku konsantrasyonlarına sahip oldukları belirtilmiştir. Serum

yarılanma ömrü ve idrardan kazanımı norfloksasin ve siprofloksasin'den daha yüksektir (38-40).

Atılımları: Kinolonlar, başlıca karaciğerde metabolize olarak veya böbreklerden, bazen de gastro-intestinal sekresyonla (safra yoluyla) atılırlar (1, 5, 25, 36).

Karaciğerde ilaçlara göre değişen oranlarda P-450 sitokromuna bağlı mikrozomal oksidazlar tarafından metabolize edilirler. Bu genelde piperazin halkası üzerinden oksidlenme yoluyla olur. Enoksasinin de % 15-40'lık kısmı 7 piperazinil halkası üzerinden metabolize olur ve enoksasin'den daha az aktif olan 3-okso piperazinili verir (2, 5, 28).

Kinolonlar ve metabolitleri, düşük molekül ağırlıkları ve düşük proteine bağlanma oranları nedeniyle büyük oranda glomeruler filtrasyonla atılırlar. Ofloksasin çok az metabolize olur. Enoksasin ve ofloksasin karaciğerde fazla bir değişikliğe uğramadan glomeruler filtrasyon ve tübüler salgılanma şeklinde atılırlar. Ciddi böbrek yetmezliği olanlarda enoksasin'in atılımı önemli derecede azalmaktadır (4, 5, 28, 32, 34, 37, 41).

Norfloksasin ve ofloksasin'in idrardaki konsantrasyonları plazmadaki konsantrasyonlarından daha yüksek olduğundan genelde idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılırlar (5, 30, 33, 34).

Florokinolonlar, plazma proteinlerine düşük oranda bağlanmalarına rağmen, dağılım hacimlerinin yüksek olması ve dokulara çok fazla geçebildiklerinden eliminasyon yarılanma ömürleri uzundur ve bu nedenle günde 1 veya 2 kez kullanılırlar. Ofloksasin'in eliminasyon yarılanma ömrü 5-8 saat, enoksasin'in ise 5-6 saatdir (1, 5, 25, 30-34, 36).

II. 1.7. Kullanıldıkları Yerler

İdrar yolu enfeksiyonları: Siprofloksasin, enoksasin, norfloksasin, ofloksasin gibi yeni kinolonlar uygun farmakokinetik özelliklerinden, idrarda yüksek konsantrasyonda bulunduklarından, yan etkileri düşük olduğundan ve iyi tolere edilebilmelerinden dolayı gram (-) ve gram (+) bakterilerin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar. Enoksasin ve ofloksasin kadınlarda akut sistitin tedavisinde tek doz veya kısa dönem tedavilerinde ve piyelonefritde de etkilidirler (42- 48).

Enoksasin ve yeni florokinolonlar, uygun farmakokinetiklerine bağı olarak prostat doku ve sıvısındaki konsantrasyonlarının yüksek olmasından ve geniş antibakteriyel spektrumlarından dolayı kronik bakteriyel prostatitde yaygın olarak kullanılırlar (28, 29, 42, 49, 50).

Seksüel temasla geçen hastalıklar: Yeni florokinolonlar tek doz verildiklerinde komplike olmayan gonokokal enfeksiyonlarda etkilidirler ve tedavi oranları % 95-100'dür (4, 5, 25, 51, 52).

Enoksasin de Neisseria gonorrhoea'nin neden olduğı komplike olmayan gonorenin tedavisinde oldukça etkilidirler ve tedavi oranları % 96-100'dür. Enoksasin ve ofloksasin tedavisi zor olan anal ve faringeal gonorede, üretral ve endoservikal gonorede etkilidirler (28, 29, 36, 53-56).

Gastro-intestinal kanal enfeksiyonları: Düşük minumum inhibitör konsantrasyon değerleri ve yüksek feçes konsantrasyonları nedeniyle kinolonlar çeşitli patojenlerin neden olduğı bakteriyel ve turist diyaresinde kullanılmaktadırlar. Ofloksasin de akut bakteriyel ve turist diyaresinde etkili ve güvenilir bir ilaçtır (4, 5, 33, 34, 57, 58) .

Kinolonlar, güçlü bakteriyel etkileri, oral biyoyararlanımları, uygun farmakokinetikleri özellikleri, hücre içine çok iyi geçebilmeleri ve iyi tolere edilebilmelerinden dolayı tifonun tedavisi için önerilen antimikrobiyal gruptur (1, 4-6, 59, 60).

Ofloksasin ve enoksasin %100 iyileşme sağladığından ve hiç nüksetme görülmediğinden dolayı salmonella türlerinin neden olduğı tifo'nun tedavisinde öncelikle seçilebilecek ilaçlardır (33, 34, 60, 61).

Basiler dizanterinin tedavisinde enoksasin etkili olup, nalidiksik asite alternatif bir ilaçtır. Ayrıca akut kolit gibi bağırsak enfeksiyonlarında da etkilidir (26, 62).

Kinolonların tedavi süresince gastro-intestinal yan etkileri oldukça düşüktür (60, 61).

Solunum yolu enfeksiyonları: Enoksasin ve ofloksasin de dahil olmak üzere yeni kinolonlar, birçok solunum patojenine karşı duyarlıdır ve antimikrobiyal aktivite ve farmakokinetik özelliklerinden dolayı alt solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde uygun ilaçlardır (1, 4, 63-66).

Florokinolonlarda olduğu gibi enoksasin ve ofloksasin gram (-) basillerin neden olduğu zatürenin tedavisinde etkilidirler (25, 67, 68).

Kronik bronşitin hafif nükslerinin tedavisinde florokinolonlar özellikle de siprofloksasin, enoksasin ve ofloksasin oldukça iyi bir seçimdir (63, 66, 69).

Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları: İltihap ve yara şeklindeki yumuşak doku enfeksiyonlarında florokinolonlar etkilidirler (3, 5, 23, 70).

Enoksasin ve ofloksasin blister sıvısına ve cilt dokusuna yüksek oranda geçer ve bu nedenle cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılırlar (26, 27, 30, 33, 34)

Kullanıldıkları diğer yerler: Kemik enfeksiyonlarından birisi olan osteomyelitin tedavisinde, hızlı absorbe olması, kemiğe de geçebilmesi ve iyi tolere edilebilmesinden dolayı özellikle kinolonlar tercih edilmektedir (1, 5, 6, 25, 30, 71). Ofloksasin ve enoksasin de osteomyelitin tedavisinde kullanılırlar (1, 4, 34, 72, 73).

Florokinolonlar *Pseudomonas aeruginosa*'ya bağlı invazif dış kulak iltihabının tedavisinde parenteral ilaçlara tercih edilmektedirler. Ofloksasin ve enoksasin, akut veya kronik kulak iltihabında, tonsillit ve sinüzitde kullanılmaktadır. Ofloksasin, ayrıca malignant dış kulak iltihabında ve tonsilopharyngeal taşıyıcılarının eradikasyonunda etkilidir (4, 5, 26, 29, 74, 75).

Topik olarak kullanılan siprofloksasin, norfloksasin ve ofloksasin'in göz sıvısındaki konsantrasyonları yüksektir ve katarakt ameliyatlarında göz içi enfeksiyonlarının önlenmesinde kullanılmaktadırlar (76).

Boğmaca, cüzzam ve brusellada florokinolonlar kullanılabilir. Ofloksasin'in cüzzam ve brusellada çeşitli ilaçlarla kombinasyonu kullanılır (34, 77-79).

Endokardit ve meninjitli hastalarda, siprofloksasin, ofloksasin ve enoksasin ile tedavi sağlanmaktadır (1, 4, 80).

Nötropenili ve akut lösemili hastalarda norfloksasin, siprofloksasin, enoksasin ve ofloksasin gram (-) enfeksiyonların önlenmesinde etkilidirler (27, 29, 31, 32, 81, 82).

Kinolonların antimikrobiyal aktivitelere ek olarak, in-vitro mesane kanserli hücre kültürlerinde ve in-vivo olarak lösemili deney hayvanlarında antitümör aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir. İn-vitro kanserli hücre kültürlerinin artışı üzerinde inhibe edici etkileri vardır (83).

Florokinolonlar safra ve karaciğer dokusunda terapötik konsantrasyonlara ulaşırlar ve bu nedenle son zamanlarda safra yolu enfeksiyonlarının tedavisinde parenteral ilaçları takiben kullanılmaktadırlar (1).

Kinolonların çoğu ameliyat öncesi verildiklerinde, ameliyat sonrası idrar yolu enfeksiyonlarını önlerler. Ayrıca safra kesesi, kolorektal, ortopedik ve damar cerrahisinde profilaktik amaçla kullanılırlar (1, 25, 28).

II. 1. 8. Yan Etkileri

Kinolonlar çok iyi tolere edilirler ve yan etki görülme olasılığı % 2-4'dür (1, 4, 25). En sık görülen yan etkiler gastro-intestinal tahrişe bağlı olarak bulantı, kusma, iştahsızlık, karın ağrısı ve diyaredir. Baş ağrısı, baş dönmesi, tremorlar, huzursuzluk, uykusuzluk, konfüzyon gibi santral sinir sistemi yan etkileri daha az görülür. Ani nöbet ve halüsinasyonlar daha seyrek görülür. Ciltte döküntüler, eritem, farenks ve vajinada candida enfeksiyonlarına neden olabilirler (1, 3, 4-6, 26-30, 33, 34).

Florokinolonlar kıkırdak dokusunda hasara neden olabildiklerinden dolayı çocuklarda ve hamile kadınlarda kullanılmaları tavsiye edilmez (4, 27, 30, 32, 39).

Ağızda metalik bir tat oluştururlar. Hipersensitivite ve fotosensitivite reaksiyonları ofloksasin ile görülebilir, fakat bu reaksiyonların görülme olasılığı enoksasin için düşüktür. Diğer florokinolonlarda görülen artralji ve kristalüri enoksasin ile nadir görülür. (1, 4-6, 26).

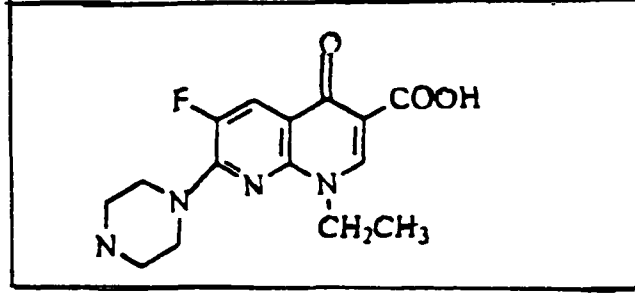
II. 1. 9. İlaç Etkileşmeleri

Karaciğerde metabolize edilen florokinolonlar, aynı şekilde metabolize edilen ksantin türevlerinin yıkımını yavaşlatırlar ve toksisitelerini artırılar. Enoksasin teofilin metabolizmasını inhibe eder. Bu nedenle enoksasin ile birlikte alınmaları durumunda dozları azaltılmalıdır. Ofloksasin karaciğerde mikrozomal enzimlerle fazla metabolize edilmediğinden teofilin'in metabolizmasını etkilemez (26-30, 32, 34, 84).

Antasidlerle, sükralfatlarla ve çinko ve demirle absorbe edilemeyen şelatlar oluşturdıklarından, enoksasin ve diğer florokinolonların biyoyaralanımlarını azaltırlar. Birlikte kullanımları gerekiyorsa bunlar florokinolonlardan 2-4 saat önce veya en az 2 saat sonra alınmalıdır (26-30, 34, 85).

Simetidin ve ranitidin gibi mide ilaçları ise karaciğerde metabolize edilerek elimine edilen florokinolonların metabolizmasını inhibe ederler ve onların toksisitelerini artırabilirler. Bu ilaçlar enoksasin'in biyoyaralanımını azaltmasına rağmen ofloksasin'in absorpsiyonunu etkilemezler (5, 25, 85).

II.2. ENOKSASİN



Şekil II.4. Enoksasin'in açık formülü

C₁₈H₁₇FN₄O₃

M.A. 320.32

Yukarıda açık formülü gösterilen enoksasin, 1-etil-6-floro-1,4-dihidro-4-okso-7-(1-piperazinil)-1,8-naftiridin-3-karboksilik asit yapısında bir maddedir.

II.2.1. Enoksasin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (86-88)

Sarımsı renkte, kristal veya kristalize bir tozdur. Kokusuzdur. Tadı acıdır. Etanol/metilen klorürden kristallendirilmiş maddenin erime derecesi 220-224°C'dir. pK_{a1}=6.31 ve pK_{a2}=8.69'dur. Suda, asetonda ve eterde pratik olarak çözünmez. Etanol (1.7 mg/ml) ve metanolde (2.5 mg/ml) az çözünür. Asetik asit de ise (3333 mg/ml) çok çözünür. 0.1 N NaOH içindeki enoksasin'in UV spektrumunda λ_{maks} 266 nm (ϵ = 34860) ve λ_{maks} 346 nm'de (ϵ = 20866) olmak üzere iki maksimum pik vermektedir.

II.2.2. Enoksasin'in Analiz Yöntemleri

II.2.2.1. Spektrofotometrik Yöntemler

Enoksasin'in spektrofotometri ile yapılmış analiz yöntemi sınırlı sayıdadır.

II.2.2.1.1. UV-GB Spektrofotometrisi

Squella ve arkadaşları tarafından enoksasin'in 0.1 M hidroklorik asitte spektrofotometrik miktar tayini 340 nm'de yapılmıştır. Çalışmada doğrusallık sınırları 5×10^{-3} - 4×10^{-2} mM aralığında olup, tabletten geri kazanım % 98.9 olarak bulunmuştur (89).

II.2.2.1.2. Türev Spektrofotometrisi

Zhixiang ve Xiniang, idrarda enoksasin miktarını 2. türev spektrofotometrisi ile tayin etmişlerdir. 348 nm'de 2. türevin pik yüksekliğinin ölçümüne dayanan bu yöntem, 2-20 µg/ml aralığında doğrusal olup geri kazanım % 96.89-101.2 olarak verilmiştir (90).

II.2.2.1.3. Floresans Spektrofotometrisi

Thomas ve arkadaşları tarafından 0.05 M hidroklorik asitteki enoksasin fluorometri ile tayin edilmiştir. λ_{eks} 268 nm ve λ_{ems} 397 nm olup, yöntem tabletlere de uygulanmış ve geri kazanım % 99.8-100.5 olarak bulunmuştur (10).

II.2.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Nakamura ve arkadaşları, plasmada enoksasin ve M-2 metabolitinin, idrarda ise enoksasin ve M-1, M-2, M-3, M-4, M-5 metabolitlerinin HPLC ile analizini gerçekleştirmişlerdir. UV dedektörle 340 nm'de Mikrobondapak C₁₈ kolonu kullanılarak yapılan bu tayinde plasma ve idrarda enoksasin 0.01 µg/ml ve 0.1 µg/ml'de tayin edilebilmiştir (91).

Vree, Baars ve Wijnands, insan idrar, plasma ve tükürüğünde enoksasin ve 4-okso metabolitinin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile analizini yapmışlardır. Analiz Chrompack kolonu ile kaplı Lichrosorb RP-2'de ve fosforik asit-dimetil formamit-etanol hareketli fazı kullanılarak yapılmıştır. UV dedektör kullanılarak, 4-okso enoksasin plasma ve tükürükte 265 nm'de ve idrarda 342 nm'de; enoksasin ise 342 nm'de tayin edilmiştir. İdrar hareketli faz ile seyreltilmiş, plasma ve tükürük ise TCA ile ekstre edilmiştir. Enoksasin ve metabolitinin plasmadan geri kazanımı % 81.7 ve % 51.9 idrar ve tükürükten geri kazanımı % 100 olarak bulunmuştur (92).

White ve arkadaşları tarafından Mikrobondapak C₁₈ kolonu ve metanol-sitrik asit hareketli fazı ve siprofloksasin iç standardı kullanılarak insan serum ve prostat dokusunda enoksasin'in analizi yapılmıştır. Hastalardan alınan serum ve prostat dokularındaki enoksasin de tayin edilmiştir (93).

Katagiri ve arkadaşları tarafından enoksasin, fenbufen ve aktif metaboliti felbinak plasmadan diklorometan-isopentanol ile ekstre edilmiş ve iç standartlar olarak nalidiksik asit ve N-fenilantranilik asitlerin birlikte kullanılmasıyla ters faz Chemsorb 5-ODS-H kolonunda ve metanol-SDS hareketli fazı ile ayrılmaları sağlanmıştır. Tayin UV dedektörü ile 275 nm'de yapılmıştır. Yöntemin enoksasin ve fenbufen'in alımlarından sonra farmakokinetik çalışmalarda da uygulanabileceği belirtilmiştir (94).

Griggs ve Wise serumda enoksasin ve ofloksasin dahil olmak üzere yedi kinolon türevinin ve metabolitlerinin analizi için HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Enoksasin'in analizi; Mikrobondapak C₁₈ Radial-PAK kolonunda, potasyum dihidrojen fosfat, heptan sulfonik asit-metanol-konsantre fosforik asit hareketli fazı ile UV dedektörü kullanılarak 268 nm'de, ofloksasin'in analizi ise; aynı kolon ve aynı hareketli faz ile floresans dedektörü kullanılarak λ_{eks} 294nm ve λ_{ems} 475 nm'de gerçekleştirilmiştir. Yöntem ağızdan veya intravenöz olarak enoksasin alan sağlıklı kişi ve hastaların serum örneklerine de uygulanmıştır (95).

Chan, Lam ve French, perklorik asitle çöktürülerek proteinlerinden kurtarılan plazma, serum, tükürük idrar, eklem sıvısı, plevral sıvı ve karın sıvısı gibi çeşitli vücut sıvılarında yedi kinolon ve metabolitlerinin analizini Ultropac Lichrosorb RP-18 ters faz kolonu ve metanol-aseton-sitrik asit hareketli fazı kullanarak UV dedektör ile 340 nm'de gerçekleştirmişlerdir (96).

Nangia, Lam ve Hung ODS Hypersil ile kaplı C₁₈ kolonunda, asetonitril-fosfat tamponu hareketli fazında, karşıt iyon olarak tetrabutil amonyum bromür ve

iyon çifti olarak sodyum lauril sülfat kullanarak enoksasin, norfloksasin, amifloksasin ve için yeni bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Tayin floresans dedektör ile λ_{eks} 280 ve λ_{ems} 418 nm'de yapılmıştır (97).

Goebel, Stolz, Etiret ve Nussbaum tarafından idrar ve plazmada enoksasin ve 4-okso metabolitinin birlikte tayini için iyon çifti sıvı kromatografisi geliştirilmiştir. Bu yöntemde plazma için proteinlerin çöktürülmesi (perklorik asit/asetonitril ile) basamağı ve idrar için katı faz ekstraksiyonundan sonra siprofloksasin iç standardı ile C₁₈ silika kolonunda, tetrabutylamonyum hidroksit ve amonyum perklorat iyon çifti ajanları ve hareketli faz olarak sitrik asit-asetonitril karışımı kullanılmıştır. Bu analiz yöntemi insan ve farklı hayvan türlerindeki farmakokinetik çalışmalara da uygulanmıştır (98).

Enoksasin'in miktar tayini, iç standart olarak norfloksasin kullanılarak HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Analiz, plazma örneklerinin fosfat tamponu-sodyum lauril sülfat-kloroform ile ekstre edilmesinden sonra UV dedektör ile 254 nm'de, ters faz Ultrasphere-ODS kolonunda ve asetat tamponu-asetonitril-dimetilformamit-tetrabutyl amonyum hidroksit kullanılarak gerçekleştirilmiştir (99).

Davis, Aarons ve Houston, plazmada siprofloksasin, enoksasin veya norfloksasin'in teofilinle birlikte tayini için ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi geliştirmişlerdir. Plazma örnekleri diklorometan-isopropanol veya kloroform-isopropanol ile ekstre edilmiş ve hareketli faz tetrabutylamonyum hidrojen sülfat (iyon çifti ajanı)-fosfat tamponundaki asetonitril kullanılmıştır. Tayin, Spherisorb S5 ODS kolonu kullanılarak UV dedektör ile 280 nm'de yapılmıştır. Yöntemde teofilinin klirensi üzerinde florokinolonların konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır (100).

Song ve arkadaşları tarafından prostat dokusunda enoksasin miktar tayini shimadz-ODS sabit fazı ve metanol-asetonitril-sitrik asit hareketli fazı ile UV dedektör ile 272 nm'de yapılmış ve kan farmakokinetik parametreleri ile prostat dokusunda enoksasin konsantrasyonu tayin edilmiştir (101).

Zhai ve arkadaşları, insan plazma ve tükürüğünde siprofloksasin, enoksasin ve teofilinin birlikte tayinini yapmışlardır. Biyolojik sıvı örnekleri metilen klorür-isopropanol ile ekstre edilmiş ve C₁₈ Mikrobondapak kolonu, iç standart olarak difloksasin kullanılmıştır. Tayin UV dedektör ile 268 nm'de yapılmıştır ve ksantin yapılı bileşiklerin bu yöntemle girişim yapmadıkları gösterilmiştir (102).

Merhemlerdeki enoksasin tayini, YWG-C₁₈H₈ kolonunda ve naftalen iç standardı ile metanol-metansülfonik asit-THF hareketli fazında UV dedektör ile 254 nm’de yapılmıştır (103).

Tablet ve kapsüllerdeki enoksasin miktarı ters faz C₁₈ kolonunda sitrik asit-metil siyanür hareketli fazı ile UV dedektör ile 280 nm’de tayin edilmiştir (104).

Enoksasin, norfloksasin ve enrofloksasin’in tayini için hızlı ve duyarlı bir HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Analiz, Lichrospher 60-RP kolonunda metanol-sodyum dihidrojen fosfat tamponu ile UV dedektör ile 274 nm’de yapılmıştır. Yöntem farmasötik preparatlara da uygulanmıştır (105).

II.2.2.3. Elektrokimyasal Yöntemler

Squella ve arkadaşları tarafından enoksasin’in teşhis ve tayini için damlayan civa elektrot yüzeyinde ilacın elektrokimyasal indirgenmesine dayanan diferansiyel puls polarografisi yöntemi geliştirilmiştir. 0.1 M hidroklorik asitte -990 mV’daki yarı dalga potansiyelinde polarografik cevap elde etmişlerdir. 5×10^{-4} mM ve 1 mM aralığında doğrusal olan bu yöntem tabletlerdeki enoksasin miktar tayinine de uygulanmıştır. Geri kazanım % 100.1 ve tayin sınırı 4.9×10^{-4} mM olarak tespit edilmiştir. Elektrot işlemleri difüzyon kontrollüdür ve adsorbsiyon olayının olduğu görülmüştür (89).

Zhou ve arkadaşları enoksasin’in polarografik ve voltametrik davranışını incelemişlerdir. Yöntemde 0.05 mol/L sülfürik asit içinde Ag/AgCl elektroda karşı yaklaşık -1.052 V’ta doğrusal tarama voltametrik piki elde edilmiştir. Pik akımı 1.0×10^{-3} - 1.0×10^{-7} M aralığında enoksasin konsantrasyonu ile orantılı olup tayin sınırı 4×10^{-9} M olarak bulunmuştur. Sonuçlar enoksasin’in indirgenmesinin tersinir olduğunu ve pikin adsorbsiyon karakteristiğine sahip olduğunu göstermektedir. 1×10^{-4} M enoksasin’in normal puls polarogramı da alınmıştır ve doymuş kalomel elektrotta redüktanin adsorblandığı görülmüştür (106).

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise pH 2-11 arasındaki sitrik asit-sodyum fosfat-borik asit tamponunda 0.12 M KCl içeren 0.050 M hidroklorik asit içindeki enoksasin -1.05 V’ta polarografik dalga vermiştir. Tayin sınırı 6.25×10^{-9} M ve 1.6×10^{-8} - 1.6×10^{-5} M aralığında doğrusal bulunmuştur. Enoksasin’in elektrokimyasal davranışları normal polarografi, siklik voltametri

ve potantiyostatik kulometri teknikleri ile saptanmış ve polarografik yöntem idrar ve serum örneklerine de uygulanmıştır (107).

Li ve Zhuobin tarafından yapılan enoksasin'in elektrokimyasal çalışmalarında pH 2.2 Britton-Robinson tamponunda tek-taramalı oscillopolarogramında iki katodik pik verdiği bulunmuştur. Enoksasin'in 4.0×10^{-8} - 6.0×10^{-6} M aralığında doğrusal olup tayin sınırı 2.5×10^{-8} M olarak bulunmuştur (108).

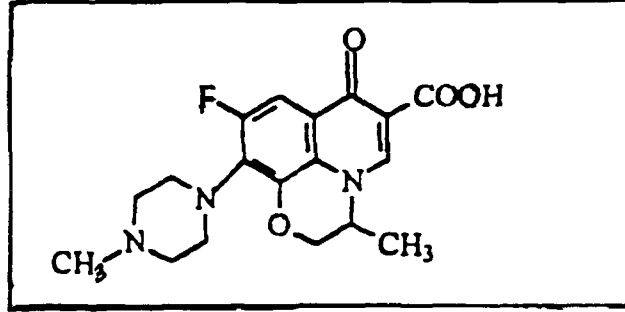
II.2.2.4. Kapiller Elektforez Yöntemi

Sun ve Chen tarafından enoksasin ve ofloksasin içeren ondört kinolonun sodyum cholate-sodyum heptansülfonat ve asetonitril ile kapiller elektforez yöntemi ile ayırımları yapılmıştır (20).

II.2.2.5. Mikrobiyolojik Yöntemler

Enoksasin'in çeşitli mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak gram (-) ve gram (+) organizmalara karşı aktiviteleri, minimum inhibisyon konsantrasyonları ve minimum bakteriyel konsantrasyonları agar dilüsyon, tüp dilüsyon ve disk difüzyon teknikleri kullanılarak mikrobiyolojik yöntemlerle tayin edilmiştir (38, 43, 68, 81).

II.3. OFLOKSASİN



Şekil II.5. Ofloksasin'in açık formülü

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

M.A. 361.38

Ofloksasin, (±)-9-floro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-okso-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoksazin-6-karboksilik asit yapısında bir maddedir.

II.3.1. Ofloksasin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (33, 87, 88)

Ofloksasin, hafif sarımsı-beyaz bir tozudur. Etanolden kristallendirilmiş maddenin erime derecesi 250-257°C'dir. Sulu çözeltide pH'sı 6.8'dir. pK_{a1} değeri 6.05 ve pK_{a2} değeri 8.22'dir. Asetik asitte çözünür. Alkol ve sudaki çözünürlüğü azdır.

II.3.2. Ofloksasin'in Analiz Yöntemleri

II.3.2.1. Spektrofotometrik Yöntemler

II.3.2.1.1. UV-GB Spektrofotometrisi

Ofloksasin, klopromazin, tiyamin, linkomisin ve teofilin'in eosin ve palladyum ile oluşturduğu renkli kompleksin ekstraksiyon işlemi yapılmadan ölçülmesine dayanan bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve farmasötik preparatlara da uygulanmıştır (109).

Mathur ve arkadaşları tarafından tabletlerde ofloksasin'in tayini için asidik ortamda Fe(III) ile sarı renkli bileşik oluşumuna dayanan spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmiştir. Ölçümler 410 nm'de yapılmış ve yöntemin 20-160 µg/ml aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur (110).

Kapetanovic ve arkadaşları tarafından ofloksasin-Cu(II) komplekslerinin oluşumu araştırılmıştır. Oluşan ofloksasin-Cu(II) komplekslerinin molar oranlarının pH 4'de 1:1, pH 7.02'de 2:1 ve pH 8.30'da 3:1 olduğu bulunmuştur. Ölçümler 360 nm'de yapılmıştır. Önerilen yöntem tabletteki ofloksasin'in tayini için de kullanılmıştır (111).

Çeşitli farmasötik preparatlarda ofloksasin'in tayini için basit, doğru, duyarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar veren spektrofotometrik yöntemler önerilmiştir (112-115).

Ofloksasin'in 3 metil-2 benzotiyazolin hidrazon-hidroklorür tuzu ile analizi oksidan olarak serik-amonyum sülfat varlığında 640 nm'de yapılmıştır. 1- 10 µg/ml aralığında doğrusal olan bu yöntem farmasötik preparatlara da uygulanmıştır (116).

Ofloksasin'in diğer bir spektrofotometrik analiz yöntemi ise sodyum karbonat varlığında ofloksasin ile Folin-Ciocalteu ile vermiş olduğu mavi renkli bileşiğin 670 nm'de maksimum absorbandsının ölçümüne dayanmaktadır. Bu bileşik bir saat stabil olup, yöntemin 2-60 µg/ml konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu ve geri kazanımın % 99.2-100 olduğu bulunmuştur (117).

Ofloksasin, norfloksasin, siprofloksasin'in Supracen violet ve Tropaeolin 000 ile tayini için Sastry ve arkadaşları tarafından spektrofotometrik bir yöntem geliştirilmiştir. Yöntem bu boyalarla florokinolonlar arasında iyon çifti komplekslerinin oluşumuna dayanmaktadır. Ekstraksiyon işlemi kloroformda yapılmış Supracen violet ile 575 nm'de, Tropaeolin 000 ile 485 nm'de ölçüm yapılmıştır. Norfloksasin ve siprofloksasin'in Tropaeolin 000 ile kompleksleri kloroformda çözünmediğinden dolayı bunların tayini Supracen violet ile, ofloksasin'in tayini ise Tropaeolin 000 ile yapılmıştır. Ofloksasin için tayin sınırı 2.5 µg/ml olarak bulunmuştur (118).

El-Sadek, El-Shanawani ve Ali tarafından norfloksasin ve ofloksasin'in metil oranj ve bromfenol mavisi ile iyon çifti kompleksi oluşumuna dayanan kolorimetrik tayini yapılmıştır. Asetik asit-sodyum asetat tamponunda oluşan iyon çifti komplekslerinin (metil oranj ve bromfenol mavisi için sırasıyla) 422 ve 414 nm'de ölçümleri yapılmıştır. 1. yöntemde norfloksasin için pH 3.5'da ve ofloksasin için pH 4'de metil oranj kullanılmış ve bu yöntem tabletlere de uygulanmıştır. 2. yöntemde ise ofloksasin için pH 2.9 kullanılarak bromfenol mavisi ile yapılmış ve yöntem ofloksasin içeren tablete de uygulanmıştır. Geri kazanım % 99.84 ve oluşan sarı renkli kompleksin renk şiddetinde ve λ_{max} 'unda değişiklik olmaksızın 48 saat dayanıklı olduğu bulunmuştur (119).

Başka bir iyon çifti kompleks oluşumu Issa ve arkadaşları tarafından 1997 yılında yapılmıştır. Bu yöntem ofloksasin ve lomefloksasin'in bromfenol mavisi, bromtimol mavisi ve bromkrezol moru iyon çifti oluşumuna dayanmaktadır. Her iki ilaç için bromfenol mavisi ve bromkrezol moru ile kompleks oluşumunda asetat tamponu (pH 4) ve yine her iki ilaç için bromtimol mavisi ile kompleks oluşumunda fosfat tamponu (ofloksasin için pH 5.7 ve lomefloksasin için pH 7) kullanılmıştır. Bromfenol mavisi, bromtimol mavisi ve bromkrezol moru için ölçümler 410, 415 ve 410 nm'de yapılmıştır. Yöntemin bu üç boya için sırasıyla 5-25, 2-15, 2-20 µg/ml aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur (ofloksasin ve lomefloksasin için). Oluşan kompleksler en az 24 saat dayanıklıdır. Geliştirilen bu yöntem ofloksasin ve lomefloksasin'in tabletlerine de uygulanmıştır. Ofloksasin için geri kazanım yaklaşık % 99 olarak bulunmuştur (120).

II.3.2.1.2. Türev Spektrofotometrisi

Yazbi, asidik çözeltilerdeki ofloksasin'in analizi için absorbans farkı ile 1. ve 2. türev spektrofotometrisi yöntemleri geliştirmiştir. Türev yöntemi 0.2-1.0 mg/100ml aralığında doğrusaldır. Önerilen yöntemler tablet ve idrardaki ofloksasin tayini için de kullanılmıştır (121).

Carlucci ve arkadaşları tarafından farmasötik preparatlardaki ofloksasin'in tayini için 2. türev UV spektrofotometrisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi geliştirilmiştir. Türev spektrofotometrisinde türev pikinin yüksekliği ile madde konsantrasyonu arasındaki ilişkiden yararlanılmış ve alt tayin sınırları türev yönteminde 20 ng/ml HPLC için 10 ng/ml'dir. Yöntem tablet, göz ilaçları ve merhemlere uygulanmıştır (122).

II.3.2.1.3. Floresans Spektrofotometrisi

Tamer A. ve Onur E. tarafından ofloksasin'in floresans spektrofotometrisi ile ilk miktar tayini yapılmış, 0.5 M asetik asit içinde ofloksasin λ_{eks} 347 nm ve λ_{ems} 505 nm'de tayin edilmiş ve yöntemin 0.1-5 $\mu\text{g/ml}$ aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Geliştirilen yöntem tabletlere de uygulanmıştır (11).

İnsan nötrofillerindeki altı kinolonun etkisi fluorometrik ve HPLC yönteminin karşılaştırılması ile bulunmuştur. Kinolonların belirtilen hücre içindeki etkilerinin araştırılmasında fluorometri uygun bir yöntem olduğu ve HPLC'de daha büyük hacimli hücrelere ve terapötik dozdan daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç olduğu bulunmuştur (123).

Ofloksasin'in asidik ortamda λ_{eks} 292 nm ve λ_{ems} 500 nm'de göstermiş oldukları floresans şiddetleri ölçülmüş ve 0.3-6 $\mu\text{g/ml}$ aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur (124).

Yazbi, ofloksasin'in türev spektroskopisi yanısıra spektrofotometri yöntemi de geliştirmiştir. λ_{eks} 298 nm'de uyarılma sonucu λ_{ems} 512 nm'de emisyon spektrumu alınarak yöntemin 0.2-1 $\mu\text{g/ml}$ aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur (121).

II.3.2.2. Kromatografik Yöntemler

II.3.2.2.1. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri

Biyolojik sıvılarda ofloksasin'in enantiyomerlerinin ayırımı silikajel F₂₅₄ kaplı plakta yapılmıştır. Hareketli faz olarak kloroform-metanol trietilenamin kullanılmıştır (125).

Warlich ve Mutschler tarafından insan plazma ve plevral sıvısında ofloksasin'in tayini silikajel plaklarda, konsantre amonyum ile dengelenmiş ve etanol-su içeren çözücü sisteminde ince tabaka kromatografisi ile yapılmıştır. Kromatogramlar densitometrik olarak değerlendirilmiş ve ölçümler civa lambası ile λ_{eks} 313 nm'de yapılmıştır. Yöntem 0.001-2.0 µg/ml aralığında doğrusal olup tayin sınırı 1 ng/ml olarak bulunmuştur. (126).

II.3.2.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Henz Lehr ve Damm, biyolojik sıvılardaki (+) ve (-) ofloksasin'in ayırımını yapmışlardır. Yöntem, geniş porlu Nucleosil'e kovalent bağlanan sıgır serum albumininde direkt ayırım ve L-lösinamit şiral ajanı ile türevlendirme ve sonra da oluşan izomerlerin ayrılması esasına dayanmaktadır (125).

Carlucci ve arkadaşları tarafından insan serum, idrar ve safrasında ofloksasin'in tayini yapılmıştır. İç standart olarak norfloksasin, hareketli faz olarak asetonyitril-fosfat tamponu kullanılmıştır. Kimyasal bir ekstraksiyon işleminden sonra kromatografik ayırım Vydac anyon değiştirici kolon ile bir ön kolonda gerçekleştirilmiştir. Tayin UV dedektör ile 280 nm'de yapılmış ve yöntemin serum için 0.5-6 µg/ml, idrar ve safra için 10-600 µg/ml aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur (127).

Serumda ofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin ve pefloksasin önce diklorometan ile ekstre edilerek, Nucleosil C₁₈ kolonda ve hareketli faz fosforik asit-tetrabutylamonyum iyodür (iyon çifti ajanı)-metanol ve iç standart olarak DL-8357 kullanılarak HPLC ile tayin edilmişlerdir. Ofloksasin için tayin UV dedektör ile 294 nm'de yapılmış ve tayin sınırı 30 ng/ml olarak verilmiştir (128).

Claes ve arkadaşları tarafından ofloksasin alımından sonra plazma ve prostat dokusundaki konsantrasyonlarının karşılaştırılması ile ofloksasin'in prostat dokusuna geçişi değerlendirilmiştir. Analiz Nucleosil silika (anyon değiştirici ile doldurulmuş) kolon ve asetonyitril-fosfat tamponu içeren hareketli faz ile 280 nm'de UV dedektör ile yapılmıştır (129).

Mignot ve arkadaşları tarafından λ_{eks} 290 nm ve λ_{ems} 500 nm'de floresans dedektörü ile Mikrobondapak C₁₈ kolonunda, iç standart olarak desmetil pefloksasin kullanılan ve potasyum monofosfat-tetrabutylamonyum fosfat-asetonyitril karışımından oluşan hareketli faz yardımıyla plazma ve idrarda ofloksasin'in tayini gerçekleştirilmiştir (130).

Katagiri ve arkadaşları sıçanların plazmasından ofloksasin, fenbufen ve aktif metaboliti olan felbinak birlikte ekstre ederek Chemcosorb 5-ODS-H zıt faz kolonunda, nalidiksik iç standardı ile metanol-sodyum lauril sülfat hareketli fazı ile yapılan HPLC yönteminde tekrarlanabilir sonuçlar elde etmişlerdir (131).

Arai ve arkadaşları tarafından Cu(II)-L-amino asit elüenti kullanılarak HPLC ile piridon karboksilik asit enantiyomerlerinin ayırımı gerçekleştirilmiştir. Yöntemde dokuz amino asit kullanılmış ve en uygunu L-fenil alanin olarak bulunmuştur. Tayinler UV dedektörü ile 300 nm'de ve floresans dedektörü ile λ_{eks} 330 nm ve λ_{ems} 505 nm'de yapılmıştır. Sonuçta (+) ve (-) isomerlerin birbirinden ayrıldığı görülmüştür (132).

Bronş sıvısında ofloksasin paslanmaz çelik ile kaplı oktadesil silika kolonu, potasyum dihidrojen fosfat tamponu-tetrahidrofuran karışımını içeren hareketli faz yardımıyla floresans dedektörü ile λ_{eks} 290 nm ve λ_{ems} 460nm'de yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile tayin edilmiştir (133).

Floresans dedektörlü HPLC yöntemi kullanılarak Tarivid'in ağızdan alımından sonra insan diş etlerine ait sıvıda ofloksasin'in tayini yapılmış ve tükürükte bulunan sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Analiz Nucleosil CN kolonunda ve asetonitril-fosforik asit hareketli fazı kullanılarak yapılmıştır. Tayinler λ_{eks} 295 nm ve λ_{ems} 480 nm'de yapılmıştır (134).

Ohkubo ve arkadaşları tarafından serumdaki ofloksasin'in tayini ters faz ön kolonu kullanılarak ekstraksiyon işlemi yapmadan direkt enjeksiyon ile HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Serum örnekleri Molcut II membran filtresinden süzülüp, filtrat ters faz ön kolonunda ön ayırma işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra analitik kolona verilmiştir. Yöntem iç standart olarak nalidiksik asit ve enoksasin ile UV dedektör ile 300 nm'de uygulanmıştır (135, 136).

Okazaki ve arkadaşları, spesifik katı-faz ekstraksiyon işlemini kullanarak serum ve idrarda (S)-(-) ofloksasin ve metabolitlerinin birlikte HPLC ile tayini için duyarlı ve seçici bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu bileşikler fluorometrik dedektör ile C₈ katı-ters faz kolonunda, λ_{eks} 296 nm ve λ_{ems} 504 nm'de floresans dedektörü ile ayrılıp ve teşhis edilmişlerdir (137).

İnsan saçında ofloksasin oktadesil silan kolonunda ve iç standart DL-8357 ve potasyum fosfat-asetonitril hareketli fazı kullanılarak floresans dedektörü ile λ_{eks} 290 nm ve λ_{ems} 460 nm'de HPLC yöntemi ile tayin yapılmıştır (138).

Benzer bir yöntemle insan saçında ofloksasin, norfloksasin ve siprofloksasin birlikte tayin edilmişlerdir. Norfloksasin iç standardı ile floresans dedektörü ile λ_{eks} 295 nm ve λ_{ems} 490 nm'de, ters faz C₁₈ kolonu ve asetonytril-ortofosforik asit-tetrabutylamonyum hidroksit hareketli fazı kullanılmıştır (139).

Ohkubo ve arkadaşları, ofloksasin'in cilt dokusu ile serum düzeyleri arasındaki ilişkiyi tayin etmişlerdir. Ekstraksiyon işlemi yapılmadan proteinlerinden kurtarılması için Molcut II membran filtresinden süzöldükten sonra homojenize edilen cilt örnekleri fenil sabit faz kullanılarak ön kolonda konsantre edilmiş ve sonra ODS sabit faz kullanılarak analitik kolona verilmiştir. Tayin lomefloksasin iç standardı kullanılarak UV dedektör ile 300 nm'de yapılmıştır (140).

Macek ve Ptacek tarafından insan plazmasındaki ofloksasin'in tayini için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Plazma proteinleri asetonytril ile çöktürölerek süpernatant konsantre edilip ters faz Separon SGX C₁₈ kolonuna enjekte edilmiştir. İç standart olarak enoksasin ve hareketli faz olarak tetrahidrofuran-potasyum fosfat ve bakteri üremesini önlemek için sodyum azid kullanılmıştır. Tayin fluorometrik dedektörle λ_{eks} 282 nm ve λ_{ems} 450 nm'de yapılmıştır (141).

Basci ve arkadaşları topik, ağızdan ve intravenöz alımından sonra insan göz sıvısındaki ofloksasin'in analizi Novapak C₁₈ ters faz kolonu, metanol-asetonytril-sitrik asit hareketli fazı ve pipemidik asit iç standardı kullanılarak floresans dedektör ile λ_{eks} 290 nm ve λ_{ems} 500 nm'de gerçekleştirilmiştir. (142).

II.3.2.3. Elektrokimyasal Yöntemler

Ofloksasin'in spektrofotometrik analiz yönteminde verilen ofloksasin-Cu(II) kompleks oluşum yöntemi polarografik olarak da incelenmiştir. Ofloksasin ile Cu(II) arasında oluşan ve polarografik olarak aktif olan kompleksin indirgenmesinden dolayı -0.29 voltta yeni bir pik elde edilmiştir ve ofloksasin-Cu(II) kompleksinin pH'ya bağımlılığı incelenmiştir (111).

Tamer, A. tarafından ilk defa ofloksasin'in pH=6 Britton-Robinson tamponunda damlayan civa elektrotta adsorptive stripping voltametik tayini yapılmıştır. Yöntem -1.0 V'ta 0.079-197.5 µg/ml aralığında doğrusal olup tayin sınırı 1 ng/ml'dir ve bu yöntem tabletlere de uygulanmıştır (143).

Tunçel ve Atkoşar tarafından ofloksasin'in potansiyometrik ve kondüktometrik tayini yapılmıştır ve yöntem tabletlere de uygulanmıştır. Ölçümler için cam ve platin elektrotlar kullanılmış ve eklenen titrant hacmine karşı pH ve iletkenlikteki değişiklik kaydedilmiştir. Dönüm noktalarından tayin gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemlerle karşılaştırılmak üzere asetik asit içindeki ofloksasin'in spektrofotometrik tayini yapılmıştır ve iki yöntem arasında fark önemsiz bulunmuştur (144).

Başka bir elektrokimyasal yöntemde ofloksasin'in polarografik ve voltametrik davranışı incelenmiştir. Britton-Robinson tamponunda -1.343 voltta doğrusal taramalı voltametrik pik vermiştir. Sonuçlar ofloksasin'in indirgenmesinin tersinmez olduğunu ve pikin adsorbsiyon özelliğine sahip olduğunu göstermiştir. Pik akımı 8×10^{-4} - 2×10^{-5} M aralığında doğrusaldır ve tayin sınırı 4×10^{-6} M'dır. Farmasötik preparatlarda ofloksasin'in tayini için tek- sıyırmalı oscillopolarografik yöntem geliştirilmiştir (145).

Zhang ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde Tween-80 içeren bir tamponda ofloksasin -1.46 V'ta polarografik dalga vermiştir. Yöntem 1.39×10^{-7} - 1.39×10^{-5} M aralığında doğrusal olup ve idrar ve serum örneklerine de uygulanmıştır (146).

Polivinil membranlı ofloksasin'in tramadol seçici elektrot kullanılarak elektrokimyasal özelliği incelenmiş ve 1.0×10^{-1} - 6.3×10^{-6} M aralığında doğrusal olup tayin sınırı 3.2×10^{-6} M'dır (147).

Rizk ve arkadaşları tarafından ofloksasin'in saf, dozaj formlarında ve biyolojik sıvılardaki analizinde, Britton-Robinson tamponunda katodik bir dalga verdiği gösterilmiştir. Pikin tersinmez, difüzyon kontrollü ve sınırlı adsorbsiyon özelliğinin olduğu bulunmuştur. Doğru akım ve diferansiyel puls polarografisi yöntemlerinin 5×10^{-5} - 5×10^{-4} M ve 10^{-5} - 5×10^{-4} M aralığında doğrusal olduğu ve tayin sınırının 3×10^{-7} M olduğu bulunmuştur (148).

Ofloksasin-Mg komplekslerinin polarografik ve voltametrik davranışları incelenmiş ve amonyum-amonyum klorür tamponunda ofloksasin-Mg kompleksinin indirgenmesine dayanan bir pik elde edilmiştir. Pik potansiyeli -1.7 V'ta tersinmez ve adsorbsiyon karakterli olup kompleksde ofloksasin/Mg oranı tespit edilmiştir (149).

II.3.2.4. Kapiller Elektrophorez Yöntemleri

Kapiller afinite zone elektrophorez ile bazı farmasötik bileşiklerin şiral ayırım çalışmaları Arai ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Şiral seçici olarak sığır serum albumini (BSA) kullanılmış ve elektrolide eklenmiştir. Yeni kinolonların şiral ayırımı için destek elektrolit olarak fosfat tamponu borat tamponundan daha uygun bulunmuştur ve şiral ayırımlar pH 7-8 aralığında gerçekleştirilmiştir. Yöntem için optimum şartlar tayin edilerek, UV dedektör ile 300 nm’de yapılmıştır (19).

Yeni kinolon ilaçların optik ayırımları kapiller elektrophorez yöntemi ile sağlanmıştır. Ayırım γ -siklodekstrin-Zn(II)-D-fenilalanin çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Ayırım mekanizması siklodekstrin ile kombinasyonlarında kinolonların Zn(II) ve D-fenilalanin ile ligand değiştirici etkileşmesine dayanmaktadır (150).

Ofloksasin’in sülfanilamid iç standardı kullanılarak silika kapiller kolonda ve boraks tamponu içinde UV dedektör ile 280 nm’de kapiller zone elektrophorezle tayini yapılmıştır (151).

Diğer yöntemlerde ise şiral seçiciler olarak β -siklodekstrin veya dimetil- β -siklodekstrin kullanılarak kapiller elektrophorezle ayırımları sağlanmıştır (152-154).

II.3.2.5. Mikrobiyolojik Yöntemler

Ofloksasin’in çeşitli mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak gram (-) ve gram (+) organizmalara karşı aktiviteleri, minimum inhibisyon konsantrasyonları ve minimum bakteriyel konsantrasyonları agar difüzyon, mikrodilüsyon ve tüp dilüsyon teknikleri kullanılarak çeşitli mikrobiyolojik yöntemlerle tayin edilmiştir (21, 31, 40, 68).

III. DENEYSEL KISIM

III.1. Kullanılan Standart Maddeler ve Farmasötik Preparatlar

Bu araştırmada kullanılan standart maddelerden enoksasin Eczacıbaşı İlaç Pazarlama A.Ş.'den, ofloksasin ise Hoechst Marion Roussel Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den temin edilmiştir.

Yöntemlerin preparatlara uygulanmasında; enoksasin'in piyasada bulunan tek preparatı olan ve 400 mg enoksasin içeren **ENOKSETİN® FİLM TABLET** kullanılmış ve aynı seri numaralı olan preparatlar piyasa eczanelerinden, ofloksasin ile yapılan preparat çalışmalarında ise; 400 mg ofloksasin içeren ve aynı seri numaralı **TARİVİD® FİLM TABLET** Hoechst Marion Roussel Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den temin edilmiştir.

Standart maddelerin analiz sertifikaları beraberinde gönderildiğinden laboratuvarımızda yalnız erime dereceleri tekrarlanarak ve ince tabaka komatografisi ile saflık kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca her iki maddenin tabletlerinin de ince tabaka komatografisi ile saflık kontrolleri, aşağıda verilen çözücü sistemlerinde tabletlerden 0.5 N asetik asitle alınan ekstraksiyon çözeltileri uygulanarak yapılmıştır.

1. etil asetat-asetik asit-su (3:1:1)
2. kloroform-asetik asit-dimetilformamit (5:2:5)
3. isopropanol-amonyak-su (6:1:3)

III.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bromfenol mavisi (=Bromophenol blue) (Surechem.Products. Ltd.)
Bromkrezol moru (=Bromocresol purple) (Surechem.Products. Ltd.; Merck)
Kloroform (Merck)
Potasyum hidrojen ftalat (Merck)
Asetik asit (Merck)
Hidroklorik asit (Merck)
Sodyum hidroksit (Merck)
Disodyum hidrojen fosfat (Merck)

Sitrik asit (Merck)
pH=4 tamponu (Carlo Erba)
pH=7 tamponu (Carlo Erba)
Silikajel HF₂₅₄

III.3. Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre (Shimadzu UV-160A)
Karıştırıcı (IkamagRH-IKA-Labortechnik)
Vorteks (NM 110-Nüve)
Ultrasonik banyo (Sonorex)
Santrifüj (NF 1215)
pH metre (Orion110-Nüve)
Terazi (Mettler)
Terazi (Libror EB 330H, Shimadzu)
Kombine elektrot
Erime derecesi tayin cihazı (Buchi 535)

III.4. Kullanılan Cam Malzemeler ve Temizliği

Çalışmalarımızda kullanılan balon jojeler, şilifli ve ağzı kapaklı deney tüpleri, santrifüj tüpleri, çeşitli boyutlarda cam pipetler ve beherler gibi cam malzemeler önce çeşme suyu ve deterjanlı su ile yıkandıktan sonra % 0.3'lük nitrik asit yıkama çözeltisi ile 15 dakika ultrasonik banyoda muamele edilmiştir. Sonra tekrar distile su ile yıkanıp oda sıcaklığında kurutulmuştur.

III.5. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Enoksasin stok standart çözeltisi a) (1mg/ml): 100 mg standart enoksasin tartılıp, 100 ml'ye 0.5 N asetik asitle tamamlanmıştır.

b) (10^{-3} M): 32.03 mg standart enoksasin tartılıp, 3 ml 0.5 N asetik asit içinde çözülmüş ve 100 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Ofloksasin stok standart çözeltisi (10^{-3} M): 36,14 mg standart ofloksasin tartılıp, 2 ml 0.5 N asetik asit içinde çözülmüş ve 100 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Bromkrezol moru çözeltisi: 162 mg bromkrezol moru tartılıp, 20 ml % 96'lık etanolde çözülmüş ve 100 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Bromfenol mavisi çözeltisi: a) 100 mg bromfenol mavisi tartılıp, 100 ml'ye Mc-ilvaine sitrat tamponu ile tamamlanmıştır.

b) 134 mg bromfenol mavisi tartılıp, 20 ml % 96'lık etanolde çözülmüş ve 100 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Mc-ilvaine sitrat tamponu: 21.0 g sitrik asit 200 ml 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinde çözülüp, 1 lt'ye distile su ile tamamlanmıştır. 0.2 M disodyum hidrojen fosfat çözeltisi eklenerek istenen pH'ya ayarlanmıştır.

Potasyum hidrojen ftalat tamponu (0.1 M): 1.020 g potasyum hidrojen ftalat tartılıp, 50 ml'ye distile su ile tamamlanmış ve 0.1 M hidroklorik asit veya 0.1 M sodyum hidroksit eklenerek, istenen pH'ya ayarlanmıştır.

Disodyum hidrojen fosfat çözeltisi (0.1 M): 17.907 g disodyum hidrojen fosfat tartılıp, 250 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Asetik asit çözeltisi (0.5 N): Bir miktar su üzerine 28.6 ml glassiyel asetik asit konulup, daha sonra 1 lt'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Hidroklorik asit çözeltisi (0.1 M): Bir miktar su üzerine 8.3 ml derişik hidroklorik asit konulup, daha sonra 1 lt'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Sodyum hidroksit çözeltisi (0.1 M): 1.0 g sodyum hidroksit tartılıp, 250 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

III.6. Enoksasin'in Miktar Tayini İçin Uygulanan UV-GB Spektrofotometrik Yöntemler

III.6.1. Enoksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemi

III.6.1.1. Miktar tayini için UV Spektrumunda Dalga Boyu Seçimi

100 ppm enoksasin çözeltisinden seyreltilerek hazırlanan 8 ppm'lik enoksasin çözeltisinin UV spektrumu alınmış ve λ_{maks} 268 nm ve λ_{maks} 338 nm'de ϵ değerleri hesaplanmıştır.

III.6.1.2. Kalibrasyon Çalışmaları

Enoksasin stok çözeltisinden (1 mg/ml) uygun miktarda seyreltme işlemi yapılarak 100 ppm'lik bir çözelti hazırlanmış ve bu çözeltiden uygun miktarlarda (0.01-13 ml) alınıp 25 ml'ye yapılan seyreltmelerle 0.04-52 ppm arasındaki derişimlerde çözelti hazırlanmıştır. Çok seyreltik çözelti ölçümlerden hemen önce hazırlanmıştır. Elde edilen çözelti 268 ve 338 nm dalga boylarında absorban değerleri ölçülmüştür. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorban değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Tayin edilebilen en küçük derişim ve kalibrasyon eğrilerinden miktar tayini yapılabilecek derişim aralıkları saptanarak bu doğrulara ait kalibrasyon denklemleri ve korrelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

III. 6.1.3. Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolla silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden uygun miktarlarda dilüsyonlar yapılarak hazırlanan çözelti 268 ve 338 nm'de absorpsiyonları ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

III.6.2. Enoksasin'in Bromfenol Mavisi ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi

Enoksasin'in miktar tayini için enoksasin-bromfenol mavisi ile iyon çifti kompleksi oluşumuna dayanan yöntem geliştirme çalışmasında önce kullanılan yöntemin optimizasyonu yapılmış ve daha sonra geliştirilen yöntem enoksasin içeren tabletlere uygulanmıştır.

III.6.2.1. Yöntem

Enoksasin stok çözeltisinden (1 mg/ml) uygun miktarda seyreltme işlemi yapılarak 100 ppm'lik bir çözelti hazırlanmış ve bu çözeltiden uygun miktarlarda (0.03-1.5 ml) alınan enoksasin çözeltileri şilifli ve ağzı kapaklı deney tüpüne konulmuş ve üzerine 1 ml pH'sı 4 olan Mc-ilvaine sitrat tamponunda hazırlanmış bromfenol mavisi çözeltisinden eklenmiştir. Sonra 5 ml kloroform ilave edilip, 1 dakika vortekslenmiş ve 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Organik faz alınarak, oluşan sarı renkli enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin aborbansı hazırlanan kör çözeltisine karşı 412 nm'de okunmuştur ve iyon çifti kompleksinin ϵ değeri hesaplanmıştır.

III.6.2.2. Yöntemin Optimizasyonu

III.6.2.2.1. Mc-ilvaine Sitrat Tamponunun pH'sı

Bunun için pH=3.6; 3.8; 4.0; 4.2; 4.5 olan Mc-ilvaine sitrat tamponları denenmiş en iyi pH değeri tespit edilmiştir.

III.6.2.2.2. Karıştırma süresi

Hazırlanan çözeltiler değişik karıştırma sürelerinde (1; 1.5; 2; 2.5 dakika) vortekslenmiştir.

III.6.2.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı

Oluşturulan enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranının bulunması için 'Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi' kullanılmıştır. Bunun için, aynı derişimde (10^{-3} M) hazırlanan enoksasin ve bromfenol mavisi stok çözeltilerinden aşağıda verilen hacimlerde alınarak yöntem kısmında anlatıldığı gibi enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksleri oluşturulmuştur. Mol kesrine (enoksasin/enoksasin+bromfenol mavisi) karşı okunan absorpsanlar grafiğe geçirilmiş ve oluşan iyon çifti kompleksinde enoksasin : bromfenol mavisi oranı bulunmuştur.

6 ml enoksasin	+	0 ml bromfenol mavisi
5 ml enoksasin	+	1 ml bromfenol mavisi
4 ml enoksasin	+	2 ml bromfenol mavisi
3 ml enoksasin	+	3 ml bromfenol mavisi
2 ml enoksasin	+	4 ml bromfenol mavisi
1 ml enoksasin	+	5 ml bromfenol mavisi
0 ml enoksasin	+	6 ml bromfenol mavisi

III.6.2.2.4. Kompleksin Stabilitesi

Oluşan iyon çifti kompleksinin stabilitesi, belirli zaman aralıklarında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

III.6.2.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları

100 ppm'lik enoksasin çözeltisinden 0.03-1.5 ml çözeltiler alınarak hazırlanan 0.6-30 ppm derişimindeki çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanarak 412 nm'de absorpsan değerleri ölçülmüştür. Her bir ölçüm 10 değer ortalamasıdır. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorpsan değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Ayrıca bu yöntemin tayin edilebilen en küçük derişim değeri, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı bulunmuştur.

III.6.2.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolle silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden gerekli miktarlarda alınarak enoksasin standardına uygulanan şartlarda bromfenol mavisi ile iyon çifti kompleksi oluşturulmuştur. Sonuçta oluşan sarı renkli iyon çifti kompleksinin absorbanşı, kör çözeltisine karşı 412 nm'de okunmuştur.



III.6.3. Enoksasin'in Bromkrezol Moru ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi

Enoksasin'in bromkrezol moru ile iyon çifti kompleksi oluşumuna dayanan yeni bir yöntem geliştirilmiş ve bu yöntemin optimizasyonu yapılmış ve daha sonra bu yöntem enoksasin içeren tablete de uygulanmıştır.

III.6.3.1. Yöntem

Enoksasin stok çözeltisinden (10^{-3} M) uygun miktarlarda (0.04-3.5 ml) alınan enoksasin çözeltileri şilifli ve ağzı kapaklı deney tüpüne konulmuş ve üzerine 1 ml pH'sı 3.3 olan 0.1 M potasyum hidrojen ftalat tamponu ve 5 ml bromkrezol moru çözeltisinden eklenmiştir. Sonra 5 ml kloroform eklenip, 1 dakika vortekslenmiş ve 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. 1.0 ml organik fazdan alınıp, 10 ml'ye kloroform ile tamamlanmıştır. Oluşan sarı renkli enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin absorbansı, hazırlanan kör çözeltisine karşı 410 nm'de okunmuştur ve iyon çifti kompleksinin ϵ değeri hesaplanmıştır.

III.6.3.2. Yöntemin Optimizasyonu

III.6.3.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Bunun için pH=2.5; 3.0; 3.3; 3.4; 3.5; 4.0 olan potasyum hidrojen ftalat tamponları denenmiştir.

III.6.3.2.2 Karıştırma Süresi

Hazırlanan çözeltiler değişik karıştırma sürelerinde (1; 1.5; 2; 2.5 dakika) vortekslenmiştir.

III.6.3.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı

Oluşturulan enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranının bulunması için 'Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi' kullanılmıştır. Bunun için, aynı derişimde (10^{-3} M) hazırlanan enoksasin ve bromkrezol moru stok çözeltilerinden aşağıda verilen hacimlerde alınarak yöntem kısmında anlatıldığı gibi enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksleri oluşturulmuştur. Mol kesrine (enoksasin/enoksasin+bromkrezol moru) karşı okunan absorbanlar grafiğe geçirilmiş ve oluşan iyon çifti kompleksinde enoksasin : bromkrezol moru oranı bulunmuştur.

6 ml enoksasin	+	0 ml bromkrezol moru
5 ml enoksasin	+	1 ml bromkrezol moru
4 ml enoksasin	+	2 ml bromkrezol moru
3 ml enoksasin	+	3 ml bromkrezol moru
2 ml enoksasin	+	4 ml bromkrezol moru
1 ml enoksasin	+	5 ml bromkrezol moru
0 ml enoksasin	+	6 ml bromkrezol moru

III.6.3.2.4. Kompleksin Stabilitesi

Oluşan iyon çifti kompleksinin stabilitesi, belirli zaman aralıklarında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

III.6.3.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları

Enoksasin stok çözeltisinden (10^{-3} M) 0.04-3.5 ml çözeltiler alınarak hazırlanan 0.26-22.42 ppm derişimindeki çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanarak 410 nm'de absorban değerleri ölçülmüştür. Her bir ölçüm 6 değerin ortalamasıdır. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorban değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Ayrıca bu yöntemin tayin edilebilen en küçük derişim değeri, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı bulunmuştur.

III.6.3.2.6.Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolle silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden gerekli miktarlarda alınarak enoksasin standardına uygulanan şartlarda bromkrezol moru ile iyon çifti kompleksi oluşturulmuştur. Sonuçta oluşan sarı renkli iyon çifti kompleksinin absorbansı, kör çözeltisine karşı 410 nm'de okunmuştur.



III.7. Ofloksasin'in Miktar Tayini İçin Uygulanan UV-GB Spektrofotometrik Yöntemler

III.7.1. Ofloksasin'in 0.5 Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemi

III.7.1.1. Miktar Tayini İçin UV Spektrumunda Dalga Boyu Seçimi

100 ppm ofloksasin çözeltisinden seyreltilerek hazırlanan 8 ppm'lik ofloksasin çözeltisinin λ_{maks} 293 nm'de UV spektrumu alınmış ve ϵ değerleri hesaplanmıştır.

III.7.1.2. Kalibrasyon Çalışmaları

Ofloksasin stok çözeltisinden (1 mg/ml) uygun miktarda seyreltme işlemi yapılarak 100 ppm'lik bir çözelti hazırlanmış ve bu çözeltiden uygun miktarlarda (0.005-4 ml) alınıp 10 ml'ye yapılan seyreltmelerle 0.05-40 ppm arasındaki derişimlerde çözelti hazırlanmıştır. Çok seyreltik çözelti ölçümlerden hemen önce hazırlanmıştır. Elde edilen çözelti 293 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçülmüştür. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorban değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Tayin edilebilen en küçük derişim ve kalibrasyon eğrisinden miktar tayini yapılabilecek derişim aralığı saptanarak bu doğruya ait kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı hesaplanmıştır.

III. 7.1.3. Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolle silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden gerekli miktarlarda dilüsyonlar yapılarak hazırlanan çözelti 293 nm'de absorpsiyonları ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

III.7.2. Ofloksasin'in Bromfenol Mavisi ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi

Ofloksasin'in miktar tayini için ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi oluşumuna dayanan yeni bir yöntem geliştirilmiş ve bu kompleks için gerekli şartlar optimize edilmiştir. Sonuçta oluşan iyon çifti kompleksi spektrofotometrik olarak tayin edilerek yöntem ofloksasin tabletine de uygulanmıştır.

III.7.2.1. Yöntem

Ofloksasin stok çözeltisinden (10^{-3} M) uygun miktarlarda (0.07-2.7 ml) alınan ofloksasin çözeltileri şilifli ve ağzı kapaklı deney tüpüne konulmuş ve üzerine 1 ml pH'sı 3.0 olan 0.1 M potasyum hidrojen ftalat tamponu ve 5 ml bromfenol mavisi (b) çözeltisinden eklenmiştir. Sonra 5 ml kloroform eklenip, 1 dakika vortekslenmiş ve 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. 1.0 ml organik fazdan alınıp, 10 ml'ye kloroform ile tamamlanmıştır. Oluşan sarı renkli enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin absorbanşı, hazırlanan kör çözeltisine karşı 414 nm'de okunmuştur ve iyon çifti kompleksinin ϵ değeri hesaplanmıştır.

III.7.2.2. Yöntemin Optimizasyonu

III.7.2.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Bunun için pH=2.5; 3.0; 3.2; 3.3; 3.4; 3.5; 4.0 olan potasyum hidrojen ftalat tamponları kullanılmıştır.

III.7.2.2.2. Karıştırma Süresi

Hazırlanan çözeltiler değişik karıştırma sürelerinde (1/2; 1; 1.5; 2; dakika) vortekslenmiştir.

III.7.2.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı

Oluşturulan ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranının bulunması için 'Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi' kullanılmıştır. Bunun için, aynı derişimde (10^{-3} M) hazırlanan ofloksasin ve bromfenol mavisi stok çözeltilerinden aşağıda verilen hacimlerde alınarak yöntem kısmında anlatıldığı gibi ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksleri oluşturulmuştur. Mol kesrine (ofloksasin/ofloksasin+bromfenol mavisi) karşı okunan absorpsanlar grafiğe geçirilmiş ve oluşan iyon çifti kompleksinde ofloksasin : bromfenol mavisi oranı bulunmuştur.

6 ml ofloksasin	+	0 ml bromfenol mavisi
5 ml ofloksasin	+	1 ml bromfenol mavisi
4 ml ofloksasin	+	2 ml bromfenol mavisi
3 ml ofloksasin	+	3 ml bromfenol mavisi
2 ml ofloksasin	+	4 ml bromfenol mavisi
1 ml ofloksasin	+	5 ml bromfenol mavisi
0 ml ofloksasin	+	6 ml bromfenol mavisi

III.7.2.2.4. Kompleksin Stabilitesi

Oluşan iyon çifti kompleksinin stabilitesi, belirli zaman aralıklarında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

II.7.2.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları

Ofloksasin stok çözeltisinden (10^{-3} M) 0.07-2.7 ml çözeltiler alınarak hazırlanan 0.51-19.52 ppm derişimindeki çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanarak 414 nm'de absorpsan değerleri ölçülmüştür. Her bir ölçüm 6 değerin ortalamasıdır. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorpsan değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Ayrıca bu yöntemin tayin edilebilen en küçük derişim değeri, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı bulunmuştur.

III.7.2.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolle silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden gerekli miktarlarda alınarak ofloksasin standardına uygulanan şartlarda bromfenol mavisi ile kompleks oluşturulmuştur. Sonuçta oluşan sarı renkli iyon çifti kompleksinin absorbanşı, kör çözeltisine karşı 414 nm'de okunmuştur.



III.7.3. Ofloksasin'in Bromkrezol Moru ile İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Dayanan Miktar Tayini Yöntemi

Ofloksasin ile bromkrezol moru çözeltisi kullanarak iyon çifti kompleksi oluşturulmuş ve bu kompleks için gerekli şartlar optimize edilmiştir. Daha sonra geliştirilen bu yöntem ofloksasin içeren tablete de uygulanmıştır.

III.7.3.1. Yöntem

10^{-3} M ofloksasin stok çözeltisinden uygun miktarlarda (0.06-2.5 ml) alınan ofloksasin çözeltileri, şilifli ve ağzı kapaklı deney tüpüne konulmuş ve üzerine 1 ml pH'sı 3.1 olan 1 M potasyum hidrojen ftalat tamponu ve 5 ml bromkrezol moru çözeltisinden eklenmiştir. Sonra 5 ml kloroform eklenip, 1 dakika vorteklenmiş ve 2000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. 1.0 ml organik fazdan alınıp, 10 ml'ye kloroform ile tamamlanmıştır. Oluşan sarı renkli ofloksasin-bromkrezol moru kompleksinin absorbansı hazırlanan kör çözeltisine karşı 408 nm'de okunmuştur. Oluşan iyon çifti kompleksinin ϵ değeri hesaplanmıştır.

III.7.3.2. Yöntemin Optimizasyonu

III.7.3.2.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Bunun için pH=2.5; 3.0; 3.1; 3.3; 3.5; 4.0 olan potasyum hidrojen ftalat tamponları kullanılmıştır.

III.7.3.2.2. Karıştırma Süresi

Hazırlanan çözeltiler değişik karıştırma sürelerinde (1; 1.5; 2; 2.5 dakika) vortekslenmiştir.

III.7.3.2.3. Kompleksin Birleşim Oranı

Oluşturulan ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranının bulunması için 'Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi' kullanılmıştır. Bunun için, aynı derişimde (10^{-3} M) hazırlanan ofloksasin ve bromkrezol moru stok çözeltilerinden aşağıda verilen hacimlerde alınarak yöntem kısmında anlatıldığı gibi ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksleri oluşturulmuştur. Mol kesrine (ofloksasin/ofloksasin+bromkrezol moru) karşı okunan absorbanlar grafiğe geçirilmiş ve oluşan iyon çifti kompleksinde ofloksasin: bromkrezol moru oranı bulunmuştur.

6 ml ofloksasin	+	0 ml bromkrezol moru
5 ml ofloksasin	+	1 ml bromkrezol moru
4 ml ofloksasin	+	2 ml bromkrezol moru
3 ml ofloksasin	+	3 ml bromkrezol moru
2 ml ofloksasin	+	4 ml bromkrezol moru
1 ml ofloksasin	+	5 ml bromkrezol moru
0 ml ofloksasin	+	6 ml bromkrezol moru

III.7.3.2.4. Kompleksin Stabilitesi

Oluşan iyon çifti kompleksinin stabilitesi, belirli zaman aralıklarında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

III.7.3.2.5. Kalibrasyon Çalışmaları

Ofloksasin stok çözeltilerinden (10^{-3} M) 0.06-2.5 ml çözeltiler alınarak hazırlanan 0.43-18.07 ppm derişimindeki çözeltilere geliştirilen yöntem uygulanarak 408 nm'de absorban değerleri ölçülmüştür. Her bir ölçüm 6 değer ortalamasıdır. Tüm ölçümler oda sıcaklığında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Derişime karşı absorban değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Ayrıca bu yöntemin tayin edilebilen en küçük derişim değeri, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı bulunmuştur.

III.7.3.2.6. Yöntemin Tablete Uygulanması

Metanolle silinerek film tabakası alınmış 20 tablet havanda iyice toz edilmiş, bir tablete eşdeğer miktarda tam olarak tartılan toz, 4 kez 0.5 N asetik asit ile 25'er ml'lik porsiyonlar halinde ekstre edilmiştir. Bu çözeltiden gerekli miktarlarda alınarak ofloksasin standardına uygulanan şartlarda bromfenol mavisi ile kompleks oluşturulmuştur. Sonuçta oluşan sarı renkli iyon çifti kompleksinin absorbanısı, kör çözeltisine karşı 408 nm'de okunmuştur.

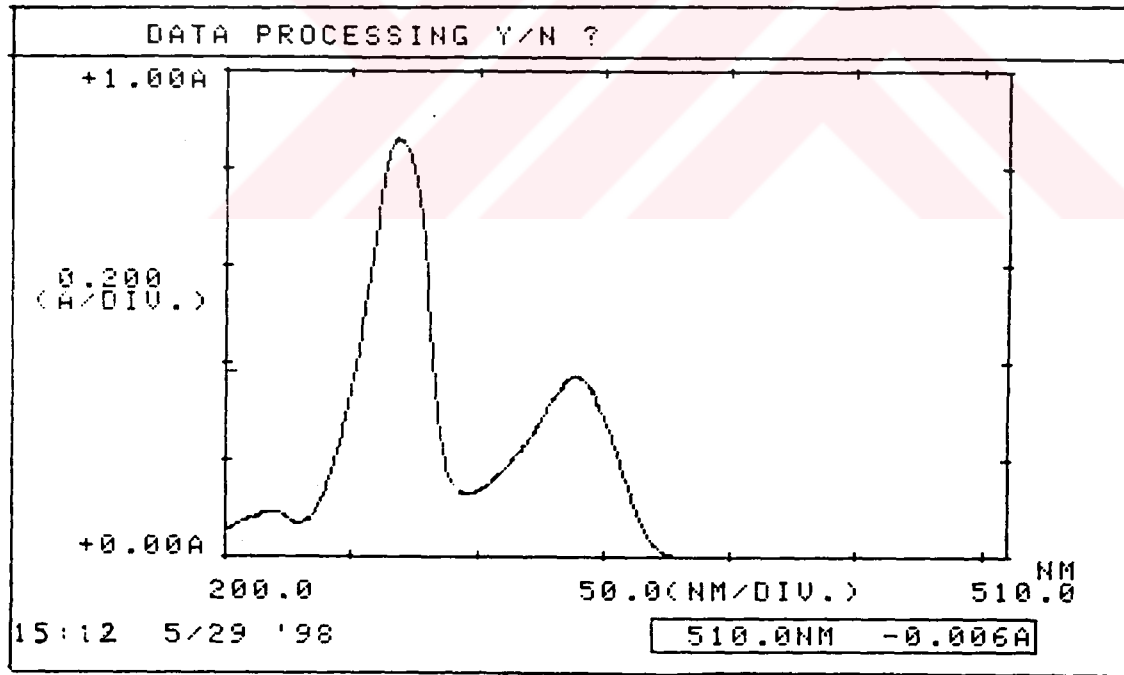
IV. BULGULAR

Enoksasin ve ofloksasin standartlarının erime derecelerine bakılarak gönderilen analiz sertifikalarına uygun olduğu bulunmuştur. Ayrıca her iki maddenin ve tabletlerinin ince tabaka kromatografisi ile saflık kontrollerinde, maddelerin ve tabletlerinin leke ve R_f değerleri aynı bulunmuş ve tabletlerde bozunma ürününe rastlanmamıştır.

IV.1. Enoksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular

IV.1.1. Miktar Tayini Yapılacak Dalga Boyunun Seçimi ve Kalibrasyon Çalışmaları

Enoksasin'in 0.5 N asetik asit çözeltisi içinde UV spektrumunda λ_{maks} 268 nm (ϵ 3.53×10^4) ve 338 nm (ϵ 1.53×10^4) de olmak üzere iki band görülmektedir (Şekil IV.1). Her bir ϵ değeri altı tekrarın ortalamasıdır.

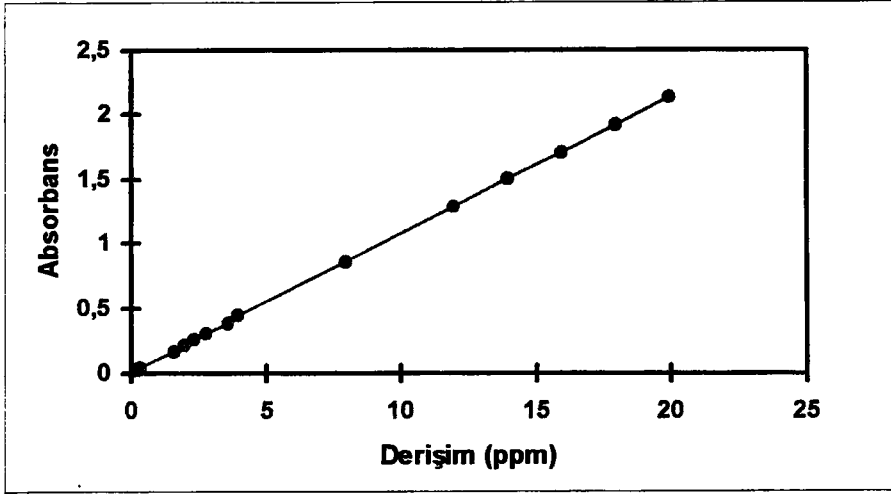


Şekil IV.1. Enoksasin'in 0.5 N asetik asit içindeki UV spektrumu (8 ppm derişiminde)

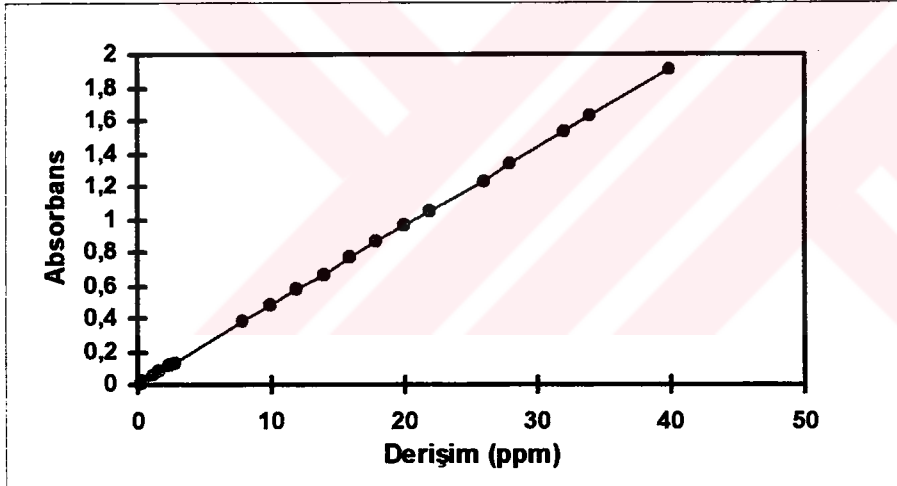
Çeşitli derişimlerde (0.04-52 ppm) hazırlanan enoksasin çözeltilerinin λ_{maks} 268 ve λ_{maks} 338 nm'de doğrusal olduğu derişimler ve absorbans değeri sırasıyla Çizelge IV.1'de ve kalibrasyon doğruları Şekil IV.2 ve Şekil IV.3'de verilmiştir.

Çizelge IV.1. Enoksasin'in çeşitli derişimlerinde her iki dalga boyunda okunan absorbans değeri (n=10)

268 nm'de		338 nm'de	
Derişim (ppm)	Absorbans	Derişim (ppm)	Absorbans
0.20	0.026	0.28	0.014
0.28	0.035	0.40	0.020
0.40	0.045	1.20	0.058
1.60	0.177	1.60	0.079
2.00	0.223	2.40	0.116
2.40	0.267	2.80	0.139
2.80	0.306	8.00	0.387
3.60	0.393	10.00	0.480
4.00	0.442	12.00	0.579
8.00	0.861	14.00	0.670
12.00	1.290	16.00	0.774
14.00	1.506	18.00	0.867
16.00	1.716	20.00	0.964
18.00	1.932	22.00	1.059
20.00	2.143	26.00	1.240
		28.00	1.341
		32.00	1.542
		34.00	1.631
		40.00	1.918



Şekil IV.2. 0.5 N asetik asit içindeki enoksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 268 nm)



Şekil IV.3. 0.5 N asetik asit içindeki enoksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 338 nm)

Belirtilen derişim aralığında hazırlanan enoksasin çözeltilerinin her iki dalga boyunda doğrusallık aralığı , kalibrasyon denklemi, korrelasyon katsayısı ve alt teşhis sınırı Çizelge IV.2.'de verilmiştir.

Çizelge IV.2. Enoksasin'in her iki dalga boyunda alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı

Dalga Boyu (nm)	Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemi	Korrelasyon Katsayısı
268 nm	0.08	0.20-20	$y = 0.0072 + 0.1069x$	$r = 0.9999$
338 nm	0.10	0.28-40	$y = 0.0021 + 0.0479x$	$r = 0.9999$

IV.1.2. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

Enoksasin'in 0.5 N asetik asit çözeltisinde direkt miktar tayini yönteminde anlatıldığı gibi hazırlanan Enoksetin® tablete ait çözeltilerin 268 ve 338 nm'de absorpsiyonları ölçülmüş ve elde edilen değerler Çizelge IV.3. ve Çizelge IV.4.'de verilmiştir. Bu yöntemde; tablette bulunan yardımcı maddeler enoksasin'in UV spektrumunda herhangi bir girişime neden olmamıştır (400 mg/tablet).

Çizelge IV.3. λ_{maks} 268 nm'de Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm'lik çözelti ve n=7)

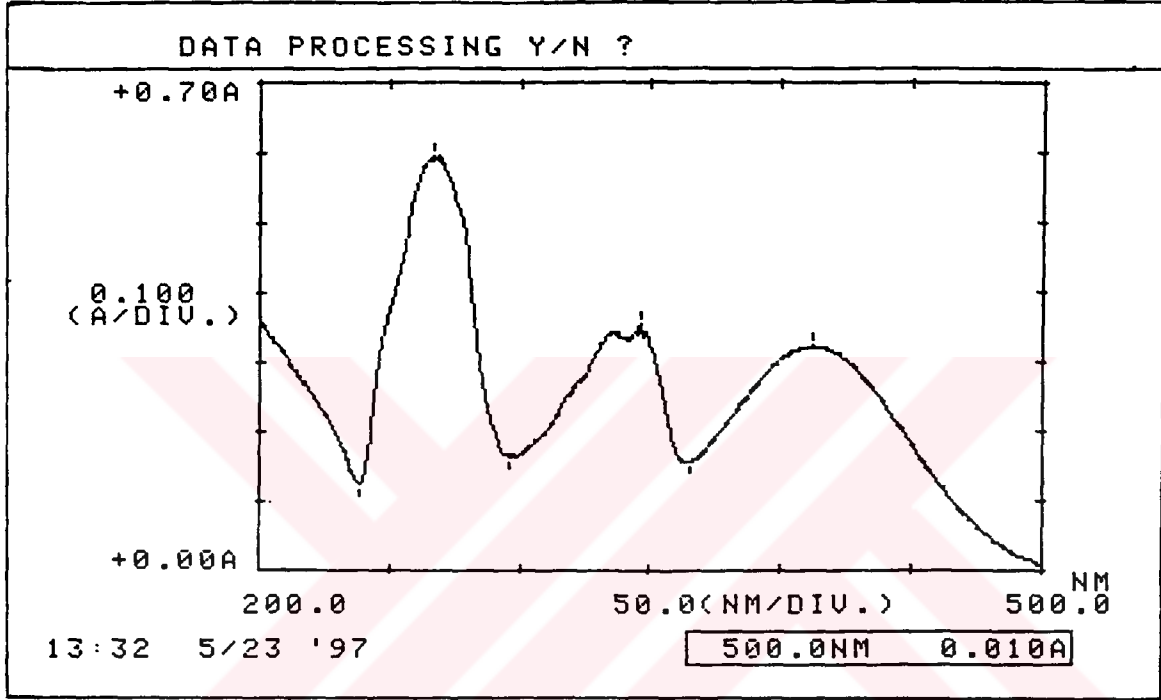
Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	1.258	401.40	100.35	$S=0.31$ $S_x=0.12$ $\bar{X}=100.25 \pm 0.12$
2	1.263	403.00	100.75	
3	1.255	400.44	100.11	
4	1.251	399.16	99.79	
5	1.254	400.12	100.03	
6	1.257	401.08	100.27	
7	1.259	401.72	100.43	

Çizelge IV.4. λ_{maks} 338 nm'de Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm'lik çözelti ve n=7)

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.559	398.84	99.71	S =0.50 S _x =0.19 $\bar{X}$ =99.48 ± 0.19
2	0.552	393.84	98.46	
3	0.557	397.44	99.36	
4	0.558	398.12	99.53	
5	0.558	398.12	99.53	
6	0.559	398.84	99.71	
7	0.561	400.28	100.07	

IV.2. Enoksasin-Bromfenol Mavisi İyon Çifti Kompleksi Oluşturulması Yöntemine Ait Bulgular

Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin UV spektrumu Şekil IV.4'de verilmiştir.



Şekil IV.4. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (8 ppm derişiminde)

Bu oluşan iyon çifti kompleksinin λ_{maks} 412 nm'de ϵ değeri 1.31×10^4 olup ϵ değeri altı tekrarın ortalamasıdır.

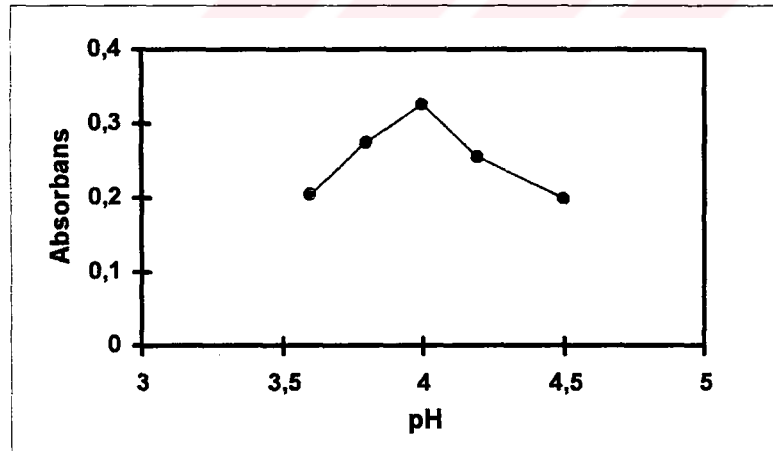
IV.2.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar

IV.2.1.1. Mc-ilvaine Sitrat Tamponunun pH'sı

Mc-ilvaine tamponları ile yapılan pH taramasında enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin oluşumu için en iyi pH değerinin 4 olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge IV.5 ve Şekil IV.5'de verilmiştir

Çizelge IV.5. Çeşitli pH değerlerindeki Mc-ilvaine sitrat tamponunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksine ait absorbens değerleri (8 ppm'lik çözelti ve n=3) .

Mc-ilvaine Sitrat Tamponunun pH'sı	Ortalama Absorbans Değerleri
3.6	0.206
3.8	0.275
4.0	0.327
4.2	0.256
4.5	0.201



Şekil IV.5. Mc-ilvaine sitrat tamponunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin pH- absorbens grafiği

IV.2.1.2. Karıştırma Süresi

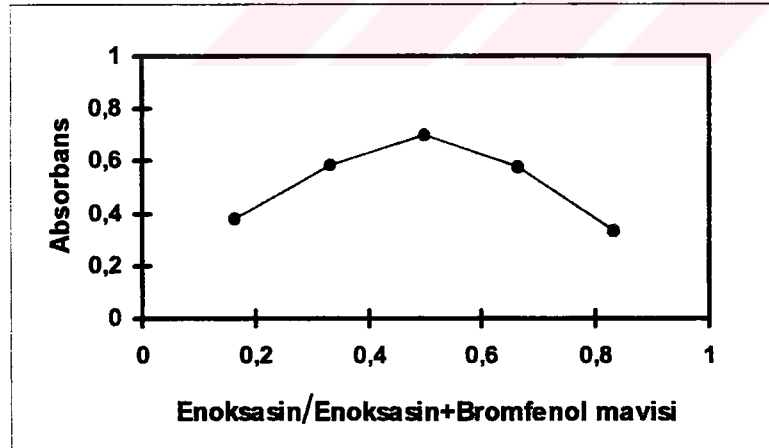
İyon çifti kompleksinin oluşumu için çözeltiler çeşitli karıştırma sürelerinde vortekslenmiş ve sonuçta en iyi karıştırma süresinin 1 dakika olduğu bulunmuştur.

IV.2.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı

‘Job =Devamlı Değişmeler Yöntemi’ kullanılarak oluşan iyon çifti kompleksinde enoksasin:bromfenol mavisi oranı spektrofotometrik olarak tayin edilmiş ve oranın 1:1 olduğu görülmüştür (Çizelge IV.6 ve Şekil IV.6).

Çizelge IV.6. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar

Mol Kesri	Absorbans
0.167	0.383
0.333	0.585
0.500	0.702
0.667	0.580
0.833	0.335



Şekil IV.6. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranı

IV.2.1.4. Kompleksin Stabilitesi

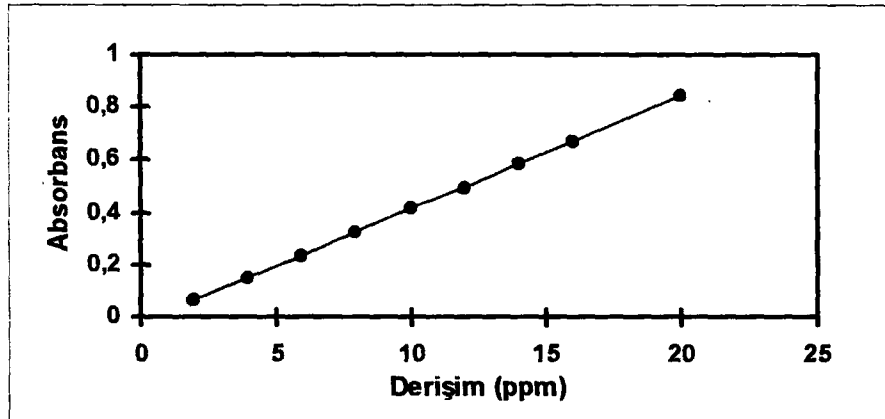
Belirli zaman aralıklarında yapılan absorbans ölçümleri sonucunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin 2 saat dayanıklı olduğu bulunmuştur.

IV.2.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları

λ_{maks} 412 nm'de yapılan kalibrasyon çalışmaları sonucunda enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin 2-20 ppm derişim aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Sonuçta elde edilen absorbans değerleri Çizelge IV.7'de ve kalibrasyon doğrusu ise Şekil IV.7'de verilmiştir.

Çizelge IV.7. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbans değerleri (λ_{maks} 412 nm, n=10)

Derişim (ppm)	Absorbans
2.00	0.066
4.00	0.154
6.00	0.240
8.00	0.329
10.00	0.419
12.00	0.498
14.00	0.587
16.00	0.668
20.00	0.844



Şekil IV.7. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 412 nm)

Belirtilen derişim aralığında hazırlanan çözeltiler için; alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemleri ve korrelasyon katsayısı Çizelge IV.8’de verilmiştir.

Çizelge IV.8. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemleri ve korrelasyon katsayısı

Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemleri	Korrelasyon Katsayısı
0.80	2-20	$y = 0.0431x - 0.0178$	$r = 0.9999$

IV.2.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

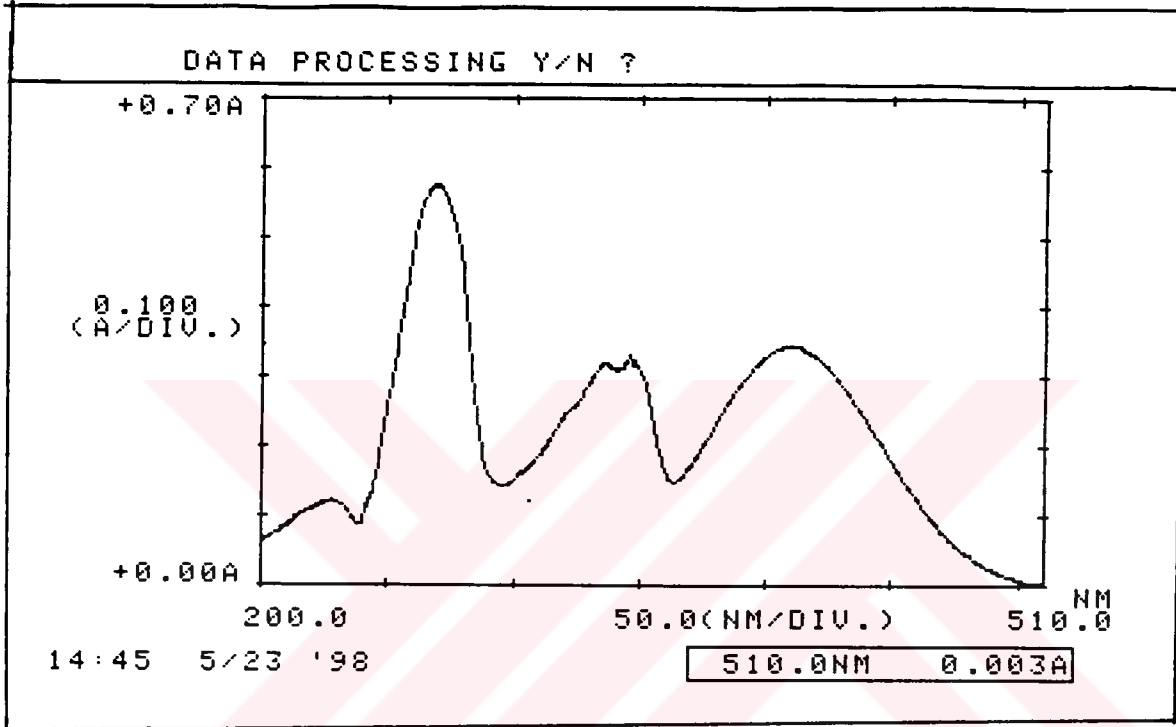
Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi oluşturmak için kullanılan yöntem, ENOKSETİN® FİLM TABLETE uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar ve istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge IV.9’da verilmiştir (400 mg/tablet).

Çizelge IV.9. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi yönteminde Enoksetin® tablete ait sonuçlar (11.66 ppm’lik çözelti ve n=6)

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.488	401.84	100.46	$S = 1.56$ $S_{\bar{x}} = 0.64$ $\bar{X} = 98.79 \pm 0.64$
2	0.477	393.84	98.46	
3	0.486	401.00	100.25	
4	0.466	385.08	96.27	
5	0.475	392.24	98.06	
6	0.481	397.00	99.25	

IV.3. Enoksasin-Bromkrezol Moru İyon Çifti Kompleksi Oluşturulması Yöntemine Ait Bulgular

Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin UV spektrumu Şekil IV.8'de verilmiştir.



Şekil IV.8. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (6.41ppm derişiminde)

Bu oluşan iyon çifti kompleksinin 410 nm'deki ϵ değeri 1.66×10^4 olup ϵ değeri altı tekrarın ortalamasıdır.

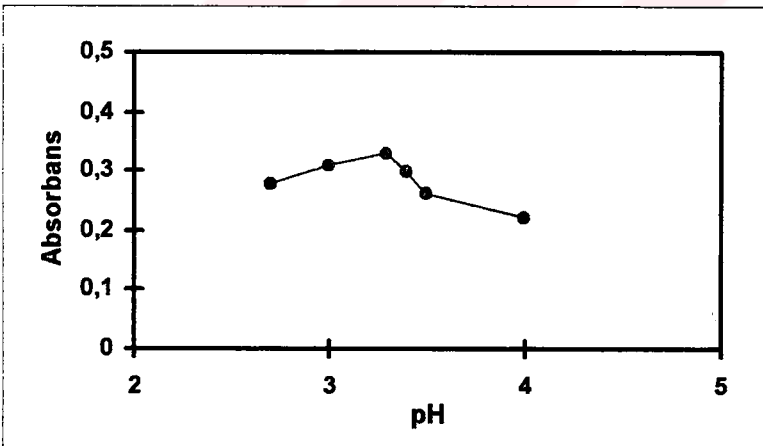
IV.3.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar

IV.3.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Potasyum hidrojen ftalat tamponu ile yapılan pH taramasında enoksin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin oluşumu için en iyi pH değerinin 3.3 olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge IV.10 ve Şekil IV.9'de verilmiştir

Çizelge IV.10. Çeşitli pH değerlerindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda enoksin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksine ait absorbans değerleri (6.41ppm'lik çözelti ve n=3)

Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	Ortalama Absorbans Değerleri
2.7	0.281
3.0	0.310
3.3	0.332
3.4	0.300
3.5	0.265
4.0	0.222



Şekil IV.9. Potasyum hidrojen ftalat tamponunda enoksin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiği

IV.3.1.2. Karıştırma Süresi

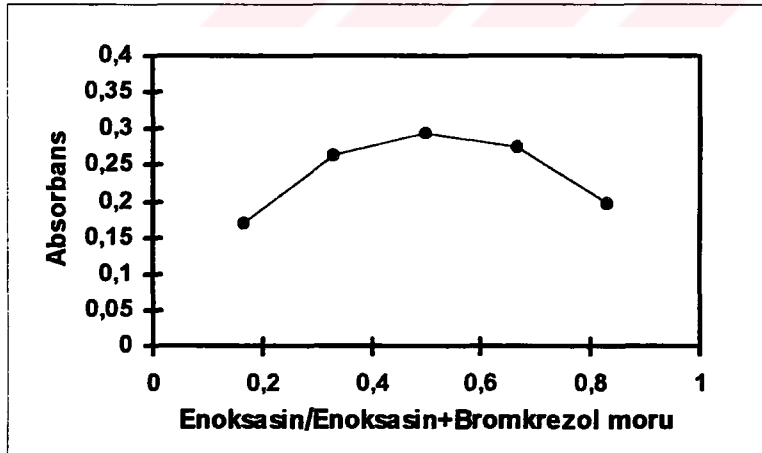
İyon çifti kompleksi oluşumu için çözeltiler çeşitli karıştırma sürelerinde vortekslenmiş ve sonuçta en iyi karıştırma süresinin 1 dakika olduğu bulunmuştur.

IV.3.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı

‘Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi’ kullanılarak oluşan kompleksde enoksasin:bromkrezol moru oranı spektrofotometrik olarak tayin edilmiş ve bu oranın 1:1 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge IV.11 ve Şekil IV.10).

Çizelge IV.11. Enoksasin-bromkrezol moru kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar

Mol Kesri	Absorbans
0.167	0.170
0.333	0.264
0.500	0.295
0.667	0.275
0.833	0.200



Şekil IV.10. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranı

IV.3.1.4. Kompleksin Stabilitesi

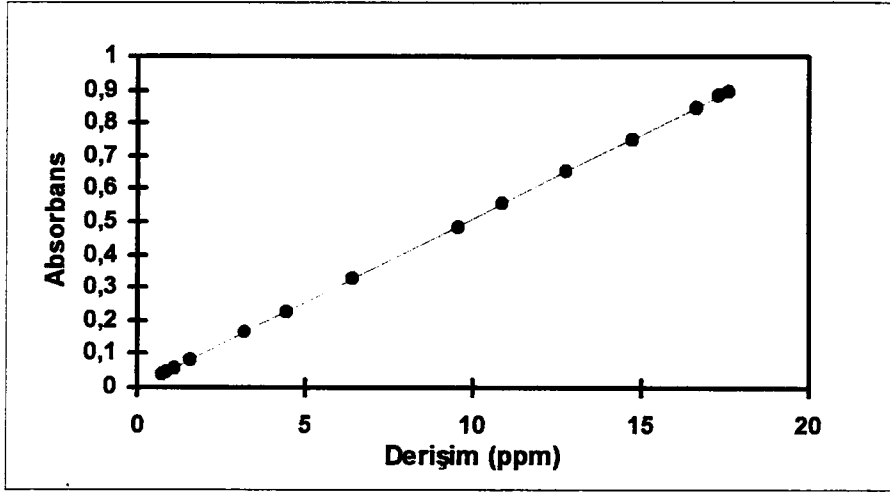
Belirli zaman aralıklarında yapılan absorbans ölçümleri sonucunda enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin 8 gün dayanıklı olduğu bulunmuştur.

IV.3.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları

λ_{maks} 410 nm’de yapılan kalibrasyon çalışmaları sonucunda enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin 0.77-17.62 ppm aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Sonuçta elde edilen absorbans değerleri Çizelge IV.12’de ve kalibrasyon doğrusu ise Şekil IV.11’de verilmiştir.

Çizelge IV.12. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbans değerleri (λ_{maks} 410 nm, n=6)

Derişim (ppm)	Absorbans
0.77	0.042
0.90	0.048
1.15	0.060
1.60	0.086
3.20	0.166
4.48	0.231
6.41	0.329
9.61	0.490
10.89	0.559
12.81	0.658
14.73	0.753
16.66	0.851
17.30	0.886
17.62	0.899



Şekil IV.11. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 410 nm)

Belirtilen derişim aralığında hazırlanan bu çözeltiler için; alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı Çizelge IV.13’de gösterilmiştir.

Çizelge IV.13. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı

Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemi	Korrelasyon Katsayısı
0.51	0.77-17.62	$y = 0.0026 + 0.0510x$	0.9999

IV.3.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi oluşturmak için kullanılan yöntem, ENOKSETİN® FİLM TABLETE uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar ve istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge IV.14’de verilmiştir (400 mg/tablet).

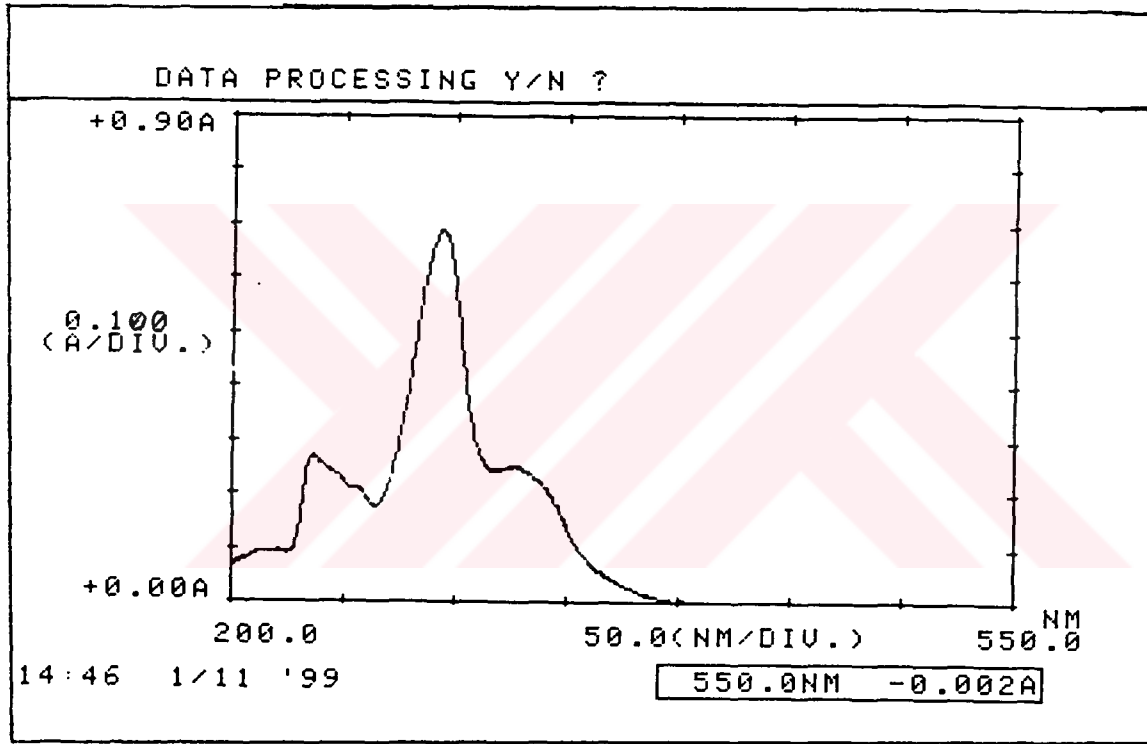
Çizelge IV.14. Enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi yönteminde Enoksetin® tablete ait sonuçlar (7.35 ppm’lik çözelti ve n=5)

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.379	401.64	100.41	S = 1.85 $S_{\bar{x}} = 0.83$ $\bar{X} = 100.68 \pm 0.83$
2	0.389	412.52	103.13	
3	0.381	403.80	100.95	
4	0.370	391.84	97.96	
5	0.381	403.80	100.95	

IV.4. Ofloksasin'in 0.5 N Asetik Asit Çözeltisinde Direkt Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular

IV.4.1. Miktar Tayini Yapılacak Dalga Boyunun Seçimi ve Kalibrasyon Çalışmaları

Ofloksasin'in 0.5 N asetik asit içinde alınan UV spektrumunda λ_{maks} 293 nm (ϵ 3.12×10^4) olmak üzere tek band görülmektedir (Şekil IV.12). ϵ değeri altı tekrarın ortalamasıdır.

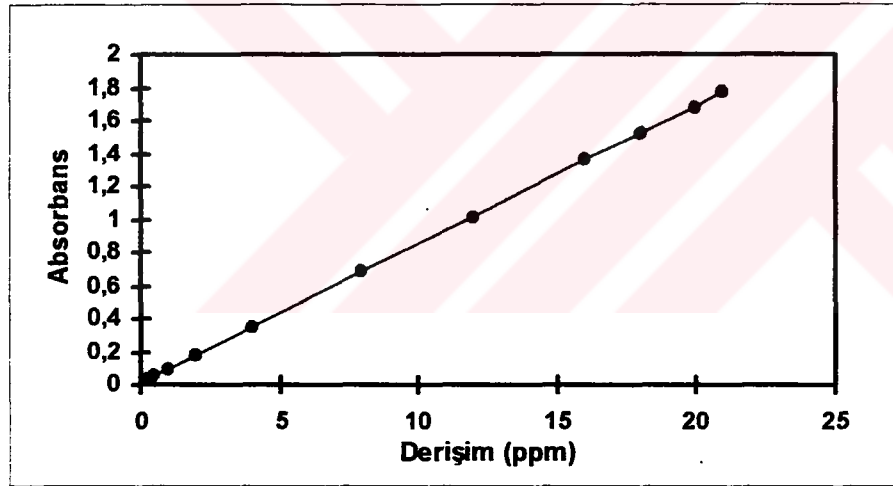


Şekil IV.12. Ofloksasin'in 0.5 N asetik asit içindeki UV spektrumu (8 ppm derişiminde)

Çeşitli derişimlerde (0.05-40 ppm) hazırlanan ofloksasin çözeltilerinin λ_{maks} 293 nm'de doğrusal olduğu derişimler ve absorbens değerleri Çizelge IV.15'de ve kalibrasyon doğrusu Şekil IV.13'de verilmiştir.

Çizelge IV.15. Ofloksasin'in çeşitli derişimlerinde okunan absorbens değeri (λ_{maks} 293 nm, n=6)

Derişim (ppm)	Absorbans
0.30	0.037
0.40	0.048
0.50	0.056
1.00	0.096
2.00	0.183
4.00	0.348
8.00	0.688
12.00	1.020
16.00	1.364
18.00	1.522
20.00	1.689
21.00	1.780



Şekil IV.13. 0.5 N asetik asit içindeki ofloksasin'in kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 293 nm)

Belirtilen derişim aralığında hazırlanan ofloksasin çözeltilerinin λ_{maks} 293 nm'de alt teşhis sınırı, doğrusal olduğu derişim aralığı, kalibrasyon denklemi, korrelasyon katsayısı Çizelge IV.16'da verilmiştir.

Çizelge IV.16. Ofloksasin'in λ_{maks} 293 nm'de alt teşhis sınırı, doğrusal olduğu derişim aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı

Dalga Boyu (nm)	Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemi	Korrelasyon Katsayısı
293	0.20	0.30-21	$y = 0.0135 + 0.0840x$	$r = 0.9999$

IV.4.2. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

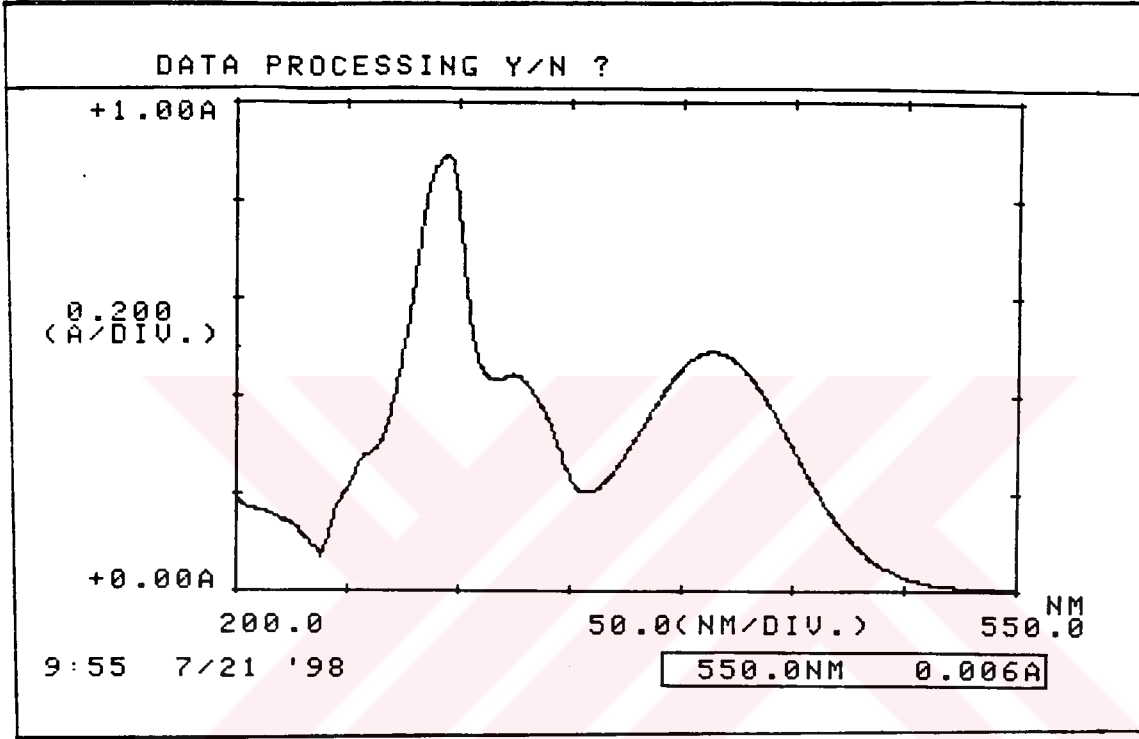
Ofloksasin'in 0.5 N asetik asit çözeltisinde direkt miktar tayini yönteminde anlatıldığı gibi hazırlanan ofloksasin tablete ait çözeltilerin λ_{maks} 293 nm'de absorpsiyonları ölçülmüş ve elde edilen değerler Çizelge IV. 17'de verilmiştir. Bu yöntemde; tablette bulunan yardımcı maddeler ofloksasin'in UV spektrumunda herhangi bir girişime neden olmamıştır (400 mg/tablet).

Çizelge IV.17. λ_{maks} 293 nm'de Tarivid® tablete ait sonuçlar (4 ppm'lik çözelti ve n=6)

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.350	400.60	100.15	$S = 0.61$ $S_{\bar{x}} = 0.25$ $\bar{X} = 99.90 \pm 0.25$
2	0.346	395.80	98.95	
3	0.348	398.20	99.55	
4	0.352	403.00	100.75	
5	0.349	399.40	99.85	
6	0.350	400.60	100.15	

IV.5. Ofloksasin-Bromfenol Mavisi İyon Çifti Kompleksi Oluşturulmasına Yöntemine Ait Bulgular

Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin UV spektrumu Şekil IV.14'de verilmiştir.



Şekil IV.14. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (10.84 ppm derişiminde)

Bu oluşan iyon çifti kompleksinin λ_{maks} 414 nm'de ϵ değeri 1.98×10^4 olup ϵ değeri 6 tekrarın ortalamasıdır.

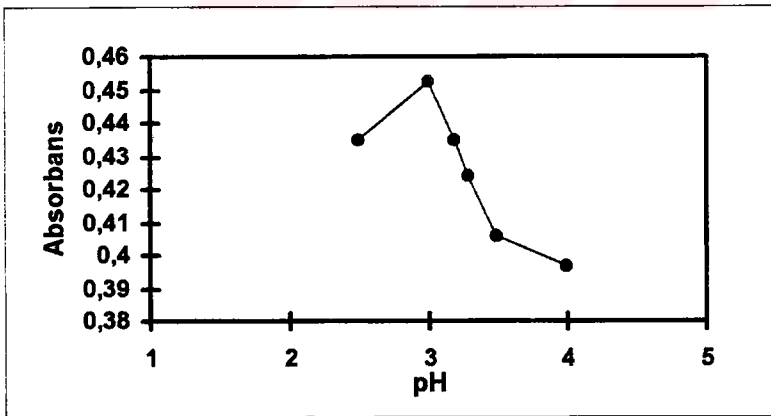
IV.5.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar

IV.5.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Potasyum hidrojen ftalat tamponu ile yapılan pH taramasında ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin oluşumu için en iyi pH değerinin 3 olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge IV.18 ve Şekil IV.15'de verilmiştir

Çizelge IV.18. Çeşitli pH değerlerindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin absorbens değerleri (8.23 ppm'lik çözelti ve n=3)

Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	Ortalama Absorbans Değerleri
2.5	0.435
3.0	0.453
3.2	0.435
3.3	0.424
3.5	0.406
4.0	0.397



Şekil IV.15. Potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiği

IV.5.1.2. Karıştırma Süresi

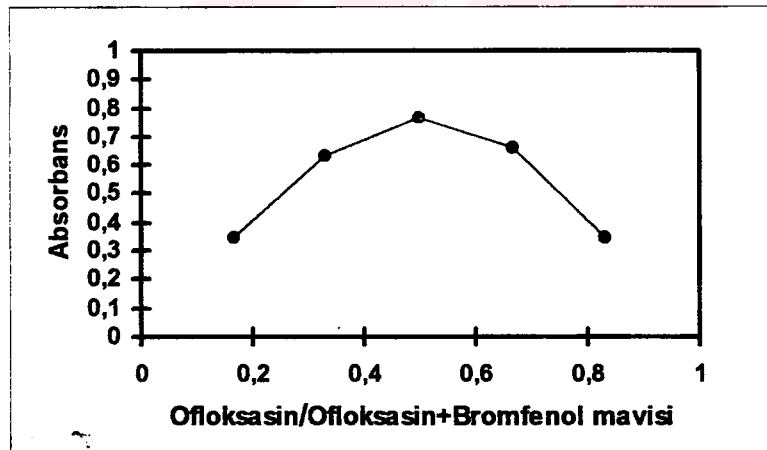
İyon çifti kompleksi oluşumu için çözeltiler çeşitli karıştırma sürelerinde vortekslenmiş ve sonuçta en iyi karıştırma süresinin 1 dakika olduğu bulunmuştur.

IV.5.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı

‘Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi’ kullanılarak oluşan kompleksde ofloksasin:bromkrezol moru oranı spektrofotometrik olarak tayin edilmiş ve oranın 1:1 olduğu bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge IV.19 ve Şekil IV.16’da gösterilmiştir.

Çizelge IV.19. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar

Mol Kesri	Absorbans
0.167	0.352
0.333	0.634
0.500	0.767
0.667	0.666
0.833	0.351



Şekil IV.16. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin birleşim oranı

IV.5.1.4. Kompleksin Stabilitesi

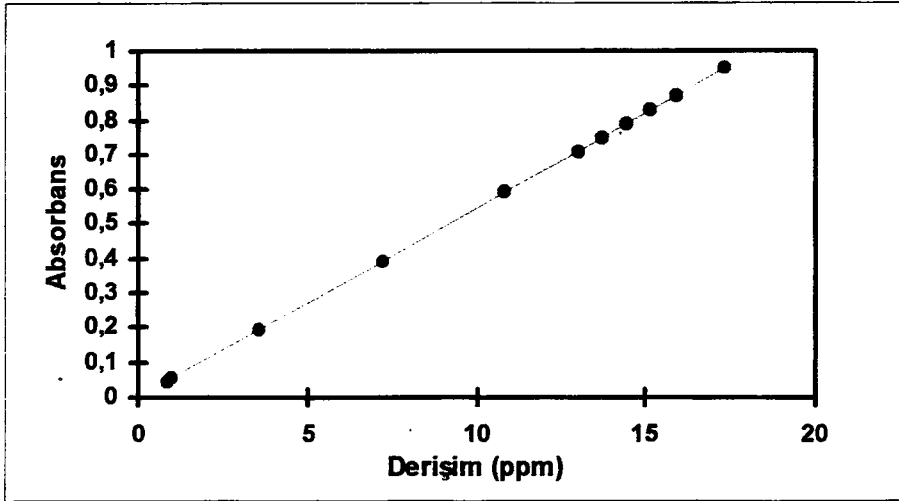
Belirli zaman aralıklarında yapılan absorbans ölçümleri sonucunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin 48 saat dayanıklı olduğu bulunmuştur.

IV.5.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları

λ_{maks} 414 nm’de yapılan kalibrasyon çalışmaları sonucunda ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin 0.87-17.35 ppm aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Sonuçta elde edilen absorbans değerleri Çizelge IV.20’de ve kalibrasyon doğrusu ise Şekil IV.17’de verilmiştir.

Çizelge IV.20. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbans değerleri (λ_{maks} 414 nm, n=6)

Derişim (ppm)	Absorbans
0.87	0.048
1.01	0.055
3.61	0.199
7.23	0.395
10.84	0.595
13.01	0.711
13.73	0.754
14.46	0.794
15.18	0.833
15.90	0.874
17.35	0.952



Şekil IV.17. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 414 nm)

Belirtilen derişim aralığında hazırlanan bu çözeltiler için; alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı Çizelge IV.21’de verilmiştir.

Çizelge IV.21. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı

Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemi	Korrelasyon Katsayısı
0.58	0.87-17.35	$y = 0.0549x - 0.0003$	0.9999

IV.5.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

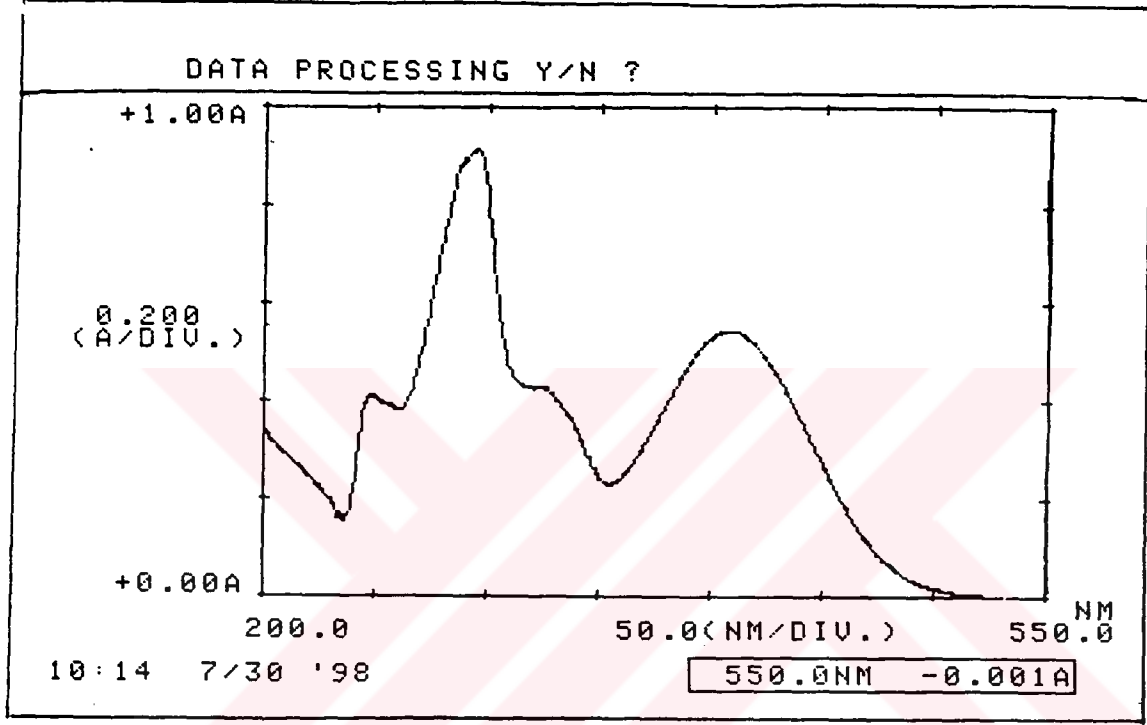
Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi oluşturmak için kullanılan yöntem, TARİVİD® FİLM TABLETE uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar ve istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge IV.22’de verilmiştir (400 mg/tablet).

Çizelge IV.22. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çifti kompleksi yönteminde Tarivid® tablete ait sonuçlar (12.30 ppm’lik çözelti ve n=6).

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Tabletten % Geri Kazanım	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.678	401.96	100.49	S = 0.53 S $\bar{x}$ = 0.22 $\bar{X}$ = 99.84 $\pm$ 0.22
2	0.672	398.36	99.59	
3	0.675	400.00	100.00	
4	0.676	400.64	100.16	
5	0.668	395.76	98.94	
6	0.674	399.36	99.84	

IV.6. Ofloksasin-Bromkrezol Moru İyon Çifti Kompleksi Oluşturulması Yöntemine Ait Bulgular

Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin UV spektrumu Şekil IV.18'de verilmiştir.



Şekil IV.18. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kloroform içinde UV spektrumu (14.46 ppm derişiminde)

Oluşan iyon çifti kompleksinin λ_{maks} 408 nm'de ϵ değeri 2.33×10^4 olup ϵ değeri 6 tekrarın ortalamasıdır.

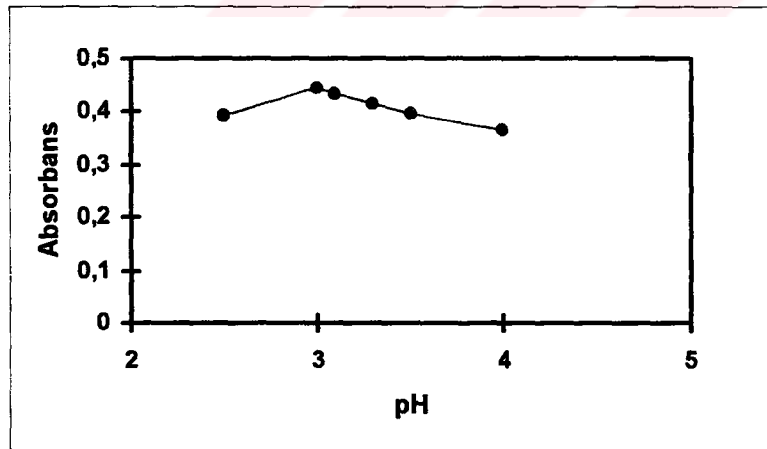
IV.6.1. Yöntem Optimizasyonuna Ait Sonuçlar

IV.6.1.1. Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı

Potasyum hidrojen ftalat tamponu ile yapılan pH taramasında ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin oluşumu için en iyi pH değerinin 3.1 olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge IV.23 ve Şekil IV.19'da verilmiştir

Çizelge IV.23. Çeşitli pH değerlerindeki potasyum hidrojen ftalat tamponunda ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksine ait absorbens değerleri (7.23 ppm'lik çözelti ve n=3).

Potasyum Hidrojen Ftalat Tamponunun pH'sı	Ortalama Absorbans Değerleri
2.5	0.393
3.0	0.448
3.1	0.465
3.3	0.417
3.5	0.397
4.0	0.367



Şekil IV.19. Potasyum hidrojen ftalat tamponundaki ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin pH-absorbans grafiği

IV.6.1.2. Karıştırma Süresi

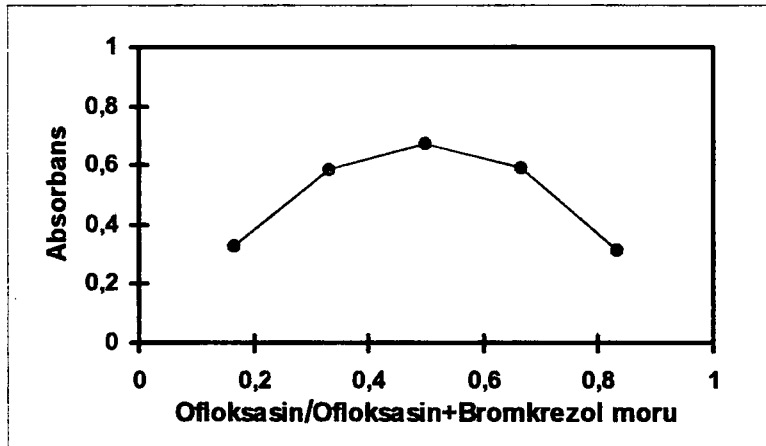
İyon çifti kompleksi oluşumu için çözeltiler çeşitli karıştırma sürelerinde vortekslenmiş ve sonuçta en iyi karıştırma süresinin 1 dakika olduğu bulunmuştur.

IV.6.1.3. Kompleksin Birleşim Oranı

‘Job=Devamlı Değişmeler Yöntemi’ kullanılarak oluşan kompleksde ofloksasin:bromkrezol moru oranı spektrofotometrik olarak tayin edilmiş ve oranın 1:1 olduğu bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge IV.24 ve Şekil IV.20’de verilmiştir.

Çizelge IV.24. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranına ait sonuçlar

Mol Kesri	Absorbans
0.167	0.332
0.333	0.588
0.500	0.678
0.667	0.594
0.833	0.319



Şekil IV.20. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin birleşim oranı

IV.6.1.4. Kompleksin Stabilitesi

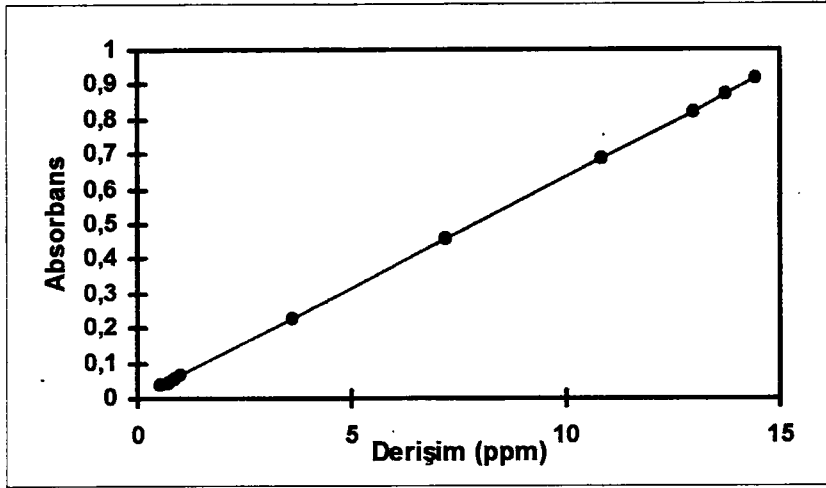
Belirli zaman aralıklarında yapılan absorbans ölçümleri sonucunda ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin 3 gün dayanıklı olduğu bulunmuştur.

IV.6.1.5. Kalibrasyon Çalışmaları

λ_{maks} 408 nm'de yapılan kalibrasyon çalışmaları sonucunda ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin 0.58-14.46 ppm aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Sonuçta elde edilen absorbans değerleri Çizelge IV.25'de ve kalibrasyon doğrusu ise Şekil IV.21'de verilmiştir.

Çizelge IV.25. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin çeşitli derişimlere karşı okunan absorbans değerleri (λ_{maks} 408 nm, n=6)

Derişim(ppm)	Absorbans
0.58	0.039
0.72	0.047
0.87	0.058
1.01	0.068
3.61	0.232
7.23	0.462
10.84	0.688
13.01	0.824
13.73	0.871
14.46	0.917



Şekil IV.21. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin kalibrasyon doğrusu (λ_{maks} 408 nm)

Belirtilen derişimlerde hazırlanan bu çözeltiler için; alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı Çizelge IV.26'da gösterildiği gibi bulunmuştur.

Çizelge IV.26. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin alt teşhis sınırı, doğrusallık aralığı, kalibrasyon denklemi ve korrelasyon katsayısı

Alt Teşhis Sınırı (ppm)	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Kalibrasyon Denklemi	Korrelasyon Katsayısı
0.51	0.58-14.46	$y = 0.0031 + 0.0632x$	0.9999

IV.6.1.6. Yöntemin Tablete Uygulanmasına Ait Sonuçlar

Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi oluşturmak için kullanılan yöntem, TARİVİD® FİLM TABLETE'de uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar ve istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge IV.27'de verilmiştir (400 mg/tablet)

Çizelge IV.27. Ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksi yönteminde Tarivid® tablete ait sonuçlar (8.61 ppm'lik çözelti ve n=7)

Numune No	Absorbans	Bulunan mg/Tablet	Bulunan % Miktar	İstatistiksel Sonuçlar
1	0.549	401.40	100.35	S = 0.35 $S_{\bar{x}} = 0.13$ $\bar{X} = 100.03 \pm 0.13$
2	0.546	399.08	99.77	
3	0.544	397.68	99.42	
4	0.548	400.48	100.12	
5	0.550	401.84	100.46	
6	0.547	400.00	100.00	
7	0.548	400.48	100.12	

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Kinolon grubundan en aktif bileşikler olan florokinolonlar içinde yer alan ve yeni bir antibakteriyel ilaç olarak Türkiye’de de özellikle idrar yolları, gastro-intestinal kanal ve solunum yolları enfeksiyonlarında kullanımı son yıllarda artan enoksasin, çalışma maddesi olarak seçilmiş ve bu grubun prototipi olan ofloksasin de çalışmamıza eklenmiştir. Enoksasin ve ofloksasin’in literatür taramasında analiz çalışmalarının az sayıda olduğu saptanmıştır.

Spektrofotometrik teknik kullanılarak basit ve hassas bir yöntemin geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda, uzun yıllardan beri proton alabilen veya proton verebilen birçok maddenin iyon çifti oluşumuna dayanan analizlerinin yapıldığı görülmüştür. Bu yöntem bazı farmakopelerde de yer almaktadır (155). Son senelerde bu grup maddelerin preparatlardan analizlerinde iyon çifti ekstraksiyonu yönteminin daha fazla kullanıldığı görülmüştür (156-160).

Maddelerimizde amin grubu taşımalarından dolayı sülfonftalein grubu boyar maddelerde bulunan sülfonik asit grubu ile iyon çifti oluşturulması ve oluşan iyon çifti kompleksinin organik faza alınarak spektrofotometrik analizi mümkündür. Yapılarında azot grubu taşıyan ilaçların zayıf asidik ortamda pozitif yüklü protonlanmış şekilde bulunduğu bilinmektedir. Aminlerin boyar maddelerle iyon çifti ekstraksiyonuna dayanan çalışmalar literatürde yer almaktadır (161, 162). Çalışmamızda iyon çifti oluşumu için counter (karşıt) iyon olarak enoksasin ve ofloksasin, sülfonftalein grubu anyonik boyalardan $\text{pH} \geq 3$ de anyon şeklinde bulunan bromfenol mavisi ve bromkrezol moru kullanılmıştır. Enoksasin’in bu boya maddeleri ile analizi literatürde bulunmamaktadır. Ofloksasin için iyon çifti oluşumuna dayanan 3 adet literatür vardır (118-120).

Maddelerimiz ve sülfonftalein boyar maddeler ile oluşan iyon çifti komplekslerinin absorpsiyon spektrumları 200-550 nm arasında hazırlanan kör çözeltilerine karşı çekilmiştir. Enoksasin’in bromfenol mavisi ve bromkrezol moru yöntemlerinde kloroform çözeltileri 412 nm ve 410 nm’de, ofloksasin’in bromfenol mavisi ve bromkrezol moru yöntemlerinde kloroform ekstraktları ise 414 nm ve 408 nm’de maksimum absorpsiyon göstermiştir. Analiz çalışmaları bu dalga boyunda yapılmıştır.

İyon çifti oluşumunda pH etkisi, sitrat tamponunda ilaç-boya iyon çiftinin absorbans değerleri okunarak araştırılmıştır. Enoksasin-bromfenol mavisi iyon

çifti kompleksinin kloroformla ekstraksiyonunda maksimum absorbansın (λ_{maks} 412 nm'de) pH 4'te olduğu saptanmıştır. Ancak yapılan stabilite çalışmalarında bu kompleksin iki saat dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Enoksasin-bromkrezol moru yönteminde ise ftalat tamponu ve bromkrezol moru çözeltisi (b) kullanılıp pH 3.3'de (λ_{maks} 410 nm'de) maksimum absorbans okunarak yapılan stabilite çalışmasında kompleksin 8 gün dayanıklı olduğu görülmüştür. Bu nedenle ofloksasin-boya maddeleriyle yapılan çalışmalarda ftalat tamponu kullanılmıştır. Ofloksasin-bromfenol mavisi iyon çiftinde ftalat tamponunda en uygun pH 3.0 (λ_{maks} 414 nm'de) olup iyon çifti kompleksi 48 saat dayanıklıdır ve 2. gün okunan absorbans değerleri daha yüksek olduğundan ölçümler 2. gün yapılmıştır. Ofloksasin-bromkrezol yönteminde ise ftalat tamponunda pH 3.1'de (λ_{maks} 408 nm'de) iyon çifti kompleksi 3 gün dayanıklı bulunmuştur. Tez yazım aşamasında yayınlanan Issa ve arkadaşlarının ofloksasin-bromfenol mavisi ve bromkrezol moru iyon çifti oluşumu için asetat tamponunda pH 4'de (λ_{maks} 410 nm'de) (daha zayıf pH değerlerinde) yaptıkları araştırma çalışmamızı desteklemektedir. Ancak bu çalışmada iyon çifti komplekslerinin dayanıklılığının daha az olduğu (hazırlandıktan 10 dakika ile en az 24 saat dayanıklı) anlaşılmaktadır (120). İyon çifti komplekslerinin çabuk oluştuğu ve çalıştığımız ortamlarda dayanıklılığının diğer çalışmalardan çok daha fazla olduğu görülmektedir (119, 120).

En uygun tampon ve boyar madde miktarı araştırılmasında enoksasin-bromfenol mavisi yöntemi hariç diğer tüm yöntemlerde tampon çözeltisi 1 ml; en uygun boyar madde miktarı ise enoksasin-bromfenol mavisi yönteminde Mc-Ilvaine sitrat tamponunda çözülen boyar madde miktarı 1 ml, diğer yöntemlerde 5 ml olarak saptanmıştır.

Ekstraksiyon çözücüsünün saptanmasında en iyi çözücünün kloroform olduğu bulunmuştur (Issa ve arkadaşları tarafından da aynı çözücü kullanılmıştır).

İyon çifti oluşumu için çalkalama işlemi vorteks, magnetik karıştırıcı ve ayırma hunisi kullanılarak çeşitli sürelerde yapılmış ve 1 dakika vorteks işleminin en uygun olduğu bulunmuştur.

Optimum şartlarda yapılan ekstraksiyon için, bir defada 5 ml kloroform kullanılması yeterli bulunmuştur ve iyon çifti kompleksinin pratik olarak %100'ünün kloroform fazına çekildiği tespit edilmiştir.

İyon çifti komplekslerinin bileşimi 'Job Yöntemi' uygulanması ile 1:1 olduğu bulunmuştur.

Hesaplanan ϵ değerlerine göre; enoksasin'in λ_{maks} 268 nm'deki ϵ değeri ofloksasin'in λ_{maks} 293 nm'deki ϵ değerinden büyüktür. Bromkrezol morunun pK değeri (6.3) bromfenol mavisinin pK değeri (4.0)'inden daha büyük olduğundan (87) oluşturulan iyon çifti komplekslerinde; enoksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin ϵ değeri, enoksasin-bromfenol mavisini iyon çifti kompleksinin ϵ değerinden büyüktür. Aynı şekilde ofloksasin-bromkrezol moru iyon çifti kompleksinin ϵ değerinin ofloksasin-bromfenol mavisini iyon çifti kompleksinin ϵ değerinden daha büyük olduğu görülmüştür. Buna göre boya maddelerinin pKa değeri arttıkça ϵ değerinin arttığı sonucuna varılmıştır.

Enoksasin ve ofloksasin iyon çifti kompleksleri ile ilgili analitik veriler ve istatistiksel sonuçlar Çizelge V.1'de açıkça görülmektedir. Buna göre konsantrasyon ile absorbans arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu ($F_H > F_t$) ve korrelasyon katsayısının önemli bir değer olduğu ($t_H > t_t$) bulunmuştur (164).

Enoksasin'in λ_{maks} 268 nm ve λ_{maks} 338 nm'de ve ofloksasin'in λ_{maks} 293 nm'de nicel analiz çalışmaları pipemidik asit için çalışılan yöntemde olduğu gibi 0.5 N asetik asit çözeltisi içinde yapılmıştır (165). Saf maddelerle yapılan kalibrasyon çalışmaları ve ilgili istatistiksel sonuçlar Çizelge V.1'de, tabletlere uygulanışı da Çizelge V. 2'de belirtilmiştir.

Geliştirilen yöntemlerin kesinliklerinin araştırılması için yapılan istatistiksel analizler sonucunda bulunan % RSD değerlerinin küçük olduğu Çizelge V.1'de görülmektedir.

İyon çifti kompleks oluşumuna dayanan yöntemlerin tabletlere uygulanması sonucunda elde edilen veriler ve istatistiksel olarak direkt spektrofotometrik verilerle karşılaştırılması ve gruplar arası önem kontrolü çalışmaları Çizelge V.2'de görülmektedir. Çizelge V.2'de görüldüğü gibi yöntemler arası farkın önemsiz olduğu ($F_H < F_t$) sonucuna varılmıştır (165).

Sonuç olarak bu yöntemler istatistiksel olarak doğru, hassas, kesin ve tekrarlanabilir yöntemler olup söz konusu maddelerin gerek saf gerek preparatlarındaki analizleri için önerilmektedir.

Çizelge V.1. Geliştirilen tüm yöntemler için analitik veriler ve istatistiksel sonuçlar

Yöntem	λ_{maks}	Molar Absorptivite $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	Doğrusallık Aralığı (ppm)	Tayin Edilebilen En Küçük Derişim (ppm)	y denklemi	Korelasyon Katsayısı	RSD %	F Değeri ($p < 0.05$)	t Değeri ($p < 0.05$)
Enoksasin- 0.5 N Asetik Asitte	268	$3.53 \cdot 10^4$	0.20-20.00	0.08	$y=0.0072 + 0.1069x$	0.9999	0.32	$F_H=8.64 \cdot 10^5$ $F_t=4.67$	$t_H=254.946$ $t_t=2.16$
Enoksasin- 0.5 N Asetik Asitte	338	$1.53 \cdot 10^4$	0.28-40.00	0.10	$y=0.0021 + 0.0479x$	0.9999	0.46	$F_H=5.63 \cdot 10^5$ $F_t=4.45$	$t_H=291.516$ $t_t=2.11$
Enoksasin- Bromfenol Mavisi	412	$1.31 \cdot 10^4$	2.00-20.00	0.80	$y=0.0431x-0.0178$	0.9999	1.09	$F_H=5.71 \cdot 10^5$ $F_t=5.59$	$t_H=187.072$ $t_t=2.36$
Enoksasin- Bromkrezol Moru	410	$1.66 \cdot 10^4$	0.77-17.62	0.51	$y=0.0026 + 0.0510x$	0.9999	0.48	$F_H=7.13 \cdot 10^5$ $F_t=4.75$	$t_H=244.953$ $t_t=2.18$
Ofloksasin- 0.5 N Asetik Asitte	293	$3.12 \cdot 10^4$	0.30-21.00	0.20	$y=0.0135 + 0.0840x$	0.9999	0.22	$F_H=6.93 \cdot 10^5$ $F_t=5.12$	$t_H=212.113$ $t_t=2.26$
Ofloksasin- Bromfenol Mavisi	414	$1.98 \cdot 10^4$	0.87-17.34	0.58	$y=0.0549x - 0.0003$	0.9999	0.24	$F_H=9.11 \cdot 10^5$ $F_t=5.32$	$t_H=199.98$ $t_t=2.31$
Ofloksasin- Bromkrezol Moru	408	$2.33 \cdot 10^4$	0.58-14.46	0.51	$y=0.0031 + 0.0632x$	0.9999	0.34	$F_H=5.37 \cdot 10^5$ $F_t=4.96$	$t_H=223.586$ $t_t=2.23$

RSD değerleri 3 farklı konsantrasyonda yapılan 6 deneyin tekrarının ortalamasıdır.

Çizelge V.2. Yöntemlerin tabletlere uygulanmasıyla elde edilen veriler ve istatistiksel sonuçlar

Yöntem	Tablette Bulunan % Miktar	F Değerleri ($\alpha=0.05$)
Enoksasin-0.5 N Asetik Asitte (268 nm)	$\bar{X} = 100.25$	$F_H = 3.22$ $F_T = 3.68$
Enoksasin-Bromfenol Mavisi	$\bar{X} = 98.79$	
Enoksasin-Bromkrezol Moru	$\bar{X} = 100.68$	
Enoksasin-0.5 N Asetik Asitte (338 nm)	$\bar{X} = 99.48$	$F_H = 2.70$ $F_T = 3.68$
Enoksasin-Bromfenol Mavisi	$\bar{X} = 98.79$	
Enoksasin-Bromkrezol Moru	$\bar{X} = 100.68$	
Ofloksasin-0.5 N Asetik Asitte (293 nm)	$\bar{X} = 99.90$	$F_H = 0.28$ $F_T = 3.63$
Ofloksasin-Bromfenol Mavisi	$\bar{X} = 99.84$	
Ofloksasin-Bromkrezol Moru	$\bar{X} = 100.03$	

KAYNAKLAR

1. Neu, H. C., F.A.C.P. M. D., Quinolone Antimicrobial Agents, *Annu. Rev. Med.*, 43, 465-86, 1992.
2. Bryskier, A., Chantot, J-F., Classification and Structure-Activity Relationships of Fluoroquinolones, *Drugs*, 49(2), 16-28, 1995.
3. Andriole, V. T., The Future of the Quinolones, *ibid.*, 45(3), 1-7, 1993.
4. Hooper, D. C., Wolfson, J. S., Fluoroquinolone Antimicrobial Agents, *New England J. Med.*, 324(6), 384-394, 1991.
5. Kayaalp, O., *Tıbbi Farmakoloji*, Cilt 1, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, 1991.
6. Hooper, D. C., Wolfson, J. S., Mode of Action of the Quinolone Antimicrobial Agents, *Rev. Infec. Dis.*, 10(1), 14-21, 1988.
7. Rao, G. R., Avadhanulu, A. B., Vatsa, D. K., Spectrophotometric Determination of Ciprofloxacin (CPF) in its Dosage forms, *ibid.*, 27(10), 532-535, 1990.
8. Chowdary, K. P. R., Annapurna, A., A New Spectrophotometric Method for the Estimation of Norfloxacin in Dosage Forms and in Dissolution Rate Studies, *Indian Drugs*, 29(13), 612-615, 1992.
9. Fratini, L., Schapoval, E. S., Ciprofloxacin Determination by Visible Light Spectrophotometry Using Iron(III)nitrate, *Int. J. Pharmaceutics*, 127, 279-282, 1996.
10. Thomas, K.M., Dabholkar, D.A., Jain, C.L., Fluorescence Spectrophotometric Determination of Enoxacin in Dosage Form, *Indian J. Pharm. Sci.*, 55(2), 67-68, 1993.
11. Tamer, A., Onur, E., Spectrofluorometric Determination of Ofloxacin in Tablets, *Hacettepe Üniv. Eczacılık Fak. Derg.*, 10(1), 17-21, 1990.
12. Forchetti, C., Domenica, F., Carlucci, G., Cavicchio, Vaggi, L., Bologna, M., High-Performance Liquid Chromatographic Procedure for the Quantitation of Norfloxacin in Urine, Serum and Tissues, *J. Chromatogr.*, 309, 177-182, 1984.

13. Nix, D. E., Vito, J. M., Schentag, J., Liquid Chromatographic Determination of Ciprofloxacin in Serum and Urine, *Clin. Chem.*, 31(5), 684-686, 1985.
14. Parasrampur J., Gupta, V., Quantitation of Ciprofloxacin Hydrochloride and Norfloxacin in Tablets Using High-Performance Liquid Chromatography, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 16(9), 1597-1604, 1990.
15. Mehta, A. C., Hart-Davies, S., Kay, E. A., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ciprofloxacin in Plasma, *J. Clin. Pharm. Ther.*, 17, 117-120, 1992.
16. Tamer, A., Differential Pulse Polarographic Determination of Pipemidic Acid, *Portugaliae Electrochimica Acta*, 8, 53-59, 1990.
17. Tamer, A., Determination of Metabolites of Pipemidic Acid by Differential Pulse Polarography, *Acta Pharm. Turcica*, 30(2), 141-147, 1990.
18. Corti, P., Corbini, G., Gratterer, Furlanetto, S., Pinzauti, S., Determination of Some Quinolones in Tablets, Human Plasma and Urine by Differential-Pulse Polarography, *Int. J. Pharmaceutics*, 111, 83-87, 1994.
19. Arai, T., Ichinose, M., Kuroda, H., Nimura, N., Kinoshita, T., Chiral separation by Capillary Affinity Zone Electrophoresis Using an Albumin-Containing Support Electrolyte, *Anal. Biochem.*, 217, 7-11, 1994.
20. Sun, S., Chen, L., Optimization of Capillary Electrophoretic Separation of Quinolone Antibacterials Using the Overlapping Resolution Mapping Scheme, *J. Chromatogr.*, 766, 215-224, 1997.
21. Lockley, M. R., Wise, R., Dent, J., The Pharmacokinetics and Tissue Penetration of Ofloxacin, *J. Antimicrob. Chemother.*, 14, 647-652, 1984.
22. Gombert, M. E., Aulicino, T. M., Comparison of Agar Dilution, Microtitre Broth Dilution and Tube Macrodilution Susceptibility Testing of Ciprofloxacin Against Several Pathogens at Two Different Inocula, *ibid.*, 16, 709-712, 1985.
23. Phillips, I., King, A., Comparative Activity of the 4-Quinolones, *Rev. Infect. Dis.*, 10(1), 70-76, 1988.
24. Mutschler, E., Schafer-Korting, M., *Arzneimittel-wirkungen*, Stuttgart, 1996.

25. Just, P. M., Overview of the Fluoroquinolone Antibiotics, *Pharmacotherapy*, 13(2 Pt2), 4-17, 1993.
26. Henwood, J. M., Monk, J. P., Enoxacin A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use, *Drugs*, 36, 32-66, 1988.
27. Ed., Colin Dollery, *Therapeutic Drugs, volume 1*, Churchill Livingstone, Edinburg, 1991.
28. Patel, S. S., Spencer, C. M., Enoxacin A Reappraisal of its Efficacy in the Treatment of Genitourinary Tract Infections, *Drugs*, 51(1),137-160, 1996.
29. Kucers, A., Crowe, S. M., Graysan, M. L., Hoy, J. F., *The Use of Antibiotics*, 55th Ed., 1076-1084, Boston, 1997.
30. Monk, J. P., Caampoli-Richards, D. M., Ofloxacin A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use, *Drugs* 33, 346-391, 1987.
31. Grüneberg, R. N., Felmingham, D., O'hare, M. D., Robbins, M. J., Perry, K., Wall, R. A., Ridgway, G.L., The Comparative In-Vitro Activity of Ofloxacin, *J. Antimicrob. Chemother*, 22(C), 9-19, 1988.
32. Lamp, K. C., Bailey, E. M., Rybak, M. J., Ofloxacin Clinical Pharmacokinetics, *Clin. Pharmacokinet.*, 22(1), 32-46, 1992.
33. Ed., Colin Dollery, *Therapeutic Drugs, volume 2*, Churchill Livingstone, Edinburg, 1991.
34. Kucers, A., Crowe, S. M., Graysan, M. L., Hoy, J. F., *The Use of Antibiotics*, 55th Ed., 1076-1084, Boston, 1997.
35. Somogyi, A. A., Bochner, F., Keal, J. A., Rolan, P. E., Smith, M., Effect of Enoxacin Absorption, *Antimicrob. Agent Chemother.*, 31(4), 638-639, 1987.
36. Sörgel, F., Jaehde, U., Naber, K., Stephan, U., Pharmacokinetic Disposition of Quinolones in Human Body Fluids and Tissues, *Clin. Pharmacokinet.*, 16(1), 5-24, 1989.
37. Wijnands, W. J. A., Vree, T. B., Baars, A. M., Herwaarden C. L. A., Pharmacokinetics of Enoxacin and its Penetration into Bronchial Secretions and Lung Tissue, *J. Antimicrob. Chemother.*, 21(B), 67-77, 1988.

38. Bakhtiar, M., Samarasinghe, P. L., Enoxacin as One Day Oral Treatment of Men with Anal or Pharyngeal Gonorrhoea, *Genitourin. Med.*, 64, 364-366, 1988.
39. Naber, K. G., Sörgel, F., Gutzler, F., Bartosik-Wich, B., In-vitro Activity, Pharmacokinetics, Clinical Safety and Therapeutic Efficacy of Enoxacin in the Treatment of Patients with Complicated Urinary Tract Infections, *Infection*, 13, 219-224, 1985.
40. Liang, R. H. S., Yung, R. W. H., Chan, T., Chau, P., Lam, W., So, S., Todd, D., Ofloxacin versus Co-Trimaksazole for Prevention of Infection in Neutropenic Patients following Cytotoxic Chemotherapy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34(2), 215-218, 1990.
41. Bury, R. W., Becker, G. J., Kincaid-Smith, P. S., Moulds, R. F. W., Whitworth J. A., Elimination of Enoxacin in Renal Disease, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 41, 434-438, 1987.
42. Andriole V.T., Use of Quinolones in Treatment of Prostatitis and Lower Urinary Tract Infections, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 10(4), 342-350, 1991.
43. Thomas, M. G., Ellis-Pegler, R. B., Enoxacin Treatment of Urinary Infections, *J. Antimicrob. Chemother.*, 15, 759-763, 1985
44. Block, J. M., Walstad, R.A., Bjertnaes, Aa., Hafstad, P.-E., Holte, M., Ottemo, I., Svarva, P. L., Rolstad T., Peterson, L.-E., Ofloxacin versus Trimethoprim-Sulphamethoxazole in Acute Cystitis, *Drugs*, 34(1), 100-106, 1987.
45. Cox, C. E., Drylie, D. M., Klimberg, I., Childs, S. J., Wegenke, G. H., Malek, G. H., Harrison, L. H., McCullough, D. L., Finegold, S. M., George, W. L., Petersen, E. A., Paulson, D. F., Rigby, O. F., Markowitz, S. M., Crane, L. R., Siporin, C., Wajszczuk, C. P., A Multicenter, Double-Blind, Trimethoprim-Sulphamethoxazole Controlled Study of Enoxacin in the Treatment of Patients with Complicated Urinary Tract Infections, *J. Urology*, 141, 575-578, 1988.
46. Naber, K. G., Use of Quinolones in Urinary Tract Infections and Prostatitis, *Rev. Infect. Dis.*, 11(5), 1321-1337, 1989.

47. Brumfitt, W., Hamilton-Miller, J. M. T., Walker, S., Enoxacin Relieves Symptoms of Recurrent Urinary Infections More Rapidly than Cefuroxime Axetil, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37(7), 1558-1559, 1993.
48. Raz, R., Rozenfeld, S., 3-day Course of Ofloxacin versus Cefalexin in the Treatment of Urinary Tract Infections in Postmenopausal Women, *ibid.*, 40(9), 2200-2201, 1996.
49. Bergeron, M. G., Roy, R., Lessard, C., Foucault, P., Enoxacin Penetration into Human Prostatic Tissue, *ibid.*, 32(9), 1433-1434, 1988.
50. Naber, K. G., the Role Of Quinolones in the Treatment of Chronic Bacterial Prostatitis, *Infection*, 19(3), 170-177, 1991.
51. Ridgway, G. L., Quinolones in Sexually Transmitted Diseases, *Drugs* 49(2), 115-122, 1995.
52. Willigen, A. H., Hoek, J. C. S., Wagenvoort, J. H. T., Vliet, H. J. A., Klinger, B., Schalla, W. O., Knapp, J. S., Joost, T., Michel, M. F., Stolz, E., Comparative Double-Blind Study of 200- and 400-mg Enoxacin Given Orally in the Treatment of Acute Uncomplicated Urethral Gonorrhea in Males, *Antimicrob. Agent Chemother.*, 31(4), 535-538, 1987.
53. Covino, J. M., Smith, P. B., Cummings, M. C., Benes, S., Draft, K., McCormack, W. M., Comparison of Enoxacin and Ceftriaxone in the Treatment of Uncomplicated Gonorrhea, *Sex. Transm. Dis.*, 20(4), 227-229, 1993.
54. Albrecht, L. M., Rybak, M. J., Schubiner, H. H., Weiner, L. M., Single Dose Enoxacin for the Treatment of Uncomplicated Urogenital Gonorrhea, *ibid.*, 16(2), 114-117, 1989.
55. Siboulet, A., Bohbot, J. M., Catalan, F., Enoxacin in the Treatment of Sexually Transmitted Diseases, *J. Antimicrob. Chemother.*, 21(B), 119-124, 1988.
56. Black, J. R., Long, J. M., Zwickl, B. E., Ray, B. S., Verdon, M. S., Wetherby, S., Multicenter Randomized Study of Single-Dose Ofloxacin versus Amoxicillin-Probenesid for Treatment of Uncomplicated Gonococcal Infection, *Antimicrob. Agent Chemother*, 33(2), 167-170, 1989.
57. Reinhardt, J., George, W. L., Comparative In vitro Activities of Selected Antimicrobial Agents Against Aeromonas Species and Plesiomonas shigelloides, *ibid.*, 27(4), 643-645, 1985.

58. Dupont, H., Ericsson, C., Mathewson, J. J., Dupont, M., Five versus Three Days of Ofloxacin Therapy for Traveler's Diarrhea: A Placebo-Controlled Study, *ibid.*, 36(1), 87-91, 1992.
59. Ahmed, A., Salahuddin, N., Ahsan, T., Afsar, S., Nasir, N., Farooqui, S., Chaoduri, A. N., Enoxacin in the Treatment of Typhoid Fever, *Clin. Ther.*, 14(6), 825-828, 1992.
60. Ruanguan, W., Kunming, Y., Qiang, S., Antibiotic Therapy for Typhoid Fever, *Chemotherapy*, 40, 61-64, 1994.
61. Dupont, H. L., Quinolones in Salmonella Typhi Infection, *Drugs*, 45(3), 119-124, 1993.
62. Mol De P., Mets, T., Lagasse, R., Vandepitte, J., Mutwewingabo, A., Butzler, J-P., Treatment of Bacillary Dysentery: A Comparison Between Enoxacin and Nalidixic acid, *J. Antimicrob. Chemother.*, 19, 695-698, 1987.
63. Thys, J. P., Jacobs, F., Byl, B., Role of Quinolones in the Treatment of Bronchopulmonary Infections, Particularly Pneumococcal and Community-Acquired Pneumonia, *Eur. J. Clin. Infect. Dis.*, 10(4), 304-315, 1991.
64. Finch, R. G., The Role of New Quinolones in the Treatment of Respiratory Tract Infections, *Drugs*, 49(2), 144-151, 1995.
65. Wijnands, W. J. A., Griethuysen, A. J. A., Vree, T.B., Klinger, B. V., Herwaarden, C. L. A., Enoxacin in Lower Respiratory Tract Infections, *J. Antimicrob. Chemother.*, 18, 719-727, 1986.
66. Ball, P., Overview of Experience with Ofloxacin in Respiratory Tract Infection, *Scand. J. Infect. Dis.*, 68, 56-63, 1990.
67. Plouffe, J. F., Herbert, M. T., File, T. M., Baird, I., Parsons, J. N., Kahn, J. B., Rielly-Gauvin, K. T., Ofloxacin versus Standard Therapy in Treatment of Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization, *Antimicrob. Agent Chemother.*, 40(5), 1175-1179, 1996.
68. Kemmerich, B., Borner, K., Pennington, J. E., Comparative Evaluation of Enoxacin, Ofloxacin, Ampicillin and Chloramphenicol for Treatment of Experimental Haemophilus influenza Pneumonia, *ibid.*, 31(3), 417-420, 1987.

69. Philip-Joet, F., Nourrit, J., Frances, Y., Arnaud, A., Enoxacin in the Treatment of Lower Respiratory Tract Infections, *J. Antimicrob. Chemother.*, 21(B), 125-129, 1988.
70. Lawrence, C., Donald, L., Systemic Antimicrobial Therapy in Skin and Skin Structure Infections: Comparison of Temafloxacin and Ciprofloxacin, *Am. J. Med.*, 91(6A), 115-119, 1991.
71. Gentry, L. O., Rodriguez, G. G., Oral Ciprofloxacin Compared with Parenteral Antibiotics in the Treatment of Osteomyelitis, *Antimicrob. Agent Chemother.*, 34(1), 40-43, 1990.
72. Gentry, L. O., Rodriguez, G. G., Ofloxacin versus Parenteral Therapy for Chronic Osteomyelitis, *ibid.*, 35(3), 538-541, 1991.
73. Bailey, R. R., Newman, E., Oral Enoxacin Used to Cure Spinal Osteomyelitis Due to Aminoglycoside-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *NZ. Med. J.*, 26, 508, 1985.
74. Halstensen, A., Gilja, O. H., Digranes, A., Mylvaganam, H., Aksnes, A., Hoiby, E. A., Rolstad, T., Single Dose Ofloxacin in the Eradication of Pharyngeal Carriage of *Neisseria meningitidis*, *Drugs*, 49(2), 399-400, 1995.
75. Levy, R., Shpitzer, T., Shvero, J., Pitlik, S. D., Oral Ofloxacin as Treatment of Malignant External Otitis: A Study of 17 Cases, *Laryngoscope*, 100, 548-551, 1990.
76. Kyserlingk J., Beck, R., Fischer, U., Hehl, E.-M., Penetration of Ciprofloxacin, Norfloxacin and Ofloxacin into the Aqueous Humour of Patients by Different Topical Application Modes, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 53, 251- 255, 1997.
77. Hoppe, J. E., Simon, C. G., In Vitro Susceptibilities of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* to Seven Fluoroquinolones, *Antimicrob. Agent Chemother.*, 34(11), 2287-2288, 1990.
78. Franzblau, S. G., White, K. E., Comparative In Vitro Activities of 20 Fluoroquinolones against *Mycobacterium leprae*, *ibid.*, 34(2), 229-231, 1990.
79. Akova, M., Uzun, Ö., Akalın, H. E., Hayran, M., Ünal, S., Gür, D., Quinolones in Treatment of Human Brucellosis: Comparative Trial of Ofloxacin-Rifampin versus Doxycycline-Rifampin, *ibid.*, 37(9), 1831-1834, 1993.

80. Gilbert, M., Boscia, J. A., Kobasa, W. D., Kaye, D., Enoxacin Compared with Vancomycin for the Treatment of Experimental Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Endocarditis, *ibid.*, 29(3), 461-463, 1986.
81. Talbot, G. H., Cassileth, P. A., Paradiso, L., Correa-Coronas, R., Bond, L., Oral Enoxacin for Infection Prevention in Adults with Acute Nonlymphocytic Leukemia, *ibid.*, 37(3), 474-482, 1993.
82. Kern, W., Kurrle, E., Ofloxacin versus Trimethoprim- Sulfamethoxazole for Prevention of Infection in Patients with Acute Leukemia and Granulocytopenia, *Infection*, 19(2), 73-80, 1991.
83. Shalit, I., Nasrallah, N., Bar-On, S., Rabau, M., In Vitro effect of Ciprofloxacin and Ofloxacin on Murine and Human Colon Carcinoma Cell Lines, *Drugs*, 49(2), 296-297, 1995.
84. Takagi, K., Hasegawa, T., Yamaki, K., Suzuki, R., Watanabe, T., Satake, T., Interaction Between Theophylline and Enoxacin, *Intern. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 26(86), 288-292, 1988.
85. Lebsack, M. E., Nix, D., Ryerson, B., Toothaker, R. D., Welage, I., Norman, A. M., Effect of Gastric Acidity on Enoxacin Absorption, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 52(3), 252-256, 1992.
86. Marini, D., Pollini, G., Enoxacin: Characteristics and HPLC Determination, *Boll. Chim. Farm.*, 126(8), 336-41, 1987.
87. *The Merck Index*, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 11th Ed., Merck and Co., Inc., Rahway, N. J., U.S.A., 1989.
88. Ross, D.L., Riley, C.M., Dissociation and Complexation of the Fluoroquinolone Antimicrobials-an update, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 12(10), 1325-1331, 1994.
89. Squella, J.A., Alvarez, A., Sturm, J.C., Nunez-Vergara, L. J., Enoxacin: Polarographic Behaviour and its Determination in Pharmaceutical Forms, *Anal. Lett.*, 26(9) 1943-1957, 1993.
90. Zhixiang, X., Xianxiang, W., Detemination of Enoxacin in Urine by Second Derivative Spectrophotometry, *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, 12(11), 504-505, 1992.

91. Nakamura, R., Yamaguchi, T., Sekine, Y., Hashimoto, M., Determination of a New Antibacterial Agent (AT 2266) and its Metabolites in Plasma and Urine by High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, 278, 321-328, 1983.
92. Vree, T. B., Baars, A. M., Wijnands, W. J. A., High-Performance Liquid Chromatography and Preliminary Pharmacokinetics of Enoxacin and its 4-oxo Metabolites in Human Plasma, Urine and Saliva, *ibid.*, 343, 449-454, 1985.
93. White, L. O., Bowyer, H. M., McMullin C. H., Desai, K., Assay of Enoxacin in Human Serum and Prostatic Tissue by HPLC, *J. Antimicrob. Chemother.*, 21(4), 512-513, 1988.
94. Katagiri, Y., Naora, K., Ichiawa, N., Hayashibara, M., Iwamoto, K., Simplified Procedures for the Simultaneous Determination of Enoxacin, Fenbufen and Felbinac in Rat Plasma by High-Performance Liquid Chromatography, *Byoin Yakugaku*, 15(4), 292-298, 1989 (Ref: C.A. 112, 48173 s, 1988).
95. Griggs, D. J., Wise, R., A Simple Isocratic High-Performance Liquid Chromatographic Assay of Quinolones in Serum, *J. Antimicrob. Chemother.*, 24, 437-445, 1989.
96. Chan, C. Y., Lam, A. W., French, G. L., Rapid HPLC Assay of Fluoroquinolones in Clinical Specimens, *ibid.*, 23, 597-604, 1989.
97. Nangia, A., Lam, F., Hung, C., Reversed-Phase Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Fluoroquinolones in Human Plasma, *J. Pharm. Sci.*, 79(11), 988-991, 1990.
98. Goebel, K., Stolz, H., Ehret, I., Nussbaum, W., A Validated Ion-Pairing High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Enoxacin and its Metabolite Oxo-Enoxacin in Plasma and Urine, *J. Liq. Chromatogr.*, 14(4), 733-751, 1991.
99. Qin, Y., Liang, D., Liang, M., Liu, D., Huang, Y., Yu, Q., Zou, Y., Zeng, J., Determination of Enoxacin in Plasma by Reversed-Phase HPLC, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 12(5), 277-280, 1992 (Ref: C.A. 118, 139085 e, 1993).
100. Davis, J. D., Aarons, L., Houston, B., Simultaneous Assay of Fluoroquinolones and Theophylline in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, 621, 105-109, 1993.

101. Song, J., Yang, K., Yin, W., Prostate Concentration Determination and Pharmacokinetics of Enoxacin by HPLC, *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 30(12), 732-735, 1995 (Ref: C.A. 124(14), 185750 q, 1996).
102. Zhai, S., Korrapati, M. R., Wei, X., Muppalla, S., Simultaneous Determination of Theophylline, Enoxacin and Ciprofloxacin in Human Plasma and Saliva by High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. B.*, 669, 372-376, 1995.
103. Cao, H., Liu, W., HPLC Determination of Enoxacin in Ointments, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 13(3), 181-183, 1993 (Ref: C.A. 119, 188719 u, 1993).
104. Nagashima, M., Shigeoka, S., Miyatake, N., Watanabe, Y., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of New Quinolones, *Eisei Kenkyusho*, 44, 71-75, 1993 (Ref: C.A. 120, 227105 h, 1994).
105. Shanawani, E., Ahmed, A., HPLC Determination of Enoxacin, Norfloxacin and Enrofloxacin in the Presence of Some Related Compounds, *Chin. Pharm. J.*, 49(4), 259-265, 1997 (Ref: C.A. 128(21), 262040 v, 1998)
106. Zhou, G., R., Fan, H. Z., Pan, J. H., Polarographic and Voltammetric Behaviour of Enoxacin, *Analyst*, 120, 2237-2239, 1995
107. Zhang, Z., Li, Y., He, X., Zhang, H., Electroanalytical Characteristics of Enoxacin and Their Analytical Application, *Talanta*, 43, 635-641, 1996.
108. Li, Y., Zhoubin, Y., The Electrochemical Study of Enoxacin, *Zhongguo Kexue Jishu Daxue Xuebao*, 26(3), 404-408, 1996 (Ref: C.A. 126(11), 149675 d, 1997).
109. Fujita, Y., Mori, I., Fujita, K., Nakahashi, Y., Tanaka, T., Application of Xanthene Derivatives for Analytical Chemistry. Part LXIII. Determination of chlorpromazine, Thiamin, Lincomycin, Ofloxacin and Theophylline by Ternary Complex Formation with Eosin and Palladium (II), *Chem. Pharm. Bull.*, 35(12), 5004-5009, 1987.
110. Mathur, S. C., Kumar, Y., Murugesan, N., Rathore Y. K. S., Sethi, P.D., Spectrophotometric Determination of Ofloxacin in Pharmaceutical Formulations, *Indian Drugs*, 29(8), 376-377, 1992.
111. Kapetanovic, V., Milovanovic, L., Erceg, M., Spectrophotometric and Polarographic Investigation of the Ofloxacin-Cu Complexes, *Talanta*, 43, 2123-2130, 1996.

112. Chen, Y., Chen, G., Li, X., Zheng, J., Determination of Ofloxacin in its Preparations by Ultraviolet Spectrophotometry, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 25(6), 339-41, 1994 (Ref: C.A. 122,170371 b, 1995).

113. Zhang, X., Jiang, J., Wang, L., Determination of Ofloxacin and its Tablets by Ultraviolet Spectrophotometry, *Huaxi Yaoxue Zazhi* 10(4), 238-239, 1995 (Ref: C.A. 124(12), 156230 q, 1996).

114. Zhang, H., Hong, Y., Yu, C., Li, D., Qiu, Z., Determination of Ofloxacin Granules by Ultraviolet Spectrophotometry, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 16(1), 9-12, 1996 (Ref: C.A. 124, 270708b, 1996).

115. Jiang, J., Feng, L., Li, R., Cai, H., Ultraviolet Spectrophotometry of Ofloxacin Injection, *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, 27(2), 74-76, 1996 (Ref: C.A. 125(4), 41945e, 1996).

116. Sastry, C. S. P., Rao, K.R., Prasad, D. S., Spectrophotometric Determination of Enrofloxacin and Ofloxacin in Pharmaceutical Formulations, *Indian Drugs*, 32(4), 172-175, 1995.

117. Avadhanulu, A. B., Pantulu, A. R. R., Spectrophotometric Estimation of Ofloxacin in its Pharmaceutical Dosage Forms Using Folin-Ciocalteu Reagent, *East. Pharm.*, 93, 125-126, 1993.

118. Sastry, C. S. P., Rao, K. R., Prasad, D. S., Extractive Spectrophotometric Determination of Some Fluoroquinolone Derivatives in Pure and Dosage Forms, *Talanta*, 42(3), 311-316, 1995.

119. El-Sadek M., El-Shanawai, A., Ali, O., Colorimetric Determination of Some Fluoroquinolone Derivatives Through Ion-Pair Formation, *Zagazig J. Pharm. Sci.*, 4(2), 157-162, 1995.

120. Issa, Y. M., Abdel-Gawad, F. M., Abou, M. A., Hussein, H. M., Spectrophotometric Determination of Ofloxacin and Lomefloxacin Hydrochloride with Some Sulphonphthalein Dyes, *Anal. Lett.*, 30(11), 2071-2084, 1997.

121. El-Yazbi, F. A., Spectrophotometric and Spectrofluorimetric Determination of Ofloxacin, *Spectroscopy Letters*, 25(2), 279-291, 1992.

122. Carlucci, G., Mazzeo, P., Fantozzi, T., Determination of Ofloxacin in Pharmaceutical Forms by High-Performans Liquid Chromatography and Derivative UV- Spectrophotometry, *Anal. Lett.*, 26(10), 2193-2201, 1993.

- 123.** Pascual, A., Garcia, I., Conejo, M. C., Perea, E. J., Fluorometric and High-Performance Liquid Chromatographic Measurement of Quinolone Uptake by Human Neutrophils, *European J. Clin. Microbiol. Infec. Dis.*, 10, 969-971, 1991.
- 124.** Murugesan, N., Mathur, S. C., Kumar, Y., Rathore, Y. K. S., Sethi, P. D., Spectrofluorometric Estimation of Ofloxacin in Tablets, *East. Pharm.*, 35(413), 117-118, 1992 (Ref: C.A. 117,157751c, 1992).
- 125.** Lehr, K. H., Damm, P., Quantification of the Enantiomers of Ofloxacin in Biological Fluids by High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. Biomed.*, 425, 153-161, 1988.
- 126.** Warlich, R., Mutschler, E., Thin-Layer Chromatographic Separation and in Situ Fluorometric Determination of Ofloxacin in Plasma and Pleural Fluid, *J. Chromatogr.*, 490, 395-403, 1989.
- 127.** Carlucci, G., Guadagni, S., Palumbo, G., Determination of Ofloxacin, a New Oxazine Derivative in Human Serum, Urine and Bile by High-Performance Liquid Chromatography, *J. Liq. Chromatogr.*, 9(11), 2539-2547, 1986.
- 128.** Groeneveld, A. J. N., Brouwers, J. R. B. J., Quantitative Determination of Ofloxacin, Ciprofloxacin, Norfloxacin and Pefloxacin in serum by High-Performance Liquid Chromatography, *Pharm. Weekblad Sci. Edit.*, 8, 79-84, 1989.
- 129.** Claes, R., Dusart, Y., Dupont, J. C., Jeanbaptiste, B., Podoor, M., Douchamps, J., Diffusion of Oral Ofloxacin (Hoe 280) into Human Prostatic Tissue: Assessment by an Improved High-Performance Liquid Chromatographic Method, *Infection*, 14(4), 263-265, 1986.
- 130.** Mignot, A., Lefebvre, M. A., Fourtillan J. B., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ofloxacin in Plasma and Urine, *J. Chromatogr.*, 430, 192-197, 1988.
- 131.** Katagiri, Y., Naora, K., Ichikawa, N., Hayashibara, M., Iwamoto, K., Simultaneous Determination of Ofloxacin, Fenbufen and Felbinac in Rat Plasma by High-Performance Liquid Chromatography, *ibid.*, 431, 135-142, 1988.

132. Arai, T., Koike, H., Hirata, K., Oizumi, H., Separation of Pyridone Carboxylic Acid Enantiomers by High-Performance Liquid Chromatography using Copper (II)-L-Amino Acid as the Eluent, *ibid.*, 448, 439-444, 1988.
133. Matsubayashi, K., Une, T., Osada, Y., Determination of Ofloxacin in Bronchoalveolar Lavage Fluid by High-Performance Liquid Chromatography and Fluorimetric Detection, *J. Chromatogr. Biomed.*, 495, 354-357, 1989.
134. Higashi, k., Seike, M., Mitani, Y., Morisaki, K., Hayashi, S., Kitamura, M., Fujimoto, M., Kimura, N., Ebisu, S., Okadai H., Concentration of Ofloxacin in Human Gingival Crevicular Fluid After Oral Administration of Tarivid, *J. Periodont. Res.*, 24, 409-411, 1989.
135. Ohkubo, T., Kudo, M., Sugawara, K., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Ofloxacin in Serum, *Anal. Sci.*, 7, 741-743, 1991.
136. Ohkubo, T., Kudo, M., Sugawara, Determination of Ofloxacin in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography with Column Switching, *J. Chromatogr. Biomed.*, 573, 289-293, 1992.
137. Okazaki O., Aoki, H., Hakushi, H., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of (S)-(-)-Ofloxacin and its Metabolites in Serum an Urine Using a Solid-Phase Clean-Up, *ibid.*, 563, 313-322, 1991.
138. Miyazawa, N., Uematsu, T., Mizuno, A., Nagashima, S., Nakashima, M., Ofloxacin in Human Hair Determined by High-Performance Liquid Chromatography, *Forensic Science International*, 51, 65-77, 1991.
139. Mizuno, A., Uematsu, T., Nakashima, M., Simultaneous Determination of Ofloxacin, Norfloxacin and Ciprofloxacin in Human Hair by High-Performance Liquid Chromatography and Fluorescence Detection, *J. Chromatogr.*, 653, 187-193, 1994.
140. Ohkubo, T., Kudo, M., Suguwara, K., Sawada, Y., The Determination of Ofloxacin in Human Skin Tissue by High-Performance Liquid Chromatography and Correlation Between Skin Tissue Concentration and Serum Level of Ofloxacin, *J. Pharm. Pharmacol.*, 46, 522-524, 1994.
141. Macek, J., Ptacek, P., Determination of Ofloxacin in Human Plasma Using High-Performance Liquid Chromatography and Fluorescence Detection, *J. Chromatogr. Biomed.*, 673, 316-319, 1995.

142. Basci, N.E., Kargı, S. H., Soysal, H., Bozkurt, A., Kayaalp, S. O., Determination of Ofloxacin in Human Aqueous Humour by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 15, 663-666, 1997.
143. Tamer, A., Adsorptive Stripping Voltametric Determination of Ofloxacin, *Anal. Chim. Acta*, 231, 129-131, 1990.
144. Tunçel, M., Atkoşar, Z., The Determination of Ofloxacin in Tablets by Potentiometry and Conductometry, *Pharmazie*, 47, 8-9, 1992.
145. Zhou, G., Pan, J., Polarographic and Voltammetric Behaviour of Ofloxacin and its Analytical Application, *Anal. Chim. Acta.*, 307, 49-53, 1995.
146. Zhang, Z., He, X., Li, Y., Qin, S., Electroanalytical Characteristic of Ofloxacin in Micellar Solution, *Yaoxue Xuebao*, 31(9), 695-699, 1996 (Ref: C.A. 126(15), 203806 k).
147. Wang, M., Long, Y., Li, D., Zhou, W., Zhao, G., Preparation of Poly (Vinyl chloride) Membrane Ofloxacin- and Tramadol-Selective Electrode and its Application, *Fenxi Huaxue*, 25(4), 448-451, 1997 (Ref: C.A. 127(1), 9163d, 1997).
148. Rizk, M., Belal, F., Aly, F. A., El-Enany, N. M., Differential Pulse Polarographic Determination of Ofloxacin in Pharmaceutical and Biological Fluids, *Talanta*, 46(1), 83-89, 1998 (Ref: C.A. 128(22), 275213d, 1998).
149. Zhang, J., Wang, C., Fan, H., Pan, J., Polarographic and Voltammetric Behaviour of Complex of Ofloxacin with Magnesium, *Fenxi Kexue Xuebao*, 14(1), 45-48, 1998 (Ref: 128(15), 184743k, 1998).
150. Arai, T., Ichinose, M., Kuroda, H., Nimura, N., Kinoshita, T., Chiral Separation by Capillary Affinity Zone Electrophoresis Using an Albumin-Containing Support Electrolyte, *Anal. Biochem.*, 217, 7-11, 1994.
151. Chen, Y., Han, F., Yuan, Z., Application of Capillary Electrophoresis to Ofloxacin Determination, *Fenxi Ceshi Xuebao*, 15(3), 63-65, 1996 (Ref: C.A. 126(8), 109004a, 1997).
152. Li, F., Jin, H., Gu, J., Fu, R., Dai, R., Study on HPCE Enantiomeric Separation of Two Drug Racemates, *Beijing Ligong Daxue Xuebao*, 17(2) 166-169, 1997 (Ref: C.A. 128(8), 93290u, 1998).

153. Li, F., Zhang, L., Jin, H., Gu, J., Fu, R., Wang, X., Enantioseparation of Several Pharmaceutical Racemates with High Performance Capillary Electrophoresis Using β -Cyclodextrin and its Derivatives as the Chiral Selectors, *Fenxi Huaxue* 25(6), 644-647, 1997 (Ref: C.A. 127(4), 55984v, 1997).
154. Yu, J., Wang, Y., Luo, G., Chiral Separation of Ofloxacin Enantiomers by Capillary Electrophoresis, *Yaoxue Xuebao*, 32(3), 203-206, 1997 (Ref: C.A. 128(7), 72527m, 1998).
155. *The United States Pharmacopeia*, 55th. Ed., 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, Md. 20852, U.S.A., 1980.
156. Gupta, D., Cadwallader, D. E., Herman, H., Honigberg, I., Effect of pH and Dye Concentration on the Extraction of a Thiamine Dye Salt an Organic Solvent, *J. Pharm. Sci.*, 57(7), 1199-1202, 1968.
158. Gupta, D., Reed, J., A Note on the Quantitative Determination of Ephedrine Sulfate When Compounded with Phenobarbital Elixir U.S.P., *American J. Hospital Pharmacy*, 28, 285-287, 1971.
159. Gupta, D., Acid Dye Method for the Analysis of Codeine Phosphate, *ibid*, 28, 55-57, 1971.
160. Hom, F. S., Ebert, W. R., Determination of Meclizine Hydrochloride by Ion-Pair Extraction with Methyl Orange, *J. Pharm. Sci.*, 66(5), 710-713, 1977.
161. Dusanka, R., Darka, D., Kpkapetanovic, M., Spectrophotometric Determination of Ranitidine with Bromocresol Green and Bromophenol Blue, *Arch. Farm.*, 40(3), 71-75, 1990.
162. Gupta, D., Stoichiometric Balances and Stability Constants of Amine-Bromthymol Blue Complexes, *J. Pharm. Sci.*, 60(10), 1584-1586, 1971.
163. Chatten L. G., Okamura, K. O., Assay of Quarternary Ammonium Compounds in Various Dosage Forms by Acid-Dye Method, *ibid*, 62(8), 1328-1331, 1973.
164. Sümbülođlu, K., Sümbülođlu, V., *Biyoistatistik*, 7. Baskı, Hatibođlu Yayınevi, Ankara, 1997.
165. Yeřilrusuk (Tamer), A., Pipemidik Asit ve Metabolitlerinin Analizleri üzerinde alıřmalar, *Doçentlik Tezi*, Ankara, 1983.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Konya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. 1991 yılında başladığı Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’den 1995 yılında mezun oldu. 1996 yılında aynı fakültenin Analitik Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Analitik Kimya Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.