

79200



79090

Prof. Dr. Seren İşliugeli Prof. Dr. Aysel Özdurs

Si

AA

Doç. Dr. Sabiha Yalsın

S. Yalsın

YALSAVAZLARIN MERKEZİ

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLORAMFENİKOLÜN KADMIYUM ÜZERİNDEN
İNDİREKT TAYİNİ

Kimyager Ömür ÖZTÜRK

F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Anorganik Kimya Programında
Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ

İSTANBUL, 1998

Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMA LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
ÇİZELGE LİSTESİ.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI.....	1
2. GENEL BÖLÜM.....	2
2.1. Kloramfenikol Hakkında Genel Bilgi.....	2
2.1.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	2
2.1.1.1 Kimyasal İsmi.....	2
2.1.1.2. Formülü.....	2
2.1.1.3. Molekül Ağırlığı.....	2
2.1.1.4. Elementel Birleşimi.....	2
2.1.1.5. Görünüş, Renk ve Koku.....	3
2.1.1.6. Optikçe Aktifliği.....	3
2.1.1.7. Çözünürlüğü.....	3
2.1.2. Spektral Özellikleri.....	3
2.1.2.1. UV Spektrumu.....	3
2.1.2.2. IR Spektrumu.....	4
2.1.2.3. NMR Spektrumu.....	5
2.1.2.4. Kütle Spektrumu.....	9
2.1.3. Sentezi.....	11
2.1.4. Farmakolojik Özellikleri.....	13
2.1.5. Kararlılığı ve Bozunma Mekanizması.....	15
2.1.6. Tayin Yöntemleri.....	16
2.1.6.1. Tanınma Testleri.....	16
2.1.6.2. Kantitatif Analizler.....	17
Titrimetrik Yöntemler.....	17
Polarografik Yöntemler.....	19
Spektroskopik Yöntemler.....	20
Kromatografik Yöntemler.....	25
2.2. Kadmiyum Üzerinden İndirekt Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Tayinler.....	28

3. DENEYSEL BÖLÜM.....	30
3.1. Maddeler ve Çözücüler	30
3.2. Çözeltiler	30
3.3. Gereçler.....	30
3.4. Çalışma Yöntemi.....	31
3.4.1. Kadmiyum Üzerinden İndirekt AAS Yöntemi.....	31
3.4.1.1. AAS Yönteminin Koşulları.....	31
3.4.1.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	32
3.4.1.3. Kloramfenikol Örnekleri İle Çalışılması	33
3.4.2. Diazonyum Tuzu Oluşturarak Spektrofotometrik Yöntem İle Tayin.....	33
3.4.2.1. Spektrofotometrik Yönteminin Koşulları	33
3.4.2.2. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	34
3.4.2.3. Kloramfenikol Örnekleri İle Çalışılması	34
4. SONUÇLAR.....	35
4.1. AAS Tayin Yöntemi	35
4.1.1. Yöntemin Optimum Koşulları.....	35
4.1.2. Ölçü Eğrisi	36
4.1.3. Kloramfenikol Örnekleri İle Çalışılması.....	39
4.2. Spektrofotometrik Tayin Yöntemi	39
4.2.1. Yöntemin Çalışma Koşulları	39
4.2.2. Ölçü Eğrisi	40
4.2.3. Kloramfenikol Örnekleri İle Çalışılması.....	42
4.3. Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	42
5. TARTIŞMA	44
6. KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMA LİSTESİ

IV : Damar içine verme

IM : Kas içine verme

USP : United States Pharmacopeia

BP : British Pharmacopeia

et al.; : ve diğerleri

TLC : İnce Tabaka Kromatografisi

HPLC : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

MS : Kütle Spektroskopisi

AAS : Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi



ŞEKİL LİSTESİ*sayfa*

Şekil 2.1. Kloramfenikolün metanoldeki çözeltisinin UV spektrumu	4
Şekil 2.2. Kloramfenikolün KBr'deki IR spektrumu	5
Şekil 2.3. Kloramfenikolün ¹³ C NMR'ı	6
Şekil 2.4. Kloramfenikolün ¹ H NMR'ı	7
Şekil 2.5. Kloramfenikolün EI kütle spektrumu	9
Şekil 2.6. Kloramfenikolün önerilen fragmantasyon şeması	10
Şekil 2.7. Kloramfenikolün CI kütle spektrumu	11
Şekil 2.8. Kloramfenikolün sentez şeması	12
Şekil 4.1. AAS ile kloramfenikole ait ölçü eğrisi	37
Şekil 4.2. AAS ile kadmiyum sülfat tuzuna ait ölçü eğrisi	37
Şekil 4.3. Spektrofotometrik yöntem ile tayin edilen kloramfenikolün absorpsiyon spektrumu	41

ÇİZELGE LİSTESİ	sayfa
Çizelge 2.1. IR spektrumunda ilgili gruplar ve frekansları	4
Çizelge 2.2. ¹³ C NMR'ında kloramfenikole ait kimyasal kayma, multiplisite ve spektral gruplar	5
Çizelge 2.3. Kloramfenikolün ¹ H NMR'ındaki kimyasal kayma, multiplisite ve spektral gruplar	8
Çizelge 2.4. Heward et al., yapmış olduğu çalışmanın sonuçları	16
Çizelge 2.5. Lin ve Wang'ın yapmış olduğu çalışmanın sonuçları	25
Çizelge 2.6. Lascherme'in yapmış olduğu çalışmanın sonuçları	26
Çizelge 4.1. Değişik ısıtma sürelerindeki kloramfenikole ait absorbans	35
Çizelge 4.2. Değişik asit konsantrasyonlarında elde edilen kloramfenikolün absorbans değerleri	35
Çizelge 4.3. Kloramfenikolün AAS ile indirekt tayini için hazırlanan ölçü eğrisine ait değerler	38
Çizelge 4.4. AAS için hazırlanan kadmiyum sülfat tuzunun ölçü eğrisi ait değerler	38
Çizelge 4.5. AAS ile tayin edilmiş örneklerdeki kloramfenikol miktarları	39
Çizelge 4.6. Spektrofotometrik yöntem için hazırlanan ölçü eğrisine ait değerler	40
Çizelge 4.7. Spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiş örneklerdeki kloramfenikolün miktarı	42
Çizelge 4.8. Kemicetine kapsüllerin (250mg kloramfenikol) analizi	43

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sırasında bilgilerini esirgemeyen ve bana yol gösteren hocam sayın Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ'ye ve bu süreç içerisinde ilgileri ve anlayışları ile bana manevi yardımları dokunan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ömür ÖZTÜRK



ÖZET

Bu tez çalışmasının ilk bölümünde kloramfenikolün kimyasal ve fiziksel özellikleri ile, spektral özellikleri; direkt ve indirekt tayin yöntemleri ile piyasada satılmakta olan farmasötik preparatların genel tayin yöntemlerinin bir dökümü yapıldı. Bu bölümde ayrıca antibiyotik olarak kullanılan kloramfenikolün farmakolojik özellikleri hakkında genel bilgi verilerek toksik etkileri üzerinde durulmuştur.

Çalışmanın ikinci bölümünde, kadmiyum üzerinden indirekt atomik absorpsiyon spektrometrik kloramfenikol tayin yönteminin optimum koşulları incelendi. Bunun için kloramfenikol referans standardı 0.05 N hidroklorik asitli ortamda metalik kadmiyum ile yarım saat karbondioksit gazı atmosferi altında kaynatıldı. Açığa çıkan kadmiyum (II) iyonunun atomik absorbansı 228.8 nm de ölçülerek kloramfenikol miktarına geçildi. Absorbans ile 0.3-1.5 µg/mL kloramfenikol (0.313-1.564 µg/mL kadmiyum (II) iyonu) konsantrasyonu arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Regresyon analizi ile doğrunun denklemi $A = 0.186c + 8.578 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9992$) olarak hesaplandı.

Çalışmanın üçüncü bölümünde, kıyaslama yöntemi olarak uygulanan, amin üzerinden indirekt visibl bölgede spektrofotometrik kloramfenikol tayin yönteminin optimum koşulları incelendi. Buna göre indirgenme sonucu elde edilen çözeltideki amin grubu hidroklorik asitli ortamda sodyum nitrit ile diazolama ve α -naftilamin ile kenetlemeden sonra oluşan renkli çözeltinin 533.0 nm de absorbansı yarım saat içinde ölçülerek kloramfenikol miktar tayini yapıldı. 10-50 µg/mL konsantrasyon aralığında ölçü eğrisi hazırlandı. Regresyon analizi ile doğru dekleme $A = 0.0110c + 0.029$ ($r=0.9983$) olarak hesaplandı.

Atomik absorpsiyon spektrometrik yöntem ile visibl bölge spektrofotometrik yöntem piyasada satılan kloramfenikol kapsül örneklerinin miktar tayinlerine uygulandı. Her iki yöntemin sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Her iki yöntem arasında ortalamalar ve prezisyon yönünden anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi.

ABSTRACT

In the first part of this thesis; the chemical, physical and spectral properties and direct and indirect determination methods of chloramphenicol in commercial pharmaceutical formulations are reviewed. In this section a general information about the pharmaceutical properties of chloramphenicol and toxic effects is also given.

In the second part of this thesis, optimum conditions of the indirect atomic absorption spectrometric determination method over cadmium were investigated. Accordingly, chloramphenicol reference standard was boiled half an hour in 0.05 N hydrochloric acidic medium with cadmium metal in carbon dioxide atmosphere. The amount of chloramphenicol was calculated by measuring absorbance of released cadmium (II) ions, at 228.8 nm. A calibration graph was plotted between absorbance and cadmium concentrations in the range of 0.3-1.5 µg/mL chloramphenicol (0.313-1.564 µg/mL cadmium). The linear equation of the calibration graph was calculated by regression analysis as $A = 0.186c + 8.578 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9992$).

In the third part of this thesis, as a method of comparison, optimum conditions of indirect visible spectrophotometric determination method of chloramphenicol over amine was investigated. Accordingly; the diazo compounds was occurred in hydrochloric acidic medium by adding sodium nitrite with the amine and then coupling with α -naphthylamine to get coloured solution. The amount of chloramphenicol was calculated by measuring absorbance of the resultant colour at 533.0 nm in half an hour. A calibration graph was plotted between absorbance and cadmium concentrations in the range of 10-50 µg/mL. The linear equation of the calibration graph was calculated by regression analysis as $A = 0.0110c + 0.0209$ ($r = 0.9983$).

The atomic absorption spectrometric method and the visible spectrophotometric method were applied to the determination of chloramphenicol in commercial capsule formulations. The methods were compared statistically with each other. There are no significant difference between the means and precisions of these two methods.

1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

İlk sentezlenen antibiyotik olan kloramfenikol tıfodaki etkinliği ve geniş spektrumu nedeniyle hemen kullanılmaya başlanmış olsa da kısa sürede bazı ağır hematolojik bozukluklara neden olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı kloramfenikolün hem miktar tayini hem de vucüt sıvılarındaki konsantrasyonunun belirlenmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada kloramfenikolün kadmiyum (II) iyonu üzerinden indirekt olarak tayin yönteminin optimum koşullarının incelenmesi ve piyasada mevcut preparatlara uygulanması amaçlanmıştır.

Miktar tayininde uygulanan atomik absorpsiyon spektrofotometre yöntemi; kloramfenikolün etanoldeki çözeltisinin, 0.05N hidroklorik asitli ortamda metalik kadmiyum ile yarım saat karbondioksit gazı atmosferi altında kaynatılması ile açığa çıkan kadmiyum (II) iyonunun 228.8 nm deki atomik absorpsiyonunun ölçülmesine dayanmaktadır.

Yöntem, piyasada bulunan kloramfenikol kapsül örneklerine uygulanmıştır. Kapsüller ayrıca visibl bölge spektrofotometrik yöntem ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar F ve t testi ile kıyaslanmıştır.

2. GENEL BÖLÜM (Abdullah, 1986)

2.1. Kloramfenikol Hakkında Genel Bilgi

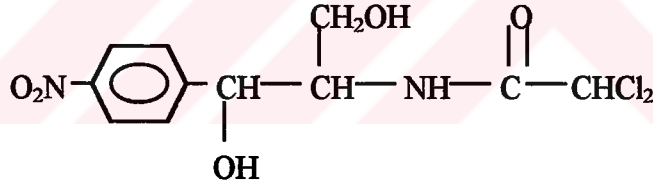
2.1.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri

2.1.1.1. Kimyasal ismi

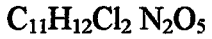
- D(-)- threo-2-Dikloroasetamido-1-p-nitrofenil-1,3-propendiol.
- D(-)- threo-N-Dikloroasetil-1-p-nitrofenil-2-amino-1,3-propendiol.
- D(-)- threo-2,2-Dikloro-N-[β-hidroksi-α-(hidroksimetil) -p-nitrofeniletıl]-asetamid.
- D(-)- threo-2,2-Dikloro-N-[2-hidroksi-1-(hidroksimetil) -2-(4-nitrofenil)etil]-asetamid

2.1.1.2. Formülü

Acık Formülü



Kapalı Formülü



2.1.1.3. Molekül ağırlığı

323.13 g/mol.

2.1.1.4. Elementel birleşimi

%40.88 C, %3.74 H, % 21.95 Cl, % 8.67 N, %24.76 O.

2.1.1.5. Görünüş, renk ve koku

Beyazdan kirli beyaza veya yeşilimsi beyaza kadar değişen renklerde, acımsı tattadır. Su ve etilendiklorürde iğne şeklinde veya uzunlamasına yüzeyler halinde kristallenir (EN: 150.5-151.5°C).

2.1.1.6. Optikçe aktifliği

$[\alpha]_D^{25}$: -25.5° (etil asetat), $[\alpha]_D^{27}$: +18.6° (etanoldaki c= 4.86) (Merck Index, 1989).

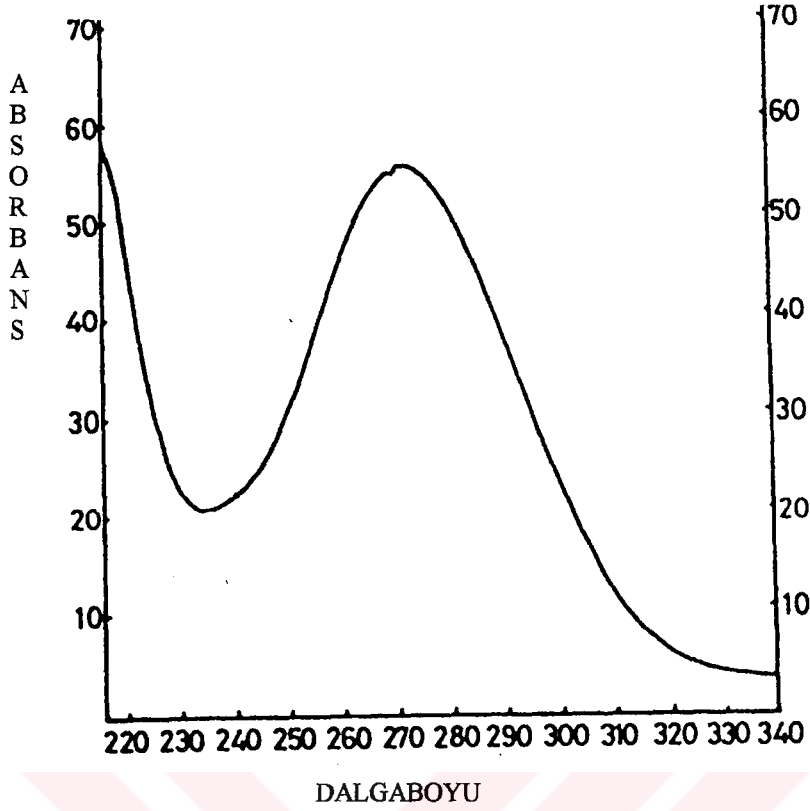
2.1.1.7. Çözünürlüğü

Kloramfenikol 25°C'deki çözünürlüğü; suda 2.5mg/mL, propilen glikolde 150.8 mg/mL'dir. Eterdeki çözünürlüğü %50, asetamitteki çözünürlüğü %5'tir. Metanol, etanol, butanol, etil asetat, asetondaki çözünürlüğü oldukça iyidir. Sudaki çözeltileri nötraldir. Nötral ve asidik çözeltileri sıcakta kararlıdır (Szulczewski ve Eng, 1975). Negoro ve Associates (1957) tarafından bazı sulu çözelti karışımlarındaki kloramfenikolün çözünürlüğü tayin edilmiştir. Kostenbauder ve Heguchi (1956) kloramfenikolün N,N,N',N'-tetrametilftalamitlerin sulu çözeltilerinde çözünürlüğünü incelemişlerdir. Jammes ve Leach (1970) kloramfenikol'ün sudaki çözünürlüğünün boraks ilavesi ile arttığını gözlemlemişlerdir. Bu artışın borat iyonu ile antibiyotik arasında kompleks oluşumuna bağlı olduğu belirtilmiştir. pH 3-9 aralığında kloramfenikolün çözünürlüğünde anlamlı bir değişiklik olmadığı halde Higuchi ve Marcus (1954) kuvvetli asitlerde çözünürlükte bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

2.1.2. Spektral özellikleri

2.1.2.1.UV spektrumu

Kloramfenikolün metanoldeki UV absorpsiyon spektrumu 274 nm deki maksimumu ve 235 nm deki minimumla tanımlanmıştır. Kloramfenikolün spektrumu suda 278 nm (E %1, 1 cm, 298), 0.1 N sodyum hidroksit de 276 nm (E %1, 1 cm, 200), 0.1 N H₂SO₄ de 278 nm (E %1, 1 cm, 284) de bir maksimum göstermiştir. UV spektrumu kloramfenikolün sulu çözeltilerindeki pH değişimlerinden anlamlı olarak etkilenmez. Sulu borat tamponu (pH 9.0) ile oluşturduğu kompleks nedeniyle maksimum 278 nm den 284 nm ye kayar (Szulczewski ve Eng, 1975). Kloramfenikolün UV spektrumu Şekil 2.1'de görülmektedir.



ŞEKİL 2.1. Kloramfenikolün metanoldeki çözeltisinin UV spektrumu.

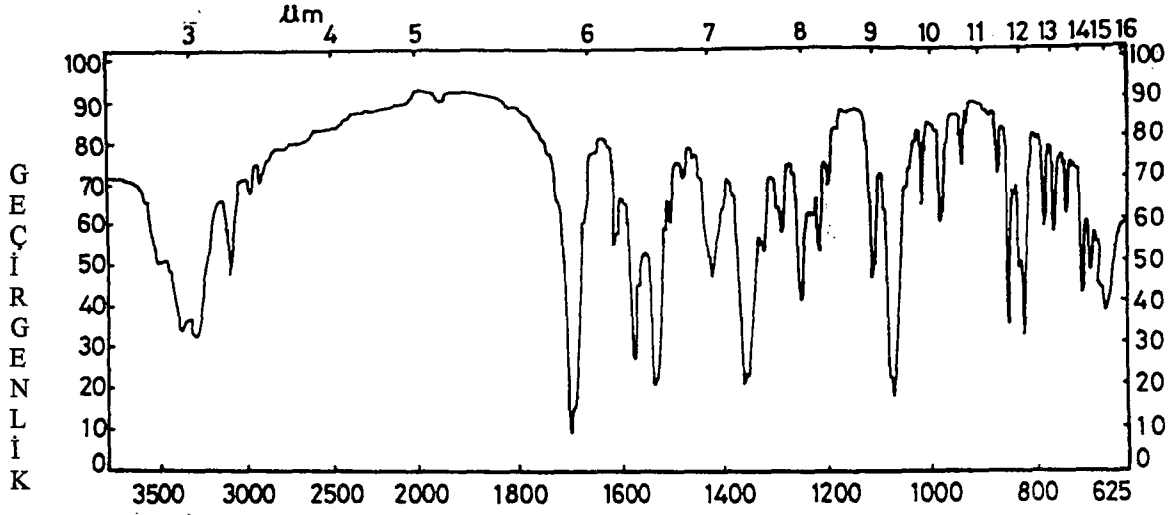
2.1.2.2. IR spektrumu

KBr'de alınan IR spektrumunda esas pikler 1682, 1061 ve 1351 veya 1526 cm^{-1} olarak rapor edilmiştir. İlgili gruplar ve frekansları Çizelge 2.1. de, spektrum ise Şekil 2.2. de verilmiştir.

FREKANS (cm^{-1})	İLGİLİ GRUPLAR
3230, 3520 3100 1700, 1570 1530, 1360 1070 850	OH ve NH'in bağlı olduğu H gerilimi aromatik C-H gerilimi C=O gerilimi amid 1 bandı, amid 2 bandı N-O gerilimi (ArNO_2) C-O gerilimi (primer alkol) C-N gerilimi (ArNO_2)

ÇİZELGE 2.1. IR spektrumunda ilgili gruplar ve frekansları.

DALGABOYU



DALGASAYISI

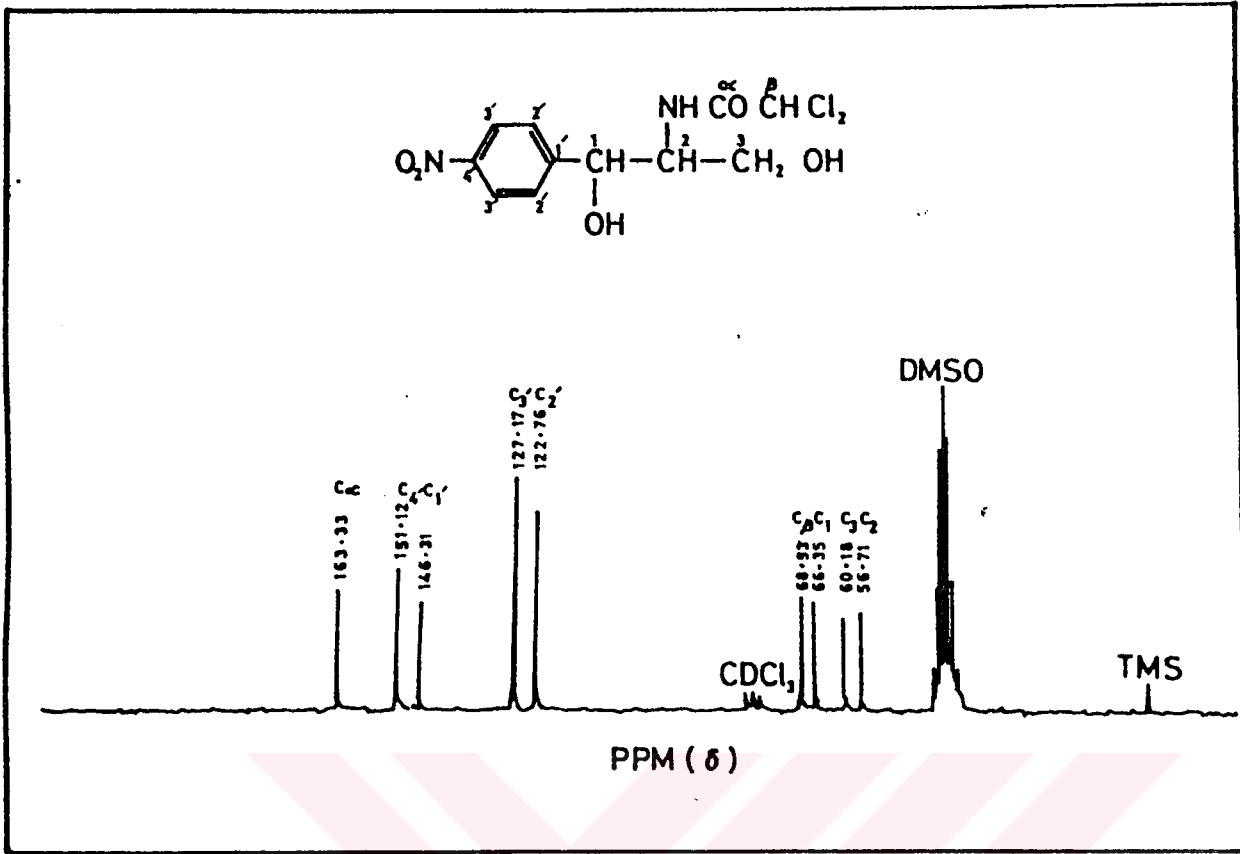
ŞEKİL 2.2. Kloramfenikolün KBr'deki IR spektrumu.

2.1.2.3. NMR spektrumu

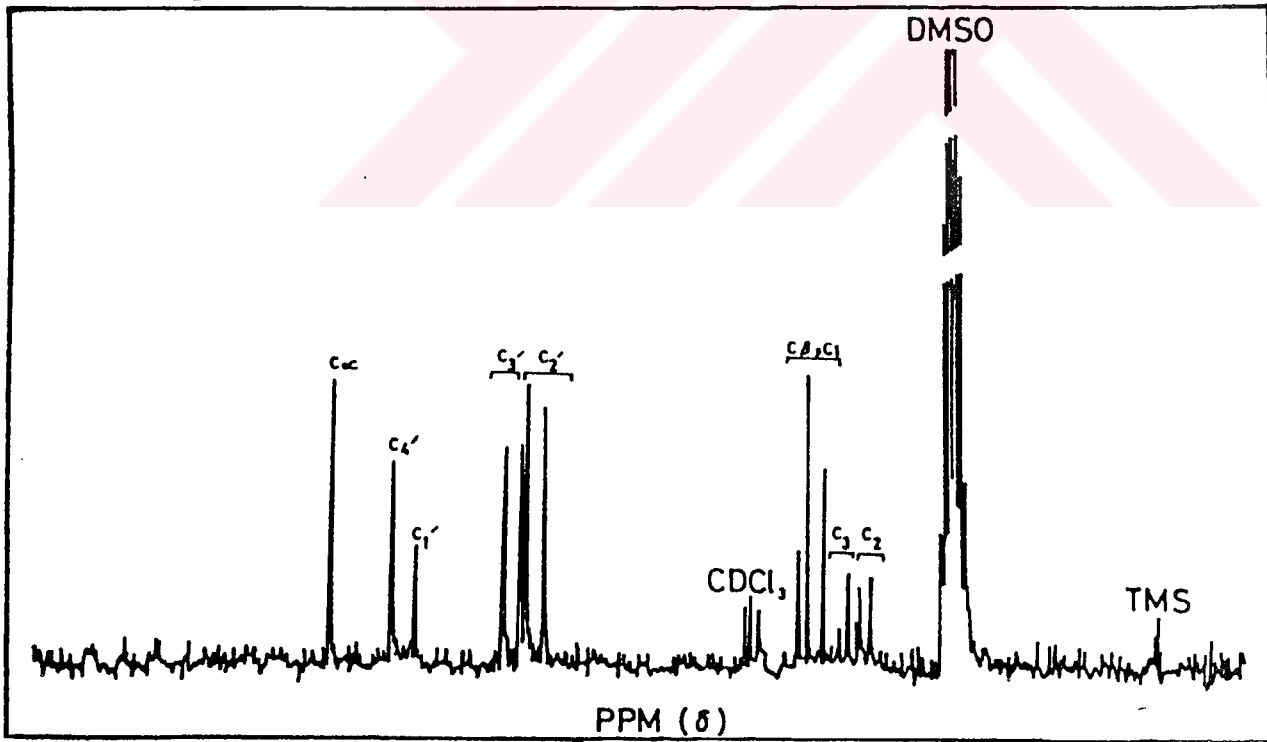
^{13}C NMR'ı bir damla CDCl_3 içeren DMSO-d_6 çözücüsünde oda sıcaklığında elde edilmiştir. İç standart olarak TMS kullanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 2.2. ve Şekil 2.3.de görülmektedir. Kloramfenikolün D_2O varlığında DMSO-d_6 çözücüsünde elde edilen ^1H NMR spektrumu Şekil 2.4. de kimyasal kaymaları ise Çizelge 2.3 de verilmiştir.

KİMYASAL KAYMA (δ)	MULTİPLİSİTE	KARBON NO
56.71	dublet	2
60.18	triplet	3
66.35	dublet	1
68.95	dublet	C_B
122.76	dublet	2
127.17	dublet	3
146.31	singlet	1
151.12	singlet	4
163.33	singlet	C_α

ÇİZELGE 2.2. ^{13}C NMR'ında kloramfenikole ait kimyasal kayması, multiplisitesi ve spektral grupları.



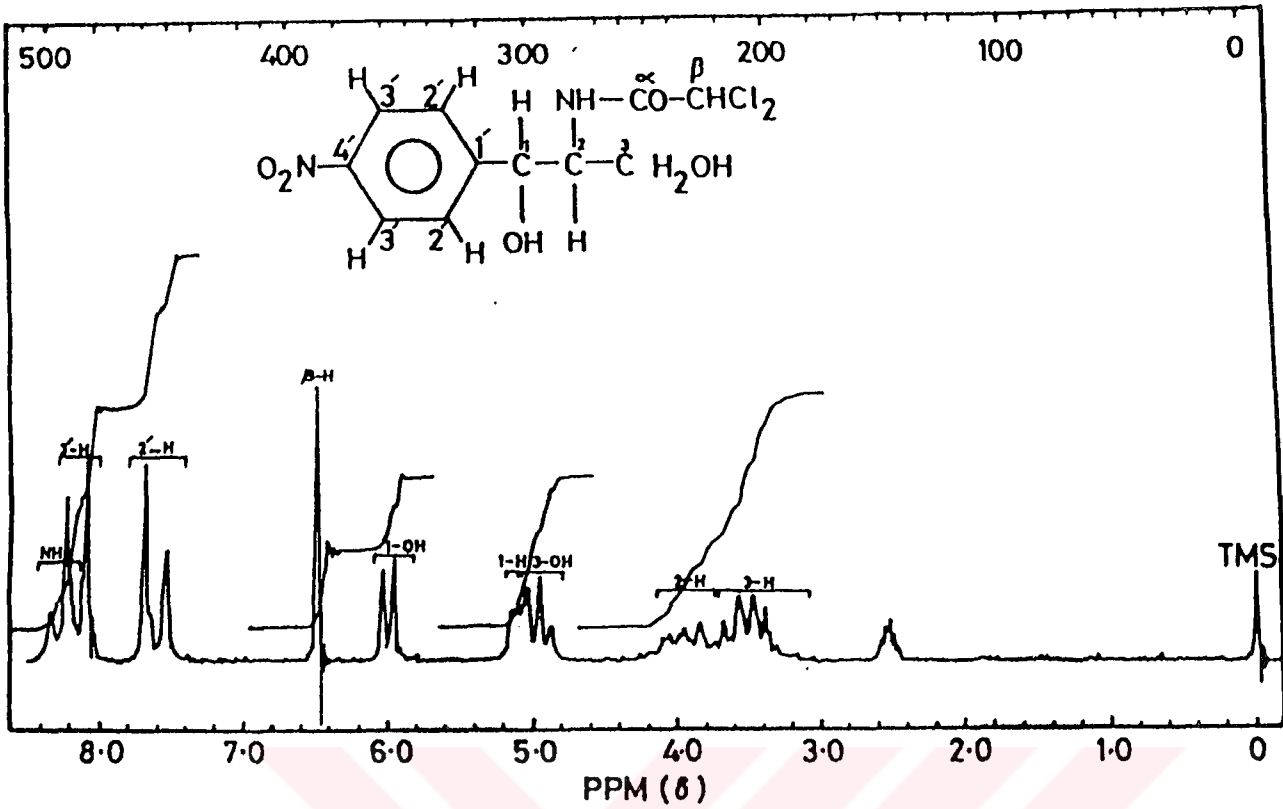
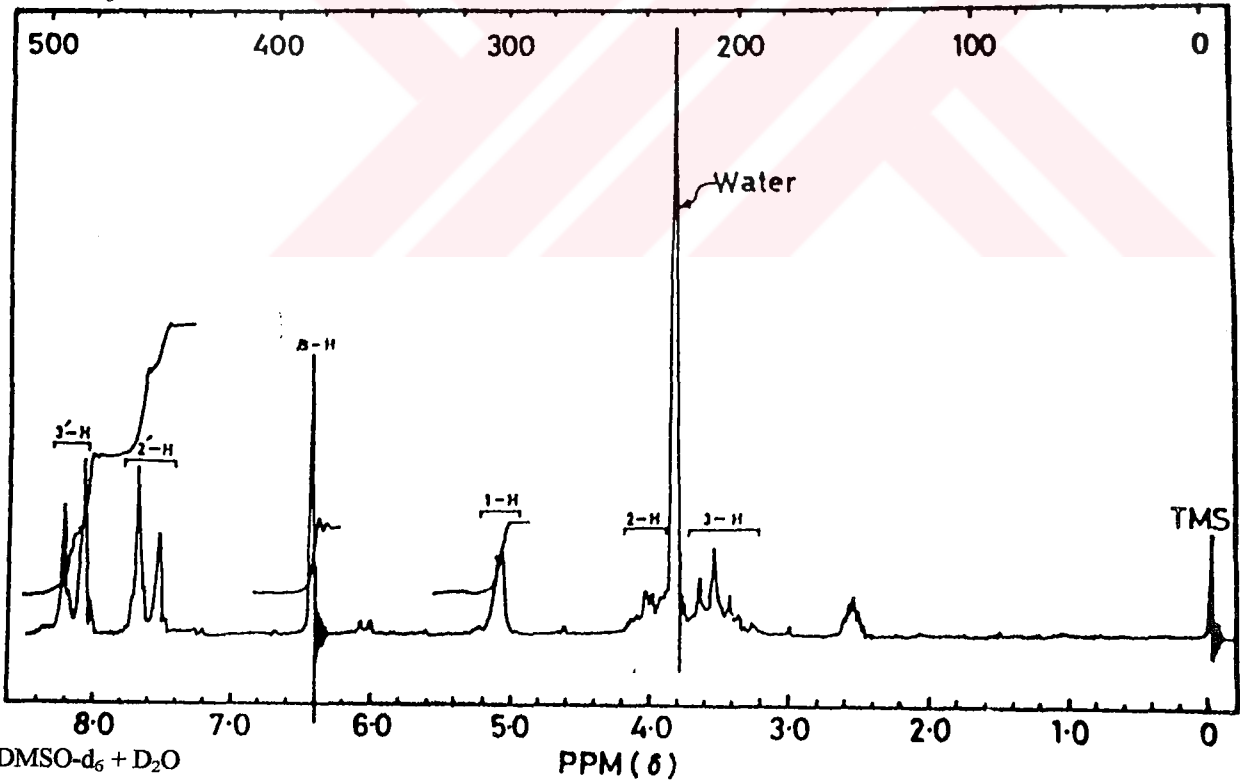
a: Proton decoupled

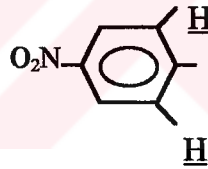
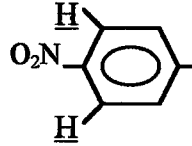


b: Off- resonance

ŞEKİL 2.3. Kloramfenikolün DMSO- d_6 + bir damla $CDCl_3$ 'teki ^{13}C NMR'i

a: Proton decoupled; b: Off- resonance

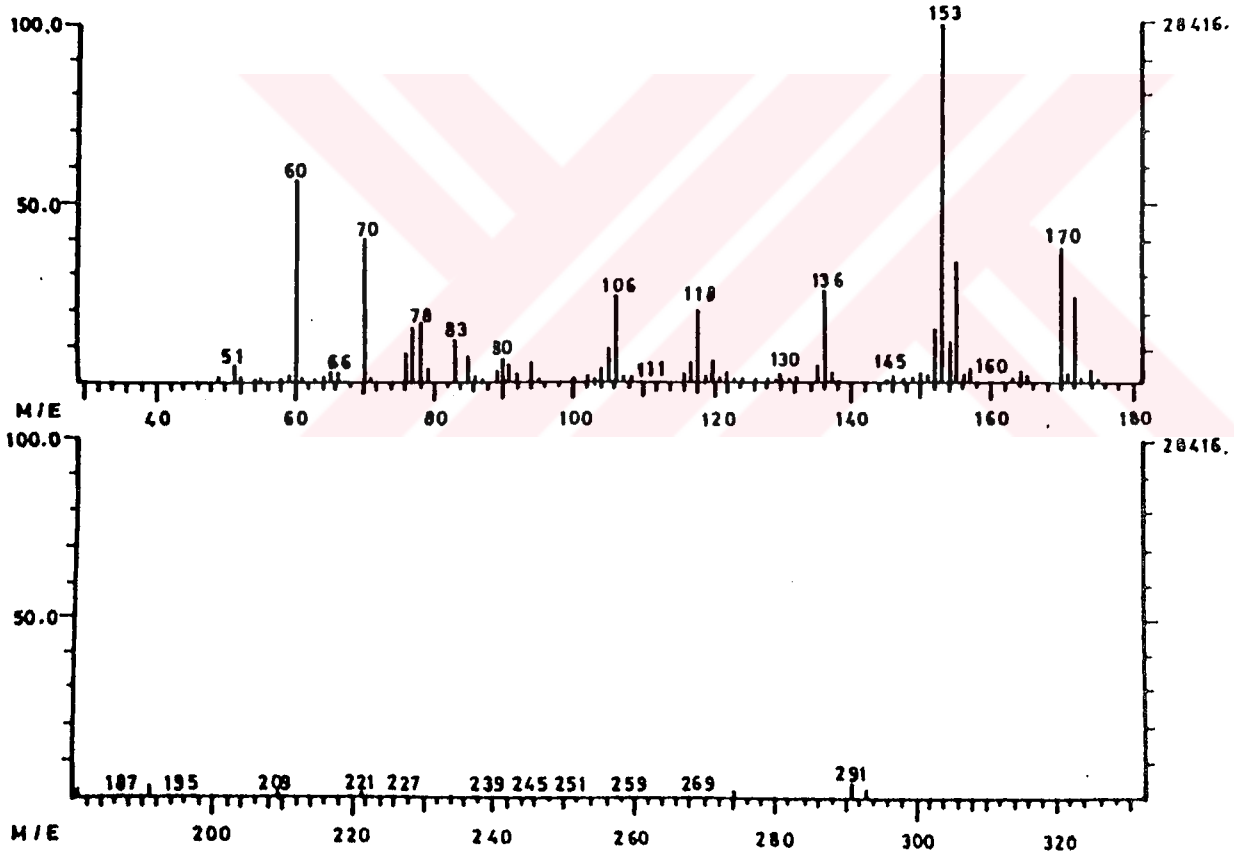
a: DMSO- d_6 b: DMSO- d_6 + D₂OŞEKİL 2.4. Kloramfenikolün ^1H NMR'ıa: DMSO- d_6 'da; b: DMSO- d_6 + D₂O

KİMYASAL KAYMA (δ)	MULTİPLİSİTE	PROTON GRUBU	KARBON NO
a. 3.43] b. 3.47	multiplet	<u>-CH₂</u> OH	2
a. 3.97] b. 3.98	multiplet	<u>CH</u> -N	1
a. 4.93 b. deęiřti	triplet -	<u>-CH₂</u> OH -	1 -
a. 5.12] b. 5.08	triplet	CH <u>OH</u>	1
a. 5.98 b. deęiřti	dublet -	<u>CH</u> OH -	1 -
a. 6.47] b. 6.40	singlet	-CO <u>CH</u> Cl ₂	1
a. 7.60] b. 7.58	dublet		2
a. 8.15] b. 8.13	dublet		2
a. 8.25] b. deęiřti	dublet	-NH	1

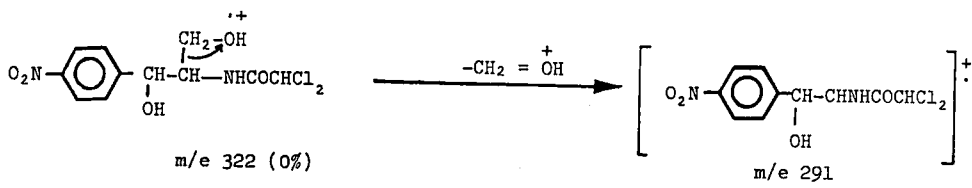
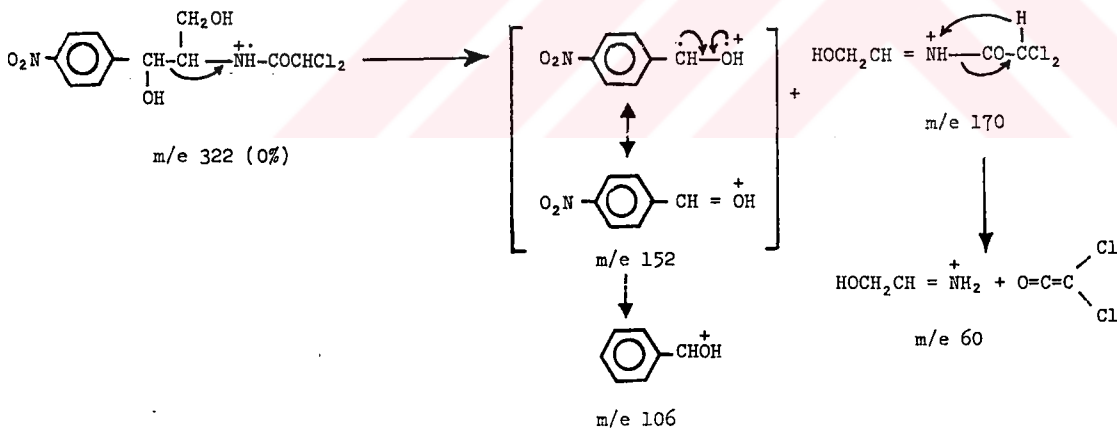
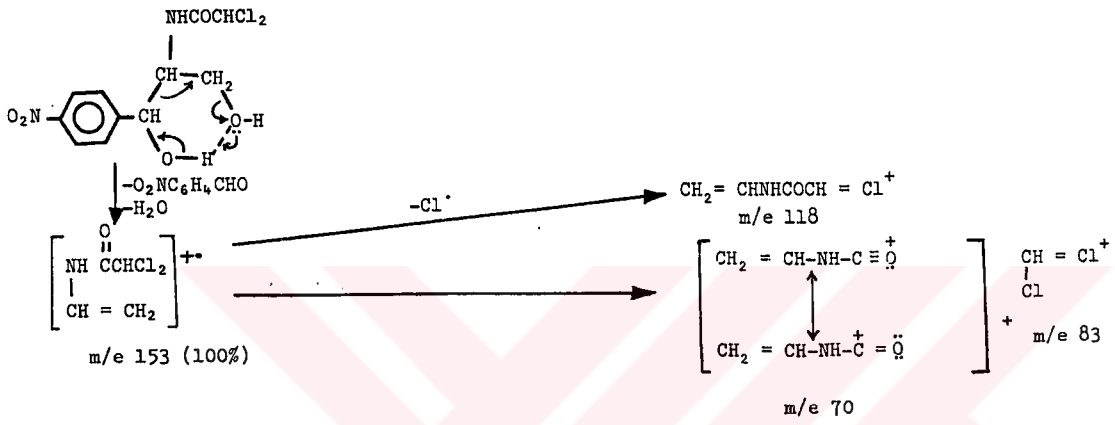
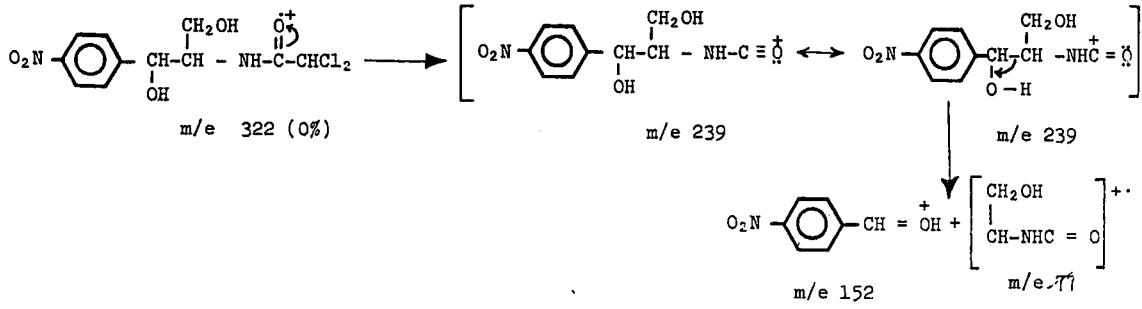
ÇİZELGE 2.3. Kloramfenikolün ¹H NMR'ındaki kimyasal kayma, multiplisite ve proton gruplarıyla karbon numaraları. a: DMSO-d₆'da ; b: DMSO-d₆ + D₂O

2.1.2.4. Kütle spektrumu

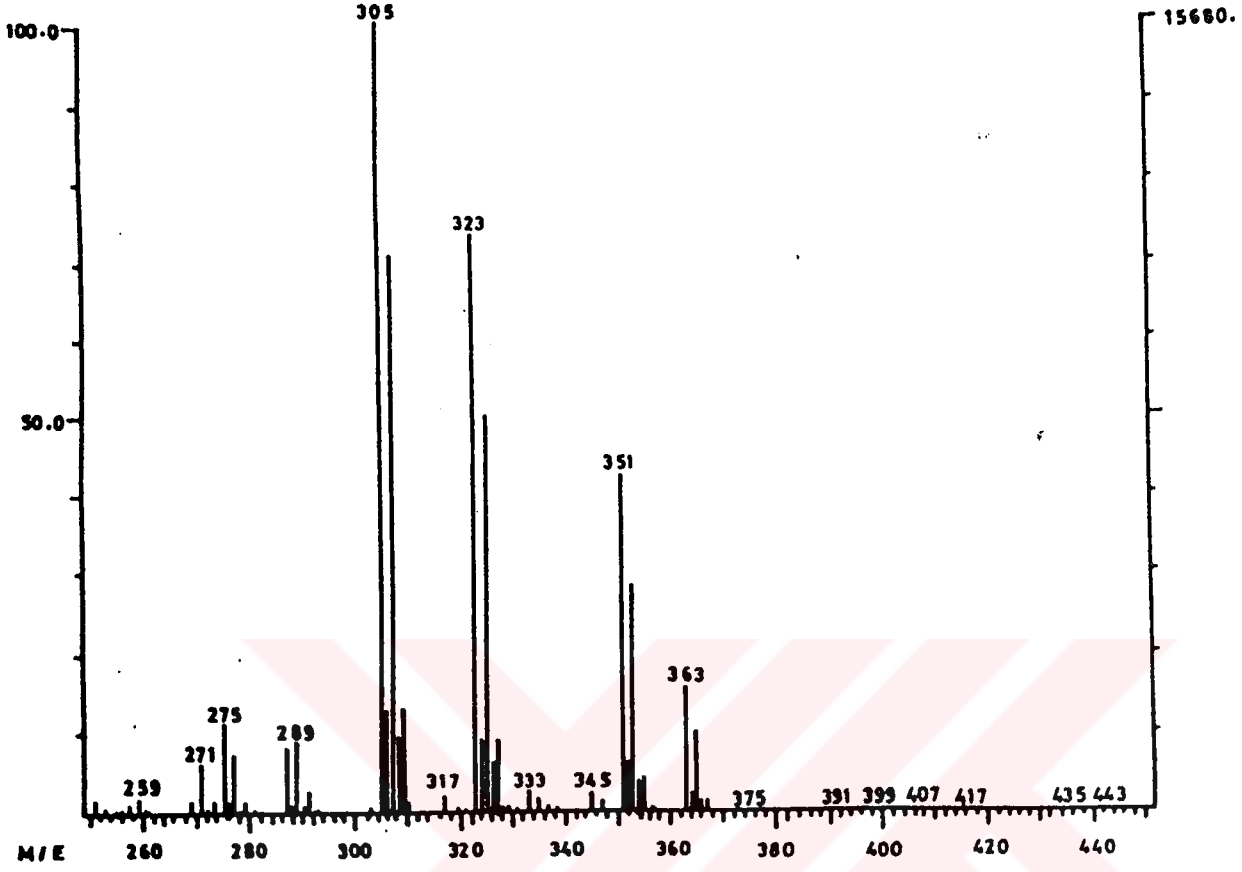
Kloramfenikolün EI kütle spektrumu Şekil 2.5. de görülmektedir. Spektrumda moleküler iyon piki bulunmamaktadır. Önerilen fragmentasyon şeması Şekil 2.6 da, CI kütle spektrumu ise Şekil 2.7 de verilmiştir. Bu spektrumda moleküler iyon yerine, m/e 305'te ($MH^+ - 18$) baz piki bulunmaktadır.



ŞEKİL 2.5. Kloramfenikolün EI kütle spektrumu.



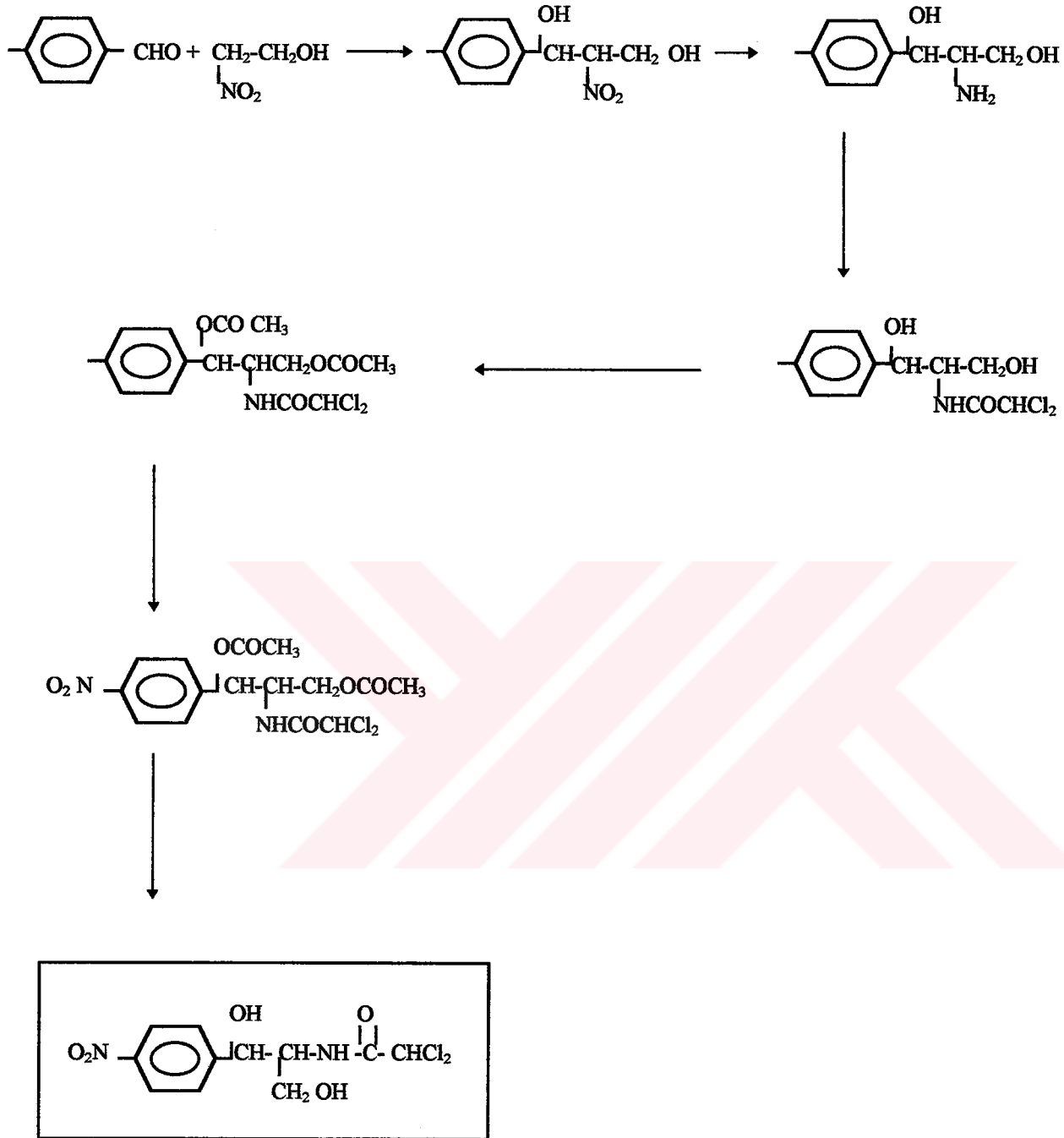
ŞEKİL 2.6. Kloramfenikolün önerilen fragmantasyon şeması



ŞEKİL 2.7. Kloramfenikolün CI kütle spektrumu.

2.1.3. Sentezi

İlk kez sentezlenen antibiyotik olarak farklı streptomysis zincir yapılarından izole edilmiştir. Basit yapıda olması laboratuvar ve ticari anlamda kolaylıkla sentezlenmesine olanak sağlar. Önemli bir sentez yöntemi benzaldehidin nitroetanol ile streo izomer karışımı bir aldol ürünü verecek şekilde baz katalizli kondensasyonunu içerir. Ürünün katalitik redüksiyonu bir amidol verir Bunun threo izomeri optik izomerlere ayrılır. (-) izomerinin dikloro asetilklorür ile muameleden sonra bir baz ilavesi sonucu amid elde edilir. Daha sonra hidroksil grupları asetanhidrid ile korunarak ürün nitrolanır. Koruyucu grupların bir baz ilavesi ile uzaklaştırılması sonucu kloramfenikol elde edilir. Bu sentezin şeması Şekil 2.8. de verilmiştir (Controulis et al., 1949).



ŞEKİL 2.8. Kloramfenikolün sentez şeması

1947'de *Streptomyces Venezuelae*'den izole edilmiş geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Daha sonra aplastik anemiye neden olduğu için türevi olan tiamfenikol kullanılmaya başlanmıştır. Kloramfenikol tek başına kullanıldığı zaman aplastik anemi riski nedeniyle verilisinden itibaren kan tablosu kontrol edilmeli, tedavi süresi uzatılmamalı ve tedavi tekrarlarından sakınılmalıdır. Kloramfenikolün tercih edildiği enfeksiyonlar; menenjit, beyin apsesi, tifo, tifus, anaerobik enfeksiyonlardır.

Kloramfenikol günümüzde sentez yoluyla elde edilmektedir. İlk sentezlenen antibiyotik özelliğini taşımaktadır. Antibiyotik etkisi p- pozisyonundaki nitro grubundan gelmektedir. Antibiyotikler içinde en fazla lipofilik (yağlı ortamlardan kolaylıkla geçebilen) olan antibiyotiktir.

Kloramfenikol ve türevinin çözünürlüğünü artırmak için esterleştirme yapılır. Bu esterler inaktif haldedirler fakat organizmada aktif kloramfenikole dönüşürler. Duyarlı bir kültür ortamı için MİK (minimal inhibitör konsantrasyonu) 1-4 µg/mL'dir. Kloramfenikol gram (+) ve gram (-) bakteriler gibi oldukça değişik mekanizmalara etkilidir.

Kloramfenikol ve türevi ribozomal tek bir reseptöre (50 S) bağlanarak ve polipeptit zincirinin uzamasını inhibe ederek, protein sentezini bloke eden bakteriyostatik bir antibiyotiktir (Di Palma, 1989; Dökmeci, 1992; Kayaalp, 1995). Kloramfenikol plazma proteinlerine %40-60 oranında bağlanır. Tüm organizmaya dağılır ve plezantaya geçer. Hücre içine girer ve karaciğer, böbrek, akciğer ve dalakta toplanır.

Kloramfenikol oral yolla alındıktan sonra barsak mukozasından %100'e yakın oranda absorbe edilir ve kandaki maksimum konsantrasyonuna 2 saatte ulaşır. Normal durumda göz sıvısı ve BOS (beyin -omurilik sıvısı) içine kan konsantrasyonunun ancak yarısı kadarı 7-8 saat içinde dağılır. Lenf dokusundaki konsantrasyonu kandakinden yüksektir. Bu nedenle, tifodaki etkinliği diğer antibiyotiklerden yüksektir. Oral yolla alınan kloramfenikol kapsül şeklinde, palmitat bileşiği şurup olarak verilir. iv veriliş için hazırlanan preparatlar süksinat bileşiğini içerirler. Oral yolla elde edilen serum piki iv şekilde verilenin piki ile eş değerdir. Kloramfenikolün aktif şeklinden 1 gram alındıktan sonra serum piki ~10-13 µg/mL değerine ulaşır. Bu nedenle, oral yolla yetişkinlerde günde 4 kez 3 g olarak verilir. im yolla verilişte

kandaki konsantrasyonu daha düşük olmasına rağmen etkisi daha uzun devam eder (Dökmeci, 1992, Kayaalp 1995).

Palmitat bileşiği pankreas enzimleri tarafından, süksinat bileşiği de karaciğer, böbrek ve akciğerde esterazlar tarafından yeterince hidroliz edilemez. Bu nedenle serum pikleri, aynı dozda oral yolla uygulanan kloramfenikolden düşüktür.

Kloramfenikol karaciğerde glukoronik asitle konjugasyon yaparak %30'u inaktive edilir ve böbreklerden % 5-10' u aktif olarak elimine olur. Kloramfenikolün idrardaki konsantrasyonu plazmadakinden 20 kez daha fazla olduğundan üriner enfeksiyonlarda da oldukça etkilidir. Kloramfenikol süksinat %20-30 oranında inaktif olarak böbreklerden atılır ve plazma yarı ömrü yetişkinlerde 4 saat, yeni doğanlarda 24 saat ve 2-4 haftalık bebeklerde 12 saattir.

Kloramfenikol ve türevinin toksik etkileri sonucu ortaya çıkan bozukluklar şunlardır: Hematolojik bozukluklar, gri sendromu ve nörolojik bozukluklar.

Hematolojik bozukluklar, iki şekilde ayırt etmek mümkündür. Birincisi mitokondrilerdeki protein sentezinin inhibasyonu ile ortaya çıkar. Yüksek dozlarda, uzun süren tedavilerde ve serum konsantrasyonu 25 µg/mL nin üzerine çıktığında bu etkide artış olur. İkinci etki olan aplastik aneminin ise, benzen halkası üzerindeki nitro grubundan kaynaklandığı ve sadece bazı bireylerde görüldüğü bildirilmiştir. Bir kloramfenikol metaboliti olan nitrozo kloramfenikolün bölünmesi devresinde lenfoid hücrelerinin öldüğü görülmüştür. Dozaja bağlı olmayan uzun süreli tedavilerde etkisinde artış olmuştur.

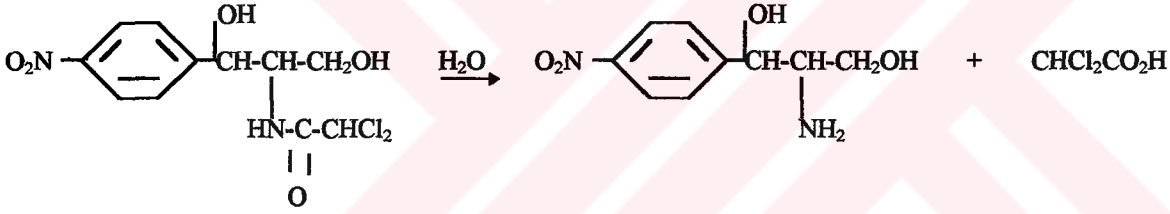
Gri sendromu, pramatüre ve yeni doğanlarda görülmektedir. Böbrekten konjuge olmamış şekillerin atılışının yetersizliği sonucu ortaya çıkar. Bu durumdaki bebeklerin %40'ı ölmektedir.

Nörolojik bozukluklar, görmede meydana gelen bozukluklar olarak kendini gösterir.

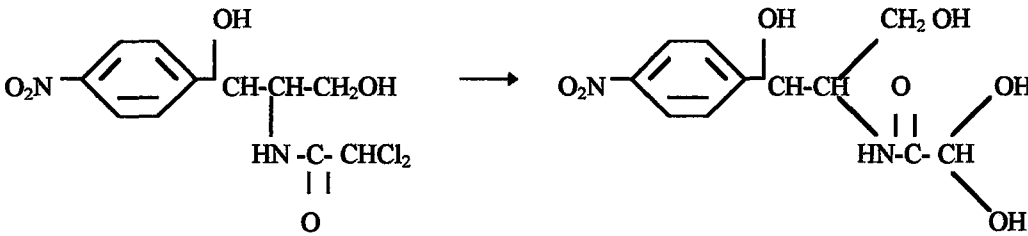
2.1.5. Kararlılığı ve bozunma mekanizması (Szulczewski ve Erg, 1975)

Ambalajsız ilaç olarak veya katı dozaj yapılarındaki kloramfenikol oldukça kararlı bir antibiyotiktir. Fakat saklama koşullarına uyulmadığı zaman özellikle ışıktan ve nemden korunmadığında bozunma meydana gelebilir. Sulu çözeltilerdeki kloramfenikolün kararlılığı hidrolitik proseslerin gerçekleşmesi ile hızla kontrol altında tutulur. Higuchi et al., (1953,1954) iki esas bozunma şekli olduğunu bulmuşlar ve bunların (a) 1-(p-nitrofenil)-2-amino-1,3-propandiol oluşumu ile amid hidrolizi (b) dikloroasetamidteki klorürün hidrolizi olduğunu rapor etmişlerdir.

(a) 1-(p-nitrofenil)-2-amino-1,3-propandiol oluşumu ile amid hidrolizi: pH 7'nin üzerindeki çözeltilerdeki anlamlı bozulmadır ve amid bağlarında hidrolitik kopma meydana gelir. Amid hidrolizini pH; pH 2-6 arasındaki bölgenin üzerindeki değerlerde ve ortamın iyonik kuvvetine bağlı olarak etkiler.



(b) dikloroasetamid'teki klorürün hidrolizi: Kovalent bağlı klorürün hidrolizi pH 6 altındaki değerlerde anlamsızdır fakat pH arttıkça anlam kazanır. Bu artış hidroksil iyonunu katalizlemesi ile oluşur.



Brunzel (1957), kloramfenikolün % 0.5'lik oftalmik çözeltisinin pH 7.4 borat tamponundaki ve tamponsuz sulu çözeltilerinin kararlılığı üzerine çalışmıştır. Sonuç olarak maddenin bu tamponda oldukça kararlı olduğunu bulmuştur. Heward et al., (1970), borat tamponlu kloramfenikolün göz damlaları ile çalışmışlar ve aşağıdaki sonuçları elde etmişlerdir (Çizelge 2.4).

SICAKLIK (°C)	HIZ SABİTİ (k. sa ⁻¹)	HESAPLANMIŞ t % 10
115	0.2188	29 dakika
110	0.7413x10 ⁻¹	85 dakika
30	0.1153x10 ⁻²	38gün
20	0.3589x10 ⁻³	4ay
4	0.4592x10 ⁻⁴	31ay

ÇİZELGE 2.4. Heward et al., (1970) kloramfenikol ile yapmış olduğu çalışmanın sonuçları.

2.1.6. Tayin yöntemleri

2.1.6.1. Tanınma testleri

Kloramfenikol çeşitli belirteçlerle renkli türevler oluşturmaktadır. Renk analizleri USP XVI ve BP 1968'de rapor edilmiştir. Buna göre bir miktar kloramfenikol kalsiyum klorürün alkoldeki (3:1) çözeltisinde çözülür (1:10). Bir miktar çinko tozu ilave edilir ve 10 dakika kadar su banyosunda ısıtılır. Üstteki berrak sıvı bir test tübüne dekante edilir ve susuz sodyum asetat ile bir kaç damla benzoil klorür ilave edilerek çalkalanır. Bir miktar demir (III) klorür ilavesinden sonra kırmızı mor arası renk oluşur. Deutsche Apotheker 6'da sodyum hidroksit ile antibiyotik ısıtılırsa sarı bir rengin oluştuğu rapor edilmiştir.

Spot testi uygulandığında shiff bazı asidik ortamda renkli bir tuz oluşturur. Bunun için nitro grubu amine indirgenerek dimetilaminobenzaldehit ile reaksiyona sokulur. Böylece elde edilen shiff bazı asidik ortamda renkli bir tuz oluşturur.

Mikro miktarlar için amonyum molibdat testinde mavi renk oluşur.

Fujiwara testinde piridin yüzeyinde kırmızı bir renk oluştuğu rapor edilmiştir. Fujiwara testi için toz şeklinde veya çözelti halindeki kloramfenikol örneği piridin ve %20'lik sodyum hidroksit çözeltisi (1:2) karışımına ilave edilir. Karışım su banyosunda 3-5 dakika karıştırılarak ısıtılır. Piridin yüzeyinde kırmızı rengin oluştuğu görülür (Abdullah, 1986).

Doğu ilaç fabrikasının göndermiş olduğu raporda porselen bir krozeeye bir miktar kloramfenikol ve susuz sodyum karbonat konur. 10 dakika ısıtılır ve soğumaya bırakılır. Kalıntı 2M nitrik asitle ekstrakte edilir, süzülür ve 1mL lik süzüntüye çok az su ilave edilerek klorür tayini yapılır.

2.1.6.2. Kantitatif analizler

Titrimetrik yöntemler

Kloramfenikolün analizi için çeşitli titrimetrik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar molekülün p-nitro benzen kısmındaki nitro grubu ile veya dikloroasetamido grubundaki klorür ile ilgilidir.

Awe (1959) ve Hadicke et al., (1956) kovalent bağlı klorürü iyonik klorüre çevirerek arjantometrik titrasyonla kloramfenikolü tayin etmişlerdir.

Subert (1985); Çekoslovak Farmakopesinde geçen ve sodyum hidroksit ile 30 dakika geri soğutucu altında kaynatılıp asitlendirildikten sonra uygulanan arjantometrik kloramfenikol tayinini daha fazla miktarda sülfat asidi kullanarak gerçekleştirmiş, böylece hata sınırını %1'den % 0.5'e indirmiştir.

Koka (1984, 1985, 1988, 1989, 1991) bazı karışımlardaki kloramfenikolün iyodometrik titrasyonunu tanımlamıştır. Örneği sodyum hidroksitle ısıtmış, soğutmuş ve karanlıkta iyodürle muamele etmiştir, sodyum tiyosülfat kullanılarak açığa çıkan iyot tayin edilmiştir. Daha sonra ilaç yapılarındaki kloramfenikolün tayini için hızlı bir iyodometrik yöntem geliştirmiş ve buna göre %10 sodyum hidroksit ve iyodür standart çözeltisine kloramfenikol ilave ederek birlikte 3-4 dakika kaynatmış ve sodyum tiyosülfat ile titre etmiştir. Koka kloramfenikol ile beraber bazı ilaç karışımlarına seriometrik tayini de uygulamıştır.

Kloramfenikolün nitro grubu üzerinden titrimetrik yöntemle analizi Awe ve Stohlman (1959) tarafından arilamine indirgeyerek yapılmıştır. Nitro grubunun indirgenmesinde titanyum klorürün aşırısı kullanılmış ve reaktif fazlası demir amonyum sulfat ile geri titrasyonla tayin edilmiştir. Ayrıca arilamine indirgeme çinko-hidroklorik asit ile gerçekleştirilmiş ve daha sonra arilamin aşırı brom ilave edilerek ve brom aşırısı iyodometrik olarak geri titre edilerek tayin edilmiştir.

El-Sebai et al., (1971) kloramfenikolün nitro grubunun çinko-hidroklorik asit ile amin grubuna indirgenmesi sonucu oluşan aminlerin tayini için çeşitli diazo bileşikleri sentezlemiş ve bunları, sodyum nitrit- amin titrasyonlarında indikatör olarak denemiştir.

Talegaonkar et al., (1982) kloramfenikolün dimetil formamitte alkalimetrik olarak tayinini tanımlamıştır. Dimetil formamitteki kloramfenikol çözeltisi benzen-metanol (4:1) çözeltisindeki sodyum metoksitle titre edilmiş, %1'lik 2-nitroanilin benzende çözeltisi indikatör olarak kullanılmıştır. Renk sarıdan yeşile döner.

Koval'chuk et al., (1985) kloramfenikolü bakırsülfat ile kompleksometrik titrasyonla alkali ortamda mureksin indikatörü kullanarak titre etmiştir. Benzer bir yöntem Proshunina et al., (1991) tarafından uygulanmış ve nitrofuran türevi içeren farmasötik yapılarda kloramfenikol tayin edildiğinde % 0.8-3.0 bağıl hata ile yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği ispatlanmıştır. Proshunina et al., (1989) bir diğer çalışmada alkali ortamda örneğe bakırsülfat çözeltisi, asetik asit ve potasyum iyodür ilave etmişler, açığa çıkan iyod sodyum tiyosülfat ile titre edilmiştir.

Polarografik yöntemler

Nitrofenil grubuna bağlı yöntemler önceden bir ayırma yöntemi uygulanmadığında seçici değildir. Bu nedenle kloramfenikolün analizinde en uygun enstrümantal yaklaşımlar polarografi yöntemi ile sağlanır. Diğer yöntemlere göre girişim yapabilecek bileşenlere karşı daha az duyarlıdır.

Kloramfenikolün polarografik davranışı hakkındaki ayrıntılı çalışmalar Fossdal ve Jacobsen (1971) tarafından rapor edilmiştir. Analitiksel uygunluktaki difüzyon kontrollü polarografik dalga, civa damla elektrotta gerçekleşen 4 elektronlu indirgeme reaksiyonu ile elde edilir. Kloramfenikolün tayin aralığı 0.3-60 µg/mL arasındadır.

Ali (1977) tarafından kloramfenikol ve hidroliz ürünü olan 2 amino-1-(p-nitrofenil)-1,3-propandiol polarografik olarak TLC'de ayırma yapıldıktan sonra incelenmiştir. TLC yerine HPLC ayırma yönteminin kullanılması ile bu iki bileşenin eş zamanlı olarak tayin edilmesine olanak sağlamıştır.

Polak et al., (1982) vücut sıvılarındaki kloramfenikolu diferansiyel puls polarografisi ile tayin etmiştir. Asetonitril veya metanolla proteinleri çöktürdükten sonra pH 4.5 Britton- Robinson tamponunda, civa damla elektrodta -0.4V'ta kloramfenikol indirgenerek tayin edilmiştir.

Kazandzhieva et al., (1986) kloramfenikol ve diğer ilaç etken maddelerini polarografi ile eş zamanlı olarak pH 4.6 Britton- Robinson veya %10 DMF ve %0.01 jelatin içeren asetat tamponunda çözerek tayin etmişlerdir.

Krzek ve Kava (1986) farmasötik yapılarıdaki kloramfenikolle beraber bazı ilaç maddelerini mikrobiyolojik ve fizikokimyasal olarak tayin ettiğinde fizikokimyasal yöntemlerin doğruluğunun yüksek olmasına rağmen mikrobiyolojik yöntemlerin daha düşük standart sapmaya sahip olduklarını saptamıştır. Bu araştırmada kloramfenikole polarografik yöntem uygulanmıştır.

Tang et al., (1990) yapmış olduğu çalışmada kloramfenikole ossilografi türevlendirme polarografisini uygulamıştır. pH 5.0'da çok iyi bir ossilografi türevlendirme dalgası vardır. Kloramfenikolün 4.0×10^{-5} - 1.0×10^{-5} mol.dm⁻³ konsantrasyon aralığındaki miktarlarla pik akımı arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Liao et al., (1992) kloramfenikolü 0 ve -1.5V'ta Ag/AgCl referans elektrodu ile diferansiyel puls polarografisinde çalışmıştır. 4.8×10^{-7} - 6.2×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki miktarlarla pik akımı arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu araştırmanın sonucu olarak derişik alkali çözeltilerdeki kloramfenikolün bozunma ürünleri diferansiyel puls polarografisi yöntemi ile spektrofotometrik yöntemlerden daha kesin olarak tayin edilebilir.

Zhou et al., (1994) sodyum hidrosit çözeltilesindeki kloramfenikolün bir adsorptif indirgenme pikini oluşturmuştur. Bu çalışmadaki dalga pik potansiyeli -0.53 V'tur ve 5.0×10^{-3} - 2.5×10^{-1} µg/mL konsantrasyon aralığındaki miktarlarla pik akımı arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Spektroskopik yöntemler

IR spektroskopisinden ilaç stabilitesinin tayininde yararlanır. Namigoar et al., (1978) ilaç maddesini kapsüllerden, kremlerden ve göz damlalarından etanol veya etilasetat - kloroform ile kloramfenikol palmitatı da kloroform ile ekstrakte ederek IR spektroskopisi ile önce potasyumbromür daha sonra kloroform çözücüsü kullanarak tayin etmiştir.

Nilufri'nin (1982) yapmış olduğu çalışmada kloramfenikol 80°C'de 24 saat kararlı haldeyken 100°C 2 saatte bozunmuştur.

Spektroskopik yöntemler de polarografik yöntemler gibi p-nitrofenil grubu ile ilgilidir. Schwarm ve Higuchi (1954) UV ölçümlerinin spesifik olmadığını çünkü bozunma ürünlerinin de aynı bölgede absorpsiyon yapabileceklerini belirtmişlerdir.

Plourde ve Braun'un (1971) birlikte yapmış olduğu çalışmada bir miktar kloramfenikol 100 mL'ye dikloroetan ile seyreltilir. Bu seyreltik çözeltiye dikloro etan ve piperidin-8-hidroksikinolin vanadat reaktifi ilave edilerek oda sıcaklığında bekletilir. Belirtecini aşırısı M sodyum hidroksit ile ekstre edildikten sonra organik faz sodyum tiyosülfat üzerinden asetik asit içerisindeki % 5'lik dikloro asetik asit çözeltisine süzülür. Oluşan mavi renkli çözeltinin absorbanansı 2.5 saat içinde 625 nm de ölçülür.

Cieszynski et al.,(1976) alkali ortamda kloramfenikolün indirgenme ürününü guayakol ile reaksiyona sokarak mavi bir kompleks oluşturmuştur. 5 saat kararlılığını koruyabilen bu kompleksin absorbanansı 610 nm de ölçülmüştür.

Ivakhnenko et al., (1976)'ün çalışmasına göre kloramfenikolün indirgeme ürününün çok küçük bir miktarına hidroklorik asit ve sodyum nitrit ilave edilir. Bir kaç dakika sonra % 0.3'lük diaminakridin (etakridin laktad veya proflavin) reaktifi ilave edilir. Bir süre sonra çözelti bir miktar seyreltilir ve oluşan diazo bileşiğinin absorbanansı birinci reaktif için 508 nm de veya ikinci reaktif için 584 nm de suya karşı ölçülür.

Przyborowski (1976) hidroksilamonyum klorür içeren ortamda sodyum hidroksitle kloramfenikolün hidrolizini gerçekleştirmiş ve oluşan 2,2-dikloroasetohidroksamik asidin demir(III) ile reaksiyona sokulması ile elde edilen renkli bileşik 505 nm de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Krezek ve Lechniak (1977) kloramfenikolün metanoldeki çözeltisine bakır (II) ilave etmişler ve çöken bakırhidroksidin ayrılmasından sonra süzütünün absorbanansını 550 nm de ölçmüşlerdir. Bakıra karşı gelen kompleksin molaritesinin kloramfenikolünkine oranı 1/2'dir.

Divakar et al., (1984) kloramfenikolün kolorimetrik olarak tayininde brusin ve sodyum meta periyodatı kullanmıştır. Buna göre bir miktar test çözeltisi soğutucu altında hidroklorik asit ile 45 dakika kaynatılır. Hidroklorik asit fazlası uçurulduktan sonra ılık suyla kalıntı çözülür. Bir test tüpüne alınan bu çözeltiye brusin, sodyum periyodat ve sülfat asidi çözeltileri ilave edildikten sonra suyla seyreltilir. Test tübü daha sonra su banyosuna yerleştirilir ve 15 dakika boyunca çalkalanarak ısıtılır. Soğutulduktan sonra 500 nm deki absorbanans ölçülür.

Sastry et al., (1982) kateşol ve iyodu aromatik aminlerin spektrometrik tayininde kullanmıştır. Yöntemde bir miktar potasyum asit flalat tampon çözeltisi (pH 3.1), çok az miktarda % 0.1'lik sulu kateşol, iyod çözeltisi ve amin çözeltisi karıştırılır. Suyla seyreltilir. 5-30 dakika sonra 500 nm den 520 nm ye kadar spektrofotometrik olarak ölçüm alınmıştır. Sastry et al., (1986) iki spektrometrik yöntemi antibiyotikler için tanımlamıştır. Kloramfenikole ikinci yöntem uygulanmıştır. Sodyum metaperiyodat ile oksidasyonun gerçekleştiği bu yöntemde sodyum molibdatla aşırı periyodat maskelenir, oluşan iyodat için pH 3.0'te metanol ve sülfanilamid kullanılarak tayin edilmiştir. Oluşan p-N-metil benzokinonmonoimin sülfanilamid yük transfer kompleksinin absorbansı 520 nm de ölçülür.

Buryak (1981) ise çok içerikli ilaçlar için geliştirdiği yöntemi linolin içeren kloramfenikol merhemlerine uygulamıştır. Buna göre %95'lik etanol ile kaynatma yapılarak süzülür ve gerekli seyreltme etanolla yapıldıktan sonra 226 ve 330 nm arasındaki farklı dalga boylarında absorbansı ölçülmüştür.

Ryabkava et al., (1984) farmasötik preparatlarda borik asit, gliserin, sodyum klorür, çinko sülfat, streptosit, glukoz veya resorsinol içeren kloramfenikolu 278 veya 315 nm de UV spektrofotometrik olarak tayin etmiştir.

İbrahim ve Al-Badr (1979) farmasötik yapılardaki kloramfenikolu proton magnetik rezonans spektroskopisi ile tayin etmişlerdir. İç standart olarak maleik asidin kullanıldığı dimetil sülfoksitte ilacı çözmüşler ve NMR spektrumunu almışlardır. Kloramfenikolün aromatik protonu 7.6 ve 7.5 ppm, maleik asidin vinilik protonu ise 6.25 ppm de gözlenmiştir. Buradan da kloramfenikolün miktarı hesaplanmıştır. Yazarın bir başka çalışmasında da ilacın alkali hidrolizinden sonra 4-nitrozoantripirin ilave edilir ve %80'lik etanol çözeltisindeki karışımın absorbansı 512 nm de ölçülür. İlacın hidroliz ürünü p-nitrofenol olarak tanımlanmıştır (İbrahim et., 1987).

Elsayed et al., (1989) yapmış olduğu ^1H NMR spektroskopik çalışmada 10.0-35.0 mg kloramfenikol konsantrasyon aralığında $I_{\text{ilaç}} / I_{\text{std}}$ konsantrasyon arasında doğrusal ilişki ve miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir.

Abdel Hamid et al., (1987) ortogonal poliamiyalleri (P_w) kullanarak kloramfenikolün alkali bozunma ürünleri varlığında spektrofotometrik tayinini yapmıştır. Bozunma ürünleri ile ön ilaç karışımı hazırlanmış ve 248-314 nm de absorpsanları ölçülmüştür. P_w katsayısı ve tekrarlanabilirliğin bozunma ürünlerine bağlı olduğu bulunmuştur.

Hassan et al., (1988)'ün yapmış olduğu çalışmada çinko-hidroklorik asit ile indirgeme gerçekleşmiş, diazolama ve alkali ortamda etilasetoasetatla oluşan kenetlenme ürünü üzerinden spektrofotometrik tayin yapılmıştır.

Ruan et al., (1988) oftalmik çözeltilerdeki kloramfenikolu 0.1N hidroklorik asit ile seyreltilmişler ve 200-300 nm aralığında 278 nm deki ΔA 'yı diferansiyel spektrofotometrisi ile tayin etmişlerdir.

He ve Sun (1990) koruyucu olarak kullanılan nipagin A içeren oftalmik çözeltilerdeki kloramfenikolün 248, 278, 279 ve 280 nm deki absorpsansı ölçmüş ve spektrofotometrik tayin gerçekleştirmişlerdir.

Montero et al., (1990) saf tozlarda, kapsüllerde, tabletlerde, oral süspansiyonlar ve göz kremlerindeki kloramfenikol tayini için kadmiyum ve çinko kolonu ile nitro grubunun amine indirgenmesine dayanan indirekt AAS yöntemini geliştirmişlerdir. Kloramfenikol %1.5 bağlı standart sapma ile 2-30 $\mu\text{g/mL}$ aralığında tayin edilmiştir.

Valcarcel et al., (1990), kloramfenikol tayini için AAS'ye bağlanarak çalışan FIA monifoldundaki pptn, sıvı-sıvı, katı-sıvı ekstraksiyonu gibi sürekli ayırma tekniklerini kullanmışlardır.

Wang et al., (1990), az miktardaki kloramfenikol ve salisilik asidi susuz etil alkol ile seyreltip eş zamanlı olarak 277 nm ve 230 nm de spektrofotometrik yöntemle tayin etmiştir. Doğrusal kalibrasyon sırasıyla 5-25 $\mu\text{g/L}$ ve 5-40 $\mu\text{g/L}$ 'dir. Geri kazanım ise sırasıyla % 100.72 ve % 103.64'tür.

Vishnesvskii et al., (1992) düşük konsantrasyonlardaki (%0.004-0.005) kloramfenikolün nitroso- β -naftolle reaksiyonuna ve 540 nm deki absorpsanın ölçülmesine dayanan spektrofotometrik yöntemi geliştirmiştir.

Eldawy et al., (1992) kloramfenikolün tayini için basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirmiştir. Bu yöntemde göre asidik ortamda kloramfenikolün nitro grubu çinko ile indirgenir ve salisil aldehyd ile reaksiyona sokulur. Ekzitasyon ve emisyon dalgaboyu maksimumları sırasıyla 386 nm ve 495 nm de olan reaksiyon ürünü oluşur. Ürün miktarının 5.0×10^{-6} - 5×10^{-7} mg/mL konsantrasyon aralığında floresans ile doğrusal olduğu görülmüştür.

Zhang et al., (1991), göz damlalarındaki kloramfenikolü çift dalga boylu spektrofotometri ile tayin etmiştir. Bu çalışmada göz damlaları suyla seyreltilmiş ve ilaçlar $\lambda_R=220$ nm ve $\lambda_S=273$ nm de tayin edildiğinde ortalama geri kazanım % 99.9 ve değişim katsayısı ise % 0.64 olarak bulunmuştur.

Hu et al., (1992) aynı yöntemle daha sonra çalışmış ve 1.0 M hidroklorik asit ile seyreltilmiş göz damlaları $\lambda_R=290$ nm ve $\lambda_S=254.7$ nm de spektrofotometri ile tayin etmiştir. Ortalama geri kazanım % 100.46'dır ve değişim katsayısı ise % 0.85 olarak bulunmuştur.

Hu (1995) yapmış olduğu çalışmada bileşenleri izole etmeden doğrudan çok az miktarları subtraktif çift dalga boylu spektrofotometri ile tayin etmiştir. Bu yöntemin basit, hızlı ve doğru olması bir avantaj sağlar. Kloramfenikolün bu yöntemdeki geri kazanımı % 100.7'dir.

Jing (1995) göz damlalarındaki kloramfenikolü hidrokortizon yanında hiç bir özel ayırma gerektirmeden Kalman filtreli spektrofotometri ile tayin etmiştir. Kloramfenikolün bu yöntemdeki geri kazanımı ise % 100.8'dir.

Göz damlaları için bir başka yöntemi Ma (1996) uygulamıştır. Metronidazol ve kloramfenikol bir arada eşitlikler spektrofotometride 278 nm ve 320 nm deki dalga boylarında tayin edilmiştir. Bu çalışmada kloramfenikolün geri kazanımı % 100.4'tür.

Xiao et al., (1996) üç dalga boylu spektrofotometriyi kullanarak kloramfenikolün oftalmik çözeltilerindeki etil parabenin neden olduğu girişimleri engelleyen ve doğrudan içeriklere uygulanan bir yöntemi geliştirmiştir. 5-25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında standart eğriden elde edilen sonuçların Beer yasasına uyumlu olduğu saptanmıştır. Geri kazanım % 100.5'tir.

Kromatografik yöntemler

Smith ve Warrel (1950) tarafından kloramfenikolün kağıt kromatografik davranışları araştırılmış ve bunun için Watman No1 kağıdı ve mobil faz olarak %2.5'lük asetik asit içeren n-butanol ile doyurulmuş su kullanılmıştır. Çeşitli reaktiflerle farklı bileşikler kromatografi ile tayin edilebilmiştir.

Higuchi (1954) tarafından kloramfenikol bozunma ürünlerinin varlığında partisyon kolonu kullanılarak tayin edilmiştir. Kolon salisilik asit-su ile iç faz olarak hazırlanmıştır.

Libosvar (1962) kloramfenikolün klasik sentezinin izlenmesinde kullanmak amacıyla TLC sistemi geliştirmiştir. Bu yöntemde alüminyumoksit plakalar benzen-etanol (2.5-% 20 etanol) çözücüleri ile birlikte kullanılmıştır.

Lin ve Wang (1966) kloramfenikol ve esterlerini ayırmayı iki çözücü sistemli poliamid ince tabaka plakaları kullanarak başarmıştır. R_f değerleri aşağıdaki gibidir (Çizelge 2.5):

	çözücü A	çözücü B
kloramfenikol	0.35	0.80
kloramfenikol palmitat	0.95	0.90
kloramfenikol süksinat	0.25	0.72

ÇİZELGE 2.5. Lin ve Wang'ın (1966) yapmış oldukları çalışmanın sonuçları

Çözücü A: n-Butanol-kloroform -asetik asit (10:90:0.5)

Çözücü B: n-Butanol-su-asetik asit (82:18:0.5)

Schleederer (1966) ve Lacherme (1964) silika jel plakalar kullanarak çeşitli çözücülerle kloramfenikol ve bozunma ürünlerinin tayini ve ayrılması için çalışmışlardır. Lacherme'nin yapmış olduğu çalışmadan elde ettiği R_f değerleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.6.):

	1. çözücü	2. çözücü
p-nitrobenzaldehit	0.98	0.91
p-nitrobenzoik asit	0.10 -0.15	0.80-0.81
kloramfenikol	0.72	0.89-0.91
1-(p-nitrofenil)-2-amino- 1,3-propandiol	0.08-0.10	0.35

ÇİZELGE 2.6. Lacherme'nin (1964) yapmış olduğu çalışmanın sonuçları.

1. çözücü: etil asetat (suyula doymuş)
2. çözücü: n-Butanol (%2.5'luk asetik asitle doymuş)

Shcwarm et al., (1966) silika jel HF₂₅₄ ince tabaka plakaları kullanarak kloramfenikölü bozunma ürünlerinden ayırmayı başarmıştır. Ayırma işlemi gerçekleştirildikten sonra antibiyotik desorbe edilerek ve fotometrik olarak tayin edilmiştir. Çözücü olarak kloroform-izopropanol (4:1) kullanılmıştır. Kassem'ler (1966) benzer bir yöntemde kloroform .metanol (85:15) mobil faz olarak kullanmıştır.

Soczewinski ve Matuska (1987), farklı çözücüler kullanarak RP-TLC sistemlerinde antibiyotiklerden elde ettiği değerler yardımıyla TLC yöntemini kloramfenikole uygulamıştır.

Yang et al., (1986) basit bir yöntemle kloramfenikol ve bozunma ürünlerinin GC ile analiz koşullarını optimize etmişlerdir. Paslanmaz çelik kolon 80-100 mesh, kolon sıcaklığı 245°C akış hızı 56 mL/dak.'dır. Yang (1988) kloramfenikol ve bozunma ürünü olan 1-(4nitrofenil)2-amino-1,3-propandiolü metanol-etilasetat (3:2) karışımında çözmüş ve bis(trimetilsilanil) asetamid ile türevlendirdikten sonra GC ile tayin etmiştir. Doğrusallık aralığı sırasıyla 0.52-11.27 µg ve 0.15-6.31 µg'dır. Geri kazanım %99.14 ve %102.55'tir.

Kofmacher et al., (1990) kloramfenikol ve üç ilgili bileşiğinin termo spray (TS) LC ve MS analizlerini yapmıştır. Üç ilgili bileşik dehidrokloramfenikol, aminodehidrokloramfenikol ve nitrofenilaminopropandioldür. Kloramfenikolle bu bileşiklerinin baselinelerinin ayrılmasına çalışılmıştır.

Eigendorf (1988) 88 ilacın toksikolojisini belirlemek amacı ile RP Separon SGxC18 kolonu kullanmış, metilsiyandır-fosfat tamponu (pH 2.5)(156: 340) veya metanol-amonyumklorür (6:4) mobil fazlarıyla potansiyel toksisiteler HPLC ile tayin edilmiştir.

USP XXI' de HPLC yöntemi ile çeşitli preparatlardaki kloramfenikolün tayini açıklanmıştır. Kromatografik saflığa kloroform : metanol : glasiyal asetik asit (79: 14: 7) çözücü sistemi ile TLC'de bakılmıştır. Bunun için değişik konsantrasyonlarda kloramfenikolün etanoldeki çözeltileri hazırlanmış ve kromatografik silika jel karışımı ile kaplı TLC plakalarına uygulanmıştır. HPLC yöntemi için, 4.6 mm x 10 cm lik kolon ve 280 nm de dedektör kullanılmıştır. Yaklaşık 1mL/dak akış hızında analitik pikten kolon etkinliği; 1800 teorik plaka, kuyruklanma faktörünün 2.0 ve tekrarlanabilen enjeksiyonlar için standart sapmanın % 1.0 olduğu saptanmıştır.

Borst et al., (1991) RP-HPLC denemesini kloramfenikolün oftalmik çözeltileri için tanımlamıştır: Metanol- su (40:60) içersindeki pH 7.0 tamponu ile oluşturulmuş mobil faz ile RP oktilsilan kolonu kullanılarak 280 nm de kloramfenikol ve 2-amino-(4-nitrofenil)-1,3-propandiol ayrılmıştır. Detektör cevabı kloramfenikol için 0.08-0.13 mg/mL aralığında doğrusallık göstermiştir. Kloramfenikolün geri kazanımı % 99.30'dur.

Sadana ve Ghogare (1991) RP-HPLC yöntemini kloramfenikol ve benzokainin eş zamanlı olarak tayini için geliştirmişlerdir. Bu yöntemde katkı maddeleri ve safsızlıklar hiç bir girişim yapmamışlardır. Kloramfenikolün geri kazanımı % 99.96 olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde analitik kolondan önce μ Bondapak C18 ön kolonu ile Guard-pak ön kolon modeli kontaminasyonları önlemek için önerilmektedir.

Liao et al., (1992) farmasötik yapılarıdaki kloramfenikolü metanolde çözerek mobil faz olarak metanol-su-asetikasit (60:40:0.04) ve 278 nm de dedektör kullanılan bir RP-HPLC yöntemini tanımlamışlardır. Yöntem 0.06-0.14 mg/mL aralığında doğrusallık göstermiş ve ortalama geri kazanım % 100.12'dir.

Brewster et al., (1993) bir yüzey gerilim artırıcı karbondioksit gazı ekstraktörü ile akış halindeki enjeksiyonlu analiz veya HPLC gibi sıvı-faz sistemleri ile beraber çalışan analizler arasındaki basit ilişkiyi tanımlamıştır. Bu yöntemde karbondioksit gazı ile analitin ayrılması için önceki çalışmalarda kullanılan ayırıcı adsorban yatağı ya da HPLC kolonu yerine membran fazlı ayırıcılar kullanılmıştır. Böylece, çözünenlerin analiz sistemlerine kantitatif geçişi sağlanırken girişimler önlenmiştir.

Khalil et al., (1993) kloramfenikol ve hidrolitik ürünü 2-amino-1-(4-nitrofenil)-propan-1,3 diol tayini için bir HPLC prosedürünü tanımlamıştır. Yöntem oda sıcaklığında saklanan kloramfenikolün oftalmik çözeltisine başarılı bir şekilde uygulanmış ve farmakope yöntemine göre daha duyarlı ve hızlı olduğu saptanmıştır.

Liang et al., (1995) C18 kolonunun ve mobil faz olarak su-metanol-asetik anhidrit (600:400:1) karışımının kullanıldığı HPLC ile sülfadiazin ve kloramfenikolün ayrı ayrı analizleri için analitik bir yöntem tanımlamıştır. Ortalama geri kazanım kloramfenikol için % 99.4'tür. Doğrusallık aralığı 54 - 2.81 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Bloemhof et al., (1995) serum örneklerindeki kloramfenikolu RP-HPLC yöntemi ile pH 6.8 de 0.1M potasyumhidrojenfosfat/ izopropil alkol/ THF (84:10:6) çözücü sistemi ve 1.5 mL/dak akış hızıyla 0.5-20.0 mg/L konsantrasyon aralığında tayin etmiştir. Kolon olarak Pinkerton ISRP 6FF II kullanılmış, verim % 94.4 olarak bulunmuştur.

2.2. Kadmiyum Üzerinden İndirekt Atomik Absorpsiyon Spektrometrik Tayinler

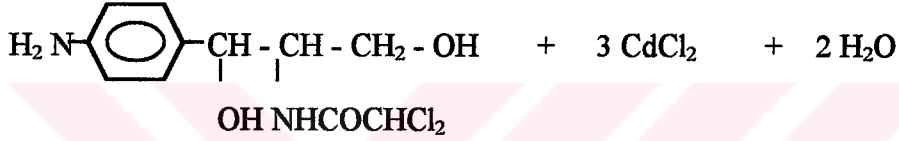
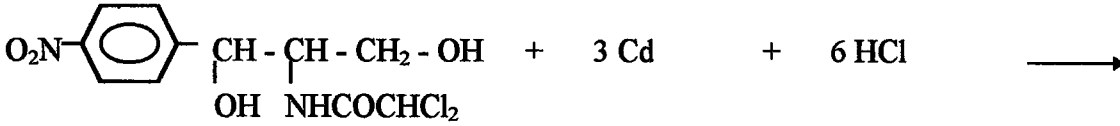
Elementel kadmiyumun kadmiyum (II) iyonuna yükseltgenmesi ve oluşan iyonun 228.8 nm deki atomik absorpsiyonunun ölçülmesine dayanan yöntem çeşitli nitratların ve organik nitro ve nitrozo bileşiklerinin AAS ile indirekt tayinine esas oluşturmuştur.

Nitratların bazik ortamda kadmiyum kolondan geçirilmesi ile oluşan kadmiyum (II) iyonunun AAS ile tayininde, kadmiyumhidroksid çökmesi nedeniyle yetersiz sonuçlar elde edilmiş, ancak seyreltik hidroklorik asitli ortamda



eşitliği uyarınca açığa çıkan kadmiyum (II) iyonu AAS ile saptanarak nitrat iyonu tayinleri gerçekleştirilmiştir (Hassan, 1981). Bu çalışmada oluşan iyon üzerinden potansiyometrik, görsel titrasyon ve polarografik olarak da nitrat tayini yapılmıştır.

Hassan ve Edesouki (1979), aromatik nitro grubu taşıyan kloramfenikolün aynı yöntemle tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada;



eşitliğe göre açığa çıkan kadmiyum (II) iyonu AAS, EDTA ile görsel titrasyon ve iyon -seçici elektrod ile potansiyometrik titrasyonla saptanmış; ayrıca oluşan amin üzerinden diazotomakemleme ile spektrofotometrik tayin yapılmıştır.

Hassan ve Tadros (1983) kadmiyum (II) iyonu üzerinden indirekt yöntemleri nitro ve nitrozo grubu taşıyan çeşitli organik bileşiklerin tayinleri için uygulamışlardır.

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. Maddeler ve Çözücüler

Kloramfenikol (Doğu İlaç Fabrikası), hidroklorik asit (Merck %37), Etanol (Merck %98), kadmiyum granül (Merck, pro analysi; sırasıyla 6 M hidroklorik asit, destile su ve mutlak etanol ile yıkayıp kurutulmuş), kadmiyum sülfat tuzu (Merck), α -naftilamin (Merck), amonyum sülfamat (Merck), sodyum nitrit (Merck), bidestile su (rezervuardan ultra pure olarak elde edilmiştir).

3.2. Çözeltiler

Kloramfenikol ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$)	: 10 mg. mL ⁻¹
Hidroklorik asit (HCl)	: 0.05 N
Hidroklorik asit (HCl)	: 2.50 N
Kadmiyum sülfat tuzu ($CdSO_4 \cdot 8H_2O$)	: 100 μ g.mL ⁻¹
α -naftilamin	: % 0.2
Amonyum sülfamat ($NH_4SO_3NH_2$)	: % 1
Sodyum nitrit ($NaNO_2$)	: % 1

3.3. Gereçler

Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (Spektra A-20, Varian), UV-Visible Bölge Spektrofotometre (Unıcam UV 2-100 UV-Visible Bölge Spektrofotometre), Analitik Terazı (Mettler H 72, 0.1 mg'a kadar duyarlı), Rezervuar (Elga Ultrapure su cihazı), Süzgeç Kağıdı (beyaz, mavi), Çeşitli Cam Malzemeler (Teknik Cam).

3.4. Çalışma Yöntemi

3.4.1. Kadmiyum üzerinden indirekt AAS yöntemi

3.4.1.1. AAS yönteminin koşulları

Kloramfenikolün yapısında bulunan nitro grubunun hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyumu yükseltmesine dayanan yöntemin optimum koşulları AAS ile incelendi. Bu amaçla 1000 mg kloramfenikol tam olarak tartıldı ve 100 mL lik balon jojeye aktarılarak çok az etanolla çözünmesi sağlandı. Daha sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 1 mL lik kısım çift boyunlu 100 mL lik armut balona aktarılıp 10 mL 0.05 N hidroklorik asit ilavesinden sonra geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir granül elementel kadmiyum ilave edilerek kaynatmaya yarım saat devam edildi. Reaksiyon karışımının uygun seyreltmeleri sonunda çözeltide oluşan kadmiyum (II) iyonunun atomik absorbanı suya karşı 228.8 nm de ölçüldü. Bu ölçümlere ait AAS parametreleri:

Dalga Boyu : 228.8 nm

Lamba Akımı : 4 mA

Bant Genişliği : 0.5 nm

Yanıcı Gaz : Asetilen

Yakıcı Gaz : Hava

Gaz Basınçları : 1.5 / 3.5

Işın Kaynağı : Kadmiyum Oyuk Katot Lamba

Okuma Sayısı : 3

Reaksiyonun optimum koşullarını belirlemek amacıyla ısıtma süreleri, asit konsantrasyonları, dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik incelendi. Sonuçlar Bölüm 4.1.1’de verilmiştir.

3.4.1.2. Ölçü eğrisinin hazırlanması

a.) Kadmiyum Standardı ve Ölçü Eğrisi

0.2282 g kadmiyum sülfat tuzu ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) tartıldı, çok az miktarda derişik nitrik asidi : su (1:1) karışımında çözüldü. Daha sonra 100 mL lik balon jøjeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Hazırlanan 1000 ppm lik çözeltiden (stok çözeltisi) 10 mL alınarak 100 mL lik balon jøjeye aktarıldı ve suyla hacmine tamamlandı (100 ppm lik ara stok çözeltisi). Bu ara stoktan alınan 0.3 - 0.6 - 0.9 - 1.2 - 1.5 mL lik porsiyonlar 100 mL lik balon jøjeye aktarılarak suyla hacimlerine tamamlandı. Böylece sırasıyla 0.3 - 0.6 - 0.9 - 1.2 - 1.5 ppm kadmiyum (II) iyonu içeren standartlar elde edildi.

Her bir çözeltideki kadmiyumun atomik absorbansı suya karşı üçer kez okutuldu. Absorbans değerlerinin ortalaması (Å) ile kadmiyum içerikleri arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrisinin regresyon analizi en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Ölçü eğrilerine ait sonuçlar Bölüm 4.1.1'de verilmiştir.

b.) Kloramfenikol Referans Standardı ve Ölçü Eğrisi

1g kloramfenikol 100 mL lik balon jøjede bir miktar etanolde çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı ve çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir balona bu çözeltinin 1mL si ve 10 mL 0.05 N hidroklorik asit aktarılarak, geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir kadmiyum granülü (50 - 100 mg) ilavesinden sonra 30 dakika daha kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 mL lik bir balon jøjeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 0.3 - 0.6 - 0.9 - 1.2 - 1.5 mL lik porsiyonlar 100 mL lik balon jøjeye aktarılarak suyla hacimlerine tamamlandı. Böylece 0.313 - 0.626 - 0.939 - 1.252 - 1.564 ppm kadmiyum (II) iyonu (0.3 - 1.5 ppm kloramfenikol) içeren standart çözeltileri elde edilir. Bu çözeltilerle (a) şıkında olduğu gibi çalışılarak ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrilerine ait sonuçlar Bölüm 4.1.2'de verilmiştir.

3.4.1.3. Kloramfenikol örnekleri ile çalışma

Kloramfenikol içeren kapsüllerin analizi için yirmi adet kapsül içeriği tek tek tartıldı ve ortalama kapsül ağırlığı saptandı. Hazırlanan kapül toz karışımından 250 mg a eşdeğer olacak miktarda hassas olarak tartıldı. Bu amaçla, 1.033 g kloramfenikol örneği bir miktar etanolle 100 mL lik balon jodede çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 1mL lik kısım çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir armut balona aktarılarak 0.05 N hidroklorik asit ilave edilerek geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir kadmiyum granülü (50 - 100 mg) ilavesinden sonra 30 dakika daha kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 mL lik bir balon jojeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 0.9 mL lik kısım 100 mL lik balon jojeye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Atomik absorbanı okunarak buna karşı gelen kadmiyum (II) iyonu miktarından kloramfenikol miktarına geçildi. Örneklere ait sonuçlar Bölüm 4.1.3'te verilmektedir.

3.4.2. Diazonyum tuzu oluşturarak spektrofotometrik yöntem ile tayin

3.4.2.1. Spektrofotometrik yöntemin koşulları

Kloramfenikolün asitli ortamda indirgenmesinden oluşan p-amin grubu üzerinden diazolama-kenetleme ile spektrofotometrik tayin yapılmıştır. Bu amaçla kloramfenikol referans standart çözeltisinden alınan belirli konsantrasyonlardaki çözeltilere 2.5 N hidroklorik asit ve % 1'lik sodyum nitrit ilave edilerek iki dakika bekletildi % 1'lik amonyum sülfamat çözeltisi ilave edildikten sonra iki dakika daha bekletilerek % 0.2'lik α -naftilamin çözeltisinin ilave edilmesinden 30 dakika sonra görünür bölgede aynı koşullar altında hazırlanan boşa karşı absorbanlar okutuldu. Spektrofotometreye ait parametreler:

$\lambda_{\text{başlangıç}}$: 450nm.
λ_{son}	: 650 nm.
λ_{mak}	: 533nm.
Absorbans aralığı	: 0.0 - 1.0
Bant genişliği	: 2.0 nm.
Işın Kaynağı	: Tu Lamba

3.4.2.2. Ölçü eğrisinin hazırlanması

Kloramfenikol Referans Standardı ve Ölçü Eğrisi

1g kloramfenikol 100 mL ik balon jodede bir miktar etanolde çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı ve çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir balona 1mL si ile 10 mL 0.05N hidroklorik asit aktarılarak geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir kadmiyum granülü (50 - 100 mg) ilavesinden sonra 30 dakika daha kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 mL lik bir balon jodaye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltilerden alınan 1.0 - 2.0 - 3.0 - 4.0 - 5.0 mL lik porsiyonlar 10 mL lik balon jodaye aktarıldı. Çözeltilere 1 mL 2.5 N hidroklorik asit ve 0.5 mL %1'lik sodyum nitrit ilave edilerek iki dakika bekletildi, daha sonra 2 mL % 1'lik amonyum sülfamat çözeltisi ilave edilerek iki dakika daha bekletildi. 1 mL % 0.2'lik α -naftilamin çözeltisi ilavesinden 30 dakika sonra görünür bölgede aynı koşullar altında hazırlanan boşlarına karşı okutuldu. Ölçü eğrisine ait sonuçlar Bölüm 4.2.2 'de verilmiştir.

3.4.2.3. Kloramfenikol örnekleri ile çalışma

1.033 g kloramfenikol örneği bir miktar etanolla 100 mL lik balon jodede çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltilerden alınan 1 mL lik kısım çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir balona aktarılarak 0.05 N hidroklorik asit ilave edildikten sonra geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir kadmiyum granülü (50 - 100 mg) ilavesinden sonra 30 dakika daha kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 mL lik bir balon jodaye aktarılarak suyla hacmine tamamlandı. Bu işlem altı ayrı tartıma uygulandı. Bu çözeltilerden alınan 4 mL lik kısımlar 10 mL lik balon jodelere aktarıldı. Çözeltilere 1 mL 2.5 N hidroklorik asit ve 0.5 mL %1'lik sodyum nitrit ilave edilerek iki dakika bekletildi, daha sonra 2 mL % 1'lik amonyum sülfamat çözeltisi ilave edilerek iki dakika daha bekletildi ve % 0.2'lik α -naftilamin çözeltisinden 1mL ilave edilmesinden 30 dakika sonra görünür bölgede aynı koşullar altında hazırlanan boşlarına karşı okutuldu. Örneklere ait sonuçlar Bölüm 4.2.3'de verilmiştir.

4. SONUÇLAR

4.1. AAS Tayin Yöntemi

4.1.1. Yöntemin optimum koşulları

Bölüm 3.4.1.1’de bildirildiği şekilde çalışılarak optimum deney koşulları aşağıdaki gibi belirlendi.

Isıtma Süresi

Kloramfenikolün etanoldeki çözeltisinin 1mL si 0.05 N hidroklorik asidli ortamda değişik ısıtma süreleri denenerek Bölüm 3.4.1.1’deki işlem her bir ısıtma süresinde üç kez tekrarlandı. Bu işlemler sonucunda optimum ısıtma süresi otuz dakika olarak belirlendi (Çizelge 4.1).

t \ A	15 dakika	30 dakika	45 dakika	60 dakika
A _{ort}	0.089	0.142	0.146	0.149

ÇİZELGE 4.1. Değişik ısıtma sürelerinde kloramfenikole ait absorbens değerleri.

Asit Konsantrasyonları Değişimi

Kloramfenikolün etanoldeki çözeltisinin 1mL si ile değişik konsantrasyonlardaki hidroklorik asit çözeltileri denenerek Bölüm 3.4.1.1’de anlatıldığı gibi çalışılmıştır. Her bir asit konsantrasyonunda üçer kez tekrarlanan bu işlem sonucunda 0.05 N hidroklorik asit çözeltisi ile çalışılmasına karar verilmiştir (Çizelge 4.2).

C \ A	0.05 N	0.10 N	0.15 N	0.20 N
A _{ort}	0.139	0.140	0.140	0.140

ÇİZELGE 4.2. Değişik asit konsantrasyonlarında elde edilen absorbens değerleri.

Tekrarlanabilirlik

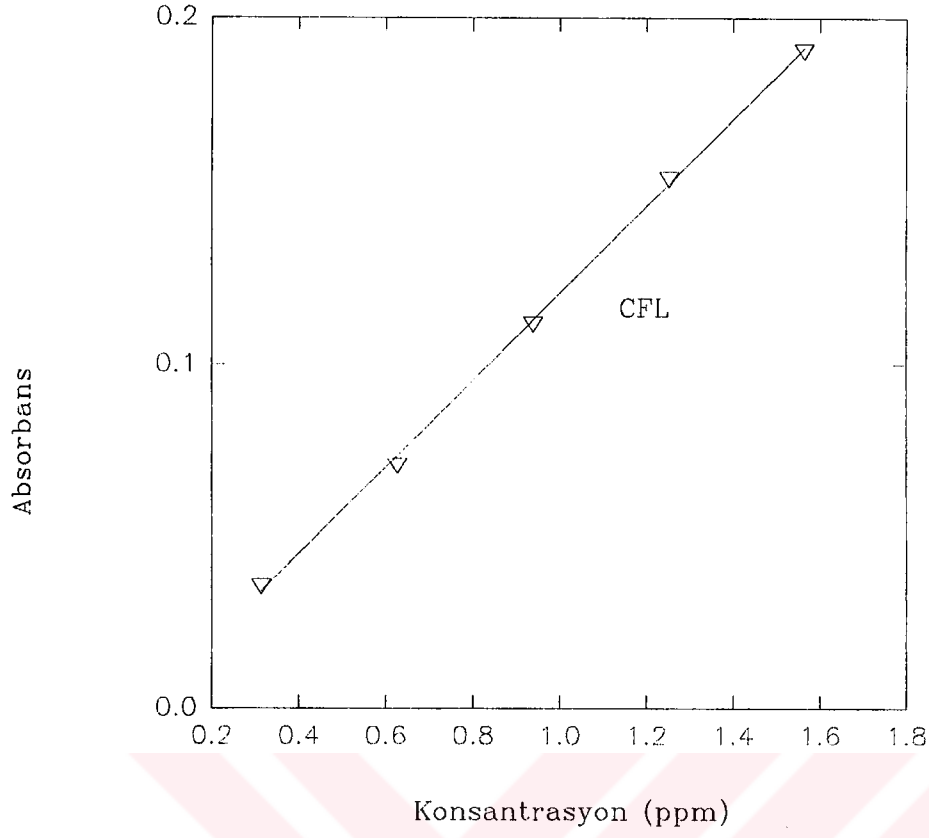
Kloramfenikolün etanoldeki çözeltisinin 1mL si ile 0.05 N hidroklorik asitli ortamda 30 dakika ısıtma süresi ile Bölüm 3.4.1.1'de anlatıldığı gibi iki ayrı tartım için çalışılmıştır. Bu işlem sonunda tekrarlanabilir absorbands değerleri elde edilmiştir (%RSD 1.1, n = 14).

Dayanıklılık

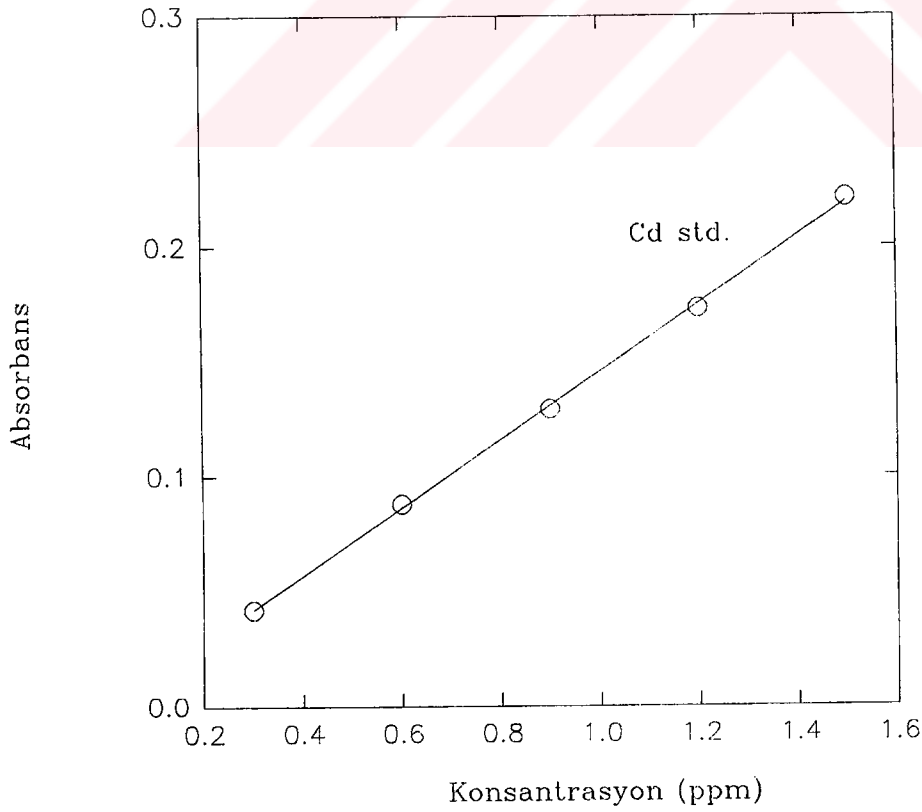
Kloramfenikolün etanoldeki çözeltisinin 1mL si ile 0.05 N hidroklorik asitli ortamda 30 dakika ısıtma süresi ile Bölüm 3.4.1.1'de anlatıldığı gibi çalışılmıştır. Bu çözeltinin absorbandsı değişik süreler sonunda okunmuş ve ışıktan korunması koşuluyla ürünün oda sıcaklığında 5 gün süreyle dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

4.1.2. Ölçü eğrisi

0.3 - 1.5 µg/mL lik kloramfenikol (0.313 - 1.564 µg/mL Cd²⁺) içeren çözeltilerle Bölüm 3.4.1.2.b'ye göre çalışılarak kloramfenikol'ün atomik absorbands değerleri okundu. Ortalama absorbands değerleri ile kloramfenikolün konsantrasyonları arasında bir ölçü eğrisi hazırlandı (Şekil 4.1). Kloramfenikolün 0.05 N hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyumu, kadmiyum(II) iyonuna yükseltgeme verimini belirlemek amacıyla kadmiyum sülfat tuzunu asitte çözerek kadmiyum miktarı bilinen sulu çözeltilerle Bölüm 3.4.1.2.a'ya göre çalışılarak diğer bir ölçü eğrisi hazırlandı (Şekil 4.2). Bu iki doğrunun denklemleri hesaplanarak eğimleri birbirine oranlandığında bu oranın 0.8851 olduğu belirlendi. Bu sonuç, kloramfenikolün indirekt analizindeki işlemlerde kadmiyumun geri kazanım oranının % 88.51 olduğunu göstermektedir.



ŞEKİL 4.1. AAS ile Kloramfenikol tayinine ait ölçü eğrisi.



ŞEKİL 4.2. AAS ile saf kadmiyum (II)'ye ait ölçü eğrisi.

Yukarıdaki sonuçlara dayanılarak çalışma yönteminde Şekil 4.1'deki ölçü eğrisinin esas alınmasına karar verildi. Bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Çizelge 4.3'te, kadmiyum sülfat tuzu ile hazırlanan ölçü eğrisine ait değerler ise Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Kloramfenikol Konsantrasyonu (ppm) [Cd ²⁺ cinsinden]	A ₁	A ₂	A ₃	A _{ort}	% Standart sapma (%S)	Standart sapma (S)
0.313	0.036	0.036	0.036	0.036	0.0	0.0
0.626	0.071	0.072	0.071	0.071	1.0	0.7x10 ⁻³
0.939	0.112	0.113	0.113	0.112	0.9	1.0x10 ⁻³
1.252	0.154	0.154	0.156	0.154	0.9	1.4x10 ⁻³
1.564	0.191	0.191	0.192	0.190	0.5	1.0x10 ⁻³
A= -6.5x10 ⁻³ B= 0.131 r= 0.9985 A= 0.131c + 6.5x10 ⁻³ (r= 0.9985)						

ÇİZELGE 4.3. Kloramfenikol'ün AAS ile indirekt tayini için hazırlanan ölçü eğrisine ait değerler.

Kadmiyum Konsantrasyonu (ppm)	A ₁	A ₂	A ₃	A _{ort}	%Standart sapma (%S)	Standart sapma (S)
0.3	0.042	0.041	0.042	0.042	0.0	0.0
0.6	0.088	0.089	0.088	0.087	1.1	1.0x10 ⁻³
0.9	0.129	0.128	0.131	0.129	1.2	1.6x10 ⁻³
1.2	0.173	0.175	0.171	0.173	1.0	2.0x10 ⁻³
1.5	0.221	0.221	0.221	0.220	0.3	0.7x10 ⁻³
A= -2.3x10 ⁻³ B= 0.148 r= 0.9997 A= 0.148c + 2.3x10 ⁻³ (r= 0.9997)						

ÇİZELGE 4.4. AAS için hazırlanan kadmiyumsülfat tuzunun ölçü eğrisine ait değerler.

4.1.3. Kloramfenikol örnekleri ile çalışma

AAS yönteminin piyasada bulunan kloramfenikol kapsül preparatlarına uygulanabilirliği altı ayrı tartımla denenmiştir. Her bir tartım sonucu hazırlanan örnek çözeltisi ile işlemler üçer kez tekrarlandı ve bir kapsüldeki ortalama kloramfenikol miktarı ölçü eğrisinden hesaplandı. mg cinsinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te görülmektedir.

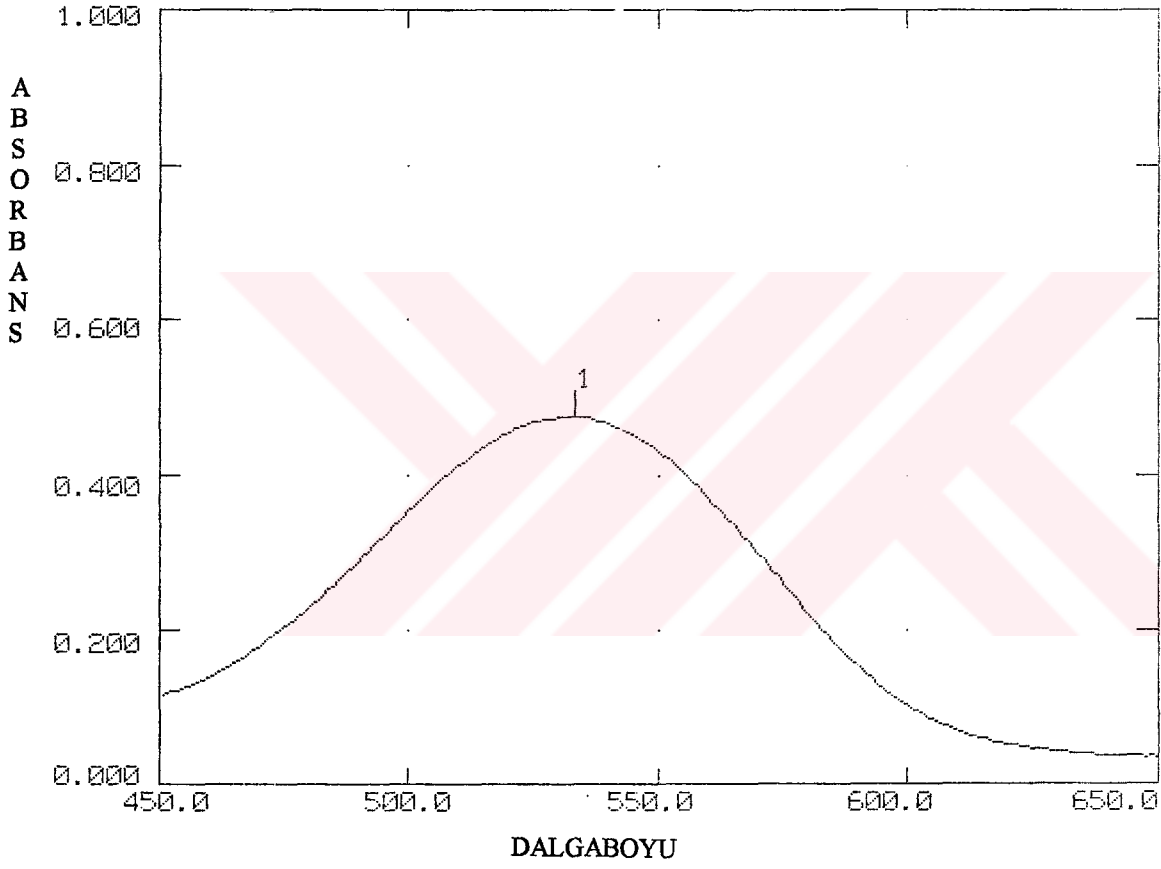
T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
253.72	254.73	250.26	252.64	250.39	251.74

ÇİZELGE 4.5. AAS yöntemi ile tayin edilmiş örneklerdeki kloramfenikol miktarları (mg/kapsül).

4.2. Spektrofotometrik Tayin Yöntemi

4.2.1. Yöntemin çalışma koşulları

1g kloramfenikol 100 mL lik balon jøjede bir miktar etanolde çözüldükten sonra aynı çözücü ile hacmine tamamlandı ve çift boyunlu 100 mL hacmindeki bir balona 1mL si aktararak geri soğutucu altında ve karbondioksit gazı atmosferinde, Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir kadmiyum granülü (50 - 100 mg) ilavesinden sonra 30 dakika daha kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 mL lik bir balon jøjeye aktararak suyla hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden alınan 1.0 - 2.0 - 3.0 - 4.0 - 5.0 mL lik porsiyonlar 10 mL lik balon jøjeye aktarıldı. Çözeltilere 1 mL 2.5 N hidroklorik asit ve 0.5 mL % 1'lik sodyum nitrit ilave edilerek iki dakika bekletildi, daha sonra 2 mL % 1'lik amonyum sülfamat çözeltisi ilave edilerek iki dakika daha bekletilerek % 0.2'lik α -naftilamin çözeltisinden 1 mL ilave edilmesinden 30 dakika sonra görünür bölgede aynı koşullar altında hazırlanan boşlarına karşı okutuldu. Maksimum dalgaboyu 533 nm olarak belirlendi.



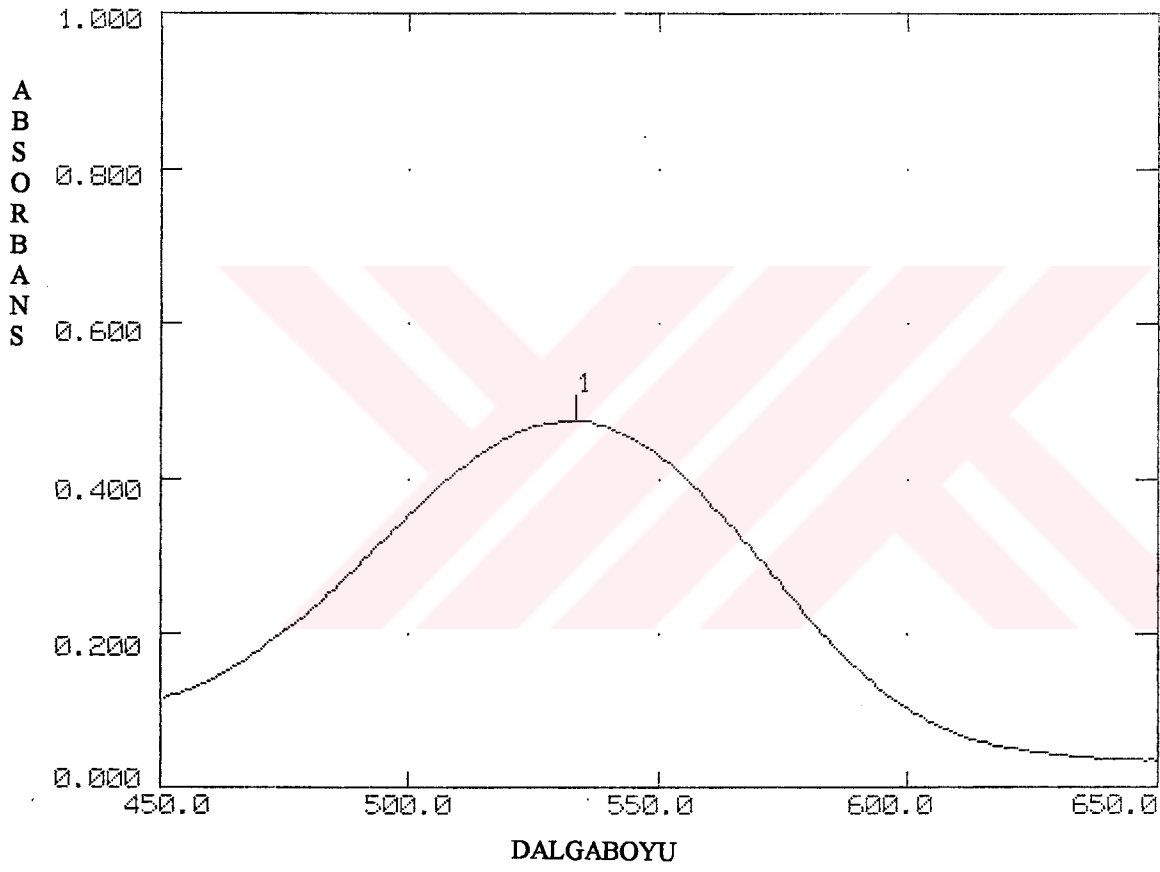
ŞEKİL 4.3. Spektrofometrik yöntem ile tayin edilen kloramfenikolün absorpsiyon spektrumu.

4.2.2. Ölçü eğrisi

Bölüm 3.4.2.3'te anlatıldığı şekilde çalışılarak en son çözeltide 10-50 µg/mL konsantrasyona sahip çözeltiler ile absorpsiyon spektrumları oluşturulmuştur. 40 µg/mL çözelti ile elde edilen spektrum Şekil 4.3'de gösterilmektedir. 10-50 µg/mL konsantrasyon aralığında beş kez çalışılarak ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrisine ait sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Kloramfenikol konsantrasyonu (ppm)	A ₁	A ₂	A ₃	A _{ort}	% Standart sapma (%S)	Standart sapma (S)
10	0.135	0.134	0.131	0.133	1.6	2.1x10 ⁻³
20	0.206	0.240	0.217	0.211	2.1	4.4x10 ⁻³
30	0.376	0.336	0.355	0.356	5.6	0.02
40	0.482	0.466	0.468	0.472	1.9	8.7x10 ⁻³
50	0.565	0.559	0.560	0.560	0.8	4.5x10 ⁻³
A= 0.0209 B= 0.0110 r= 0.9983 $A = 0.0110c + 0.0209 \quad (r = 0.9983)$						

ÇİZELGE 4.6. Spektrofotometrik yöntem için hazırlanan ölçü eğrisine ait değerler (n = 6).



ŞEKİL 4.3. Spektrofometrik yöntem ile tayin edilen kloramfenikolün absorpsiyon spektrumu.

4.2.3. Kloramfenikol örnekleri ile çalışma

Yöntemin piyasada bulunan kloramfenikol kapsül preparatlarına uygulanabilirliği altı ayrı tartımla denenmiştir. Her bir tartım sonucu hazırlanan örnek çözeltilisine işlemler üçer kez tekrarlandı ve kapsüllerdeki ortalama kloramfenikol miktarı ölçü eğrisinden hesaplandı. mg cinsinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de görülmektedir.

T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
252.67	254.75	252.86	253.61	254.61	254.39

ÇİZELGE 4.7. Spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiş örneklerdeki kloramfenikol miktarları (mg / kapsül).

4.3. Sonuçların İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Kemicetine adı ile pazarlanan kapsüller (250 mg kloramfenikol) için Bölüm 4.4.1.3’te anlatılan AAS yöntemi ile ve 4.4.2.3’te anlatılan karşılaştırma yöntemi olarak kullanılan visibl bölge spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ve kıyaslamalar Çizelge 4.8’de verilmektedir. Çizelgede altışar tayin üzerinden hesaplanan ortalama (\bar{x}_i), standart sapma (s), bağıl standart sapma ($[s / \bar{x}_i] \times 100$) ve %95 güvenirlilik düzeyinde güven aralığı ($\bar{x}_i \pm t \cdot \bar{s} / \sqrt{n}$) değerleri görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar, student (t) testi ile ortalamaları, Fisher (F) testi ile prezisyonlar yönünden % 95 güven düzeyinde karşılaştırıldı. Çizelgede görüldüğü gibi hesaplanan t ve F değerleri ilgili güven düzeyi ve altı deneme için tablolarda verilmiş olan değerlerden küçüktür. Bu durumda ilaç maddesinin tayininde kullanılan yöntemler arasında hem doğruluk hem de prezisyon yönünden anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır.

n	AAS Yöntemi (A)	Spektrofotometrik Yöntem (B)
1	253.72	252.67
2	254.73	254.75
3	250.26	252.86
4	252.64	255.13
5	250.39	253.61
6	251.74	254.38
\bar{x}_i	252.25	253.90
s	1.80	1.01
$[s / \bar{x}_i] \times 100$	0.71	0.40
$\bar{x}_i \pm t \cdot s / \sqrt{n}$	250.61 - 253.89	252.98 - 254.82
t testi	$t_{AB} = 1.79 < 2.23$	$t_{tablo} = 2.23$
F testi	$F_{AB} = 3.17 < 5.05$	$F_{tablo} = 5.05$

ÇİZELGE 4.8. Kemicetine kapsüllerinin (250mg. kloramfenikol) analizi (n=6, p= 0.05).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kloramfenikolün kadmiyum üzerinden indirekt atomik absorpsiyon spektrometrik tayin yönteminin optimum koşulları saptandı. Ayrıca kıyas yöntemi olarak seçilen visibl bölge spektrofotometrik yöntemin optimum koşulları incelendi. Piyasada bulunan Kemicetine kapsüllerindeki kloramfenikol içerikleri her iki yöntemle tayin edilerek sonuçlar karşılaştırıldı.

Atomik absorpsiyon spektrometrik yöntem kloramfenikolün seyreltik hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyum ile yarım saat karbondioksit gazı atmosferinde kaynatılmasına ve redoks sonucu açığa çıkan kadmiyum (II) iyonunun 228.8 nm deki atomik absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır (Hassan, et.al., 1979, 1981). Bu çalışmada ilk olarak 1 µg/mL kadmiyum(II) iyonu içeren sulu çözelti ile atomik absorpsiyon spektrometrik yöntemin optimum koşulları belirlendi. Tayin için gerekli ölçü eğrisi, son konsantrasyonu 0.313-1.564 µg/mL kadmiyum (II) iyonu içeren çözeltilerle çalışılarak hazırlandı. Kadmiyum sülfat tuzu kullanılarak hazırlanan standart kadmiyum ölçü eğrisi denkleminin eğimi kloramfenikol referans standardı kullanılarak hazırlanan ölçü eğrisi denkleminin eğimine oranlanarak, indirekt yöntemdeki geri kazanımın % 88,51 olduğu belirlendi. Bu nedenle, kloramfenikol kapsül örnekleri ile çalışılırken kloramfenikol referans standardı kullanılmasına karar verildi. Kloramfenikol kapsül örneklerinden altı ayrı tartım alıp, her tartım için hazırlanan çözelti ile işlem üçer kez tekrarlandı. Böylece kloramfenikol kapsül preparatlarındaki ilaç etken madde miktarı tayin edildi. Her tartım için hesaplanan üç sonucun ortalaması miligram olarak verildi.

Bu yöntemle kloramfenikol kapsül örnekleri ile çalışılması yarım saatte tamamlanmaktadır. Reaksiyon sonunda 1mol kloramfenikole karşı 3 mol kadmiyum (II) iyonu açığa çıkmakta, bu durum da hassasiyeti artırmaktadır. Kadmiyum (II) iyonu çözeltisi dayanıklı olup özel saklama ve kullanma koşulu bulunmamaktadır.

Bu yöntemde oluşan kadmiyum(II) iyonu çözeltisi ile atomik absorpsiyon spektroskopisi yanında polarografik, EDTA ile potansiyometrik, titrimetrik ve ayrıca amin üzerinden diazolama - kenetlenme ile oluşan renkli çözeltilerle de visibl bölgede spektrofotometrik yöntemle çalışma olanağı bulunmaktadır.

Visibl bölge spektrofotometrik yöntem, kloramfenikolün seyreltik hidroklorik asitli ortamda kaynatılmasından sonra elementel kadmiyumun kadmiyum(II) iyonuna yükseltgenmesine paralel olarak kloramfenikolün yapısındaki nitro grubunun indirgenmesiyle oluşan amin grubunun diazonyum tuzu üzerinden renkli diazo bileşiği oluşturmasına dayanmaktadır (Hassan, et al., 1979,1981). Bu çalışmada ilk olarak 100 µg/mL olan test çözeltisinden alınan farklı konsantrasyonlardaki test çözeltilerinde kenetleme reaksiyonu gerçekleştirilerek optimum koşullar belirlendi. Tayin için gerekli ölçü eğrisi son konsantrasyonu 10-50 µg/mL olan çözeltiler ile çalışılarak hazırlandı. Böylece, kloramfenikolün kapsül preperatlarındaki ilaç etken madde miktarı tayin edildi. Her örnek için hesaplanan üç sonucun ortalaması miligram cinsinden verildi. Bu yöntemle kloramfenikol kapsül örnekleri ile çalışma yarım saatte tamamlanmaktadır.

Kloramfenikol kapsüllerinin AAS ve visibl bölge spektrofotometrik yöntemlerle analizinden elde edilen sonuçlar ortalamaları ve prezisyonları yönünden t ve F testi ile karşılaştırılmış ve sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

6. KAYNAKLAR

Abdel-Hamid, M.E.; Abuirjeie, M.A. (1987), "Spectrophotometric determination of chloramphenicol using ortogonal polynomials", *Analyst (London)*, **112** (6), 895-7 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 107, 64945x.

Abdullah Al-Badr, A.; Humeida El-Obeid, A. (1986), *Analytical Profiles of Drug Substances*, Academic Press, Inc., New York, vol. 15: 703-760.

Ali, S.L. (1977) "Application of gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography to the analysis of trace amounts of salycylic acid, acetylsalicylic acid in aspirin samples and asspirin formulations", *Pharm. Ztg.*, **122**, 1816. Ref. *Chem.Abst.* 1977, vol. 86, 21830m. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 725.

Awe, W.; Stohlman, H. (1959), "Volumetric assay of chloramphenicol", *Arch. Pharm.*, **289** (61), 276. Ref. *Chem.Abst.* 1959, vol. 52, 660c. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 77.

Bagdasarova, I.Y.; Luk'yanchikova, G.I.; Tiraspol'skaya, S.G.; Zakrzhevskaya, T.N. (1989), "Analysis of furacilin - containing dosage forms", *Farmatsiya (Moscow)* **38** (1), 29-31 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 160470w.

Bakalov, V.; Koleva, M. (1987), "Polarimetric determination of chloramphenicol in pharmaceutical dosage forms", *Farmatsiya (Sofia)* **37** (3), 5-9 (Bulg). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 107, 205273r.

Berzas, J.J.; Rodriguez Flores, J.; Morena Pardo, M.L. (1994), " Simultaneous determination of furaltadone and chloramphenicol in pharmaceuticals by derivative spectrometry and the derivative of the ratio spectra", *Fresenius J. Anal. Chem.* **349** (10-11), 756-760 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1994, vol. 121, 263798r.

Bloemhof, H.; Greijdanus, B.; Uges, D.R.A. (1995), "Determination of chloramphenicol", *Ziekenhuisfarmacie*, **11**(1), 37-6 (Neth). Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 122, 255387m.

Bornst, S.L.; Kubala, T. (1990), "High-pressure liquid-chromatographic determination of chloramphenicol in ophthalmic solution", *Pharm. Acta Helv.*, **65**(2), 62-4 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1990, vol. 112, 29382p.

Brewster, J.D.; Maxwell, R.J.; Hampson, J.W. (1993), "Membrane interface for on-line supercritical fluid extraction/ flow injection analysis", *Anal. Chem.*, **65**(15), 2137-40 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1993, vol. 119, 39886u.

British Pharmacopeia, (1968), The Pharmaceutical Press, London. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 72.

Brunzel, A. (1957), "Determination of the hydrolytic compounds of chloramphenicol in water containing preparations", *Sv. Farm. Tidskr.* **61**, 129. Ref. *Chem. Abst.* 1957, vol. 51, 10006a. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 68-71.

Buryak, V.P. (1981), "Use of main characteristics of electronic absorption bands in pharmacy" *Farmatsiya (Moscow)*, **30**, 29 (Russ). Ref. *Chem. Abst.* 1981, vol. 94, 167259u. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 729.

Chevalier, M.; Pochard, M.F.; Bel, B. (1995), "Determination of chloramphenicol residues by reversed- phase high performance liquid chromatography in foies gras", *Food Addit. Contam.*, **12**(1), 101-6 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1995, vol. 122, 263779f.

Cieszynski, T.; Adamski, R.; Gill, M. (1976), "Colorimetric determination of o-methoxyphenol with Detreomycin (chloramphenicol)", *Farmasja Pol.*, **32**, 1023. Ref. *Chem. Abst.* 1976, vol. 88, 11976r. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 726.

Controulis, J.; Rebstock, M.C.; Croocks, H.M. (1949), "Chloramphenicol (V) synthesis", *J. Amer. Chem. Soc.*, **71**, 2463 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1949, vol. 44, 567f. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 717.

Cortani, G. (1988), "Extraction of fat- soluble products from fatty matrix by solid- phase extraction ", *Lab. 2000 [Duemila]*, 2(12), 8-9,11 (Ital). Ref. *Chem. Abst.* 1990, vol. 113, 120887t.

Cuff, G.W. (26 Jun 1991, Appl. 89/ 7,603, 05 Oct 1989), "Pharmaceutical semi-solid gels" S. African ZA 89 07,603 (Cl. A61K), 16pp. Ref. *Chem.Abst* 1991, vol. 115, 263496s.

DiPalma, J.R. (1989), *Temel Tıp Farmakolojisi*, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul: 566-567.

Divakar, T.E.; Tummuru, M.K.; Sastry, C.S.P. (1986), "Spectrophotometric determination of rifampisin with metal ions", *Indian Drugs*, 22, 28. Ref. *Chem.Abst.* 1986, vol. 104, 10698p. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 729.

Do Q.D.; Ngo M.T. (1988), "The analysis of the tablets: criteria for the determination of the weight homogeneity", *Tap Chi Duoc Hoc*, (3), 15-19 (Vietnamese). Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 82401h.

Dökmeci, İ. (1992), *Farmakoloji*, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul: 765-771.

Eigendorf, H.G. (1988), "HPLC of 88 toxicologically significant drug on speron SGXC18 RP columns ", *Pharmazie*, 43(4), 278-8 (Ger). Ref. *Chem.Abst.* 1988, vol. 109, 68274s.

Eldawy, M.A.; El-Fatraty, H.M.; Habeeb, A.A.; MaBrouk, M.M. (1992), "Fluorometric determination of chloramphenicol", *Mansoura J. Pharm. Sci.*, 8(2), 151-63 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1993, vol. 118, 87729w.

Elsayed, M. A.H.; Korany, M.A.; Habib, N.S.; Galal, S.M. (1989), "Utility of the least squares metod in the PMR spectrometric assay of chloramphenicol and streptomycine with their degradation products", *Spectrosc. Lett.*, 22 (3), 239-67 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 112, 69175j.

El-Sebai, A.I.; Beltagy, Y.A.; Soliman, R. (1971), "Synthesis of new potential antirheumatic agents", *Pharmazie*, **26**, 615. Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 72, 31682q. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 724.

Fossdal, K.; Jacobsen, E., (1971), "Polarographic determination of chloramphenicol", *Analy. Chim. Acta.*, **56**, 105 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1971, vol. 75, 101334r. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 725.

Gao, H. (1989), "The stability of twelve eye-drops in polyethylene containers", *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **24** (9), 533-5 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 112, 185678z.

Gireva, N. N.; Navtsenya, L. G.; Demchenko, B.I. (1990), "Impurities in levomycetine stearate and purification of its technical product", *Khim. Farm. Zh.*, **24**(8), 56-8 (Russ). Ref. *Chem. Abst.* 1990, vol. 113, 218359x.

Grmusa, J.; Stupar, M.; Vuleta, G.; Perunovic, A. (1985), "Preparation of chloramphenicol ophthalmic solutions in the pharmacy", *Arh. Farm.*, **35** (4), 175-7 (Serbo - Croatian). Ref. *Chem. Abst.* 1986, vol. 104, 95400h.

Gu, W. (1993), "Determination of chloramphenicol in mixed lotions by a convolution curve method", *Yaowu Fenxi Zazhi*, **13**(2), 108-10 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1993, vol. 119, 103457j.

Hadicke, M.; Schimid, G. (1956), *Arch. Pharm.*, **289** (61), 276. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances* 1975, vol. 4: 77.

Hahn, Y.; Jeon, J.S. (1992), "Determination of chloramphenicol by differential pulse polarography", *J. Korean Chem. Soc.*, **36**(4), 552-7 (Korean). Ref. *Chem.Abst.* 1992, vol. 117, 178388e.

Hanif, M.; Husain, S.; Naz, T. (1993), "Determination of chloramphenicol in its various preparation by ring oven technique", *Sci. Int.(Lahore)*, **5**(1), 49-50 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1994, vol. 120, 62382f.

Hassan, S.M.S.; Eldesouki, M.H. (1979), "Determination of chloramphenicol in pharmaceutical preparations by the cadmium ion- selective electrode, spectrometry and atomic-absorption spectrometry" *Talanta*, **26**: 531-536 (Eng).

Hassan, S.M.S. (1981), "New atomic- absorption spectrometric, potentiometric and polarographic methods for the determination of nitrates" *Talanta*, **28**: 89-93 (Eng).

Hassan, S.M.S.; Tadros F. (1981), "Atomic-absorption spectrometric and potentiometric microdetermination of the nitro and nitroso groups in organic compounds ", *Microchemical Journal*, **28**: 20-25 (Eng).

Hassan, S.M.S; Belal, F.; Sharaf El-Din, M.; Sultan, M. (1988), "Spectrophotometric determination of some pharmaceutically important nitro compounds in their dosage forms", *Analyst (London)*, **113**(7), 1087-9 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1988, vol. 109, 135068t.

He, G.; San, H. (1990), "Determination of chloramphenicol in ophthalmic solution by linear combination of absorbances", *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **25** (7), 413-15 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 113, 237952b.

Heward, M.; Norton, D.A.; Rivers, S.M. (1970), " Stability to heat and subsequent storage of chloramphenicol ", *Pharm. J.*, **204**, 386. Ref. *Chem.Abst.* 1970, vol. 73, 18466y. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances* 1975, vol. 4: 68-71.

Higuchi, T.; Bias, C. (1953), "Kinetics of degradation of chloramphenicol in solution (I) rate of formation of chloride ion in aqua media", *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, **42**, 707 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1953, vol. 48, 2456f. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances* 1975, vol. 4: 68-71.

Higuchi, T.; Marcus, A.D.; Bias, C.D. (1953), " Assay method of chloramphenicol", *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, **43**, 135 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1953, vol. 48, 6078b. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances* 1975, vol. 4: 77.

Higuchi, T.; Marcus, A.D. (1954), "Kinetics of degradation of chloramphenicol in solution (III) specific I tion catalysis and temperature dependencies of the degradative reactions", *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, **43**, 530 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1954, vol. 49, 9370d. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances* 1975, vol. 4: 68-71.

Hu D. (1995), "Quantative analysis of compound tincture of chloramycetine by multiplication substractive dual- wavelength spectrophotometry", *Huaxi Yaoxue Zazhi*, **10**(4), 223-5 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1996, vol. 124, 156193e.

Hu, Q.; Zhou, B.; Jing, W. (1992), "Determination of chloramphenicol in ear drops by dual wavelength UV spectrophotometry", *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, **23**(8), 296-7 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1993, vol. 118, 109872s.

Hummert, C.; Luskas, B.; Siebenlist, H. (1995), "Determination of chloramphenicol in animal tissue using high performance liquid chromatography with a coloumn- switching system and ultraviolet detection", *J. Chromatogr.; B: Biomed. Appl.*, **668**(1), 53-8 (Eng) Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 123, 25097h.

Hurka, W.; Hopfgtner, J.; Fischer- Colbrie, H. (May 1988, Appl. 84/2.829, 04 Sep 1984), "Process for the preparation of oil- containing granules for use as pharmaceutical carriers" Austrian AT 385,654 (Cl. A61K9/ 16), **10**; 8 pp. Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 160377w.

Ibrahim, El-Sebai, A.; Al- Bader, A.A. (1979), *Spectrsc. Lett.*, **12**, 199 (Eng). Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 730.

Ibrahim El-Sebai, A.; Beltagy, Y.; Abdel Salam, M.; Kholief, M. (1985, Pub. 1986), "Spectrophotometric determination of chloramphenicol using 4- nitrosoantipyrine", *Egypt. J. Pharm. Sci.* **26** (1-4), 245-52 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 106, 219671k.

Ivakhnenko, P.N.; Chigrenko, L.S.; Kilyakova, G.M.; Ventsel, E.S.; Vasil'chenko, L.Y. (1976), "Photometric determination of streptomycin, sulgin, urosulfan, levomycetin and phenacetin", *Farmatsiya (Moscow)*, **25**, 85, (Russ). Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 727.

James, K.; Leach, R.H. (1970), "Stability study of chloramphenicol in topical formulations", *J. Pharm. Pharmacol.*, **22**, 612 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1970, vol. 73, 69776. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 56.

Jing, K.; Zhang, B.; Tang, W. (1996), "Kalman filter spectrophotometric determination of two components in compound chloramphenicol eye drops", *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, **16**(5), 210-1 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1996, vol. 125, 309235t.

Kassem, M.A.; Kassem, A.A. (1966), *Pharm. Ztg.*, **48**, 1792. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 83.

Kostenbauder, H.; Higuchi, T. (1956), "Formation of mol. complexes by soluble amides (I) interactions of amides with p- hydroxybenzoic acid, salicylic acid, chloramphenicol, and PhOH", *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, **42**, 707 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1956, vol. 50, 15460b. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 56.

Kayaalp, O.S. (1995), *Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara: 111-113.

Kazandzhieva, P.; Nin'ova, N.; Nedelchev, I. (1986), "Some applications of polarography in analysis of drug dosage forms. I. Polarographic determination of chloramphenicol and tylosin in combined pharmaceuticals", *Farmatsiya (Sofia)*, **36** (4), 6-12 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 106, 73006y.

Khalil, Saleh A.H.; Shah, Arif H.; Al-Shareef, Abdullah H. (1993), "A reversed-phase HPLC method for the determination of chloramphenicol and its hydrolytic product in ophthalmic solutions", *Anal.Lett.*, **26**(6), 1163-79 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1993, vol. 119, 125310h.

Kofmacher, W.A.; Getek, T.A.; Hansen, E.B., Jr.; Cerniglia, C.E.; Abau-Khalil, S.; Yunis, A.A. (1990), "Application thermospray liquid chromatography- mass spectrometry for the analysis for chloramphenicol and three related compounds ", *J. Chromatogr. Sci.*, **28** (5), 236-8 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 113,103491s.

Koka, I.P. (1988), "Cerometric determination of drugs in some mixtures", *Farmatsiya (Moscow)*, **37** (6), 63-4 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 82630g.

Koka, I.P. (1989), "Accelerated metod of iodometric determination of levomycetine in dosage forms", *Farmatsiya (Moscow)*, **38** (2), 66 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 219178n.

Koka, I.P. (1991), "Determination of chloramphenicol in medicines" USSR SU 1,644,023 (Cl. G01N31/16), 23 Apr 1991, Appl. 4,187,577, 30 Jan 1987. *Otkrytiya, Izobret.* (15), 163-4. Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 287347v..

Koval'chuk, T.V.; Medvedovskii, A. A.; Rinker, K. M.; Arzyaeva, O.A. (1985), . "Analysis of some drug forms" *Farm. Zh. (Kiev)*, (5), 77-8 (Ukrain). Ref. *Chem. Abst.* 1986, vol. 104, 75142x.

Koval'chuk, T.V.; Medvedovskii, A. A.; Gerasimchuk, T. V. (1989), " Express analysis of
~~some pharmaceutical dosage forms" Farm. Zh. (Kiev) (5) 76-7 (Ukrain) Ref. Chem. Abst.~~

Le, V.H.; Pham X.V.; Nguyen, T.G. (1994), "Determination of chloramphenicol by square wave polarography", *Tap Chi Duoc Hoc*, (6), 23-5 (Vietnamese). Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 122, 299233n.

Liang, Z.; Li, Z.; Huang, X. (1995), "Separative determination of the content of sulfadiazine and chloramphenicol in compound sulfadiazine powder by high-pressure liquid chromatography", *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **30**(3), 160-2 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 122, 248513w.

Liao, H.; Hou, X.; Cao, H.; Dou, H. (1992), "Reverse - phase liquid chromatographic determination of chloramphenicol from pharmaceutical preparations", *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, **27**(6), 351-3 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1992, vol. 117, 178400c.

Libosvar, J.; Nebdal, J.; Hach, V. (1962), "Use of chromatography on a thin layer of Al₂O₃ for the control of the classical chloramphenicol synthesis", *Cesk. Farm.*, **11**, 73. Ref. *Chem.Abst.* 1962, vol. 57, 16452d. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 83.

Lin, Y.T.; Wang, K.T. (1966), "Polyamid thin-layer chromatography of chloramphenicol and its derivatives", *J. Chromatog.*, **21**, 158 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1966, vol. 64, 14030d. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 80.

Ling, P.; Zhang, Q.; He Y. (09 Mar 1994, Appl. 93,111,304, 17 Jun 1993), "Eye lotions containing chloramphenicol and other ingredients for treating conjunctivitis", *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1,083,360* (Cl. A61K33/22), 4 pp. Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 122, 64345m.

Lu, G. (1988), "Content uniformity of chloramphenicol and metoclopramide tablets", *Yiyao Gongye*, **19** (11), 508-10 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 110, 82616g.

Ma, H.; Qian, K.; Tan, K.; Yang, J. (1996), "Determination of metrodazole and chloramphenicol acne liniment by simultaneous equation spectrophotometry", *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, **16**(5), 211-13 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1996, vol. 125, 309236u.

Mavlyandzhanov, Sh.K.; Tentesova, A.I.; Valevko, S.A.; Gorodetskii, L.Sh.; Bagreea, M.R.; Zakosarenko, E.N. (1986), " Kinetics of dissolution of levomycetine of different origins " *Khin. Farm. Zh.*, **20** (10), 1254-7 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 106, 38329j.

Medvedovskii, A. A.; Koval'chuk, T.V.; Gerasimchuk, T. V. (1991), " Method of identification of chloramphenicol" USSR SU 1,644,025 (Cl. G01N31/22), 23 Apr 1991, Appl. 4,610,853, 25 Oct 1988. *Otkrytiya, Izobret.*, (**15**), 164. Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 287346u.

Montero, R.; Gallego, M.; Valcarcel, M. (1990), "Determination of chloramphenicol by coupling a continuous reduction system to atomic absorption spectroscopy", *Talanta*, **37**(12), 1129-32 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1990, vol. 113, 109045s.

Namigoar, F.; Makhani, M.; Ahdoute, K. (1978), *Trav. Soc.Pharm. Montpellier*, **38** , 369. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 730.

Negoro, H., (1957), *Annual Report, Takanime Research Institute*, **9**, 77. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 56.

Nilufri, Q. (1976), *Maj-Doneshgah-e Tehran, Doneshkade-ye Daruasazi*, **62**. Ref. *Chem. Abstr.* 1982, vol. 92 , 82330u. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 730.

Plourde, J.R.; Broun, J. (1971), "Colorimetric determination of quipheresin in pharmaceutical preparations" *J.Pharm. Belg.*, **26**, 591. Ref. *Chem. Abstr.* 1971, vol. 74 , 34666q. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 726.

Polak, J.; Zofka, P.; Volke, J. (1982), *Chem. Listy.*, **76** , 872. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 725.

Proushunina, D.V.; Vishnevskii, O.V.; Medvedovskii, A.A.; Fleish, N.L. (1989), "Titrimetric method of determination of levomycetine" USSR SU 1,467,506 (Cl. G01N31/16), 23 Mar 1989, Appl. 4,246,631, 19 May 1987. *Otkrytiya, Izobret.*, (11), 182. Ref. *Chem.Abst.* 1989, vol. 111, 16973r.

Proushunina, D.V.; Vishnevskii, O.V.; Medvedovskii, A.A.; Fleish, N.L. (1991), "Determination of levomycetine in the presence of nitrofurantoin", *Farmatsiya (Moscow)*, **40**(3), 66-8 (Russ). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 57308d.

Przyborowski, L. (1976), "Colorimetric determination of chloramphenicol and its palmitate in pharmaceutical preparations", *Acta Pol. Pharm.*, **33**, 223. Ref. *Chem.Abst.* 1976, vol. 85, 198208v. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 727.

Ruan, J.; Xiao, X.; Yang, T.; Qu, C. (1988), "Differential spectrophotometric determination of chloramphenicol in ophthalmic solution", *Yaoxue Tongbao*, **23**(5), 295-6 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1988, vol. 109, 176438g.

Ryabkova, L.B.; Pogodina, L.I.; Polyakova, L.V. (1977), *Mater S'ezda Farm.*, **146**. Ref. *Chem. Abst.* 1980, vol. 92, 11650b. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 729.

Sadana, G.S.; Ghore, A.B. (1991), "Simultaneous determination of chloramphenicol and benzocaine in topical formulations by high-performance liquid chromatography", *J. Chromatogr.* **542**(2), 515-20 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 15716e.

Sastry, C.S.P.; Rao, M.V.L.; Murthy, K.V.S.S. (1982), "Spectrophotometric determination of some antitubercular drugs", *J. Indian Chem. Soc.*, **59**, 1107. Ref. *Chem. Abst.* 1982, vol. 96, 205489v. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1986, vol. 15: 729.

Sastry, C.S.P.; Divakar, T.E.; Prasad, U. V. (1986), "Indirect spectrophotometric methods for the determination of antibiotics with iodine or periodate, and metol and sulfanilamide", *Talanta*, **33** (2), 146-6 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1986, vol. 105, 12199w.

Schleederer, E. (1966), "Naturally occurring acetylenic compounds, as active ingredients in medicinal and poisonous plants", *Cosm. Pharm.*, **3**, 17. Ref. *Chem. Abst.* 1966, vol. 57, 8653g. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 82.

Schwarm, E.; Dabner, C.; Wilson, J.; Boghosian, M. (1966), "Non-specificity of published assay for chloramphenicol solutions", *J. Pharm. Sci.*, **55**, 744 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1966, vol. 65, 18431f. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 77.

Shukla, I.C.; Rai, O.P.; Ahmed, S. (1990), "A new method for the assay of chloramphenicol", *Natl. Acad. Sci. Lett. (India)*, **13** (10), 373-4 (Eng). Ref. *Chem. Abst.* 1991, vol. 115, 79038t.

Siebenbrodt, I.; Keipert, S. (1991), "Development and characterization of multicomponent systems containing surfactants for possible ophthalmic use", *Pharmazie*, **46**(6), 425-8 (Ger). Ref. *Chem. Abst.* 1992, vol. 116, 91255q.

Smith, G.; Worrel, C.S. (1950), "Analysis of chloramphenicol and decomposition product", *Arch. Biochem.*, **28**, 1. Ref. *Chem. Abst.* 1950, vol. 45, 3011e. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 80.

Soczewinski, E.; Matyska, M. (1987), "RP-TLC in analysis of tetracyclines and chloramphenicol and macrolides", *Farm. Pol.*, **43** (2), 73-8 (Pol). Ref. *Chem. Abst.* 1988, vol. 108, 11293x.

Subert, J. (1985), "Determination of chloramphenicol", *Farm. Obz.*, **54** (10), 449-51 (Czech.). Ref. *Chem. Abst.* 1986, vol. 104, 751117t.

Szulczewski, D.; Eng, F. (1975), *Analytical Profiles of Drug Substances*, Academic Press, Inc., New York, vol. 4: 50-90 (Eng).

Tang, Q.; Sun, C.; Wang, J.; Zhang, H. (1990) "Study on chloramphenicol by single-sweep oscillography polarography", *Zhejiang Gongxueyuan Xuebao*, **46**, 84-8 (Ch). Ref. *Chem. Abst.* 1990, vol. 113, 12237x.

The Merck Index, (1989), Merck & Co., Inc., USA: 318-319.

The United States Pharmacopeia XVI, (1960) The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockwill. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 72.

The United States Pharmacopeia XXII and The National Formulary XVII, (1990), The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockwill: 271-279.

Thoma, K.; Marschall M. (1991), "Chemical stability and expiration dates of eyedrop formulations. Part 1. Formulation of the NRF/DAC and the East Germany Pharmacopeia", *PZ Wiss.*, 4(3), 127-31 (Ger). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 239500t.

Thoma, K.; Marschall M. (1991), "Chemical stability and expiration dates of eyedrop formulations. Part 2. Formulation of the the Nederlandse Apothekers", *PZ Wiss.*, 4(3), 132-8 (Ger). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 239501u.

Trolle-Lassen, C. (1953), "Food poisoning from cod-roe contaminated by mustard gas", *Arch. Pharm. Chem.*, 60, 689. Ref. *Chem.Abst.* 1953, vol. 48, 2943f. Ref. *Analytical Profiles of Drug Substances*, 1975, vol. 4: 68-71.

Valcarcel, M.; Gallego, M.; Montero, R. (1990), "Indirect continuous automatic determination of pharmaceuticals by atomic absorption spectroscopy", *J.Pharm. Biomed. Anal.*, 8(8-12), 655-61 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 114, 12925m.

Valko, K.; Slegel, P. (1991), "Molecular modeling for mobil phase optimization in RP-HPLC", *J. Liq. Chromatogr.*, 14(16-17), 3167-79 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 287284x.

Vishnevskii, O.V.; Proushunina, D.V.; Medvedovskii, A.A.; Fleish, N.L. (1992), "Determination of levomycetine at low concentrations by photometry", *Farm. Zh. (Kiev)*, (1), 61-4 (Ukrain). Ref. *Chem.Abst.* 1992, vol. 116, 221673n.

Waldon, D.J.; Kubicek, M.F.; Johnson, G.A.; Buhl, A.E. (1993), "A HPLC- based chloramphenicol acetyltransferase assay for assessing hair growth: comparison of the sensitivity of UV and fluorescence detection", *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **31**(1), 41-5 (Eng). Ref. *Chem.Abst.* 1993, vol. 118, 163760s.

Wang, K.; Xu, C.; Liu, H. (1991), "Determination of chloramphenicol and salicylic acid in compound chloramphenicol tincture by simultaneous equations spectrophotometry", *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi*, **11** (4), 172-3 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1991, vol. 115, 79019n.

Xiao, R.; Bo, S.; Luo, L. (1996), "Determination of chloramphenicol ophthalmic solution by three wavelenght spectrophotometry", *Huaxi Yaoxue Zazhi*, **11**(3), 142-4 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1996, vol. 125, 309230n.

Yang, J.; Xiang B.; An, D. (1986), "Optimization of experimental conditions for gas chromatographic analysis of chloramphenicol and its decomposition products by simplex metod", *Nanjing Yaoxueyuan Xuebao*, **17** (3), 197-200 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1987, vol. 106, 9432g.

Yang, J. (1988), "Gas chromatographic determination of chloramphenicol and it's degradation products", *Yaowu Fenxi Zazhi*, **8**(1), 40-2 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1988, vol. 108, 226926s.

Zang, J.; Gao, W.; Jin, X. (1991), "Double wavelength spectrometric determination of chloramycetine and ephedrin in nasal drops", *Shenyang Yaoxueyuan Xuebao*, **8**(3), 212-13 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1992, vol. 116, 46434m.

Zhou, L.; Zhu, Q.; Cai, Y.; Zhang, S. (1994), "Determination of chloramphenicol in eye drops by absorption stripping voltametry", *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, **25**(6), 276-8 (Ch). Ref. *Chem.Abst.* 1995, vol. 122, 38972u.

ÖZGEÇMİŞ

- Doğum Tarihi** : 22 Kasım 1972
- Doğum Yeri** : İstanbul
- İlk Öğrenim** : Faik Reşit Unat İlkokulu, İstanbul, 1978-1983
- Orta Öğrenim** : Erenköy Kız Lisesi, İstanbul, 1983-1986
- Lise Öğrenim** : Özel Ortadoğu Lisesi, İstanbul, 1986-1990
- Yüksek Öğrenim** : Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
1991-1995
- Yüksek Lisans** : Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı Anorganik Kimya
1995-1998

