

T.C.
ANADOLU UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ ANALİTİK YÖNTEMLERLE
RANİTİDİN HCl'İN MİKTAR TAYİNLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kim.Müh. Zeki ATKOŞAR

ANADOLU UNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
Eskişehir - 1988

Anadolu
Mühendislik
Kütüphanesi

Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımızda maddi ve manevi destekleriyle bizlere her konuda yardımcı olan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof.Dr. İhsan SARIKARDAŞOĞLU'na,

Tez konumun seçiminde ve çalışmalarım sırasında büyük bir anlayış ve iyi niyetle her türlü yardım ve desteğini esirgemiyen Hocam, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Temel Bilimler Bölüm Başkanı Sayın Doç.Dr. Muzaffer TUNÇEL'e,

Teknik olanaklarından yararlandığım Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Müdürü ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekan Yardımcısı Sayın Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞER'e,

İlacın sağlanmasında yardım ve ilgilerini esirgemiyen Sayın Dr. Füsun YETİMOĞLU'na,

Ayrıca teşvik ve yardımlarıyla çalışmalarına hız veren Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda ve Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezinde görevli arkadaşlarıma,

Anlayış ve sabırla her zaman yanımda olan Eşim Güray ATKOŞAR'a, Teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
2.1. Fiziksel özellikleri	3
2.2. Kimyasal özellikleri	3
2.3. Farmakolojik özellikleri	4
2.4. Miktar tayini yöntemleri	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Kullanılan kimyasal maddeler	11
3.2. Kullanılan aletler	12
3.3. Miktar tayini yöntemleri	12
3.3.1. Potansiyometrik yöntem	12
3.3.2. Arjantometrik yöntem	13
3.3.3. Susuz ortamda $HClO_4$ ile titrimetrik yöntem ..	13
3.3.4. İTK-densitometrik çalışma	14
3.3.5. Voltametrik çalışma	15
4. BULGULAR	16
4.1. Ranitidin HCl 'in UV spektrumu	16
4.2. Ranitidin HCl 'in IR spektrumu	17
4.3. Potansiyometrik yöntem bulguları	17
4.4. Arjantometrik yöntem bulguları	21
4.5. Susuz ortamda $HClO_4$ ile titrimetrik yöntem bulguları	24
4.6. İTK-densitometrik çalışma bulguları	27
4.7. Voltametrik çalışma bulguları	31

	<u>Sayfa</u>
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	33
ÖZET	37
SUMMARY	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ranitidin HCl peptik ülser, duodenum ülseri, ameliyat sonrası oluşan ülserler, Reflux özafajit'i, Zollinger-Ellison sendromu, hiperasiditeli gastrit ve dispepsi tedavileri ile doğum sürecindeki asit aspirasyonunu önlemede kullanılan yeni ve oldukça etkili bir H_2 -reseptör antagonistidir (1).

Bu madde üzerindeki çalışmalar 1978 yılında görülmeye başlamış, daha sonraki yıllarda giderek yoğunlaşmış ve halen de artan sayıda çalışmalarla devam etmektedir.

Midedeki gastrik asit salınımının uygun bir inhibisyonunu sağlayabilmek için ilacın belirli minimum plazma derişimini kazanması gerekmektedir. Bu yüzden vücut sıvılarındaki ranitidin ve metabolitlerinin miktarlarının belirlenmesi önem kazanmış ve bu önem nedeniyle çeşitli tayin yöntemleri ortaya çıkmıştır.

Bu yöntemler arasında plazma, serum ve idrardan HPLC ile (2-10), HPLC-Mass spektroskopisi ile (11,12), radyoimmünojenik (13), damlayan civa elektrot kullanılarak polarografik (14) ve kolorimetrik (15,16) olanlar sayılabilir.

Bu çalışma üç bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde potansiyometrik yolla ranitidin HCl için yeni bir tayin yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar ranitidin HCl'in arjantometrik ve susuz ortamda $HClO_4$ ile gerçekleştirilen miktar tayini sonuçları ile karşılaştırılmıştır. İkinci bölümde İnce Tabaka Kromatografisi-densitometrik ve döner platin elektrot kullanılarak voltametrik yöntemlerle tayin koşulları araştırılmış, elde edilen veriler değerlendirilmeye ça-

lışılmıştır. Çalışmanın son bölümünde, üzerinde durulan yöntemlerle iki ayrı firmanın ürettiği ranitidin HCl tabletleri üzerinde miktar tayinleri yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılarak majistral formlara uygulanabilirlik durumları araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Fiziksel özellikleri:

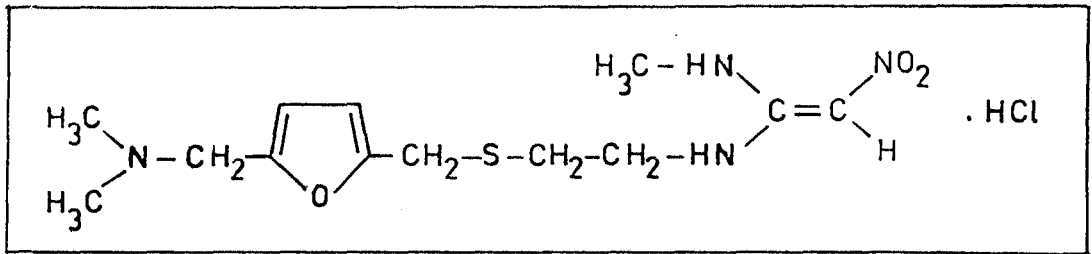
Ranitidin HCl, beyaza yakın krem renkli ve karakteristik kokulu, amorf toz şeklindedir. 137-143⁰C'de erime noktasına sahiptir. Suda oldukça çok, metanol ve etanolde çok çözünür. Hekzan ve petrol eterinde pratikçe çözünmez. Aseton ve etilasetatta ise çok az çözünür.

2.2. Kimyasal özellikleri:

Ranitidin HCl, bir amino alkil furan türevi olarak ilk kez 1977 yılında Glaxo Group Research Ltd. tarafından sentezlenmiş ve patentlenmiştir.

$C_{13}H_{23}ClN_4O_3S$ kapalı formülünde, N-{2-[[5-((dimetilamino)metil)-2-furanil]metil] tiyoetil} -N'-metil-2-nitro-1,1 etendiamin'in hidroklorür tuzudur (Şekil 1).

Molekül ağırlığı 350.87 dir.



Şekil 1. Ranitidin HCl'in kimyasal formülü.

2.3. Farmakolojik özellikleri:

Koelz'in (17) yaptığı bir araştırma sonucunda ranitidin'in, aynı amaçlarla daha önceleri kullanılan cimetidin'e göre 5-10 kez daha güçlü olduğu ve bazı diğer ilaçlarla olan etkileşimleri de gözönüne alınarak ranitidin'in üstünlükleri belirtilmektedir.

Lauritsen ve arkadaşları (18) ranitidin'in klinik araştırmaları üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Endoskopik olarak duodenum ülseri belirlenen hastalar iki gruba ayrılmış, birinci gruba enprostil, diğer gruba ise ranitidin verilmiştir. Enprostil grubu hastalarında tedavi süresi daha uzun ve iyileşme hızı da 2.,4. ve 6. haftalarda sırasıyla % 51, % 74 ve % 85, ranitidin grubunda ise aynı oranlar % 65, % 89 ve % 99 olarak bulunmuştur. Ranitidin ile tedavi edilen hastalar ağrıdan kurtulduklarını belirtmişlerdir. Sonuç olarak kısa sürede duodenal ülser tedavisinde ranitidin'in üstünlüğü ileri sürülmüştür.

Mullersman ve arkadaşları (19) da sucralfat ile ranitidin'in in vitro ve in vivo etkileşimini incelemişler fakat ranitidin'in tek başına ve sucralfat ile birlikte verildiğinde bulunan farmakokinetik parametrelerde önemli bir farklılık gözlememişlerdir.

2.4. Miktar tayini yöntemleri:

Carey ve Martin (2) plazmada ranitidin miktarını tayin edebilmek için bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde otomatik enjeksiyon sistemine sahip ters-faz HPLC kolonu ve UV detektörü kullanılarak 10 ng ranitidin/ml plazma duyarlığında tayin yapabilmışlardır. Internal standart olarak N-metil-N'-{3-((3-dimetilaminometil)-fenoksi)propil}-2-nitro-1,1 etendiamin kullanılmış ve ranitidin içeren standart plazma örnekleri disodyum hidrojen fosfat (pH:9.0) tampon çözeltisi ile hazırlanmıştır. Oktanol ile ekstraksiyondan sonra örnekler kolona enjekte edilmiştir. Elde edilen kromatogramdan yararlanarak ranitidin miktarlarına karşı pik alanları oranı grafiğe geçirilmiş ve iyi bir korelasyon gözlenmiştir.

Mihaly ve arkadaşları (3) da plazma ve idrarda HPLC ile ranitidin ve metabolitlerinin miktar tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Sodyum hidroksit ile bazikleştirilmiş ve internal standart katılmış ranitidin ve üç metabolitini içeren standart çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Daha sonra gönüllülere oral olarak ranitidin verilerek idrar ve kan örnekleri toplanmıştır. Örnekler metilen klorür ile ekstre edilerek kolona enjekte edilmiştir. Hareketli faz olarak pH'ı 8.7'ye ayarlanmış metanol-dibazik amonyum fosfat karışımı kullanılmıştır. Pik yükseklikleri oranları ile derişim arasındaki ilişkilerden yararlanılarak değerlendirilmeler yapılmıştır. Ranitidin için 5 ng/ml ve desmetilranitidin için de 15 ng/ml duyarlıkta tayinlerin gerçekleştirilebildiği belirtilmiştir.

Carey ve arkadaşlarının (4) yaptığı bir diğer çalışma ise idrarda ranitidin ve metabolitlerinin tayinleri için bir HPLC yöntemi

geliştirmek ve bu yöntemle insanlarda ranitidin'in metabolizması ve farmakokinetiği konusunda uygulamalar getirmek olmuştur. Fare ve köpekler üzerinde yapılan deneylerde elde edilen metabolizma ürünlerinin incelenmesi sonucu ranitidin N-oksit, ranitidin S-oksit formları ile desmetilranitidin homologu saptanmıştır. Gönüllü hastalara oral olarak ranitidin verilmiş ve toplanan idrar örnekleri ince tabaka kromatografisi ile analiz edilmiştir. Başlıca bileşiğin ranitidin olduğu, bununla birlikte diğer 3 metabolitin az da olsa varlığı gözlenmiştir. Bu bileşiklerin kantitatif tayinleri için iyon çifti, ters-faz HPLC yöntemi seçilmiş ve hareketli faz olarak metanol, su ve sodyum dodesilsülfat içeren sodyum dihidrojen fosfat karışımı kullanılmıştır. Ranitidin ve her metabolitin standart çözeltileri idrarda hazırlanarak analizler yapılmıştır. Pik alanı ve derişim arasındaki ilişkinin ranitidin için 0-400 µg/ml ve metabolitler için de 0-20 µg/ml üzerindeki değerlerde doğrusal olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ranitidin'in % 30-51 oranında biyoyararlılığı olduğu ve metabolitlerin toplam atılımının intravenöz ve oral olarak verilise göre sırasıyla % 9.2 ve % 6.3 olduğu belirtilmiştir.

Carey ve arkadaşları (5) yaptıkları bir başka çalışmada ise yukarıda belirtilen yöntemle fakat internal standart katılmaksızın idrarda ranitidin ve metabolitlerinin miktar tayinlerini yapmışlar ve aynı sonuçları elde etmişlerdir.

Boutagy ve arkadaşları (6) plazmadaki cimetidin ve ranitidin'in birlikte analizi için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Cimetidin ve ranitidin için iki ayrı internal standart kullanılmış, plazma örnekleri sodyum hidroksit ile bazikleştirildikten sonra eter, kloro-

eğrisi yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu çalışmada duyarlılığın 1 ng/ml olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu yöntem 10 µg/ml'den yüksek derişimdeki ranitidin'in kırmızı kan hücrelerindeki dağılım katsayısının saptanmasında da kullanılmıştır.

Guiso ve arkadaşları (9) HPLC ile fare plazmasında ve beyindeki ranitidin miktarını güvenilir ve kolay bir şekilde gerçekleştirmişlerdir. Sodyum hidroksit ile bazikleştirilmiş ve internal standart eklenmiş plazma örneklerini kloroform ile ekstre ederek kolona enjekte etmişlerdir. Beyin ve kısımları aseton-formik asit karışımında homojenize edildikten sonra üst kısımdaki faz n-heptan-kloroform karışımı ile ekstre edilmiştir. Organik faz atılmış, geriye kalan faz kolona enjekte edilmiştir. Tayin duyarlılığı plazma için 10 ng/ml, beyin için 25 ng/ml olarak belirtilmiştir.

Kok ve arkadaşları (10) ise tiyoeterlerin HPLC ile ayrılmasından sonra brom ile oksidasyonu esasına dayanan bir yöntem geliştirmişlerdir. Belirleme, elüe edilen tiyoeter ile reaksiyonundan sonra brom akımının fazlasının amperometrik ölçülmesiyle yapılmıştır. Bu yöntem penisilinler ve bunların bozunma ürünlerinin alışılmış UV belirlemelerine göre büyük bir duyarlık ve seçicilik göstermiştir. Aynı yöntem ranitidin için de uygulanmış ve 2 ng/ml'den daha düşük derişimdeki ranitidin belirlenebilmiştir. Ekstraksiyon basamağının olmayışı, internal standart kullanmaya gerek duyulmaması ve tekrarlanabilir sonuçlar alınmasının yöntemin üstünlüklerinden olduğu belirtilmiştir.

Martin ve arkadaşları (11) insanda ranitidin ve metabolitlerini HPLC- Mass Spektrometri kombinasyonu ile belirlemişlerdir. Bu yöntemle ranitidin'in oral ve intravenöz olarak verilmesinden sonra idrar-

daki ranitidin kantitatif olarak, metabolitler ise kalitatif olarak tayin edilmişlerdir. Metanol, izopropanol ve 5M amonyum asetat (50:50:1) içeren bir çözücü karışımı hareketli faz olarak kullanılmıştır. Ranitidin'deki N',metil grubundaki 3 hidrojen yerine 3 döteryum geçmiş olan ranitidin internal standart olarak kullanılmış ve seçici iyon tekniğiyle ranitidin miktarı belirlenmiştir. Yöntemin duyarlılığının 1 µg/ml ranitidin düzeyinde olduğu belirtilmiştir.

Apffel ve arkadaşları (12) da HPLC-Mass kombinasyonu ile fenil üre bileşikleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve bazı ilaçlar ile birlikte ranitidin'i de tayin etmişlerdir.

Jenner ve arkadaşları (13) ranitidin için bir radyoimmünolojik analiz yöntemi geliştirmişlerdir. Ranitidin metabolitlerinin sentetik standartları hazırlandıktan sonra tavşan ve koyun antiserumlarındaki değerlerle çaprazlanmış ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Ranitidin S-oksit ve desmetilranitidin'in insanda minör metabolitler olduğunu ve ranitidin'in klinik örneklerde ölçümünü etkilemediği belirtilmiştir. Bu yöntemin duyarlılığı 0.1 ml insan serumunda 0.2 ng/ml'dir.

Delgado Zamarreno ve arkadaşları (14) ise ranitidin'in polarografik indirgenmesinden yararlanarak miktar tayinleri yapmışlardır. Farklı seyreltmelerle hazırlanan bir seri standart ranitidin çözeltisi asetik asit-sodyum asetat tamponları ile belli bir pH'a getirildikten sonra polarografi hücreğine konmuş ve damlayan cıva elektrot yardımı ile sınır akımları ölçülmüştür. Ayrıca pH'ının ve sıcaklığın etkileri de incelenmiştir. Doğru akım polarografisiyle 2.5×10^{-5} - 5×10^{-4} M ve diferansiyel puls polarografisiyle de 2.5×10^{-7} -

2×10^{-5} M derişimindeki ranitidin'i belirlemişlerdir.

Güvener (15) ranitidin HCl'in sulu çözeltisi içinde van Urk reaktifi ile oluşan pembe renkli çözeltisinin UV spektrofotometresinde absorbansının okunmasına dayanan bir miktar tayini yöntemi geliştirmiştir. Ranitidin HCl'in bir seri standart çözeltisi ile kalibrasyon eğrisi çizilmiş, yöntem daha sonra tablet örneklerine uygulanmıştır. Yöntemin duyarlığının 20-600 µg/ml olduğu belirtilmiştir.

Özsoy ve Güvener (16) ise film kaplı ranitidin tabletlerinde spektrofotometrik yöntemle miktar tayini yapmışlardır. Bu yöntemde de standart çözeltiler ile kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra ranitidin HCl'in bromtimol mavisi ile oluşturduğu ve diklormetan'da çözünebilen sarı renkli kompleksin UV spektrofotometresinde absorbansının ölçülmesi ile tabletlerdeki ranitidin HCl miktarları hesaplanmıştır. Duyarlığın 1-20 µg/ml olduğu belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan kimyasal maddeler:

Standart madde olarak ranitidin HCl* (Sanofi Pharma S.A. İtalya; HClO₄'e göre % 99.3, AgNO₃'e göre % 100.5 saflıkta) kullanılmıştır. Diğer kimyasal maddelerin tümü E.Merck (F.Almanya) firması'nın ürünüdür. Çalışmalar sürecinde iki kez distillenmiş su kullanılmıştır.

Sodyum hidroksit

Potasyum hidrojen ftalat

Civa (II) asetat

Asetik asit (glasial)

Asetik anhidrit

Kristal viyole

Perklorik asit

Gümüş nitrat

Nitrik asit

Sodyum klorür

Nitrobenzen

Amonyum demir (III) sülfat

Potasyum tiyosiyanat

Etanol

Metanol

Kloroform

Amonyak

Sodyum asetat

*Doğu İlaç Fab. A.Ş.'den sağlanmıştır.

Kiesel 60 G

Kiesel 60 GF₂₅₄

Sülfürik asit

Potasyum klorür

3.2. Kullanılan aletler:

pH-metre (Consort P 114 tipi, kombine pH elektotlu),

İTK-densitometresi (Shimadzu CS-920) ile kaydedicisi (C-R 3A),
(Shimadzu PR-1),

IR Spektrofotometresi (Shimadzu IR-435),

UV lambası (Shimadzu UV-GL-58,254 nm).

Polaropuls PRG-5 polarograf, EGMA tipi polarografi ve voltametri hücre stant'ı, döner platin referans elektrotlar (hepsi Tacussel) ile kaydedicisi (BBC Goerz Metrawatt SE 790),

10 µl'lik Hamilton şırıngası,

10 ve 50 ml'lik kalibre edilmiş büretler,

20 cm x 20 cm'lik cam plaklar.

3.3. Miktar tayini yöntemleri:

Standart madde ve tabletler içerisindeki ranitidin HCl potansiyometrik, arjantometrik ve susuz ortamda HClO₄ ile titrimetrik olarak tayin edilmiş, ayrıca İTK-densitometrik ve voltametrik olarak da incelenmiştir.

3.3.1. Potansiyometrik yöntem:

Bu yöntemde titrant olarak kullanılan NaOH çözeltisi potasyum hidrojen ftalat ile ayarlanmıştır. Kullanılan pH-metre her defasında CH₃COOH-CH₃COONa (pH:4.01) ve Na₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH:6.87) tampon çözelti-

leri ile kalibre edilmiştir.

Önce standart ranitidin HCl ile çalışılmıştır. Çeşitli miktarlarda tartılan standart ranitidin HCl, 25 ml suda çözülmüş ve 0.1052 N NaOH ile titre edilmiştir. İlave edilen her bir porsiyon NaOH'a karşı pH değerleri okunmuştur.

3.3.2. Arjantometrik yöntem:

Ranitidin HCl, sulu çözeltilerinde asidik karakter gösterdiğinden çalışmalarda Volhard Yöndemi seçilmiştir. AgNO_3 çözeltisi NaCl ile ayarlandıktan sonra, bu ayarlı AgNO_3 çözeltisi yardımı ile KSCN çözeltisinin normalitesi bulunmuştur.

Standart olarak kullanılan ranitidin HCl'den çeşitli miktarlarda tartımlar alınmış ve 25 ml suda çözülmüştür. Daha sonra 2 ml 6 N HNO_3 ile ortam asitlendirilmiş ve oluşacak olan AgCl'ün SCN^- iyonları ile etkileşimini önlemek için de 2 ml nitrobenzen eklenmiştir (20). Klorür iyonlarının tümünü çökertebilmek için gerekli teorik AgNO_3 miktarı hesaplanmış ve bu miktarın belli hacimde aşırısı katılmıştır. Artan AgNO_3 , 0.1226 N KSCN ile $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ indikatörlüğünde geri titre edilmiştir.

3.3.3. Susuz ortamda HClO_4 ile titrimetrik yöntem:

Bu yöntemde glasiyal CH_3COOH 'te hazırlanmış ve yeterli miktarda asetik anhidrit ilavesiyle suyu alınmış HClO_4 , kristal viyole indikatörlüğünde potasyum hidrojen ftalat ile ayarlanmıştır.

Öncelikle, çalışma koşullarında boş denemeler yapılmış ve ortalama boş deneme harcaması 0.15 ml olarak belirlenmiştir. Standart ve tabletler ile yapılan çalışmalarda, bu değer harcamalardan çıkarılarak

hesaplamalar yapılmıştır.

Standart ranitidin HCl ile yapılan çalışmalarda çeşitli miktarlarda tartılan ranitidin HCl, 25 ml glasiyal CH_3COOH 'te çözülmüş, 2 ml asetik anhidrit ve 10 ml glasiyal CH_3COOH 'te hazırlanmış doymuş $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ eklenerek kristal viyole indikatörlüğünde 0.0999 N HClO_4 çözeltisi ile titre edilmiştir. Havadan su absorpsiyonunu en aza indirebilmek için kapalı bir sistem kullanılmıştır.

3.3.4. İTK-densitometrik çalışma:

Bu çalışmada 20 cm x 20 cm'lik cam plaklar 0.25 mm kalınlığında Kiesel 60 G ve Kiesel 60 GF₂₅₄'ün sulu süspansiyonu (20:10:70) ile kaplanmış ve etüvde 110°C'de 1 saat aktive edilmiştir. Hazırlanan bu plaklar üzerine 3'er cm aralıkla standart ranitidin HCl'in etanoldeki 8.3×10^{-4} M'lık çözeltisinden bir Hamilton şırıngası yardımıyla sırasıyla 2, 4, 6, 8 ve 10 µl'lik hacimler uygulanmıştır. Hareketli faz sistemi olarak kloroform: metanol: % 25'lik amonyak (75:25:2) karışımının kullanıldığı bir kromatografi tankında 10 cm yürütülmüştür.

Lekelerin ayrılması UV lambası altında 254 nm de gözlemlenirken sonra densitometrik olarak incelenmiştir.

Densitometri koşulları: X: 24 mm, Y: 100 mm, hat sayısı: 5, uygulama noktaları arasındaki uzaklık: 30 mm, dalga boyu: 324 nm ve lineerleştirme durumu: 3'de çalışılmıştır.

C-R 3A koşulları: File: 3, List Width:3, Analysis parameter file:3, Width: 25, Drift: 1.E6, T.DBL.:1000, Atten:6, Method:3261, Spl.Wt.:100, Slope:1000, Min.Area:10, Stop Tm:30, Speed:5, Format:0, Is.Wt.:0.

3.3.5. Voltametik çalışma:

Bu çalışmada standart ranitidin HCl, 0.2 M KCl içeren $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$ (pH:5.2) tampon çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan bu elektrolitik çözelti içerisindeki çözünmüş oksijenin tümü azot gazı geçirilerek uzaklaştırıldıktan sonra, döner platin elektrot kullanılarak ranitidin HCl'in voltamogramı kaydedilmiştir.

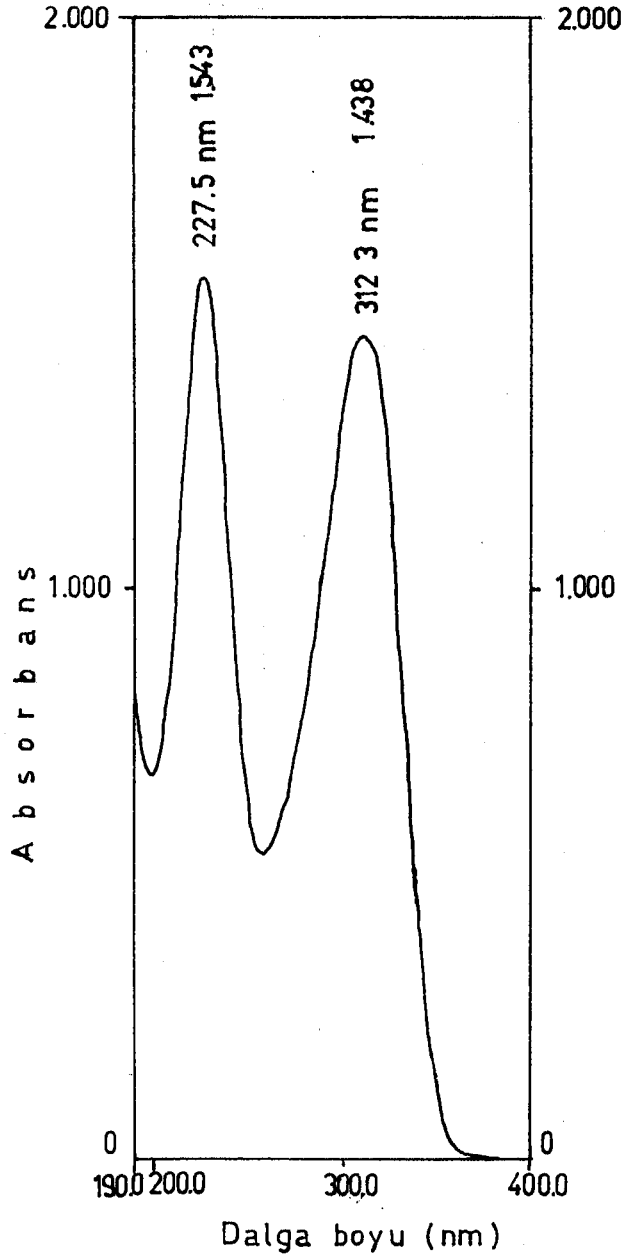
Voltamogram kayıt koşulları: Uygulanan tarz: D.C., çalışma elektrodu: Döner platin elektrot (1 mm çapında), karşı elektrot: platin elektrot, referans elektrot: doymuş Ag/AgCl elektrot, potansiyel değişim hızı: 10 mV/s, kağıt hızı: 10 s/cm, başlangıç potansiyeli: 0 mV, Bitiş potansiyeli: 1400 mV, duyarlık aralığı: 50 μA , elektrot dönüşü: 1000 dönü/dk.

Elektrot Ön İşlemi'nin uygulanışı: Katı elektrotların tekrar edilebilir eğriler verebilmesi elektrot yüzeylerinin standardize edilmesine bağlıdır ve çeşitli yöntemlerle ön işlem yapılabilmektedir (21-27). Bunun için elektrolitik bir ön işlem uygulanmıştır. Önce 1 M H_2SO_4 içerisine daldırılan elektrotlar arasına +3000 mV'luk bir potansiyel 5 dakika süre ile uygulanmış, daha sonra azot gazı geçirilerek 0.0 mV potansiyelde devreden geçen elektrik akımının 0 μA olmasına kadar beklenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Ranitidin HCl'in UV spektrumu:

Ranitidin HCl'in 1.1×10^{-4} M lık sulu çözeltisinin 190-400 nm arasındaki UV spektrumu Şekil 2'de verilmektedir.

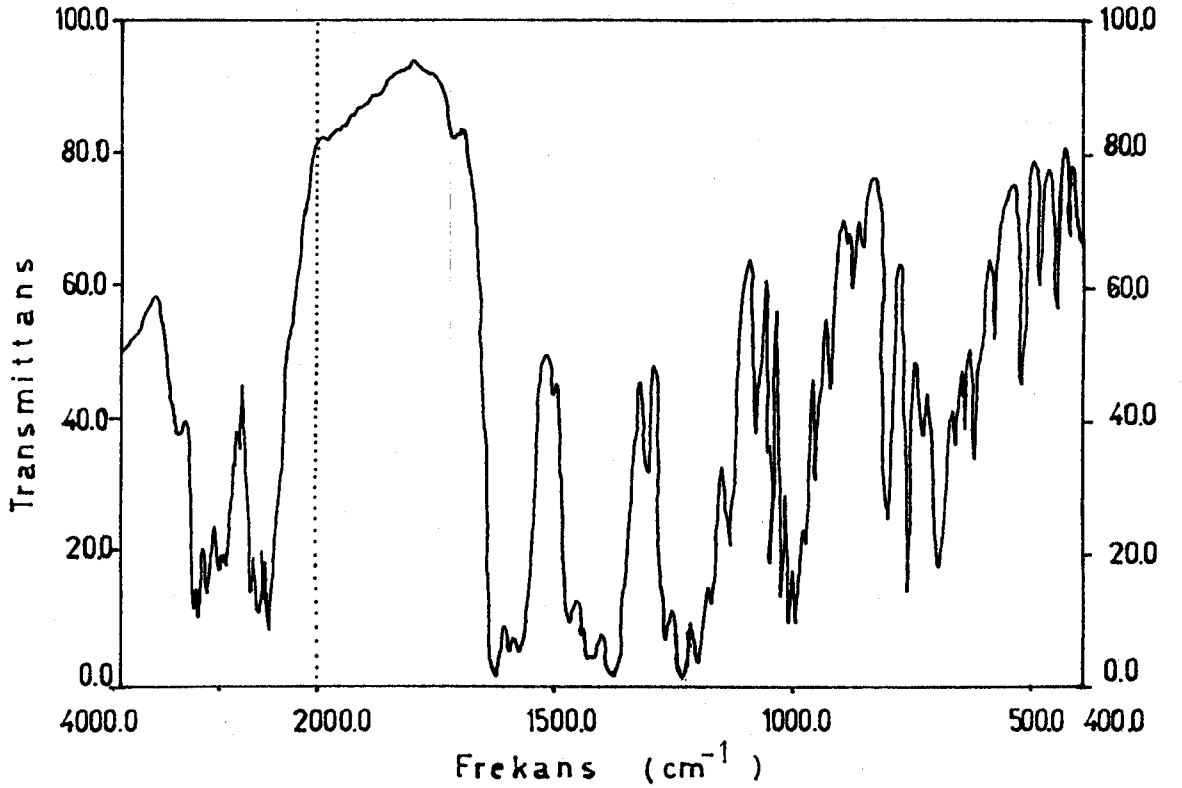


Şekil 2. Ranitidin HCl'in UV spektrumu.

Spektrumda maksimum absorbansa sahip piklerin 227.5 nm ve 312.3 nm'de olduğu gözlenmektedir. Bu derişimde molar ekstinksiyon katsayısının 227.5 nm'de $\epsilon = 14027$, 312.3 nm'de $\epsilon = 13073$ olduğu bulunmuştur.

4.2. Ranitidin HCl'in IR spektrumu:

Ranitidin HCl'in KBr diski hazırlanarak elde edilen 4000-400 cm^{-1} arasındaki spektrumu Şekil 3'de verilmiştir.

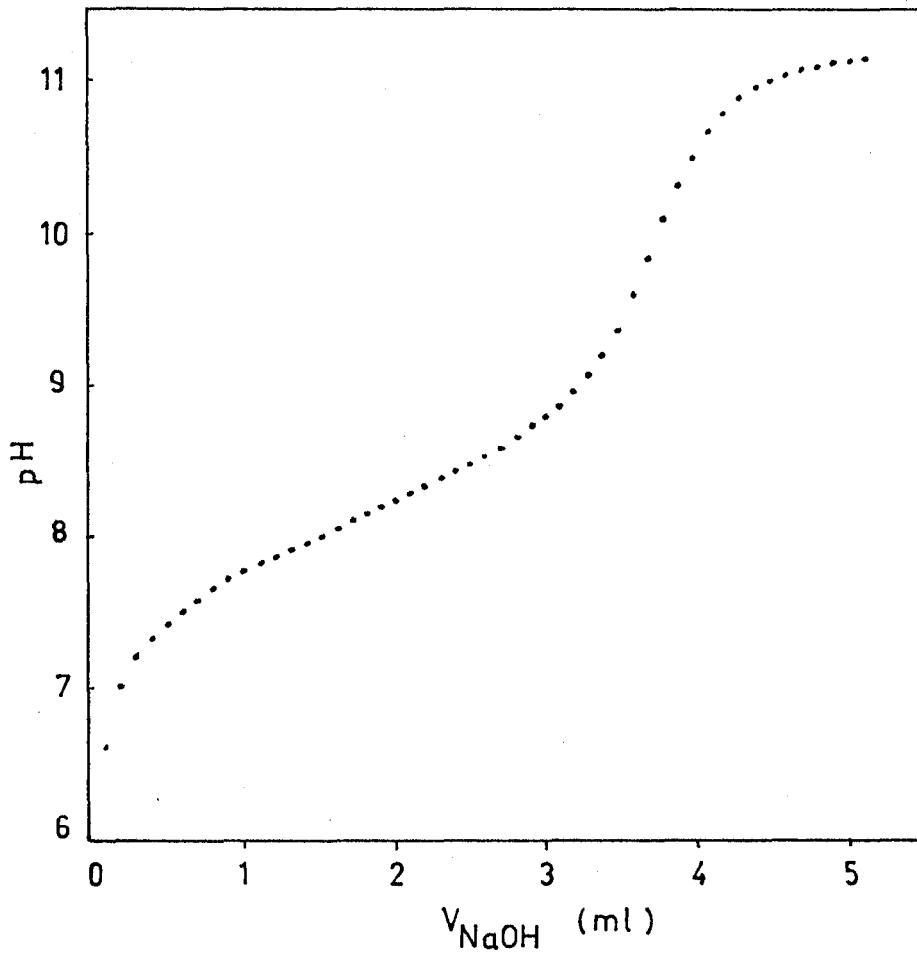


Şekil 3. Ranitidin HCl'in IR spektrumu.

4.3. Potansiyometrik yöntem bulguları:

Potansiyometrik yöntem bölümünde (3.3.1) anlatıldığı şekilde ilave edilen NaOH hacmine karşı okunan pH değerleri grafiğe geçirildiğinde Şekil 4'deki titrasyon eğrisi elde edilmiştir. Bu titrasyon eğri-

inden yararlanılarak $(V_1 + V_2)/2$ değerlerine karşı $\Delta pH/\Delta V$ yani I. türev, V hacmine karşı $\Delta^2 pH/\Delta V^2$ yani II. türev eğrileri çizilerek dönüm noktası duyarlıklı olarak tayin edilmiştir. Harcanan NaOH miktarlarından gidilerek ranitidin HCl miktarları hesaplanmıştır. Bulunan değerler Tablo 1'de toplanmıştır.



Şekil 4. Ranitidin HCl'in NaOH ile potansiyometrik titrasyon eğrisi.

Tablo 1. Standart ranitidin HCl'in NaOH ile potansiyometrik titrasyonu sonucu bulunan değerleri.

Tartım (mg)	V _{NaOH} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
132.4	3.62	133.6	100.90
127.0	3.47	128.1	100.86
163.2	4.45	164.4	100.73
155.1	4.23	156.1	100.64
154.2	4.21	155.4	100.78
147.2	3.89	143.6	100.63

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 100.76

Standart sapma: 0.111

Relatif standart sapma: % \pm 0.110

Ranitidin tabletleri içerisindeki ranitidin HCl miktarları da aşağıdaki yol izlenerek tayin edilmiştir:

Bu tayinler sürecinde tablet içerisindeki aktif maddenin bulunmasında farmakopelerin izlediği yol uygulanmıştır. Buna göre A ve B firmaları'nın ürettiği tabletlerden 20 tanesi tartılarak her bir tabletin ortalama ağırlığı bulunmuş, daha sonra bu tabletler havanda dövülerek toz haline getirilmiş ve her seferinde ortalama tablet ağırlığı kadar tartım alınarak çalışılmıştır.

Bölüm 3.3.'de verilen yöntemler tabletlere de uygulanmıştır.

A firmasının ürettiği ranitidin tabletleri içerisindeki ranitidin

HCl miktarının potansiyometrik olarak tayini sonucu bulunan değerler Tablo 2'de, B firmasının kiler ise Tablo 3'de toplanmıştır.

Tablo 2. A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının potansiyometrik olarak tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V _{NaOH} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
168.0	4.09	150.97	89.86
168.0	4.03	148.75	88.54
168.0	4.05	149.49	88.98
168.0	4.03	148.75	88.54
168.0	4.06	149.86	89.20
168.0	4.08	150.60	89.64
168.0	4.07	150.23	89.42

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 89.17

Standart sapma: 0.515

Relatif standart sapma: % \pm 0.577

% relatif hata: % 10.83

Tablo 3. B firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının potansiyometrik olarak tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V_{NaOH} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
300.0	8.15	300.83	100.28
300.0	8.14	300.46	100.15
300.0	8.17	301.46	100.52
300.0	8.13	300.09	100.03
300.0	8.15	300.83	100.28
300.0	8.12	299.72	99.91
300.0	8.16	301.20	100.40

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 100.22

Standart sapma: 0.636

Relatif standart sapma: % \pm 0.211

% relatif hata: % 0.22

4.4. Arjantometrik yöntem bulguları:

Arjantometrik yöntem bölümünde (3.3.2.) anlatılan yol izlenerek standart ranitidin HCl ve tabletler içerisindeki ranitidin HCl'in arjantometrik titrasyonu sonucu bulunan değerler Tablo 4'de toplanmıştır.

Tablo 4. Standart ranitidin HCl'in arjantometrik titrasyonu sonucu bulunan değerleri.

Tartım (mg)	V _{KSCN} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
99.6	10.8	101.72	102.13
108.2	10.6	110.33	101.97
124.8	10.2	127.53	102.19
86.7	11.1	88.82	102.44
108.8	10.6	110.33	101.41
112.3	10.5	114.63	102.07

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 102.03

Standart sapma: 0.344

Relatif standart sapma: % \pm 0.337

A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl'in arjantometrik olarak tayini sonuçları Tablo 5'de, B firmasınıninkiler ise Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 5. A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının arjantometrik tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V _{KSCN} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
168.0	9.6	153.34	91.27
168.0	9.5	158.70	94.46
168.0	9.6	153.34	91.27
168.0	9.6	153.34	91.27
168.0	9.5	158.70	94.46
168.0	9.5	158.70	94.46
168.0	9.6	153.34	91.27

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 92.64

Standart sapma: 1.705

Relatif standart sapma: % \pm 1.840

% relatif hata: % 7.36

Tablo 6. B firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının arjantometrik tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V_{KSCN} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
300.0	5.9	312.50	104.17
300.0	6.0	308.20	102.73
300.0	6.0	308.20	102.73
300.0	5.9	312.50	104.17
300.0	6.0	308.20	102.73
300.0	6.0	308.20	102.73

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 103.21

Standart sapma: 0.744

Relatif standart sapma: % \pm 0.721

% relatif hata: % 3.21

4.5. Susuz ortamda $HClO_4$ ile titrimetrik yöntem bulguları:

Susuz ortamda $HClO_4$ ile titrimetrik yöntem bölümünde (3.3.3.) anlatılan yol izlenerek standart ranitidin HCl ve tabletler içerisindeki ranitidin HCl miktarları tayin edilmiştir. Standart ranitidin HCl'in susuz ortamda $HClO_4$ titrasyonu sonucu bulunan değerler Tablo 7'de toplanmıştır.

Tablo 7. Standart ranitidin HCl'in susuz ortamda HClO_4 ile titrasyonu sonucu bulunan değerleri.

Tartım (mg)	V_{HClO_4} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
79.2	6.65	77.70	98.10
74.3	6.25	73.02	98.28
71.0	6.00	70.10	98.74
66.2	5.65	66.01	99.72
78.1	6.50	75.95	97.24
66.6	5.65	66.01	99.12
65.4	5.50	64.26	98.26

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 98.49

Standart sapma: 0.794

Relatif standart sapma: % \pm 0.806

A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl'in susuz ortamda HClO_4 ile titrasyonunda bulunan değerler Tablo 8'de, B firmasının kiler ise Tablo 9'da toplanmıştır.

Tablo 8. A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının susuz ortamda HClO_4 ile tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V_{HClO_4} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
168.0	12.55	146.63	87.28
168.0	12.35	144.30	85.89
168.0	12.65	147.80	87.98
168.0	12.45	145.47	86.59
168.0	12.55	146.63	87.28
168.0	12.40	144.88	86.24
168.0	12.60	147.22	87.63

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 86.98

Standart sapma: 0.763

Relatif standart sapma: % ± 0.522

% relatif hata: % 13.02

Tablo 9. B firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının susuz ortamda HClO_4 ile tayini sonuçları.

Belirtilen miktar (mg)	V_{HClO_4} (ml)	Bulunan miktar (mg)	% miktar
300.0	25.25	295.02	98.34
300.0	25.30	295.60	98.53
300.0	25.35	296.19	98.73
300.0	25.25	295.02	98.34
300.0	25.20	294.44	98.15
300.0	25.40	286.77	98.92

% miktar değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi:

Ortalama: 98.51

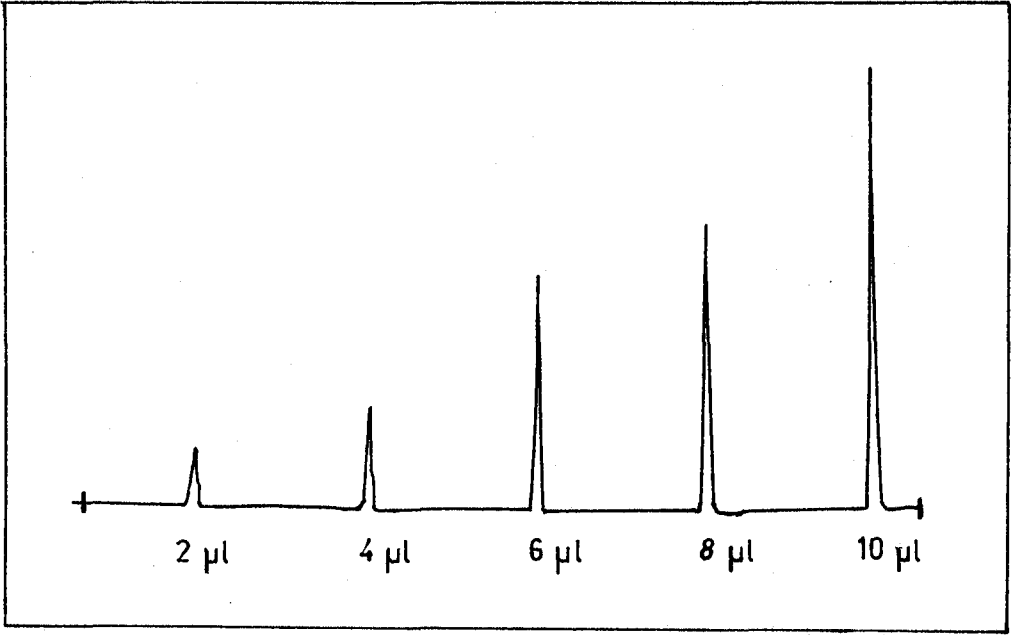
Standart sapma: 0.202

Relatif standart sapma: % ± 0.068

% relatif hata: % 1.49

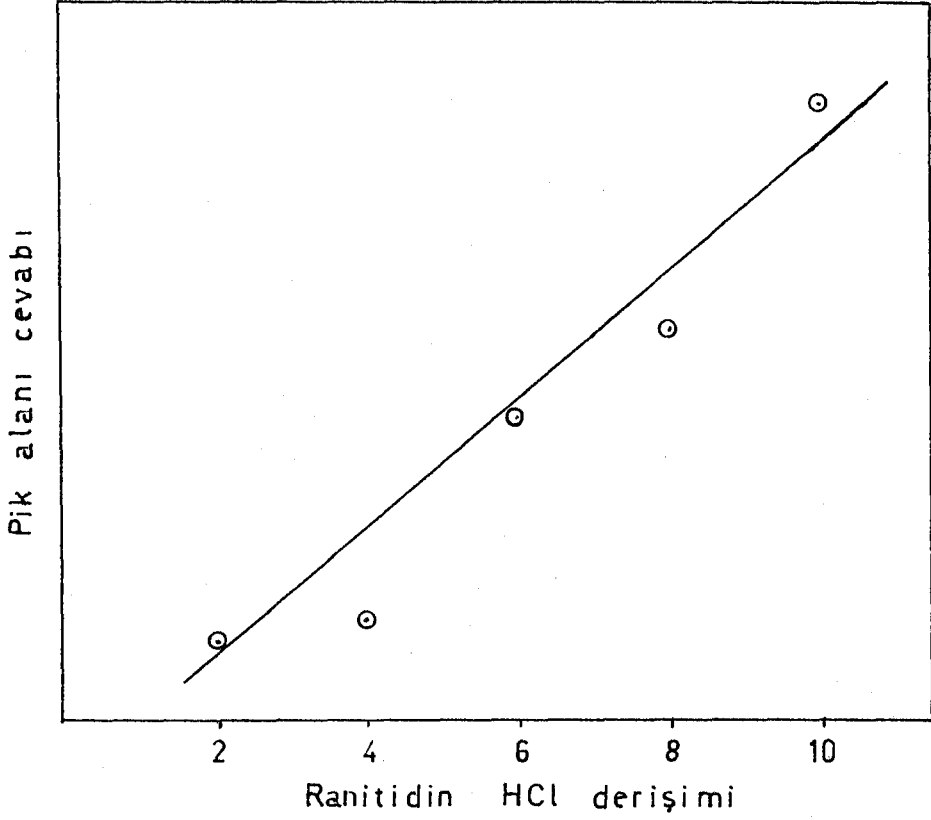
4.6. İTK-densitometrik çalışma bulguları:

İTK-densitometrik çalışma bölümünde (3.3.4.) anlatıldığı şekilde hazırlanan kromatografi plaklarına uygulanan ranitidin HCl, kloroform: metanol: % 25'lik amonyak (75:25:2) hareketli fazında yürütüldükten sonra plaklar çıkarılıp kurutulmuştur. Verilen densitometrik koşullarda taranan plaklardan birinin kromatogramı Şekil 5'de gösterilmiştir.



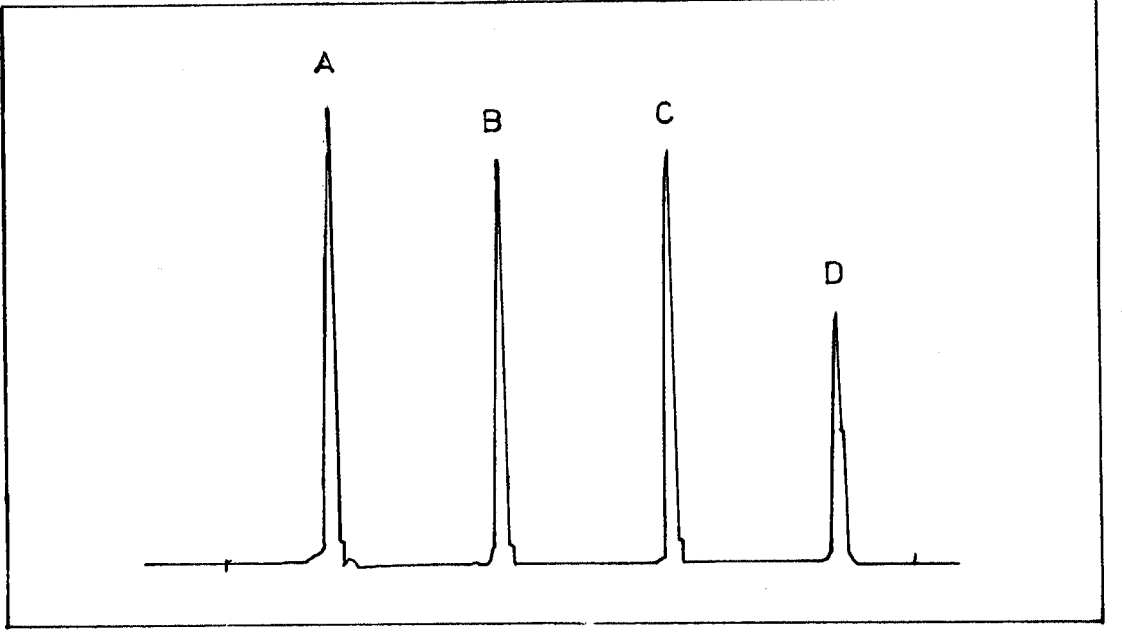
Şekil 5. Ranitidin HCl'in ITK-densitometrik kromatogramı.

Elde edilen kromatogramlarda pik yükseklikleri, pik alanları ve densitometrinin kendi çıktıklarına göre kantitatif değerlendirilmeler yapılmaya çalışılmıştır. Derişim ile pik yüksekliği, pik alanı veya densitometre çıktısı parametreleri arasındaki ilişkinin zayıf bir lineerlik gösterdiği bulunmuştur. Densitometrik bir kalibrasyon eğrisinin, derişime karşı pik alanları cevabı ilişkili grafiği Şekil 6'da verilmiştir. Bu doğrunun denklemi lineer regresyon analizi ile $Y = 31639 X - 54232$ olarak bulunmuştur. Korelasyon katsayısı ise $r = 0.9648$ dir.

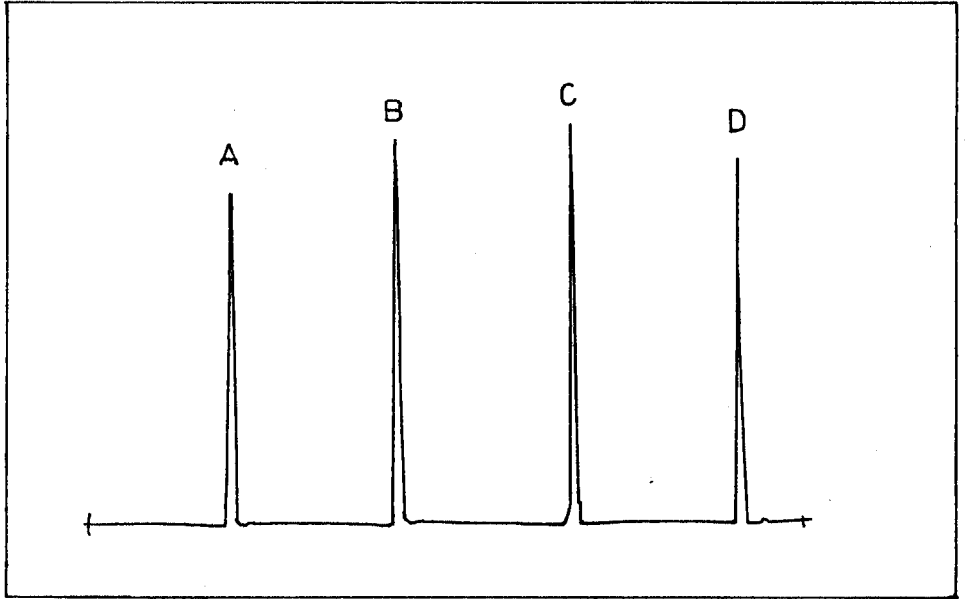


Şekil 6. Ranitidin HCl'in İTK-densitometrik çalışmada derişime karşı pik alanları cevabı arasındaki ilişki.

Tek bir kalibrasyon noktasına göre uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan tablet çözeltilerindeki aktif madde miktarları araştırılmıştır. A firmasının ürettiği tabletler için Şekil 7'deki, B firmasının ürettiği tabletler için de Şekil 8'deki kromatogramlar elde edilmiştir. Standart ranitidin HCl ile karşılaştırılarak yapılan paralel çalışmalarda elde edilen pik alanlarının ortalamaları oranlanarak bir değerlendirme yapılmış ve A firmasının tabletleri için % 83.21, B firmasının tabletleri için de % 98.73 değerleri bulunmuştur.



Şekil 7. A firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının İTK-densitometrik tayini. (A ve B pikleri standart ranitidin HCl'e, C ve D pikleri tabletlere aittir).

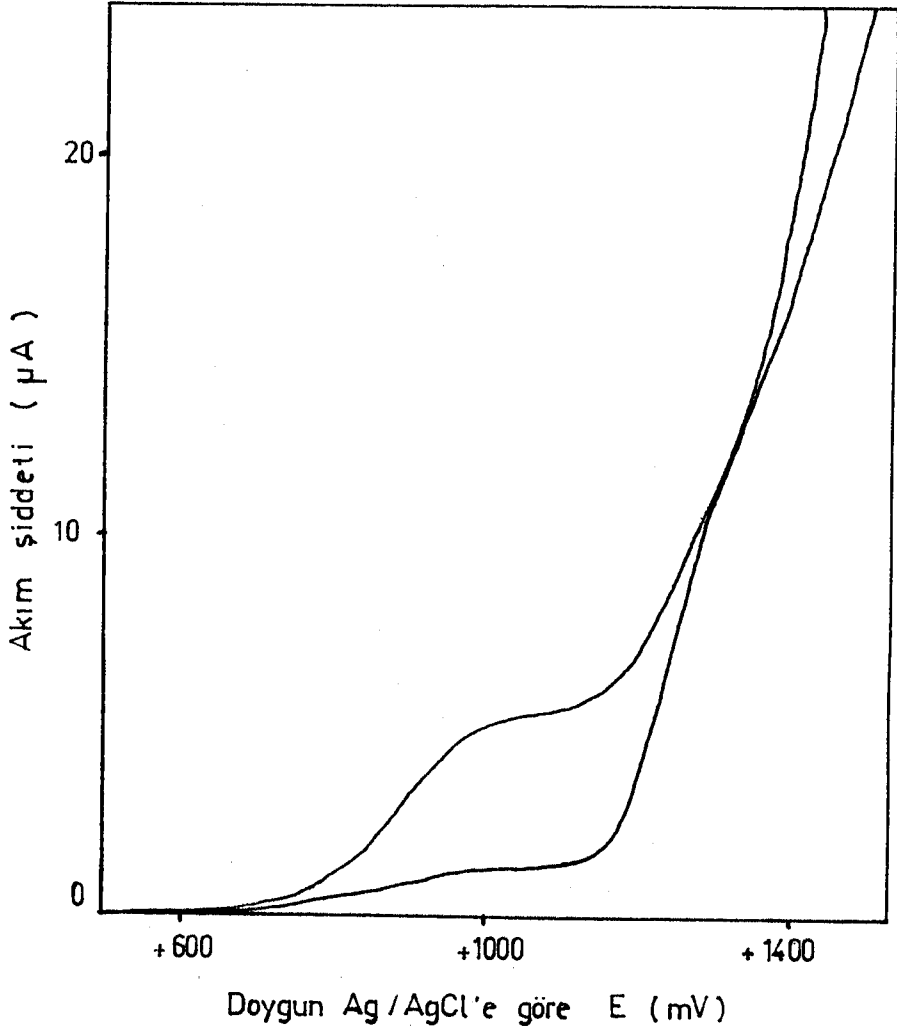


Şekil 8. B firmasının ürettiği ranitidin tabletlerindeki ranitidin HCl miktarının İTK-densitometrik tayini (A ve B pikleri standart ranitidin HCl'e, C ve D pikleri tabletlere aittir).

4.7. Voltametik çalışma bulguları:

Döner platin elektrot kullanılarak 0.2 M KCl içeren $\text{CH}_3\text{COOH} - \text{CH}_3\text{COONa}$ (pH: 5.2) tampon çözeltisi içerisinde 1.01×10^{-3} M derişimindeki ranitidin HCl'in voltamogramı kaydedilmiştir.

Aynı koşullarda ranitidin HCl içermeyen elektrolit çözeltisinin de polarizasyon eğrileri alınmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Ranitidin HCl'in 0.2 M KCl + ($\text{CH}_3\text{COOH} - \text{CH}_3\text{COONa}$) (pH:5.2) elektrolitik tampon çözeltisi içerisindeki voltamogramı.

Ranitidin HCl'in kuvvetli asidik elektrolit çözeltisinde ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ (pH: 8.04) tamponu içerisindeki voltamogramlarının alınmasına çalışılmış ancak iyi beliren eğriler elde edilememiştir.

Yukarıda verilen koşullarda 1.01×10^{-3} M ranitidin HCl çözeltisinin voltamogramlarında akım artışları yaklaşık +600 mV dolaylarında başlamakta ve yaklaşık +1000 mV dolaylarında sınır akımına ulaşmaktadır. Bu koşullarda, şekil 9'da görüldüğü gibi iyi beliren polarizasyon eğrileri elde edilebilmektedir.

Ranitidin HCl'in polarizasyon eğrilerinden yararlanılarak yarı dalga potansiyeli $E_{1/2} = +895$ mV olarak bulunmuştur. Yarı dalga potansiyelinin bulunmasında kullanılan eşitlik denklemi, $Y = -8.00 + 8.94 \times 10^{-3} X$ dir. Bu denkleme göre reaksiyona giren elektron sayısı 6.59 olmaktadır.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada ranitidin HCl'in tayini konusunda yeni bir yöntemin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Literatürlerde verilmemiş yöntemler üzerinde durulmuş, elde edilen bulgular değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Susuz ortamda HClO_4 ile titrimetrik ve arjantometrik yöntemler ranitidin HCl'in endüstriyel tayinlerinde kullanılmaktadır. Ancak potansiyometrik yöntem ilk defa bu çalışmada denenmiştir. Elde edilen potansiyometrik titrasyon eğrisinin düzgün bir potansiyometrik eğri olduğu göze çarpmaktadır. Bu tür eğrilerde dönüm noktasının tayini I. ve II. türey eğrilerinin değerlendirilmesi ile yapılmakta ve dönüm noktaları duyarlıkla bulunabilmektedir.

Her üç yöntemde de incelenen standart ranitidin HCl miktarları birbirleri ile karşılaştırıldığında arjantometrik titrasyon sonuçlarının diğerlerine göre daha yüksek olduğu göze çarpmaktadır.

Susuz ortamda HClO_4 ile titrasyon sonucunda elde edilen değerlerin Sanofi Pharma S.A. firmasının ranitidin HCl için verdiği % 99.3 saflıktan % 0.8 kadar farklı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada geliştirilen potansiyometrik yöntemle elde edilen % 100.76 lık sonuç ise firmanın arjantometrik tayin değeri olan % 100.5 değerine oldukça uymaktadır.

Uygulanan potansiyometrik, arjantometrik ve susuz ortamda HClO_4 ile yapılan tayinler 2 firmanın ürettiği ranitidin tabletlerindeki aktif madde tayinlerinde de kullanılmıştır. Her üç yöntemle de A firmasının tabletlerinin, ambalajları üzerinde belirtilen miktarlardan önemli ölçüde düşük miktarda aktif madde içerdiği bulunmuştur. B fir-

masının üretimi olan tabletlerde ise ambalajlarının üzerinde belirtilen miktarlara yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bu paralellikler gösteriyor ki, bu çalışmada geliştirilen potansiyometrik yöntem ranitidin HCl miktarının tayininde oldukça iyi sonuçlar vermektedir.

Bu çalışmamızda daha önce uygulanmayan İTK-densitometrik yöntem de denenmiş, hareketli faz olarak kloroform: metanol: % 25'lik amonyak sistemi kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlarda literatürlerde verilen bozunma ürünlerinden herhangi birine rastlanmamıştır. Bu da göstermektedir ki standart madde olarak kullanılan ranitidin HCl saf bir maddedir.

Miktar tayinlerinde İTK-densitometrik yöntemin kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacıyla yapılan kalibrasyon çalışmalarında aletten elde edilen pik alanı, pik yüksekliği ve densitometre cevaplarının uygulanan leke derişimleri ile yüksek duyarlıklı korelasyon değerleri vermediği gözlenmiştir. Yöntemin tekrar edilebilirliği oldukça düşüktür. Yine de tek leke standardına göre, çok duyarlı olmayan tayinlerde kullanılabileceği sonucu çıkmaktadır.

Yapılan voltametrik çalışmada ise miktar tayininden çok mekanizmal aydınlatmalar amaçlanmıştır. Çalışmalarımızda bu yöntemle miktar tayini yapılmamıştır. Fakat bu yöntemin miktar tayininde de kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu durumun gerçekleştirilmesi, katı elektrotların problemi olan ön işlemin uygun bir yolla yapılmasını gerektirmektedir. (21-26).

Ranitidin HCl molekülü elektroanalitik yönden ilginç bir moleküldür. İçerisinde hem oksitlenebilen hem de redüklenebilen fonksiyonel gruplar bulundurmaktadır. Bir araştırmada nitro grubunun indirgenmesine

dayalı polarografik yöntemle miktar tayini gerçekleştirilmiştir (14). Katı elektrotlarla, anodik yönde yani maddenin yükseltgenbilmesine dayalı yöntemin de koşullar yerine getirildiği takdirde iyi sonuçlar verebilmesi doğaldır.

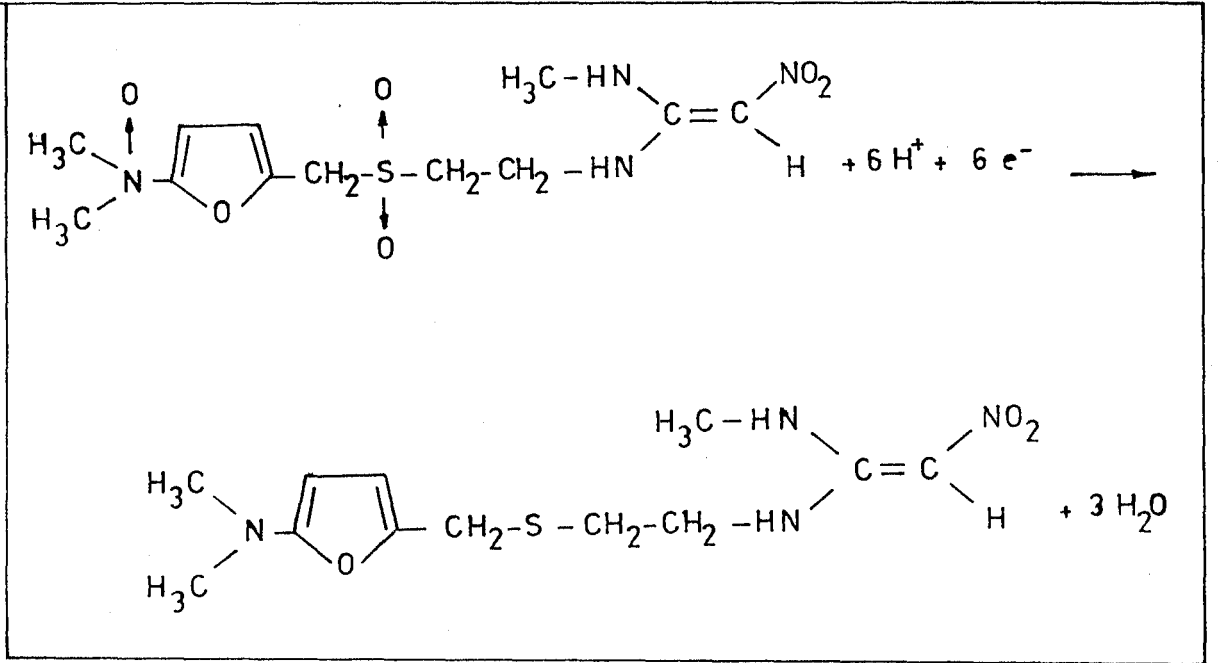
İyi beliren voltametrik eğrilerin elde edildiği pH:5.0 dolayındaki elektrolit sistemlerinin miktar tayinlerinde kullanılabileceği söylenebilir. Polarografi ve voltametride belli taşıyıcı elektrolit - pH sisteminde parametre olarak kabul edilen yarı dalga potansiyeli karakteristiktir (28).

Bu çalışmada kullanılan koşullarda yarı dalga potansiyelinin + 895 mV olduğu bulunmuştur. Yarı dalga potansiyelinin bulunuşunda kullanılan

$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \log \frac{i}{i_d - i}$$

denkleminde yararlanılarak yükseltgenen moleküllerde verilen elektron, indirgenen moleküllerde alınan elektron sayısı hesaplanmaktadır (29,30). Bu hesaplama, E'ye karşı $\log (i/i_d - i)$ ilişkisi yardımıyla gerçekleştirilmektedir. Bu ilişki sonucunda elde edilen doğru denklemi $Y = -8.00 + 8.94 \times 10^{-3} X$ dir. Görüldüğü gibi $(0.059/n)$ değeri denklemin eğimine karşılık gelmektedir. Buradan n değeri çözüldüğünde 6.59 sonucu bulunmaktadır.

Elde edilen bu verilere göre ranitidin molekülünün döner platin elektrot yüzeyinde 6 elektron vererek yükseltgendiği söylenebilir (Şekil 10).



Şekil 10. Ranitidin HCl'in voltametrik yolla tayini sırasındaki yükseltgenme reaksiyonu (Reaksiyon denklemini alışılagelmiş olduğu şekilde indirgenme yönünde verilmiştir).

ÖZET

Ranitidin HCl tayini için yeni bir potansiyometrik yöntem geliştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar arjantometrik ve susuz ortam titrasyonunkilerle karşılaştırılmıştır. Bunlara ek olarak ranitidin HCl, İTK-densitometrik ve voltametrik yöntemlerle de incelenmiştir.

Voltametrik yöntemle ranitidin molekülünün yükseltgenmesine dayalı mekanizma reaksiyonları incelenmiş ve belli koşullarda molekülün altı elektron kaybı ile yükseltgendiği aydınlatılmıştır.

SUMMARY

A novel potentiometric method has been perfected for the determination of ranitidine HCl. The results obtained were checked by the traditional methods of argentometric and non-aqueous titrations. In addition TLC-densitometric and voltammetric methods were also employed.

Additionally mechanism of the reactions were examined based on the oxydation of ranitidine molecule by voltammetric method, it was elucidated that the oxydation of the molecule in definite conditions runs with the loss of six electrons.

KAYNAKLAR

1. Peden, N.R., Saunders, J.H.B., Wormsley, K.G.: Inhibition of Pentagastrin-Stimulated and Nocturnal Gastric Secretion by Ranitidine. A New H₂-receptor Antagonist. Lancet. 1, 690 (1979).
2. Carey, P.F., Martin, L.E.: A High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Ranitidine in Plasma. J.Liq. Chromatogr. 2(9), 1291 (1979).
3. Mihaly, G.W., Drummer, O.H., Marshall, A., Smallwood, R.A., Louis, W.J.: High-Pressure Liquid Chromatographic Determination of Ranitidine, a New H₂-receptor Antagonist, in Plasma and Urine. J. Pharm. Sciences. 69(10), 1155 (1980).
4. Carey, P.F., Martin, L.E., Owen, P.: A Method for the Determination of Ranitidine and its Metabolites in Urine by HPLC and its Application to Study the Metabolism and Pharmacokinetics of Ranitidine in Man. Biochem. Soc. Trans. 9, 112 (1981).
5. Carey, P.F., Martin, L.E., Owen, P.E.: Determination of Ranitidine and its Metabolites in Human Urine by Reversed-phase Ion-pair HPLC. J. Chromatogr. 225, 161 (1981).
6. Boutagy, J., More, D.G., Munro, I.A., Shenfield, G.M.: Simultaneous Analysis of Cimetidine and Ranitidine in Human Plasma by HPLC. J. Liq. Chromatogr. 7(8), 1651 (1984).

7. Kubo, H., Kobayashi, Y., Tokunaga, K.: Improved Method for the Determination of Cimetidine in Human Serum by HPLC. Anal. Lett. 18(B3), 245 (1985).
8. Mullersman, G., Derendorf, H.: Rapid Analysis of Ranitidine in Biological Fluids and Determination of its Erythrocyte Partitioning. J. Chromatogr. 381, 385 (1986).
9. Guiso, G., Fracasso, C., Caccia, S., Abbiati, A.: Determination of Ranitidine in Rat Plasma and Brain by HPLC. J. Chromatogr. 413, 363 (1987).
10. Kok, W.T., Halvax, J.J., Voogt, W.H., Brinkman, U.A.T., Frej, R.W.: Detection of Thioethers of Pharmaceutical Importance by Liquid Chromatography with On-Line Generated Bromine. Anal. Chem. 57, 2580 (1985).
11. Martin, L.E., Oxford, J., Tanner, R.J.N.: Use of High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry for the Study of the Metabolism of Ranitidine in Man. J. Chromatogr. 251, 215 (1982).
12. Apffel, J.A., Brinkman, U.A.T., Frej, R.W.: Gas Nebulized Direct Liquid Introduction Interface for Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. Anal. Chem. 55, 2280 (1983).
13. Jenner, W.N., Martin, L.E., Willoughby, B.A., Fellows, I.: The Development of a Radioimmunoassay for Ranitidine in biological Fluids. Life Sciences. 28, 1323 (1981).

14. Delgado Zamerrano, M., Hernandez Mendez, J., Sanchez Perez, A.: Electrochemical Study and Polarographic Determination of Ranitidine. Anal. Chim. Acta. 176, 279 (1985).
15. Güvener, B.: A Spectrophotometric Determination Method of Ranitidine Hydrochloride. Acta Pharm. Turcica. 28, 35 (1986).
16. Özsoy, Y., Güvener, B.: A Spectrophotometric Determination Method of Ranitidine Hydrochloride in Film Coated Ranitidine Hydrochloride Tablets. Acta Pharm. Turcica. 29, 13 (1987).
17. Koelz, H.R.: H₂-Rezeptör-Antagonisten. Schweiz. Rundschau Med. (Praxis). 73, 831 (1984).
18. Lauritsen, K., Laursen, L.S., Havelund, T., Bytzer, P., Svendsen, L.B., Rask-Madsen, J.: Enprostil and Ranitidine in Duodenal Ulcer Healing: Double Blind Comparative Trial. British Med. Journal. 292, 864 (1986).
19. Mullersman, G., Gotz, V.P., Russel, W.L., Derendorf, H.: Lack of Clinically Significant in Vitro and in Vivo Interactions between Ranitidine and Sucralfate. J. Pharm. Sciences. 75, 995 (1986).
20. Dick, J.G., Analytical Chemistry. Mc Graw-Hill Inc. Tokyo (1973). p-322.
21. Eggersten, F.T., Weiss, F.T.: Effect of Structure of Certain Amine Indicators on Oxidation Potential and Color Intensity on Oxidation. Anal. Chem. 28, 1000 (1956).

22. Kolthoff, I.M., Goetzee, J.F.: Polarography in Acetonitrile Metal Ions which Have Significantly Different Polarographic Properties in Acetonitrile and in Water.-Anodic Waves-Voltammetry at Rotated Platinum Electrode. J.Amer. Chem. Soc. 79, 1852 (1957).
23. Popov, A.I., Geske, D.H.: Studies on the Chemistry of Halogen and of Polyhalides. Voltammetry of Iodine Species in Acetonitrile. J. Amer. Chem. Soc. 80, 1340 (1958).
24. Kabasalian, P., Mc Glotten, J.: Polarographic Oxidation of Phenothiazine Tranquilizers. Anal. Chem. 31, 431 (1959).
25. Adams, R.N., Mc Clure, J.H., Morris, J.B.: Chronopotentiometric Studies at Solid Electrodes. Anal. Chem. 30, 471 (1958).
26. Ferret, D.J., Phillips, C.S.G.: Studies in Polarography. The Rotating Platinum Electrode. Trans. Faraday Soc. 51, 390 (1955).
27. Jordan, J., Javick, R.A.: Electrode Kinetics by Hydrodynamic Voltammetry Study of Ferrous-Ferric, Ferrocyanide-Ferricyanide and Iodide-Iodine Systems. Electrochimica Acta. 6, 23 (1962).
28. Adams, R.N.: Electrochemistry at Solid Electrodes. Marcel Dekker Inc. New York (1969).
29. Meites, L.: Polagraphic Techniques. 2nd Ed. Interscience Publishers. John Wiley and Sons, New York (1967).
30. Meites, L.: Handbook of Analytical Chemistry. Mc Graw-Hill Inc. New York (1963).