

HİDRALAZİN HİDROKLORÜRÜN
FORMÜLASYONU VE STABİLİTESİ

Ecz. Lütfi GENÇ

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Yard.Doç.Dr. S. Zeki USKAN
(15.09.1988-16.06.1989)
Yard.Doç.Dr. Yasemin Yazan
(16.06.1989-15.09.1989)

Eylül 1989

Lütfi GENÇ'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı " HİDRALAZİN HİDROKLORÜR'ÜN FORMÜLASYONU VE STABİLİTESİ " başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

20./09./1989.

Üye: Prof.Dr. Erden GÜLER (imza)

Üye: Yrd.Doc.Dr. Yasemin YAZAN (imza)

Üye: Yrd.Doc.Dr. Hacı BİLALÇ (imza)

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..22.09.1989..... gün ve ..122/273.. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

(imza)
Enstitü Müdürü
Prof.Dr. Kurettin BAŞARAK

22 EYLÜL 1989

ASLI GİBİDİR



İsmet YILMAZ
Enstitü Sekreteri

ÖZET

Bu çalışmada, hidralazin hidroklorür'ün parenteral formülasyonları ve bunların stabilitesi üzerinde çalışılmıştır.

Koruyucu olarak metil paraben, propil paraben, benzalkonyum klorür ve benzil alkol içeren ampüllerde değişik koşulların (oda ısısında aydınlıkta, oda ısısında karanlıkta ve buzdolabında) hidralazin hidroklorür çözeltisinin stabilitesine etki etmediği bulunmuştur. Koruyucu içermeyen formülasyonun koruyucu içerenlere göre daha çabuk bozulduğu, bu bozulmanın buzdolabında saklananlar dışında daha hızlı olduğu gözlenmiştir.

En uygun formülasyonun, metil paraben ve propil parabeni birlikte içeren preparatın olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

Several parenteral formulations of hydralazine hydrochloride and their stabilities were investigated in this study.

After storing formulations in various conditions (room-temperature in light, room-temperature in dark and in a refrigerator) containing methyl paraben, propyl paraben, benzyl alcohol and benzalkonium chloride as preservatives, hydralazine hydrochloride solutions were found to be stable.

The rate of degradation was relatively faster in the formulations with no preservatives compared to the others containing preservatives; this rate was slower in the formulations stored in the refrigerator.

It was determined that the best preparation is the formulations including methyl paraben and propyl paraben together.

TEŞEKKÜR

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

Tez konumun seçiminde ve çalışmalarım sırasında büyük bir anlayış ve iyi niyetle her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Hocam, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Erden GÜLER'e,

Teknik imkanlarından yararlandığım Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Müdürü Sayın Prof.Dr. K. Hüsnü Can BAŞER'e,

Danışmanlarım Sayın Yard.Doç.Dr. S. Zeki USKAN'a ve Sayın Yard.Doç.Dr. Yasemin YAZAN'a,

Hocam Sayın Yard.Doç.Dr. Hadi BİLAÇ'a,

Hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Farmasötik teknoloji Anabilim Dalı'nda ve Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezinde görevli arkadaşlarıma,

Anlayış ve sabırla her zaman yanımda olan eşim Asiye GENÇ'e,

Teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KURAMSAL KISIM	2
2.1. Hidralazin Hidroklorür'ün Fiziksel Özellikleri	2
2.2. Hidralazin Hidroklorür'ün Kimyasal Özellikleri	3
2.2.1. Adı, formülü ve molekül ağırlığı	3
2.2.2. Tanınması	3
2.2.2.1. Renk reaksiyonları	3
2.2.2.2. İnce tabaka kromatografisi	4
2.2.2.3. Infrared spektrumu	5
2.2.2.4. NMR spektrumu	6
2.3. Miktar Tayini Yöntemleri	6
2.3.1. UV spektrumu	6
2.3.2. Floresansı	7
2.3.3. Titrimetrik yöntemler	7
2.3.4. Polarografik yöntem	8
2.4. Hidralazin Hidroklorür'ün Stabilitesi.....	8
2.5. Hidralazin Hidroklorür'ün Farmakolojik Özellikleri	9
2.6. Hidralazin Hidroklorür'ün Mevcut Farmasotik Şekilleri	11
2.7. Parenteral Preparatlar	11
2.7.1. Parenteral preparatların avantajları	12
2.7.2. Parenteral preperatların dezavantajları	12
2.7.3. Parenteral preparatlarda kullanılan yardımcılar	12

2.7.3.1. Çözücü ve çözücü yardımcıları	13
2.7.3.2. Antimikrobial ajanlar	13
2.7.3.3. Antioksidanlar	13
2.7.4. İso toni	13
2.7.4.1. İso tonik çözeltilerde kullanılan bazı kavramlar	13
2.7.4.2. İso tonik çözeltileri hazırlama yöntemleri	14
2.7.5. Parenteral preparatların hazırlanması .	16
2.7.5.1. Parenteral preparatların sterilizasyonu	17
2.7.5.2. Parenteral preparatlarda yapılan kontroller	18
2.8. Stabilite Hakkında Bilgiler	19
2.8.1. Stabiliteye etki eden faktörler	19
2.8.1.1. Fiziksel faktörler	19
2.8.1.2. Kimyasal faktörler	19
2.8.1.3. Biyolojik ajanların etkisi	19
2.8.2. Stabilite yardımcılığı	20
2.8.3. Hız kinetikleri	20
2.8.3.1. Birinci derece reaksiyonlar	20
2.8.3.2. İkinci derece reaksiyonlar	21
2.8.3.3. Sıfırıncı derece reaksiyonlar	21
2.9. Antihipertansif İlaçlar Hakkında Bilgiler	23
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	
3.1. Gereçler	26
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	26
3.1.2. Kullanılan aletler	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Hidralazin hidroklorür ampüllerin hazırlanması	27
3.2.2. Hidralazin hidroklorür'ün miktar tayini	28
3.2.3. Hidralazin hidroklorür ampüllerde stabilite çalışmaları	28
4. BULGULAR	29
4.1. Hidralazin Hidroklorür Ampüllerin Kontrolü ...	29
4.2. Formülasyon I'e Göre Hidralazin Hidroklorür'ün UV Spektrumu ve Standart Eğrisi	30
4.3. Formülasyon II'ye Göre Hidralazin Hidroklorür'ün UV Spektrumu ve Standart Eğrisi	32
4.4. Formülasyon III'e göre Hidralazin Hidroklorür'ün UV Spektrumu ve Standart Eğrisi	34

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.5. Formülasyon IV'e Göre Hidralazin Hidroklorür'ün UV Spektrumu ve Standart Eğrisi	36
4.6. Formülasyonların Değişik Koşullarda Stabilitésinin Reaksiyon Hiz Kinétiklerine Göre Değerlendirilmesi	38
4.7. Hidralazin Hidroklorür Ampüllerin İnce Tabaka Kromatografisi	50
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	52
KAYNAKLAR DİZİNİ	54
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Hidralazin hidroklorür'ün kimyasal formülü ...	3
2.2. Esansiel hipertansiyonun derecesine, eksikliğine ve ilaca verdiği cevaba göre uygulanacak tedavinin basamakları	24
4.1. Formülasyon I'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu	30
4.2. Formülasyon I için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi	31
4.3. Formülasyon II'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu	32
4.4. Formülasyon II için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi	33
4.5. Formülasyon III'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu	34
4.6. Formülasyon III için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi	35
4.7. Formülasyon IV'deki hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu	36
4.8. Formülasyon IV'deki hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi	37
4.9. Formülasyon I'in oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	43
4.10. Formülasyon I'in oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	43
4.11. Formülasyon I'in buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği	44
4.12. Formülasyon II'nin oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	44
4.13. Formülasyon II'nin oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	45
4.14. Formülasyon II'nin buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği	45
4.15. Formülasyon II'nin oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	46
4.16. Formülasyon III'ün oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	46
4.17. Formülasyon III'ün buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği	47

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.18. Formülasyon IV'ün oda ısısı aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	47
4.19. Formülasyon IV'ün oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği	48
4.20. Formülasyon IV'ün buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Hidralazin hidroklorür'ün değişik çözücülerdeki çözünürlüğü	2
4.1. Formülasyonların hemen hazırlandıktan sonraki ve 5 ay sonraki pH'ları	29
4.2. Formülasyon I'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları ...	31
4.3. Formülasyon II'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları ...	33
4.4. Formülasyon III'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları ...	35
4.5. Formülasyon IV'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları ...	37
4.6. Formülasyon I'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan konsantrasyon, % konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri	39
4.7. Formülasyon II'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan konsantrasyon, % konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri	40
4.8. Formülasyon III'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri	41
4.9. Formülasyon IV'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan konsantrasyon, % konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri	42
4.10. Formülasyonların değişik koşullardaki t_{50} ve t_{90} değerleri	49
4.11. Ampullerin ilk hazırlandığı zamanki ince tabaka kromatografisi sonuçları	50
4.12. Ampullerin 5 ay sonraki ince tabaka kromatografisi sonuçları	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1950'de Gross ve Arkadaşları tarafından hidralazin ve hidrazino bileşiklerinin kan basıncını azalttığı bulunmuştur. 1951'de Druey ve Ringier tarafından sentez metodları yayınlanmış ve bu metodlar hidralazin ve metabolitlerinin analizi için temel olmuştur. 1950'den sonra yaygın olarak hipertansiyon tedavisinde kullanılmaya başlanan hidralazin genellikle diğer ilaçlarla kombine halde kullanılır. Son yıllarda beta adrenerjik blokörler ve diüretik'lerle beraber kullanıldığı zaman daha yararlı olabileceği bulunmuştur (5).

Bu çalışmada; hipertansiyon tedavisi yanında böbrek kan akımının yeterli düzeyde kalmasını sağlaması nedeniyle hipertansiyona karşı kullanılan ilaçlar arasında önemli bir yeri olan hidralazin hidroklorür'ün parenteral preparatını hazırlamak ve bu preparatların değişik koşullarda stabilitesini incelemek amaçlanmıştır. Hazırlanan preparatlardaki hidralazin hidroklorür'ün miktar tayini için Wesley - Hadzija, Abaffy (1) ve Ruggieri'nin (34) geliştirdiği spektrofotometrik yöntem seçilmiştir.

Hidralazin hidroklorür'ün ülkemizde parenteral preparatı üretilmemektedir. Bu yüzden değişik koruyucular kullanarak hidralazin hidroklorür'ün parenteral formülasyonları üzerinde çalışılmış ve bunların değişik koşullardaki stabilitesi araştırılmıştır. Böylece hangi formülasyonun uygun olduğu saptanmıştır.

2. KURAMSAL KISIM

2.1. Hidralazin Hidroklorür'ün Fiziksel Özellikleri

Hidralazin hidroklorür beyaz veya hafif grimsi beyaz renkte, keskin tuz tadında ve kokusuz kristal tozdur (5, 39, 40).

1 k hidralazin hidroklorür 25 k distile suda ve 500 k alkolde çözünür (39). Eterde çok yavaş çözünür. Sudaki çözünürlüğü 15°C'de 30.1 mg/ml, 25°C'de 44.2 mg/ml, % 95'lik etanoldeki çözünürlüğü ise 2 mg/ml'dir (40). Oda sıcaklığında tayin edilmiş yaklaşık çözünürlük verileri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Hidralazin hidroklorür'ün değişik çözücülerdeki çözünürlüğü

Çözücü	Çözünürlük (mg/ml)
Su	39.00
Metanol	6.70
Etanol	1.90
2 - propanol ...	0.10
Kloroform	0.10
Etil eter (susuz)	0.10
Etil asetat	0.10
Asetonitril	0.10

% 2'lik sulu çözeltilerinin pH'sı 3 - 4'tür (39).

Hidralazin hidroklorür'ün erime derecesi 273°C'dir. Bazı literatürlerde ise erime derecesi 275°C olarak verilmiştir (8, 13, 39, 40).

Sıkı kapatılmış kaplarda saklanmalıdır (43).

Chojnacki ve arkadaşları (5, 7) hidralazin hidroklorür'ün kristal özelliklerini incelemişlerdir. Su'dan tekrar kristallendiğini ve kristallerin monoklinik olduğunu bulmuşlardır.

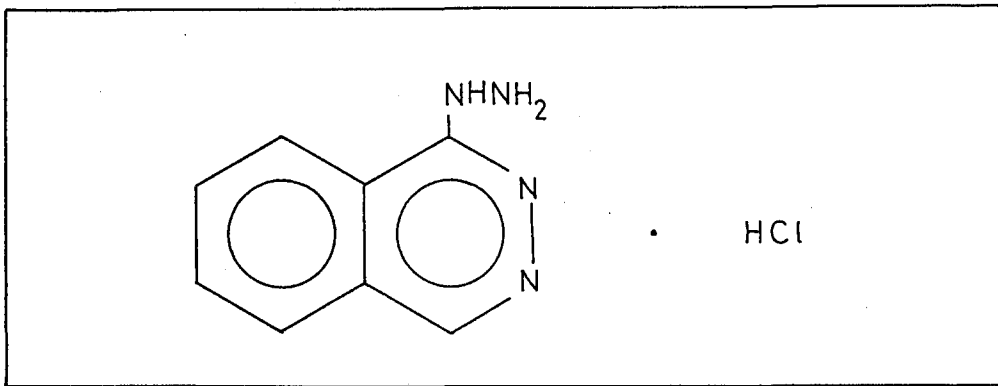
Estratova ve Ivanova (11) pKa'yı suda 7.1, % 90'lık asetonun sulu çözeltilerinde 4.7 olarak vermişlerdir. Naik ve arkadaşları (9) monohidroklorid şekli için pKa'yı 6.9 ve dihidroklorid şekli için ise 0.5 olarak bulmuşlardır.

2.2. Hidralazin Hidroklorür'ün Kimyasal Özellikleri

2.2.1. Adı, formülü ve molekül ağırlığı

$C_8H_8N_4 \cdot HCl$ kapalı formülüne sahip hidralazin hidroklorür genellikle " 1-hidrazino - ftalazin monohidroklorid " olarak adlandırılmaktadır (6, 39, 40, 41, 43). Bazı kaynaklarda " 1-(2H)-ftalazinon hidrazon monohidroklorid " ve " Ftalazin, 1-hidrazino - monoklorid " olarak ta kayıtlıdır (5, 40, 43).

Molekül ağırlığı 196.64 olan hidralazin hidroklorür'ün kimyasal formülü Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Hidralazin hidroklorür'ün kimyasal formülü

2.2.2. Tanınması

2.2.2.1. Renk reaksiyonları

Belikov ve arkadaşları (4) hidralazinin tanısı için

üç reaksiyon hazırlamışlardır. Hidralazinin bazik sulu çözeltileri sodyum nitroprusid ile reaksiyona girince kırmızı renk vermiştir. Karışım, mineral asitlerle yeşil, asetik asit ile kırmızı bir çökelti vermektedir. Hidralazinin hidroklorik asitli ortamda sinnamaldehit ile olan reaksiyonu sonucu erime derecesi 197 - 200°C olan sarı renkli bir çökelti elde edilmiştir. Sulu hidralazin çözeltisi ile p - nitrobenzaldehit'in etkileşmesi sonucunda ise erime derecesi 260 - 261°C olan portakal sarısı bir çökelti oluşmuştur.

Modras (30) hidralazini benzer ilaçlardan ayırmak için üç spot test reaksiyonu tesbit etmiştir. Kullanılan reaktifler; amonyum molibdat'ın sulu çözeltisi, bakır -1-klorür'ün sulu çözeltisi, potasyum iyodür çözeltisinde iyot, kobalt (II) nitrat'ın sulu çözeltileri, alkolik ninhidrin ve alkolik bromfenol mavisidir. Testler silica Gel G veya kağıt üzerinde yapılmıştır.

Tabletlerde ve ampüllerde hidralazinin teşhisi için USP metodunda, portakal sarısı çökelek elde etmek için o - nitro - benzaldehit kullanılmıştır (43).

2.2.2.2. İnce tabaka kromatografisi

Stohs ve Scratchley (37) silikajel G ve bir seri belirleme ajanları kullanarak tiazid grubu diüretikler ve antihipertansif ilaçlar için bir kaç İTK sistemini incelemişlerdir.

<u>Solvent sistemi</u>	<u>Hidralazinin Rf'i</u>
Metil etil keton/n-heksan(1:1)	0.72
Metil etil keton/n-heksan(2:1)	0.62
Metil etil keton/n-heksan(3:1)	0.00
Kloroform/Aseton/Trietanolamin(50:50:1.5).	0.68

Hidralazinin belirlenmesi için kullanılan belirteçler; Dragendorff reaktifi, alkali dimetilamino benzaldehit, aminaldehit ve Bratton - Marshall belirtecidir.

Zak ve arkadaşları (38) silikajel ve 3N hidroklorik asit/Metanol/Askorbik asit (44:6:1) içeren solvan sistemi kullanmışlar ve hidralazin için Rf değerini 0.53 bulmuşlardır.

Lesser ve arkadaşları (27) floresan indikatörlü selüloz yüzeylerde Asetik asit/0.01M sulu sodyum EDTA (3:29) kullanmışlar ve hidralazinin Rf değerini 0.78 olarak bulmuşlardır. Floresan indikatörlü silikajel üzerinde Rf değeri (a) Kloroform/n - heptan/Asetik asit (6:4:1) ve (b) Sikloheksan/Kloroform/Asetonitril (1:2:1) ile 0.05'den daha küçük bulmuşlardır.

2.2.2.3. Infrared spektrumu

Hidralazin hidroklorür'ün Beckman IR - 12 spektrofotometreyle elde edilen IR spektrumunda, potasyum bromür plaklar arasına dağılan mineral yağlar 420'den 4000 cm^{-1} 'e kadar tetkik edilmiştir ve kalınlığı polietilen film ile güçlendirilmiş dispersiyon tabakası 200'den 530 cm^{-1} 'e kadar incelenmiştir.

Absorpsiyon bandlarının bazılarını aşağıda görüldüğü gibi tayin edilmiştir.

<u>Frekans (cm^{-1})</u>	<u>Tayin edilen ürün</u>
3220	N - H gerilimi
3025	Aromatik C - H gerilimi
2800 - 3000 ...	Mineral yağ C- H gerilimi
1590 - 1600 ...	C = C gerilimi
1460	Mineral yağ C - H gerilimi
785	Bir aromatik halkada dört komşu H atomu

2800, 3000 ve 1460 cm^{-1} 'deki mineral yağ absorpsiyonu 2810, 2920 ve 2970 cm^{-1} 'deki hidralazin hidroklorür'ün absorpsiyon bandlarını gizler (5).

2.2.2.4. Nükleer magnetik rezonans (NMR) spektrumu

Hidralazin hidroklorür 3 - (trimetilsilil) - 1 - propan sülfonik asitin sodyum tuzu (DSS) içeren döterium oksit'te çözündürülerek NMR spektrumu elde edilmiştir. 0.0, 0.6, 1.8 ve 3 ppm'deki pikler DSS'den dolaydır. 8.01 ve 8.61 ppm pikleri aromatik protonlardan dolaydır. Spektrum Varian EM - 360 NMR spektrofotometre kullanılarak meydana getirilmiştir (5).

2.3. Miktar Tayini Yöntemleri

2.3.1. UV spektrumu

Druey, Tripod, Kuhnert - Brandstatter ve arkadaşları (10), Sharkey ve arkadaşları (24) 211 nm'deki kaydettikleri maksimum hariç, aynı absorbanları ve maksimumları bulmuşlardır.

Sunshine (5) 0.1 N hidroklorik asitteki spektrumunu 312, 302, 259 ve 233 nm'deki maksimumlarıyla ve de 0.1 N sodyum hidroksitteki spektrumunu 304, 271 ve 262 nm'deki absorbanlarıyla vermiştir. Naik ve arkadaşları (9) monohidroklorid ve dihidroklorid'in UV spektrumunu vermişlerdir. Monohidroklorid 315, 302, 290 ve 260 nm'de maksimum göstermiştir. Dihidroklorid 300 nm civarında geniş bir omuzla 318 nm'de maksimum göstermiştir. Merck Index hidralazin hidroklorür'ün sulu çözeltileri için 315, 304, 260, 240 ve 211 nm'deki maksimumlarını vermiştir (40).

Hidralazinin belirlenmesi için sıklıkla kullanılan spektrofotometrik teknik, görünür bölgede absorpsiyonla hidrazonlar oluşturmak üzere aromatik aldehitlerle reaksiyonlara dayanır. Luk'yanchikova ve arkadaşları (27) p - nitrobenzaldehit kullanmıştır. Wesley - Hadzija, Abaffy (1) ve Ruggieri (34) p - dimetilaminobenzaldehit kullanmıştır. Luk'yanchikova (26) sinnamaldehit kullanmıştır. Zak ve arkadaşları (38) p - metoksibenzaldehit kullanmıştır, 3,4,5 - trimetoksibenzaldehit ve 1 - naftaldehit'i denemişlerdir.

Perry (28), Grabowicz ve Brulinska (19) 450 nm civarında bir absorpsiyon maksimumu olan bir solüsyon elde etmek için ninhidrin kullanmışlardır.

Ellert ve Modras (12) alkali çözeltilerde demir iyonlarıyla hidralazin'i muamele etmişler ve elde edilen rengin şiddetini 450 nm'de ölçmüşlerdir.

Ruggieri (34) kırmızı viole renk oluşturmak için 2 - naftokinosülfonat sodyum kullanarak bir kolorimetrik test uygulamıştır.

Urbanyi ve O'connell (45) hidroklorotiazid ve rezepinin varlığında hidralazinin tespiti için tetrazolium mavisi kullanarak bir otomatik kolorimetrik metod geliştirmişlerdir.

2.3.2. Floresansı

Naik ve arkadaşları (9) % 50'lik metanol çözeltisi ile tabletlerden hidralazin hidroklorür'ü ayırmışlardır. Ekstrenin bir kısmını 353 nm'de floresans elde etmek için 99 volümlük konsantre sülfirik asit ile karıştırmışlardır. 2 - 8 g/ml hidralazin içeren aralıklardaki konsantrasyonlarda floresans şiddetinin lineer olarak değiştiğini bulmuşlardır. Ayrıca ampüllerinde aynı şekilde analiz edilebileceği sonucuna varmışlardır.

2.3.3. Titrimetrik yöntemler

Ruzhentseva ve arkadaşları (35) sülfirik asitteki çinko ile ısıtarak hidralazini amonyaka dönüştürmüşler, 1 mol hidralazinden 3 mol amonyak oluşturmuşlardır. Karışımı alkalilendirmişler ve amonyak borik asit çözeltisi içinde distile etmişler. Daha sonra titrasyonla miktar tayinine geçmişler.

Sandri (36) sonuçları iyi olan üç titrasyon metodu denemiştir. Biri hidroklorik asit ve potasyum bromür varlığında potasyum bromatla titrasyondur.

Diğeri ise, sodyum tiyosülfat geri titrasyonu ile potasyum iyodür - periyodik asitin aşırısının ilavesiyle yapılmıştır. Üçüncüsü, konsantre potasyum ferrosiyanat ve sodyum hidroksit ilavesidir. Asitlendirildikten sonra potasyum permanganat çözeltisi ile titre etmiştir.

USP XIX, hammaddeler, tabletler ve ampüllerde kuvvetli asit çözeltilerinde potasyum iyodür titrasyonu ile hidralazinin teşhis edildiğini vermektedir. İyodun varlığını tesbit etmek için kloroform kullanılır.

2.3.4. Polarografik yöntem

Hidralazin'in polarografik çalışmaları Modras, Giovanoli - Jakubezak ve arkadaşları (29) tarafından anlatılmıştır. İki 2 - elektron alanlarında tetrahidro türevlerinin oluşumuyla redüksiyon ilerler. Küçük bir miktar jelatin içeren 1N hidroklorik asitte 0.001 M civarındaki konsantrasyonda bozunma ürünlerinin varlığında hidralazin tayin edilmiştir. İki dalga boyunun yarı dalga potansiyelleri doymuş kalomel elektroda karşı -0,7 ve -0,95 V'dur.

2.4. Hidralazin Hidroklorür'ün Stabilitesi

Hidralazin hidroklorür kristal katılar gibi tamamen stabildir. Hidralazin hidroklorür'ün sulu çözeltileri oda temperaturunda haftalarca stabil kalır (28). pH'sı 7'den büyük sulu çözeltilerde hidralazin dekompoze olur ve ftalazin oluşur. Bozunma hızı; pH'ya, temperatüre, mevcut anyonun cinsine ve konsantrasyonuna bağlıdır (2).

Biyolojik numunelerde ilaç oda temperaturunda enzimatik reaksiyonla hızla yok olur.

Hidrazino grubu yüksek tepkimeye sahiptir, aldehit ve ketonlarla hidrazonlar oluşur. O aynı zamanda indirgeyici ajandır ve birçok metal iyonları ile kompleks oluşturur (14).

275 - 280°C'de hidralazin; amonyak, azot ve 1,4 - dihidro -1,1' - biftalazine ayrılır (3).

V.Das Gupta, K.R. Stewart ve C. Bethea (15) tarafından hidralazin hidroklorür'ün dekstroz, früktoz, laktoz, maltoz, mannitol, sorbitol ve sükroz gibi sulu taşıyıcılardaki stabilitesini yüksek performanslı likit kromatografisi metodu kullanarak çalışmışlardır. Dekstroz, früktoz, laktoz ve maltoz hidralazinin stabilitesi üzerine olumsuz etki yapmıştır. Mannitol ve sorbitol (mannitol sorbitol'den daha iyi) yaklaşık 21 gün stabil kalmıştır. Hidralazinin etkisinde % 10'dan daha az kayıp meydana getirmişlerdir.

V.Das Gupta ve Alka Gupta (16) hidralazin hidroklorür ve diğer bazı oral katı ilaçların saklandığı zamanki stabilitesini çalışmışlar ve hidralazin hidroklorür içeren tabletlerin renginin değiştiğini görmüşlerdir.

N.K. Jain ve A.N. Misra (22) hidralazin hidroklorür'ü kontrollü serbestleştiren çekirdek tablet halinde, kaplama yöntemiyle gliseril monostearat, gliseril distearat veya ödrajitler (RLPM veya RSPM) kullanarak hazırlamışlardır. Hazırladıkları tabletler üzerinde invitro - invivo testler ve stabilite değerlendirmeleri yapmışlardır. Ödrajit RLPM - RSPM kombinasyonu ile hazırlanan tabletlerin daha üstün olduğunu bulmuşlardır.

2.5 . Hidralazin Hidroklorür'ün Farmakolojik Özellikleri

Hidralazin hidroklorür hızla metabolize olur ve atılır. İnsanlarda 14 - karbonla sınıflandırılmış deneylerde ilacın % 10'undan daha azının değişmeden atıldığı gösterilmiştir. Bir dozdan sonra 5 gün içinde % 38 - 39'u idrarla ve % 9 - 12'si feçesle atılır. İdrarla atılan miktarın % 96'sı ilk 24 saat içinde saptanmıştır. Aynı dozda yavaş asetilatör ilaç alan kişiler hızlı asetilatör ilaç alanlardan daha yüksek kan seviyesine sahiptirler.

Direkt etkili vazodilatör ilaçlar içinde en uzun zamandan beri kullanılanıdır. Arteriyollerin düz kaslarını gevşeterek periferik damar rezistansını önemli ölçüde (% 50-75) azaltır. Antihipertansif ilaçların çoğu renal kan akımında azalma oluşturduğundan veya belirgin bir değişme yapmadıklarından hidralazinin renal kan akımında oldukça fazla artma yapabilmesi onun diğer ilaçlara göre bir üstünlüğü olarak kabul edilir. Bundan dolayı kronik böbrek yetmezliği olan hipertansiyonlu hastalarda, akut glomerulonefritte ve gebelik toksemisine bağlı hipertansiyon olgularında diğer antihipertansif ilaçların çoğuna tercih edilir. Hidralazin kanın büyük dolaşımdan küçük dolaşıma kaymasına neden olur ve bundan dolayı pülmoner arter basıncını arttırır (5, 23).

Hidralazinin venüller üzerindeki etkisi zayıftır ve onlarda önemsiz derecede dilatasyon yapar.

Hidralazinin kan basıncında yaptığı düşme total periferik damar rezistansında yaptığı düşmeden beklenen derecede fazla olmaz. Bunun nedeni kalp debisini fazla arttırmasıdır. Tek başına kullanıldığında taşikardi ve palpitasyon oluşturur. Propranolol ve benzeri beta - blokör ilaçlarla kombine edildiğinde kalbin aşırı uyarılmasına bağlı debi artması ve ona bağlı yan tesirler önlenildiğinden hidralazinin periferik damar rezistansında yaptığı belirgin azalmanın kan basıncına yansımaları artar ve hipotansif etki potansiyalize edilir. Hidralazin antihipertansif olarak tek başına kullanılmaz. Mutlaka kalp üzerindeki refleks etkisini antagonize eden diğer antihipertansif ilaçlarla birlikte kullanılır.

Belirli bir dozu intravenöz olarak verildiğinde oluşan plazma konsantrasyonu, aynı dozun oral verilmesine oranla daha fazla olur. Bunun nedeni ağızdan alınan hidralazinin absorbe edildikten sonra karaciğerden geçerken fazla metabolize edilerek inaktive edilir.

Hidralazin hipertansiyon tedavisinde ilk ilaç olarak kullanılmaz.

Başlangıçta günde 25 - 50 mg dozda ağızdan verilir. Alınan cevaba göre doz giderek günde 200 - 400 mg'a kadar arttırılabilir. Parenteral olarak 24 - 48 saatte 20-40 mg'lık dozlarda kullanılır.

En sık görülen yan tesirleri; bulantı, kusma, diyare, baş ağrısı, iştahsızlık, taşikardi ve palpitasyondur. Uzun süre kullanılması halinde akut romatoid artrite benzeyen bir sendrom oluşabilir (23).

2.6. Hidralazin Hidroklorür'ün Mevcut Farmasötik Şekilleri

Türkiye'de 25 mg hidralazin hidroklorür içeren drajeleri mevcuttur (44).

Yurt dışında 20 mg hidralazin hidroklorür içeren 1'er ml'lik ampülleri, 25 - 50 mg hidralazin hidroklorür içeren tablet ve drajeleri mevcuttur (31, 43).

Ayrıca N.K. Jain ve A.N. Misra (22) hidralazin hidroklorür'ün kontrollü serbestleştirilen tabletlerini hazırlamışlardır.

2.7. Parenteral Preparatlar

Organizmanın doku içi ve doku arası sıvı sistemlerine injeksiyon suretiyle verilen ilaç şekillerine parenteral ilaçlar veya injeksiyonlar denir.

Uygulama esnasında deri ve mukozanın oldukça etkili koruyucu engellerini geçeceklerinden dolayı mikroorganizmalar ve toksik ajanların girişi kolay olur. Bu yüzden parenteral preparatlar uygun saflıkta, toksisite ve kontaminasyondan uzak olmalıdır.

Şulu çözelti, sulu süspansiyon, yağlı süspansiyon, yağlı çözelti ve emülsiyon halinde olabilirler.

Ayrıca çözelti veya süspansiyon halinde dayanıklı olmayan ilaçlar steril toz halinde, zerk edilmeden hemen önce su ile karıştırılarak kullanılacak şekilde hazırlanırlar.

2.7.1. Parenteral preparatların avantajları

Çabuk etki gösterirler, tam bir biyoyararlanım sağlarlar, lokal etki için kullanılabilirler, depo preparatlar hazırlanabilirler ve ağız yolu ile alınan ilaçlarda görülen absorpsiyon, parçalanma ve tahriş etme problemleri yoktur.

2.7.2. Parenteral preparatların dezavantajları

Tatbik için bir yardımcıya ihtiyaç vardır, pahalıya malolurlar, korku verirler, dokuyu zedeleyicidirler, fazla dayanıklı değildirler, deri ve sindirim yolu gibi koruyucu bir sınırdan geçmeden organizmaya girerler.

2.7.3. Parenteral preparatlarda kullanılan yardımcıları

Stabiliteyi arttırmak amacıyla formüle ilave edilecek maddeler zararsız olmalı, farmakolojik etkileri olmamalı, tanınma testlerini ve miktar tayini metodlarını etkilememelidir. Bu yardımcı maddelerin hangi koşullarda ve konsantrasyonlarda kullanılabileceği farmakopelerde kayıtlıdır. Enjektabl preparatların hazırlanmasında kullanılacak çözücü ve kaplar pirojenik reaksiyon vermemelidir. Suda kolay çözünen tuzlar kullanılırken karbondioksit içeren su çözücü olarak alınır, suyun pH'sı hafif asit olduğundan bu tuzlar baz halinde çöker. bunu önlemek için bu tip madde içeren preparatlar hazırlanırken karbondioksitsiz su kullanılmalıdır (33, 42).

2.7.3.1. Çözücü ve çözücü yardımcıları

Çözücü olarak genellikle distile su, bidistile su ve enjeksiyonluk su kullanılır. Ayrıca mısır yağı, susam yağı, pamuk yağı ve yerfıstığı yağı gibi sıvı yağlar ve bazı hallerde gliserin çözücü olarak kullanılmaktadır.

Çözücü yardımcısı olarak etil alkol, polietilen glikolün sulu serileri ve propilen glikol kullanılır (21).

2.7.3.2. Antimikrobial ajanlar

Ençok kullanılan antimikrobial ajanlar ve kullanım konsantrasyonları aşağıdaki gibidir:

Çözücüsü su ve su ile karışabilen sıvağlar olan parenteral çözeltilerde fenilmerkürü nitrat (% 0.01), tiomersal (% 0.01), benzalkonyum klorür (% 0.01), klorbütanol (% 0.5), benzil alkol (% 2), metil paraben (% 0.18), propil paraben (% 0.02) gibi ajanlar kullanılır. Yağlarla hazırlanan parenteral çözeltilerde fenol (% 0.5), krezol (% 0.5) ve klor krezol (% 0.1) kullanılır (33).

2.7.3.3. Antioksidanlar

Oksidasyonu önlemek amacıyla kullanılırlar. Bunlar; sodyum bisülfid (% 0.1 - 0.2), sodyum formaldehit sülfoksilat (% 0.05 - 0.1), tioure (% 0.05) ve bisodyum EDTA (% 0.1)'dir (21, 33).

2.7.4. İotoni

2.7.4.1. İsotonik çözeltilerde kullanılan bazı kavramlar

Kan serumu veya göz yaşı sıvısıyla aynı osmotik basınca sahip çözeltilere İsotonik Çözelti denir.

Plazmaya oranla düşük osmotik basınca sahip çözeltilere Hipotonik Çözeltiler, daha yüksek osmotik basınca sahip çözeltilere Hipertonik Çözeltiler ve isotonik olmayan her iki tip çözeltiye Paratonik Çözeltiler adı verilir.

Klinik açıdan intravenöz yolla kullanılacak preparatların isotonik olmaları idealdir. Alyuvar ve akyuvarların osmotik basıncı kendilerini çeyreleyen çözeltilere oranla fazla olduğunda osmotik basınç dengeleninceye kadar yuvarlar içine su girer. Yuvarlar şişer ve en sonunda yırtılır. Hemoglobun açığa çıkar. Bu olaya Hemoliz adı verilir. Yuvarlar hipertonik çözeltilerle temas ettiğinde durum terstir. Yuvarlar içerdikleri suyu dışarı vererek büzüşürler. Bu olaya Plazmoliz adı verilir. Plazmanın osmotik basıncının artması sonucu yuvarlar eski halini alacağından, intravenöz yol ile hipertonik çözeltilerin kullanılmasının klinik açıdan fazla bir sakıncası yoktur.

2.7.4.2. İsotonik çözeltili hazırlama yöntemleri

İsotonik çözeltili hazırlamak için aşağıdaki yöntemlerden faydalanılır.

Türk farmakopesi yöntemi : Bu yöntemde aşağıdaki eşitlik kullanılmaktadır.

$$W = \frac{0.52 - a}{b} \quad \text{Eşitlik 2.1.}$$

Bu eşitlikte;

W : Hazırlanacak çözeltilinin 100 ml'sini isotonik yapabilmek için ilavesi gerekli maddenin % g olarak miktarıdır.

a : Reçetede % (a/h) olarak belirtilen ilaç konsantrasyonunun maddenin % 1'lik (a/h) çözeltilisinin donma noktası ile çarpımıdır.

b : İlave edilecek yardımcı maddenin % 1'lik (a/h) çözeltilisinin donma noktası alçalmasıdır.

Donma noktası alçalması yöntemi : İsviçre farmakopesinde donma noktası alçalmasını hesaplamak için Eşitlik 2.2 verilmiştir. Eşitlikten Türk farmakopesi yöntemindeki " a " değeri hesaplanır.

$$\Delta = n k \frac{g \cdot 1000}{m \cdot l}$$

Eşitlik 2.2.

Bu eşitlikte;

- Δ : Suyu oranla çözeltinin donma noktası alçalması
(Eşitlik 2.1'deki " a " değeri)
- n : Çözünen maddenin iyon sayısı (su iyonları hariç)
- k : 1 mol maddenin 100 g çözücünde çözünmesi sonucu oluşan donma noktası alçalması (Kriyoskopi sabiti) bu değer su için 1.86'dır.
- g : Çözünmüş maddenin ağırlığı (g olarak)
- m : Çözünmüş maddenin molekül ağırlığı
- l : Çözünmüş maddenin ve çözücünün toplam ağırlığıdır.

White - Vincent yöntemi : Bu yöntemde reçetede kayıtlı maddeler kullanılarak isotonik çözelti hazırlamak için gerekli su miktarı hesaplanır. Maddeler hesaplanan bu suda çözündürülür ve gerekli miktara isotonik çözeltilerle tamamlanır. Hesaplama aşağıdaki eşitlik kullanılır.

$$V = W E v$$

Eşitlik 2.3.

Bu eşitlikte;

- V : Maddenin isotonik çözeltisini hazırlamak için tamamlama yapılacak hacim (ml)
- W : Etken madde miktarı (g)
- E : 1 g ilacın osmotik basıncına eşit sodyum klorür miktarı
- v : 1 g sodyum klorür suda çözüldüğünde isotonik çözelti oluşumu için ilavesi gerekli su miktarı (bu değer 111.1 ml'dir)

Sodyum klorür ekivalanı yöntemi : Çözeltilerin isotonik hale getirilmesi için pratik bir yöntemdir. 1 g ilacın gösterdiği osmotik basıncı gösteren sodyum klorür miktarına o ilacın sodyum klorür ekivalanı denir.

Grafik yöntemleri : İstotoni hesabı için pratikte çeşitli grafik yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlar içinde en çok kullanılanları şunlardır :

Hammarlund - Bjergaard grafiği : Grafikte absiste maddenin konsantrasyonu, ordinatta % g sodyum klorür miktarı kayıtlıdır. Reçetede kayıtlı maddenin konsantrasyonuna karşılık gelen noktadan maddenin eğrisine dik çıkılır. Eğrinin kesildiği noktadan ordinata çizilen dikin ordinatı kestiği nokta, o konsantrasyondaki maddeyi istotonik yapmak için gerekli % sodyum klorür miktarını verir.

Donma noktası alçalması grafiği : Absiste maddelerin % konsantrasyonları (a/h), ordinatta da meydana getirdikleridonma noktası düşmeleri kayıtlıdır. Grafik üzerinde maddelerin istotoni eğrileri çizilmiştir. Grafikten maddenin meydana getirdiği donma noktası alçalması bulunur. Bu değer 0.52'den çıkartılır ve elde edilen bu değer absiste tekabül ettiği noktadan sodyum klorür eğrisine dik çıkılır, kesim noktasından ordinata dik inilerek % sodyum klorür miktarı bulunur (18).

2.7.5. Parenteral preparatların hazırlanması

Bu tip preparatların hazırlanmasında aşağıdaki sıra takip edilir.

Preparatın konacağı uygun kaplar (ampül, flakon gibi) seçilir. Bunlar önce basınçlı hava püskürtülerek ön temizleme yapılır. Sonra iki defa basınçlı deiyonize su ile ve bir defa basınçlı distile su ile yıkanır. Daha sonra tekrar basınçlı hava geçirilir. Başaşağı getirilerek tel kafeslere yerleştirilir ve etüvde kurutulularak 170°C'de iki saat sterilize edilir.

Uygun çözücü ve yardımcı maddeler seçilir.

Bölüm 2.7.4.2'deki metodlardan yararlanılarak isotoni hesabı yapılır. Gerekliyorsa isotonikliği sağlamak amacıyla yardımcı madde ilave edilir.

Reçetede kayıtlı maddeler usulüne uygun olarak karıştırılarak çözelti hazırlanır ve süzülür.

Çözelti enjektörlerle yıkanmış ve sterilize edilmiş ampüllere istenen hacimlerde doldurulur.

Sterilizasyon Bölüm 2.7.5.1'de anlatıldığı gibi yapılır.

Preparatların kontrolü ise bölüm 2.7.5.2'de anlatıldığı şekilde yapılır (17, 21).

2.7.5.1. Parenteral preparatların sterilizasyonu

Kullanılan etken maddenin ve malzemelerin özelliğine göre uygun sterilizasyon yöntemi seçilir.

En çok kullanılan sterilizasyon metodları şunlardır:

Isı ile sterilizasyon : Cam malzemelerin ve ısıya dayanıklı maddelerin sterilizasyonunda genellikle kuru sıcak sterilizasyon olan kuru hava sterilizasyonu kullanılır. Kuru hava sterilizasyonu 160 - 170°C'de 2 saatten az olmamalıdır. Sterilizasyon için etüvler veya uygun kapalı sistemler kullanılır.

Nemli ısı ile sterilizasyon : En çok bilineni ve kullanılanı basınçlı buharla sterilizasyondur. Bunun için otoklavlar kullanılır. Buharın mikroorganizmaları öldürücü etkisi daha fazladır. Çabuk ısıtmasının nedeni, cisimlerin gözeneklerine kolay girebilmesinden ve taşıdığı ısıyı temas ettiği yüzeye aktarmasından dolayıdır. Türk Farmakopesi 1974, 115 - 116°C'de sterilizasyon süresinin 30 dakika olduğunu belirtir. USP XX ise 120 - 121°C'de sterilizasyon süresinin 20 dakika olduğunu belirtir.

Nemli ısı ile sterilizasyondan kaynatma ile sterilizasyon, 100°C'de 15 - 60 dakika kaynatılarak yapılır.

Filtrasyon ile sterilizasyon : Isı ile bozulan maddelerin sterilizasyonunda kullanılır. Cam filtreler, porselen filtreler, berkefelt filtreler, aspest süzgeçli filtreler, membran ve ultra filtreler kullanılır.

Işınlarla sterilizasyon : Genellikle UV ışınları kullanılır. 240 -280 nm dalga boyundaki UV ışınları sterilizasyon için uygundur.

Kimyasal yöntemle sterilizasyon : Bazı kimyasal maddelerin mikroorganizmaları öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisinden yararlanılır. Bunun için benzalkonyum klorür, etilen oksit ve klor gibi maddeler kullanılır (17, 21).

2.7.5.2. Parenteral preparatlarda yapılan kontroller

Hazırlanan preparatın istenen özellikte olup olmadığını tayin etmek için aşağıdaki kontroller yapılır.

a. Fiziksel kontroller

Kapanma kontrolü : En çok kullanılan yöntem boya çözeltisi ile subanyosunda kaynatılarak yapılan kontroldür. Boya çözeltisi olarak % 0.5 - 1'lik metilen mavisi veya amarant çözeltisi kullanılır. Sterilizasyonu tamamlanmış ampüller özel kafeslere yerleştirilir. Daha sonra başaşağı olacak şekilde boya çözeltisi içeren su banyosu içine yerleştirilir ve 30 dakika kadar kaynatılır. İstenilen şekilde kapanan ampüllerin içine boya çözeltisi girmeyecektir.

Muallak madde kontrolü : Göz, mikroskop veya elektronik aletlerle yapılır. Gözle yapılan kontrolde 40 μ m ve daha büyük çapta olan parçacıklar görülebilir. Elektronik aletlerle ise 1 - 2 μ m çapındaki parçacıklar görülebilir.

b. Mikrobial kontroller

Bunlar sterilite testi ve pirojen testi'dir.

2.8. Stabilite Hakkında Bilgiler

Stabilite hazırlanan preparat içinde ilacın değişmeden kalmasıdır. Kimyasal değişimin hızını tayin etmek suretiyle bir ilacın dayanıklılığı, yarılanma ömrü ve süresi hesaplanabilir. Buna hızlandırılmış stabilite testi denir. Stabiliteye iç ve dış etkenler neden olur. Dış etkenler; ısı, ışık ve havadır. İç etkenler ise maddenin reaksiyon kabiliyeti veya yardımcı maddeler ve yan maddeler veya kombine preparatlarda bileşime giren maddelerdir.

2.8.1. Stabiliteye etki eden faktörler

2.8.1.1. Fiziksel faktörler

Bunlar; ısı, ışık, rutubet, izomerizasyon, absorpsiyon ve adsorpsiyondur.

Işığın etkisi ile; izomerizasyon, bünyede değişiklik, fotooksimasyon, hidrojen atomu yer değiştirmesi, fotoadisyon, fotoeliminasyon, fotooksidasyon gibi reaksiyonlar meydana gelir.

2.8.1.2. Kimyasal faktörler

pH, oksidasyon, iyonların etkisi, maddeler arası reaksiyon, kullanılan sıvağ ve muhafaza kapları maddelerin stabilitesine etki eden kimyasal faktörlerdir.

2.8.1.3. Biyolojik ajanların etkisi

Dekoksiyon, infüzyon ve pilüllerde mikroorganizmalara, küf ve mantarlara rastlanmıştır. İlaç üzerinde mikroorganizma üremesi, katı şekilde iken rutubet, çözelti halinde iken şeker varlığında olur. Mikroorganizmalar ve mantarlar kimyasal maddeleri parçalayabilir. Bu değişimler oksidasyon ve hidroliz sonucu meydana gelir. Mikroorganizma bir ortamın pH'sını değiştirerek renk değişimi meydana getirir.

2.8.2. Stabilite yardımcıları

Antioksidan ilavesi, yardımcı maddeler ilave edilmesi, ilacın sterilize edilmesi, antibakterial ajanların ilavesi ve pH ayarı; ısı, ışık, rutubet ve havanın etkisinden ilacı korur.

Antioksidan ajanlar oksidasyonu önlerler. En çok kullanılanları şunlardır:

Sentetik antioksidanlar : Kükürtlü bileşikler, fenol türevleri, nitratlar ve nitritlerdir.

Tabii antioksidanlar : Vitamin E, kahve asiti, sesamol, koniferil benzoat, galak reçinesi, amino asitler, askorbik asit tuzları ve türevleridir.

Sinerjikler antioksidanların koruyucu tesirlerini arttırarak onlara yardım ederler.

2.8.3. Hız kinetikleri

2.8.3.1. Birinci derece reaksiyonlar

Reaksiyona giren maddenin zamanla azalma hızı olarak tanımlanır. Hesaplamalarda aşağıdaki eşitliklerden yararlanılır.

$$\ln C_A = - k_1 \cdot t + \text{Sabit}$$

Eğer başlangıçta $t = 0$ için $C_A = a$ ise

$$\ln C_A = - k_1 \cdot t + \ln a$$

veya

$$C_A = a e^{-kt} \quad \text{dir.}$$

Buradan

$$k = \frac{2.303}{t_2 - t_1} \log \frac{C_1}{C_2} \quad \text{elde edilir. Eşitlik 2.4.}$$

Başlangıç konsantrasyonunun ilk değerinin yarıya düşmesi için geçen zaman t_{50} 'dir.

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.693}{k} \quad \text{Eşitlik 2.5.}$$

Genellikle yararlanılan değer t_{90} olup, ilacın aktivitesinin başlangıç değerinin % 90'a düşmesi için geçen zaman olup aşağıdaki eşitlikle hesaplanır.

$$t_{90} = \frac{0.105}{k} \quad \text{Eşitlik 2.6.}$$

2.8.3.2. İkinci derece reaksiyonlar

Reaksiyon hızı reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Aşağıdaki eşitlikler kullanılır (32).

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x) \cdot (b - x)$$

$$k = \frac{2.303}{t (a - b)} \cdot \log \frac{b (a - x)}{a (b - x)} \quad \text{Eşitlik 2.7.}$$

$$t_{50} = \frac{1}{k \cdot a} \quad \text{Eşitlik 2.8.}$$

2.8.3.3. Sıfırıncı derece reaksiyonlar

Reaksiyon hızı konsantrasyondan bağımsızdır. Reaksiyona giren maddenin başlangıç konsantrasyonu " a " ise;

$$C = -kt + a$$

$$k = - \frac{a_1 - a_2}{t_1 - t_2} \quad \text{Eşitlik 2.9.}$$

$$t_{50} = \frac{a}{2k} = \frac{1/2 a}{k} \quad \text{Eşitlik 2.10.}$$

$$t_{90} = \frac{0.1 a}{k} \quad \text{Eşitlik 2.11.}$$

olarak bulunur (32).

Temperatürün reaksiyon hızına etkisini tayin etmek için " Arrhenius Denklemi " kullanılır. Bu denklemden ayrıca hızlandırılmış stabilite testi deneylerinde de yararlanılır. Böylece oda temperatüründen yüksek iki farklı ısıda yapılan çalışma sonucu elde edilen " k " değerlerinden aktivasyon enerjisi bulunup, preparatın oda temperatüründeki parçalanma hız sabitesi hesaplanır.

$$k = A \cdot e^{-E/RT} \quad \text{Eşitlik 2.12.}$$

Bu eşitlikte;

A : İntegrasyon sabiti, Frekans faktörü

E : Aktivasyon enerjisi

R : Gaz sabiti (1.987 derece⁻¹. mol⁻¹)

T : Mutlak temperatür

k : Maddenin parçalanma hız sabitidir.

Eşitlik 2.12'nin logaritması alınırse aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$2.303 \log k = - \frac{E}{RT} + 2.303 \log A$$

$$\log k = \log A - \frac{E}{2.303 \cdot RT} \quad \text{Eşitlik 2.13.}$$

Reaksiyon hız sabitinin temperatüre bağımlılığının bulunması için en az iki değişik temperatürde hız sabiti tayin edilir.

Hız sabitinin logaritmasına ($\log k$ 'ya) karşı mutlak temperaturün tersi grafiğe çizilirse bir doğru elde edilir. Bu doğrunun eğimi;

$$m = - E / 2.303 R \text{ 'dir.}$$

İki farklı temperaturden elde edililen hız sabiteleri aşağıdaki gibidir.

$$\log k_1 = - \frac{E}{2.303 \cdot RT_1} + \log A$$

$$\log k_2 = - \frac{E}{2.303 \cdot RT_2} + \log A$$

$\log k_1$ ve $\log k_2$ ifadeleri birbirinden çıkarılırsa; Aşağıdaki eşitlik elde edilir (18).

$$\log \frac{k_1}{k_2} = \frac{E}{2.303 R} \cdot \frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \quad \text{Eşitlik 2.14.}$$

2.9. Antihipertansif İlaçlar Hakkında Bilgiler

Hipertansiyon, arteriel kan basıncının devamlı olarak yükselmesi ile kendini gösteren kalp damar sistemi hastalığıdır. Genellikle diyastolik basıncın 90 mm Hg'nın veya sistolik basıncın 140 mm Hg'nın üstünde olması ya da bu iki durumun birarada olması hipertansiyon teşhisi için öngörülen kan basıncı kriterlerini oluşturur. Ancak yaşlanma ile diyastolik ve sistolik kan basıncının normal olarak artma gösterdiği için bu sınırları mutlak olarak kabul etmeyip hastanın yaşına göre değerlendirmek gerekir. Diyastolik basınç sol ventrikülün sistol başında maruz kaldığı yükü temsil ettiğinden, hipertansiyonun derecesi hakkında değerlendirme yapmak için en fazla kullanılan parametredir. Fakat bu görüş son zamanlarda değerinden kaybetmiştir.

Şöyleki; hipertansif hastalığın prognozunu ön görme bakımından sistolik basıncın diyastolik basınca göre daha iyi bir gösterge olduğu saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü gerçek hipertansiyonlu kişilerde arteriyel kan basıncı 160 / 95 mm Hg'nın üstünde olduğunu bildirir. Buna Sınır Hipertansiyon denir.

Hipertansiyonun en sık görüleni Esansiel Hipertansiyon'dur. Tedavinin ilaçla yapılması esastır. Bu tedavi palyatif bir tedavidir, hastalığı tamamen geçirmez.

Hipertansiyon tedavisinde (başlangıç dönemindeki hafif olgular hariç); hastalığın derecesine, eksikliğine ve ilaca verdiği cevaba göre, iki veya daha fazla sayıda ilaç basamaklı bir şekilde kombine edilerek kullanılır. Kombinasyon, antihipertansif etkinliği, bazı yan etkileri arttırmaksızın ve hatta bu yan tesirleri azaltarak güçlendirir. Esansiel hipertansiyonun dereceleri Şekil 2.2'de verilmiştir.

1. Basamak		2. Basamak		3. Basamak		4. Basamak	
TIAZİD diüretikler		Şunlardan birini ekle: PROPRANOLOL RESERPİN METİLDEPO		Şunlardan birini ekle: HİDRALAZİN KLONİDİN PRAZOSİN		GUANETİDİN'i ekle veya biri ile değiştir (tiazid hariç)	
Bir ilaç		İki ilaç		Üç ilaç		Üç, dört ilaç	

Şekil 2.2. Esansiel hipertansiyonun derecesine, eksikliğine ve ilaca verdiği cevaba göre uygulanacak tedavinin basamakları

Esansiel hipertansiyonda ilaçla tedavinin, ağır komplikasyonların oluşmasını önlediği ve böylece hastanın daha uzun ve verimli bir ömür sürdürebileceği inandırıcı bir şekilde kanıtlanmıştır.

Antihipertansif ilaçlar etki mekanizmalarına göre aşağıdaki alt gruplara ayrılırlar.

Diüretikler,

Adrenerjik nöron blokörleri,

Santral etkili sempatolitik ilaçlar,

Diğer sempatolitik ilaçlar,

Direkt etkili vazodilatörler,

Anjiyotensin antagonistleri,

Hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar olmak üzere 7 grupturlar (23).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

- Hidralazin hidroklorür (Ciba - Geigy)
- Hidroklorik asit (Merck)
- Propilen glikol (Birleşik Kimya Mekanik)
- p - dimetilaminobenzaldehit (Riedel-De Haen AG
Seelze - Hannover)
- Kloroform (Merck)
- Benzil alkol (Merck)
- Benzalkonyum klorür (Trans - Kim)
- Etanol (Tekel)
- Nipagin M (Doğu İlaç Fab. A.Ş.)
- Nipazol M (Doğu İlaç Fab. A.Ş.)
- Aseton (Renel Kimya)
- Trietanolamin (Ferak Berlin)
- Kieselgel 60 HF₂₅₄ (Merck)

3.1.2. Kullanılan aletler

- UV spektrofotometresi (Shimadzu UV 240 Graphicord)
- ve kaydedicisi (Shimadzu Graphic Printer Pr - 1)
- pH metre (Consort P 114 tipi kombine elektrotlu)
- Otoklav (V/O Medexport BK - 75 USSR)
- 50 ve 100 ml'lik kalibre edilmiş balonlar
- UV lambası (Shimadzu UV - GL - 58, 254 nm)
- 20 cm x 20 cm'lik cam plaklar

3.2. Yöntem

3.2.1. Hidralazin hidroklorür ampüllerinin hazırlanması

20 mg/ml hidralazin hidroklorür içeren koruyucuları farklı ve koruyucusuz 1'er ml'lik ampüller halinde dört değişik formülasyon Bölüm 2.7.5'de anlatıldığı gibi hazırlandı. Formülasyonların içerikleri aşağıda verilmiştir.

Formülasyon I

Hidralazin hidroklorür	20.00 mg
Distile su k.m.	1.00 ml

Formülasyon II

Hidralazin hidroklorür	20.00 mg
Benzalkonyum klorür	% 0.01
Distile su k.m.	1.00 ml

Formülasyon III

Hidralazin hidroklorür	20.00 mg
Benzil alkol	% 2
Distile su k.m.	1.00 ml

Formülasyon IV

Hidralazin hidroklorür	20.00 mg
Metil paraben	0.65 mg
Propil paraben	0.35 mg
Propilen glikol	103.60 mg
Distile su k.m.	1.00 ml

Her formülasyondaki maddeler usulüne uygun olarak karıştırılıp çözeltileri hazırlandıktan sonra, her çözeltinin pH'sı ayrı ayrı tesbit edildi. Çözeltiler yıkanmış kurutulmuş ve sterilize edilmiş 1'er ml'lik renkli ampüllere dolduruldu ve ampüller kapatıldı. Ampüller 1 atmosfer basınçta ve 120-121°C'de 20 dakika otoklavda sterilize edildi.

Hazırlanan ampüllerde kapanma ve muallak madde kontrolü yapıldı.

3.2.2. Hidralazin hidroklorür'ün miktar tayini

Her formülasyon için ayrı ayrı 300 µg/ml'lik çözeltiler hazırlandı ve UV spektrofotometrede 390 ile 600 nm arasında tarama yapılarak maksimum absorbands verdikleri dalga boyları tesbit edildi.

100, 150, 200, 250 ve 300 µg/ml'lik seriler halinde çözeltiler hazırlandı ve her formülasyon için hidralazin hidroklorür'ün standart eğrileri çizildi.

Elde edilen doğru denklemlerinden yararlanılarak aşağıdaki gibi miktar tayini yapıldı.

Her ampülden 0.5 ml numune alınır ve üzerine 1 ml Van - Urk reaktifi (★) ilave edilip arasına çalkalanarak reaksiyonun tamamlanması için 20 dakika bekletilir. Daha sonra her formülasyon kendi körüyle 50 ml'ye tamamlanır ve UV spektrofotometrede absorbanları okunur.

3.2.3. Hidralazin hidroklorür ampüllerde stabilite çalışmaları

Hazırlanan dört formülasyonun ampülleri oda ısısında aydınlıkta, oda ısısında karanlıkta ve buzdolabında olmak üzere üç değişik koşulda saklandı. Her formülasyondan hazırlandıktan hemen sonra ve 7'şer gün ara ile 5 ay numune alındı. Numunelerde Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi hidralazin hidroklorür miktarı tayin edildi. Ayrıca ince tabaka kromatografisi tekniği kullanılarak parçalanma ürünü olup olmadığı araştırıldı.

(★) Van - Urk reaktifi : p - dimetilaminobenzaldehit'in etanol ve hidroklorik asit'in (1:1) karışımındaki % 1'lik çözeltisidir.

4. BULGULAR

4.1. Hidralazin Hidroklorür Ampüllerinin Kontrolü

Ampüllerde Bölüm 2.7.5.2'de anlatıldığı gibi yapılan kontroller sonucu kapanmayan ampüller atılmış ve kullanılmak üzere ayrılmış ampüllerin hiçbirinde muallak madde gözlenmemiştir.

Çözeltilerin hemen hazırlandıktan sonraki ve 5 ay bekletildikten sonraki pH değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Formülasyonların hemen hazırlandıktan sonraki ve 5 ay sonraki pH'ları

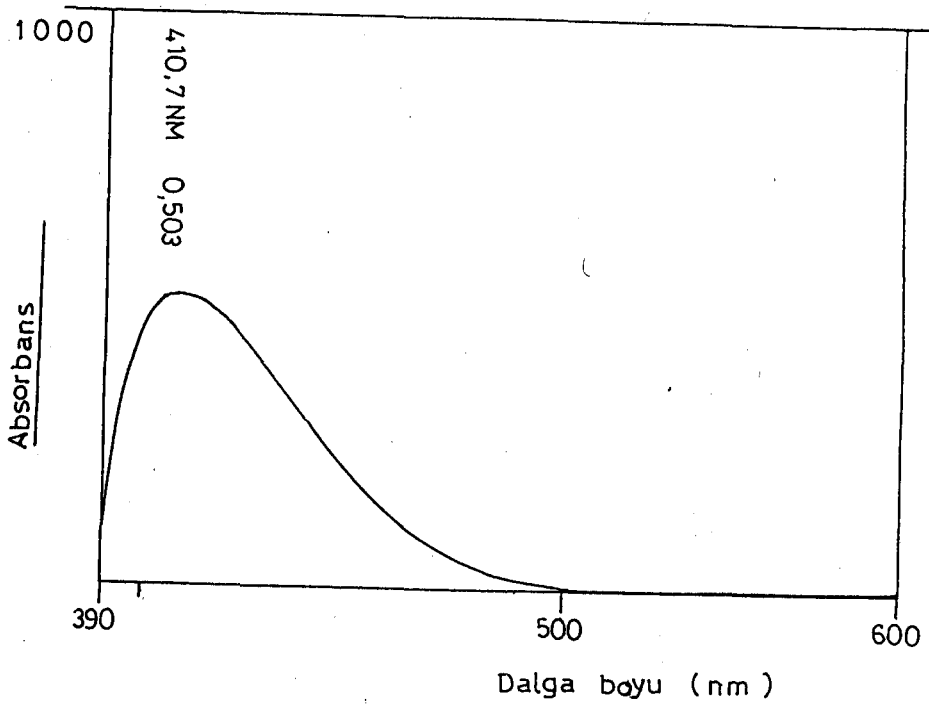
Formülasyon	pH değerleri			
	0. gün	5 ay sonra		
		Aydınlık	Karanlık	Buzdolabı
I	3.71	3.52	3.51	3.60
II	4.01	3.62	3.64	3.61
III	3.84	3.82	3.76	3.78
IV	3.83	3.52	3.58	3.63

Yukarıdaki değerlerdende anlaşılacağı gibi çözeltilerin pH'larınının zamanla çok azda olsa azaldığı gözlenmiştir. Fakat bu azalmalar koşullar arasında pek farklılık göstermemektedir. Koşulların çözeltilerin pH'larına etki etmediği sonucuna varılmıştır.

4.2. Formülasyon I'e göre hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu ve standart eğrisi

300 $\mu\text{g/ml}$ 'lik çözeltinin 390 ile 600 nm arasındaki UV spektrumu Şekil 4.1'de verilmiştir.

Kör : Van - Urk reaktifi 1 ml
Distile su k.m. 50 ml



Şekil 4.1. Formülasyon I'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu

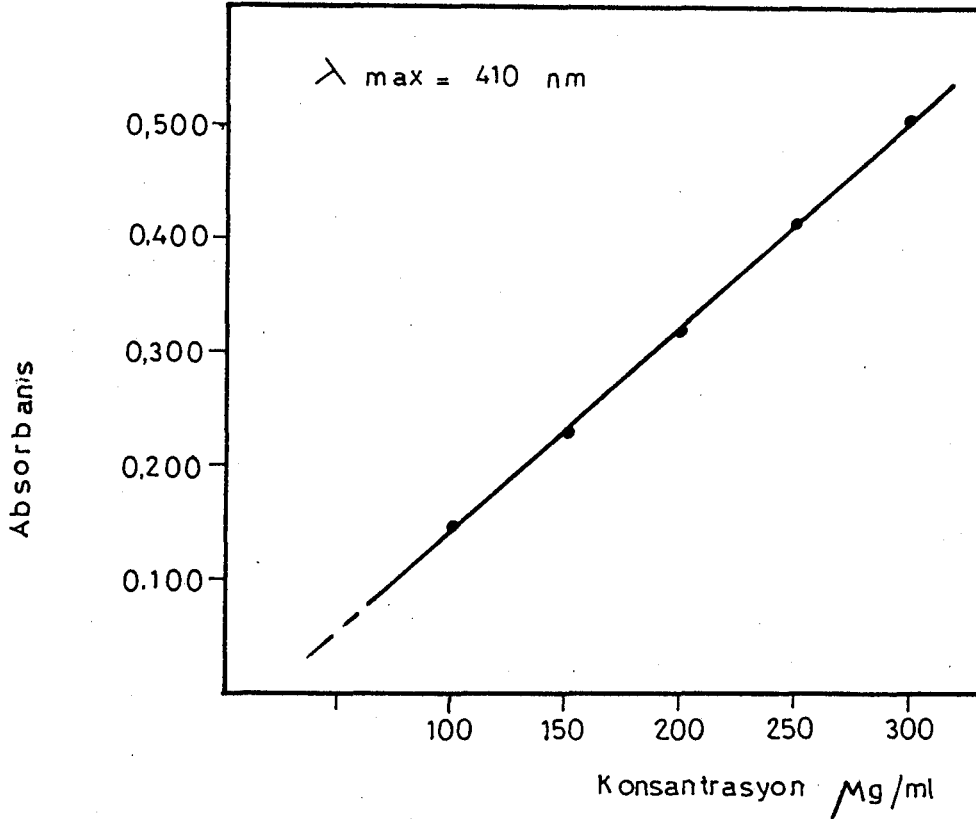
Hidralazin hidroklorür ile Van - Urk reaktifindeki p - dimetilaminobenzaldehit'in reaksiyonu sonucu meydana gelen sarı renkli hidrazon türevinin spektrofotometrede yapılan tarama sonucu maksimum absorbans verdiği dalga boyu 410 nm olarak bulunmuştur.

100, 150, 200, 250 ve 300 g/ml 'lik çözeltilerin 410 nm'deki absorbanslarından yararlanılarak doğru denklemi bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Formülasyon I'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları. Her bir değer 10 deney ortalamasıdır.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	100	150	200	250	300
Absorbans	0.114	0.229	0.323	0.424	0.503

Bu değerlere ait kalibrasyon eğrisi Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Formülasyon I için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi

Bu doğrunun denklemi aşağıdaki gibidir.

$$y = 0.001826 x - 0.0406$$

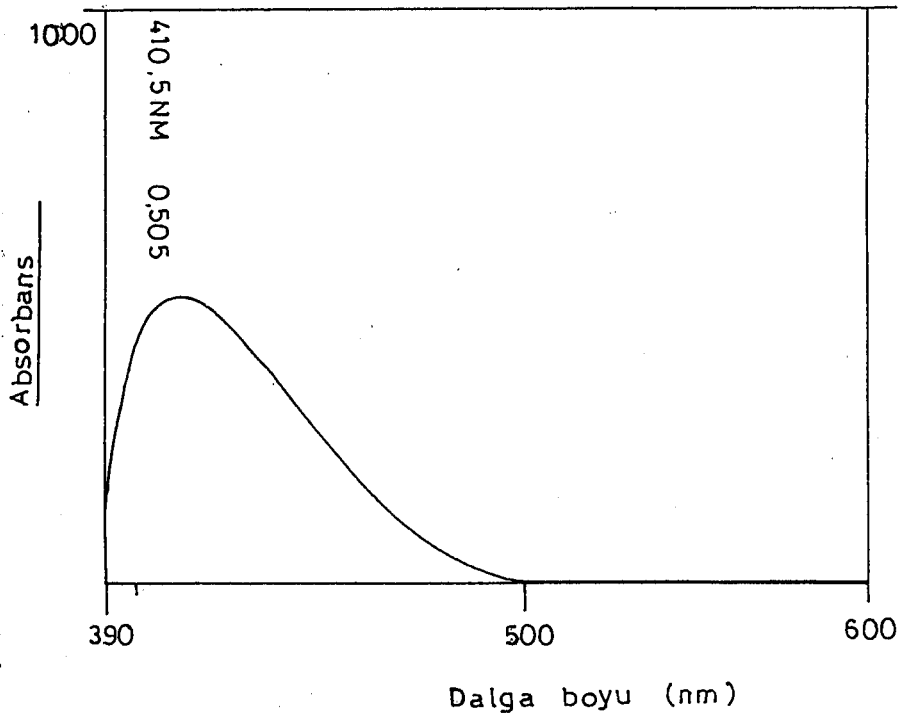
x = Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$), y = Absorbans

r = Korelasyon katsayısı 0.99935 olarak bulunmuştur.

4.3. Formülasyon II'ye göre hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu ve standart eğrisi

300 µg/ml'lik çözeltinin 390 ile 600 nm arasındaki UV spektrumu Şekil 4.3'de verilmiştir.

Kör : Van - Urk reaktifi 1 ml
% 0.01'lik benzalkonyum ... 49 ml



Şekil 4.3. Formülasyon II'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu

Çözeltinin maksimum absorbanı verdiği dalga boyu 410 nm olarak bulunmuştur.

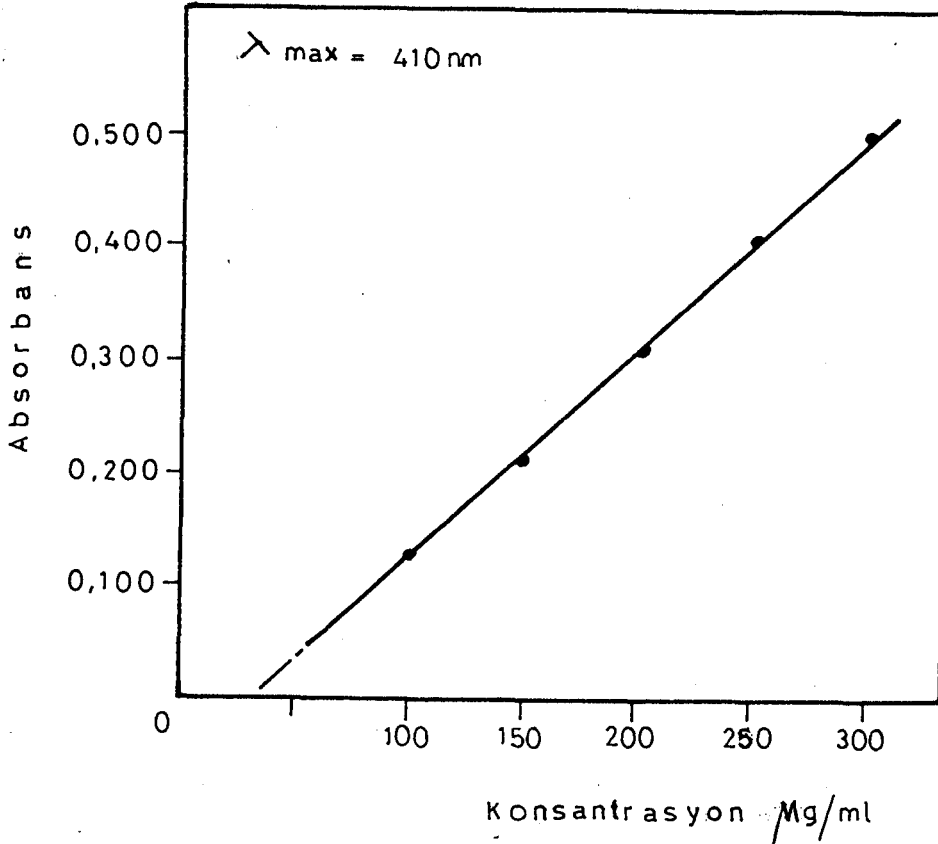
Formülasyon I'deki gibi farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin absorbanları 410 nm'de spektrofotometrede okunarak doğru denkleme bulunmuştur.

Çizelge 4.3'de formülasyon II'nin değişik konsantrasyonlardaki absorbanları verilmiştir.

Çizelge 4.3. Formülasyon II'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları. Her bir değer 10 deney ortalamasıdır.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	100	150	200	250	300
Absorbans	0.135	0.214	0.314	0.416	0.502

Bu değerlere ait standart kalibrasyon eğrisi Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Formülasyon II için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi

Bu doğrunun denklemi aşağıdaki gibidir.

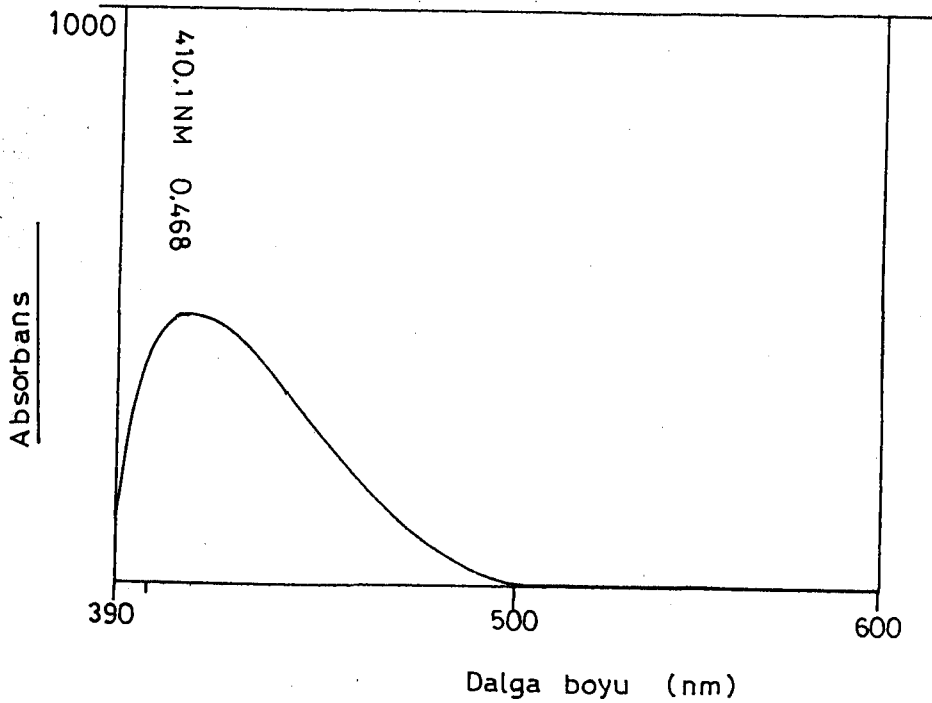
$$y = 0.001872 x - 0.0582$$

$r = 0.99911$ olarak bulunmuştur.

4.4. Formülasyon II'e göre hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu ve standart eğrisi

300 µg/ml'lik çözeltinin 390 ile 600 nm arasındaki UV spektrumu Şekil 4.5'de verilmiştir.

Kör : Van - Urk reaktifi 1 ml
%2'lik benzil alkol k.m. 50 ml



Şekil 4.5. Formülasyon III'de hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu

Çözeltinin maksimum absorbans verdiği dalga boyu 410 nm olarak bulunmuştur.

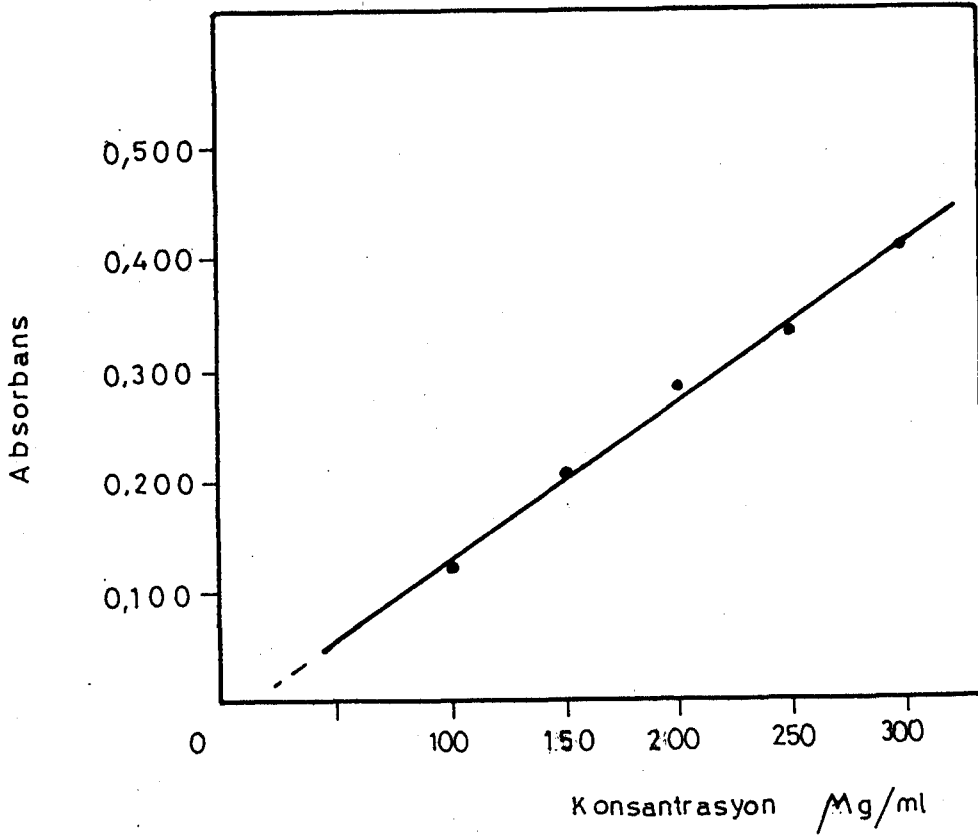
Formülasyon I'deki gibi farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin absorbansları 410 nm'de spektrofotometrede okunarak doğru denklemi bulunmuştur.

Çizelge 4.4'te formülasyon III'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbansları verilmiştir.

Çizelge 4.4. Formülasyon III'teki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorpsiyonları. Her bir değer 10 deney ortalamasıdır.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	100	150	200	250	300
Absorbans	0.132	0.205	0.276	0.338	0.406

Bu değerlere ait standart kalibrasyon eğrisi Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Formülasyon III için hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi

Bu doğrunun denklemi aşağıdaki gibidir.

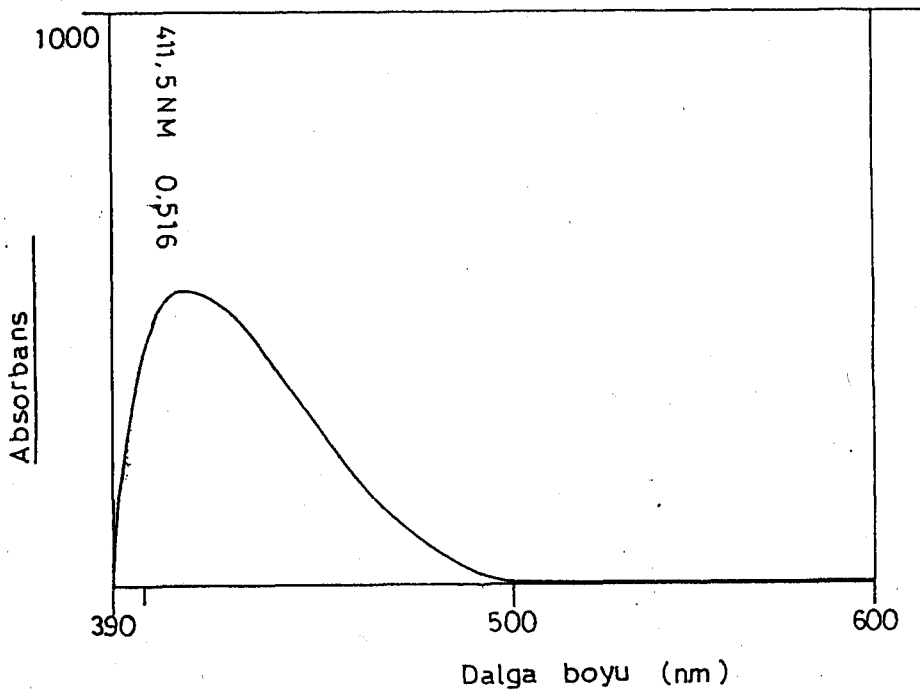
$$y = 0.001362 x - 0.001$$

$r = 0.99957$ olarak bulunmuştur.

4.5. Formülasyon IV'e göre hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu ve standart eğrisi

300 µg/ml'lik çözeltinin 390 ile 600 nm arasındaki UV spektrumu Şekil 4.7'de verilmiştir.

Kör : Metil paraben .. 31.85 mg
 Propil paraben . 17.15 mg
 Propilen glikol.5076.40 mg
 Distile su k.m. 49.00 ml + 1 ml Van-Urk reaktifi



Şekil 4.7. Formülasyon IV'teki hidralazin hidroklorür'ün UV spektrumu

Çözeltinin maksimum absorbans verdiği dalga boyu 411 nm olarak bulunmuştur.

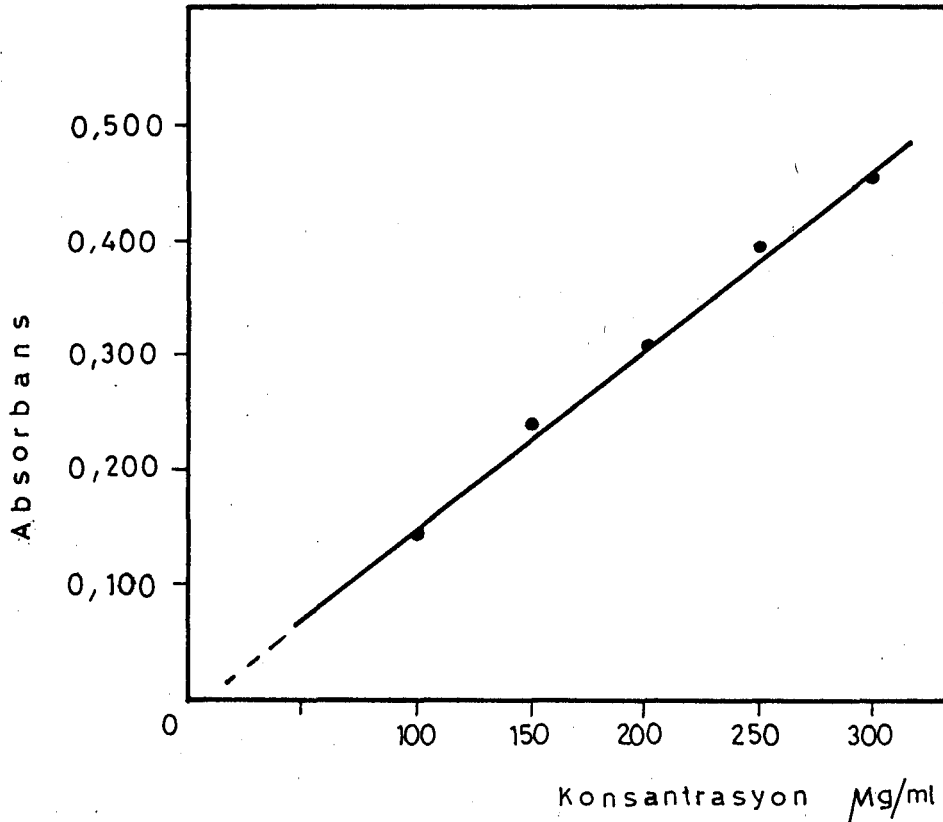
Formülasyon I'deki gibi farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin absorbansları 410 nm'de spektrofotometrede okunarak doğru denklemi bulunmuştur.

Çizelge 4.5'te formülasyon IV'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbansları verilmiştir.

Çizelge 4.5. Formülasyon IV'teki hidralazin hidroklorür'ün değişik konsantrasyonlardaki absorbanları. Her bir değer 10 deney ortalamasıdır.

Konsantrasyon (µg/ml)	100	150	200	250	300
Absorbans	0.140	0.234	0.313	0.393	0.463

Bu değerlere ait standart kalibrasyon eğrisi Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Formülasyon IV'teki hidralazin hidroklorür'ün kalibrasyon eğrisi

Bu doğrunun denklemi aşağıdaki gibidir.

$$y = 0.00169 x - 0.0254$$

$r = 0.99953$ olarak bulunmuştur.

4.6. Formülasyonların değişik koşullardaki stabilitesinin reaksiyon hız kinetiklerine göre değerlendirilmesi

Her formülasyonun kendi doğru denklemlerinden yararlanılarak belirli zaman aralıklarındaki konsantrasyonları ve buradanda % konsantrasyonları hesaplanmıştır. Daha sonra Eşitlik 2.4'ten yararlanılarak belirli zaman aralıklarındaki " k " değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler değişik koşullarda her formülasyon için ayrı ayrı olacak şekilde Çizelge 4.6, 4.7, 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.

Zamana karşı % konsantrasyon grafikleri Şekil 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 ve 4.20'de verilmiştir.

Elde edilen bu veriler formülasyonların birinci derece kinetiğine uygun bir bozunma gösterdiğini kanıtlamaktadır.

Eşitlik 2.5 ve 2.6'dan yararlanılarak formülasyonların farklı koşullardaki t_{50} ve t_{90} değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Ayrıca diğer formülasyonlardan farklı olarak formülasyon IV'ün konsantrasyonunda üç ay içinde hiç bir değişme olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. Formülasyon I'deki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan Konsantrasyon, % Konsantrasyon ve $k_{gün^{-1}}$ değerleri

Zaman (Gün)	Oda ısısı aydınlık			Oda ısısı karanlık			Buzdolabı		
	Konsantrasyon (g/ml)	% Konsantrasyon	$k_{gün^{-1}}$	Konsantrasyon (g/ml)	% Konsantrasyon	$k_{gün^{-1}}$	Konsantrasyon (g/ml)	% Konsantrasyon	$k_{gün^{-1}}$
0.	20021.905	100.000	-	20021.905	100.000	-	20021.905	100.000	-
7.	19912.376	99.452	$7,837 \cdot 10^{-4}$	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000
14.	20021.905	100.000	0.000	19364.731	96.726	$2,384 \cdot 10^{-3}$	20021.905	100.000	0.000
21.	20076.670	100.273	$-1,300 \cdot 10^{-4}$	20021.905	100.000	0.000	19912.376	99.452	$2,612 \cdot 10^{-4}$
28.	18543.263	92.614	$2,740 \cdot 10^{-4}$	19967.141	99.726	$9,799 \cdot 10^{-5}$	19967.141	99.726	$9,799 \cdot 10^{-5}$
35.	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000
42.	20021.905	100.000	0.000	20076.670	100.273	$-6,503 \cdot 10^{-5}$	20021.905	100.000	0.000
49.	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000
56.	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000	20021.905	100.000	0.000
63.	20076.670	100.273	$-4,335 \cdot 10^{-5}$	21500.547	107.385	$-1,131 \cdot 10^{-3}$	21062.431	105.196	$-8,043 \cdot 10^{-4}$
77.	19967.141	99.726	$3,556 \cdot 10^{-5}$	19967.141	99.726	$3,556 \cdot 10^{-5}$	19967.141	99.726	$3,556 \cdot 10^{-5}$
84.	19967.141	99.726	$3,259 \cdot 10^{-5}$	19967.141	99.726	$3,259 \cdot 10^{-5}$	19967.141	99.726	$3,259 \cdot 10^{-5}$
98.	19912.376	99.452	$5,597 \cdot 10^{-5}$	19912.376	99.452	$5,597 \cdot 10^{-5}$	19857.612	99.179	$8,429 \cdot 10^{-5}$
112.	19802.847	98.905	$9,824 \cdot 10^{-5}$	23147.305	116.958	$-1,398 \cdot 10^{-3}$	19802.847	98.905	$9,824 \cdot 10^{-5}$
126.	19090.909	95.350	$3,779 \cdot 10^{-4}$	19364.731	96.717	$2,648 \cdot 10^{-4}$	19748.083	98.632	$1,093 \cdot 10^{-4}$
133.	19090.909	95.350	$3,580 \cdot 10^{-4}$	19364.731	96.717	$2,509 \cdot 10^{-4}$	19583.789	97.811	$1,663 \cdot 10^{-4}$
140.	18981.380	94.803	$3,342 \cdot 10^{-4}$	19309.967	96.444	$2,586 \cdot 10^{-4}$	19583.789	97.811	$1,580 \cdot 10^{-4}$

Çizelge 4.7. Formülasyon II'deki hidrelazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan Konsantrasyon, % Konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri

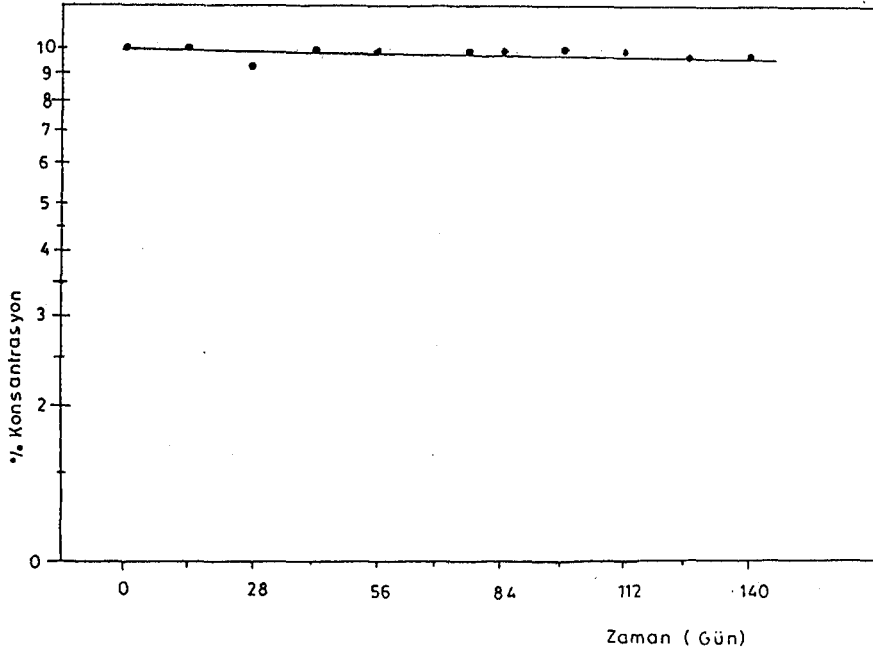
Zaman (Gün)	Oda ısısı aydınlık			Oda ısısı karanlık			Buzdolabı		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$
0.	20683.760	100.000	-	20683.760	100.000	-	20683.760	100.000	-
7.	20309.829	98.192	$2,606 \cdot 10^{-3}$	20416.666	98.708	$1,857 \cdot 10^{-3}$	20683.760	100.000	0.000
14.	20683.760	100.000	0.000	20309.829	98.192	$1,303 \cdot 10^{-3}$	20683.760	100.000	0.000
21.	20576.923	99.483	$2,466 \cdot 10^{-4}$	20683.760	100.000	0.000	20737.179	100.258	$-1,228 \cdot 10^{-4}$
28.	20683.760	100.000	0.000	20309.829	98.192	$6,516 \cdot 10^{-4}$	20683.760	100.000	0.000
35.	20790.598	100.516	$-1,471 \cdot 10^{-4}$	20683.760	100.000	0.000	20737.179	100.258	$-7,369 \cdot 10^{-5}$
42.	20683.760	100.000	0.000	20683.760	100.000	0.000	20683.760	100.000	0.000
49.	20470.085	98.490	$2,119 \cdot 10^{-4}$	20844.017	100.744	$-1,575 \cdot 10^{-4}$	20683.760	100.000	0.000
56.	20683.760	100.000	0.000	20683.760	100.000	0.000	20630.341	99.741	$4,618 \cdot 10^{-5}$
63.	20630.341	99.741	$4,105 \cdot 10^{-5}$	20683.760	100.000	0.000	20737.179	100.258	$-4,094 \cdot 10^{-5}$
77.	20630.341	99.741	$3,358 \cdot 10^{-5}$	20630.341	99.741	$3,358 \cdot 10^{-5}$	20683.760	100.000	0.000
84.	23782.051	114.979	$-1,661 \cdot 10^{-3}$	23728.632	114.721	$-1,635 \cdot 10^{-3}$	23675.213	114.462	$-1,608 \cdot 10^{-3}$
98.	20576.923	99.483	$5,285 \cdot 10^{-5}$	20683.760	100.000	0.000	20630.341	99.741	$2,639 \cdot 10^{-5}$
112.	20576.923	99.483	$4,624 \cdot 10^{-5}$	20576.923	99.483	$4,624 \cdot 10^{-5}$	20630.341	99.741	$2,309 \cdot 10^{-5}$
126.	20683.760	100.000	0.000	20576.923	99.483	$4,110 \cdot 10^{-5}$	20630.341	99.741	$2,052 \cdot 10^{-5}$
133.	20576.923	99.483	$3,894 \cdot 10^{-5}$	20576.923	99.483	$3,894 \cdot 10^{-5}$	20576.923	99.483	$3,894 \cdot 10^{-5}$
140.	20576.341	99.480	$3,699 \cdot 10^{-5}$	20576.923	99.483	$3,700 \cdot 10^{-5}$	20576.923	99.483	$3,700 \cdot 10^{-5}$

Çizelge 4.8. Formülasyon III'teki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan Konsantrasyon, % Konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri

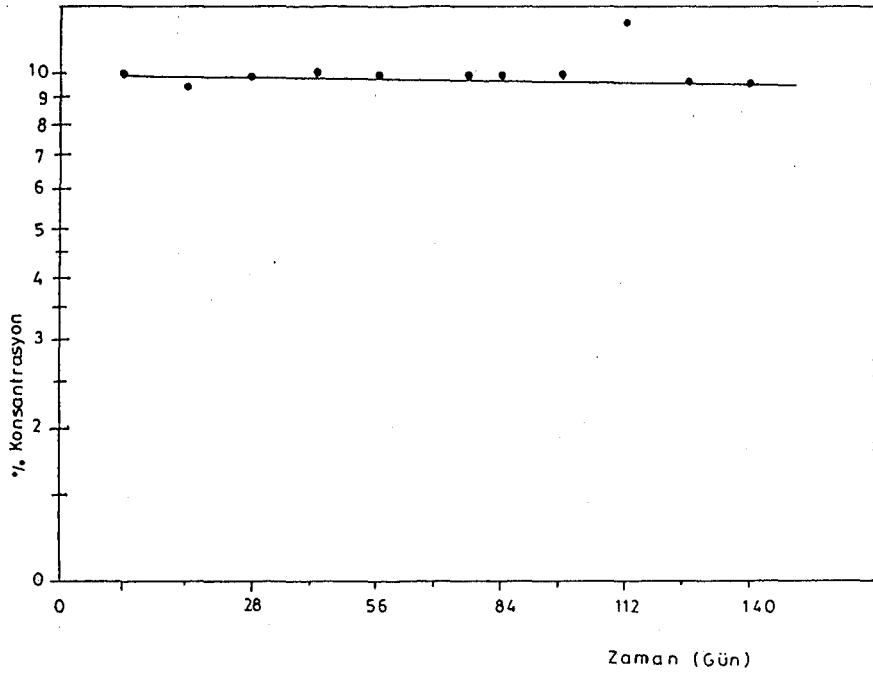
Zaman (Gün)	Oda ısısı aydınlık			Oda ısısı karanlık			Buzdolabı		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$
0.	20704.845	100.000	-	20704.845	100.000	-	20704.845	100.000	-
7.	20631.424	99.645	$5,075 \cdot 10^{-4}$	20117.474	97.163	$4,111 \cdot 10^{-3}$	20704.845	100.000	0.000
14.	20704.845	100.000	0.000	20704.845	100.000	0.000	20484.581	98.936	$5,092 \cdot 10^{-5}$
21.	20631.424	99.645	$1,692 \cdot 10^{-4}$	20631.424	99.645	$1,692 \cdot 10^{-4}$	20704.845	100.000	0.000
28.	20851.688	100.709	$-2,524 \cdot 10^{-4}$	20264.317	97.872	$7,682 \cdot 10^{-4}$	20778.267	100.354	$-1,258 \cdot 10^{-4}$
35.	20704.845	100.000	0.000	20704.845	100.000	0.000	20704.845	100.000	0.000
42.	20704.845	100.000	0.000	20704.845	100.000	0.000	20704.845	100.000	0.000
49.	21659.324	104.609	$-9,199 \cdot 10^{-4}$	22246.696	107.446	$-1,466 \cdot 10^{-3}$	22173.274	107.092	$-1,398 \cdot 10^{-3}$
56.	20704.845	100.000	0.000	20631.324	99.645	$6,344 \cdot 10^{-5}$	20631.324	99.645	$6,344 \cdot 10^{-5}$
63.	20631.424	99.645	$5,639 \cdot 10^{-5}$	20704.845	100.000	0.000	20631.424	99.645	$5,639 \cdot 10^{-5}$
77.	20558.002	99.290	$9,245 \cdot 10^{-5}$	20631.424	99.645	$4,614 \cdot 10^{-5}$	20558.002	99.290	$9,244 \cdot 10^{-5}$
84.	20558.002	99.290	$8,474 \cdot 10^{-5}$	20558.002	99.290	$8,474 \cdot 10^{-5}$	20558.002	99.290	$8,474 \cdot 10^{-5}$
98.	20484.581	98.936	$1,091 \cdot 10^{-4}$	20558.002	99.290	$7,264 \cdot 10^{-5}$	20558.002	99.290	$7,264 \cdot 10^{-5}$
112.	24375.917	117.730	$-1,457 \cdot 10^{-3}$	25844.346	124.822	$-1,980 \cdot 10^{-3}$	25330.396	122.340	$-1,800 \cdot 10^{-3}$
126.	20411.160	98.581	$1,134 \cdot 10^{-4}$	20558.002	99.290	$5,650 \cdot 10^{-5}$	20337.738	98.226	$1,420 \cdot 10^{-4}$
133.	20558.002	99.290	$5,085 \cdot 10^{-5}$	20484.581	98.936	$7,640 \cdot 10^{-5}$	20484.581	98.936	$8,041 \cdot 10^{-5}$
140.	20484.581	98.936	$7,640 \cdot 10^{-5}$	20558.002	99.290	$5,352 \cdot 10^{-5}$	20484.581	98.936	$7,640 \cdot 10^{-5}$

Çizelge 4.9. Formülasyon IV'teki hidralazin hidroklorür'ün değişik koşullarda ve sürelerde hesaplanan Konsantrasyon, % Konsantrasyon ve $k_{gün}^{-1}$ değerleri

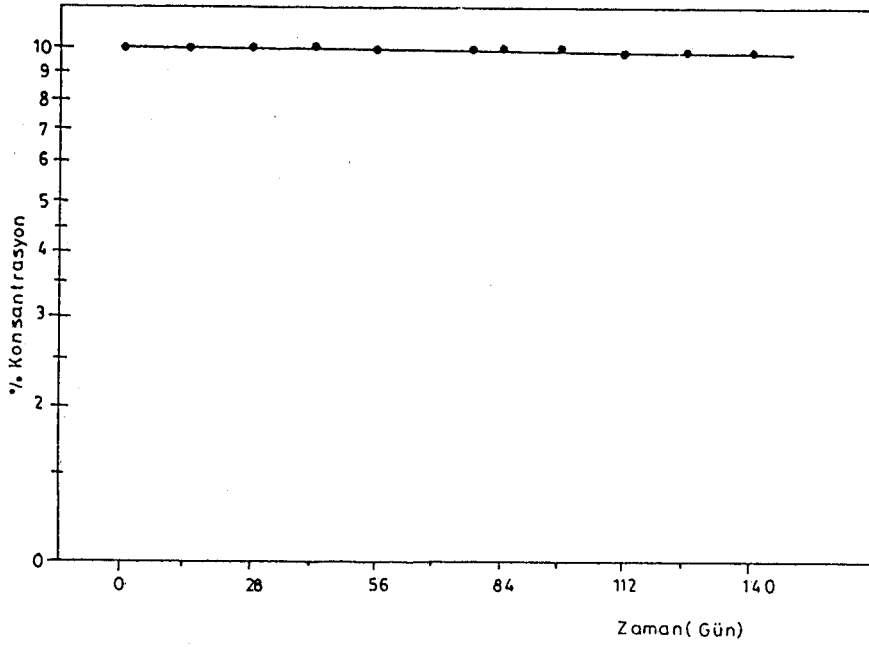
Zaman (Gün)	Oda ısısı aydınlık			Oda ısısı karanlık			Buzdolabı		
	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Konsantrasyon	$k_{gün}^{-1}$
0.	20733.727	100.000	-	20733.727	100.000	-	20733.727	100.000	-
7.	20615.384	99.429	$8,153 \cdot 10^{-4}$	20556.213	99.143	$1,228 \cdot 10^{-3}$	20733.727	100.000	0.000
21.	20792.899	100.285	$-1,349 \cdot 10^{-4}$	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000
28.	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000
42.	20733.727	100.000	0.000	20674.556	99.714	$6,804 \cdot 10^{-5}$	20792.899	100.285	$-6,744 \cdot 10^{-5}$
56.	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000
70.	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000
77.	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000	20911.242	100.855	$-1,014 \cdot 10^{-4}$
84.	20792.899	100.285	$-3,391 \cdot 10^{-5}$	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000
91.	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000	20733.727	100.000	0.000



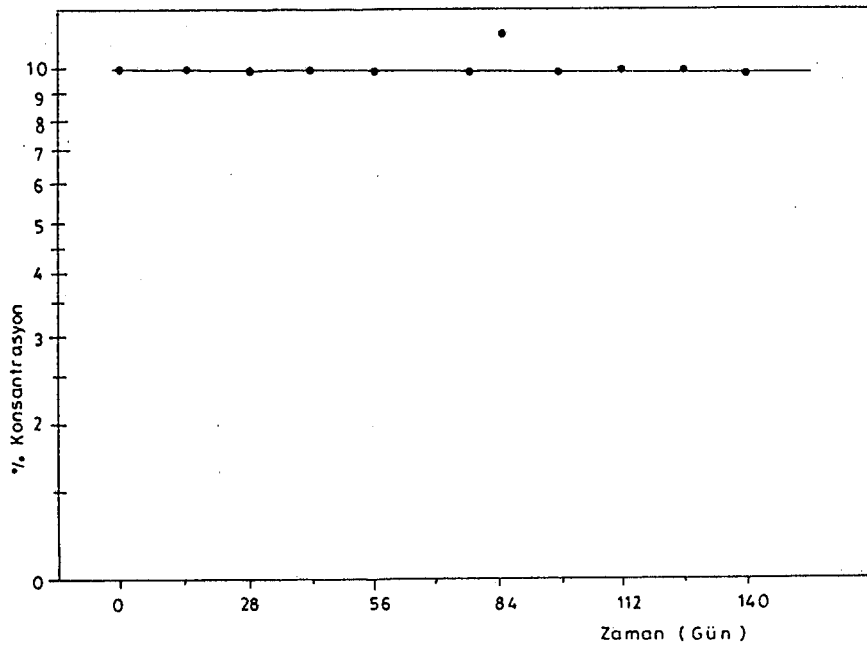
Şekil 4.9. Formülasyon I'in oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



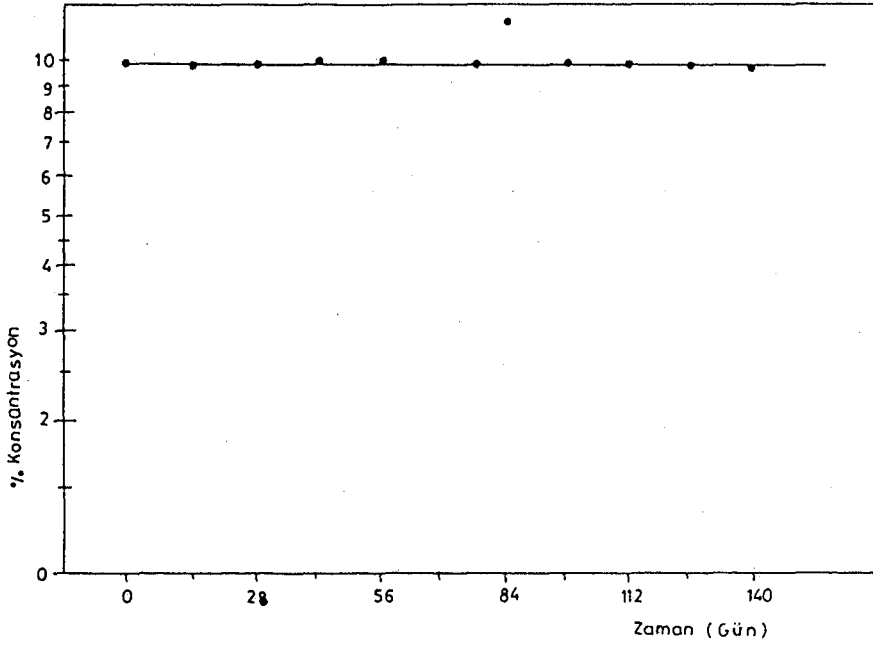
Şekil 4.10. Formülasyon I'in oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



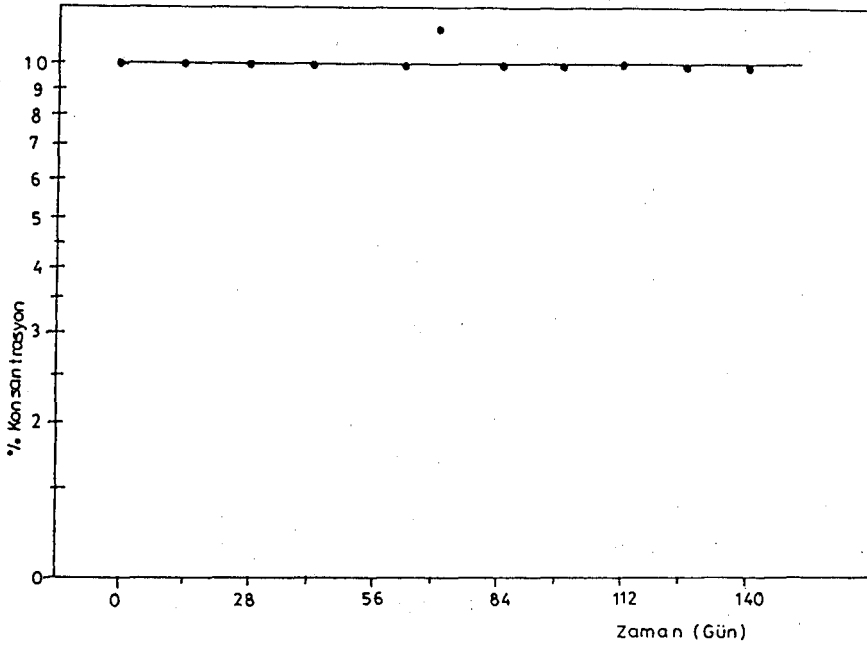
Şekil 4.11. Formülasyon I'in buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği



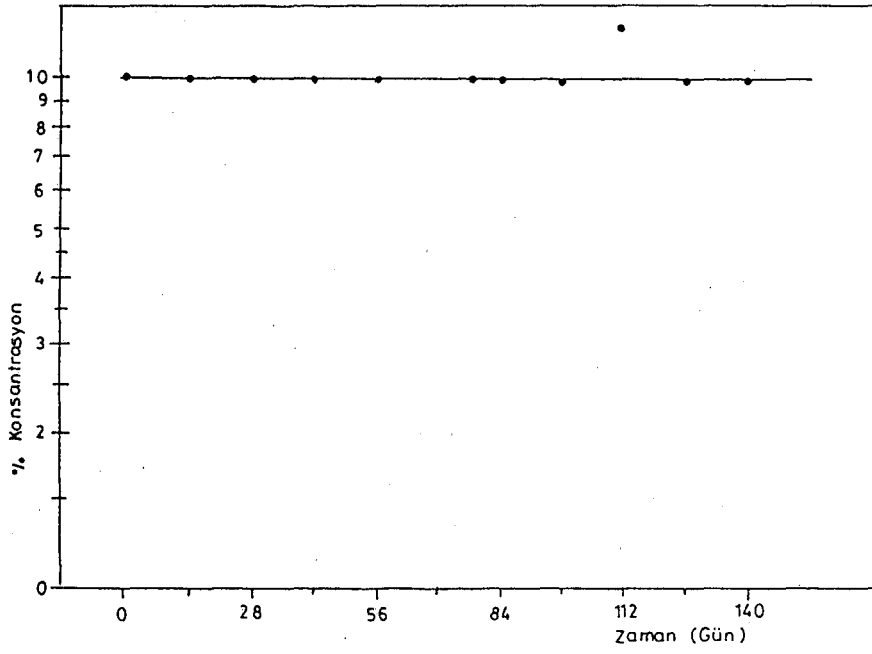
Şekil 4.12. Formülasyon II'nin oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



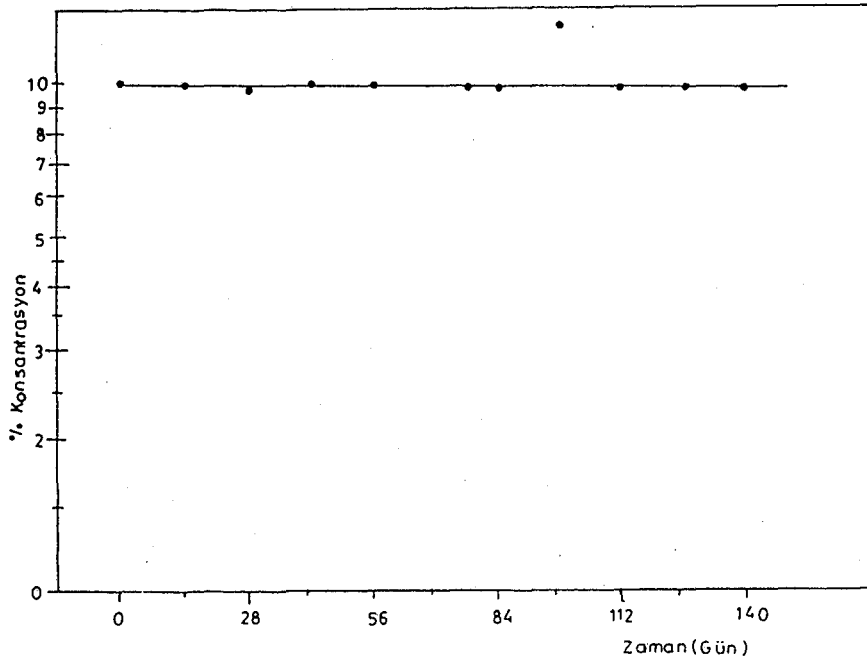
Şekil 4.13. Formülasyon II'nin oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



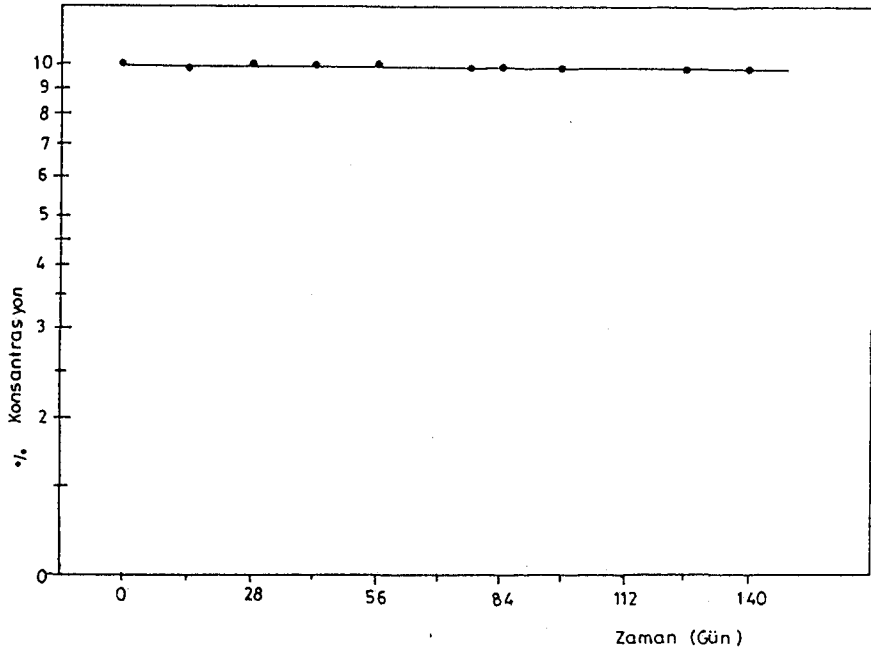
Şekil 4.14. Formülasyon II'nin buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği



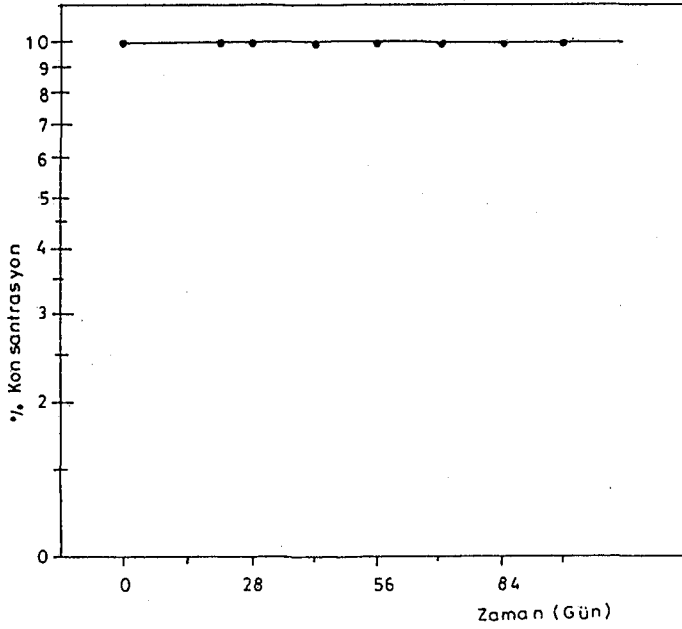
Şekil 4.15. Formülasyon III'ün oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



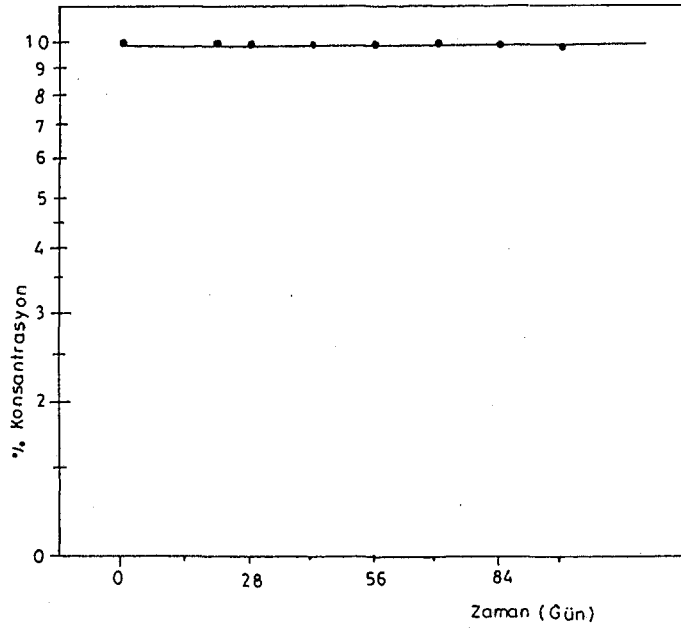
Şekil 4.16. Formülasyon III'ün oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



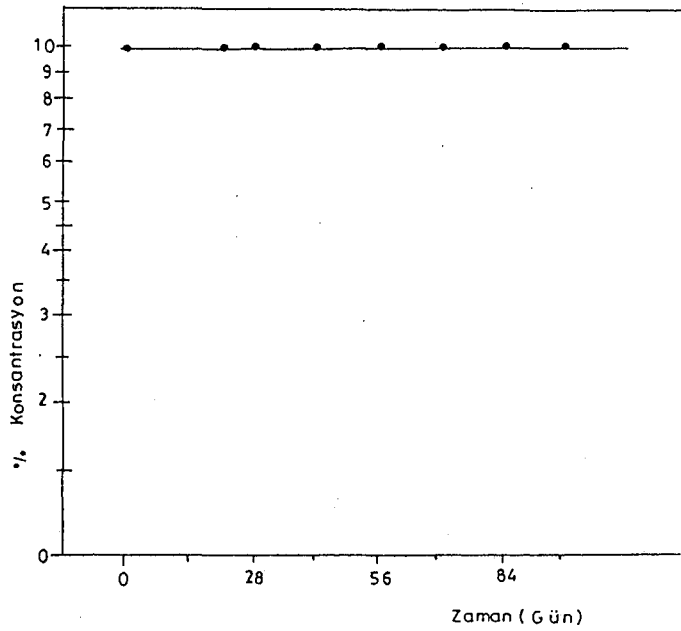
Şekil 4.17. Formülasyon III'ün buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği



Şekil 4.18. Formülasyon IV'ün oda ısısında aydınlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



Şekil 4.19. Formülasyon IV'ün oda ısısında karanlıkta zamana karşı % konsantrasyon grafiği



Şekil 4.20. Formülasyon IV'ün buzdolabında zamana karşı % konsantrasyon grafiği

Çizelge 4.10. Formülasyonların değişik koşullardaki t_{50} ve t_{90} değerleri

Formülasyon ve Koşullar		t_{50} (Gün)	t_{90} (Gün)
Formülasyon I	Oda ısısı aydınlık	2073.422	315.059
	Oda ısısı karanlık	2679.192	407.098
	Buzdolabı	4384.688	666.244
Formülasyon II	Oda ısısı aydınlık	18731.754	2846.253
	Oda ısısı karanlık	18731.754	2846.253
	Buzdolabı	18731.754	2846.253
Formülasyon III	Oda ısısı aydınlık	13629.122	2070.918
	Oda ısısı karanlık	9070.918	1378.308
	Buzdolabı	9071.511	1378.398
Formülasyon IV	Oda ısısı aydınlık	-	-
	Oda ısısı karanlık	-	-
	Buzdolabı	-	-

4.7. Hidralazin Hidroklorür Ampüllerin İnce Tabaka Kromatografisi

Ampüller hazırlandıktan hemen sonra yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Adsorban	: Silikajel G
Çözücü sistemi	: Kloroform/Aseton/Trietanolamin (50 : 50 : 1,5)
Lekelerin tesbiti	: UV lambası
Sürüklenme süresi	: 20 dakika

Çizelge 4.11. Ampüllerin ilk hazırlandığı zamanki ince tabaka kromatografisi

Numuneler	Rf değerleri
Standart gözelti	0.88
% 2 benzil alkol	0.00
% 0.01 benzalkonyum klorür	0.00
% 1 parabenler	0.00
Formülasyon I	0.87
Formülasyon II	0.89
Formülasyon III	0.88
Formülasyon IV	0.87

Aynı işlemler 5 ay sonra tekrar yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir. İlk hazırlandığı zamanki ve 5 ay sonraki Rf değerleri karşılaştırıldığı zaman; değerlerin birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermemiştir. Bu sonuçlar spektrofotometrik sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Çizelge 4.12. Ampüllerin 5 ay sonraki ince tabaka kromatografisi sonuçları

Numuneler	Rf değerleri		
	Aydınlık	Karanlık	uzdolabı
Formülasyon I	0.88	0.91	0.90
Formülasyon II	0.86	0.86	0.87
Formülasyon III	0.92	0.91	0.90
Formülasyon IV	0.91	0.89	0.88

Standart gözeltinin Rf değeri 0.88 olarak bulunmuştur. % 2 benzil alkol, % 0.01 benzalkonium klorür ve % 0.1 parabenler içeren gözeltilerin hiç bir leke vermediği ve Rf değerlerinin 0.00 olduğu gözlenmiştir.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Hidralazin hidroklorür'ün kristal katılar gibi tamamen stabil olduğu literatürlerde (28) ve farmakopelerde (39) kayıtlıdır. Türkiye'de parenteral preparatı olmadığı için, antihipertansif etkiyi hızlandırmak için ve hidralazin'in böbrek yetmezliği olan hastalarda, akut glomerulonefritte ve gebelik toksemisine bağlı hipertansiyon olgularında diğer antihipertansif ilaçlara tercih edilmesinden dolayı parenteral formülasyonunun hazırlanması düşünülmüştür. Koruyucuları farklı ve koruyucu içermeyen parenteral formülasyonlar hazırlanmış ve bunların stabilitesi incelenmiştir.

Hidralazin hidroklorür bazik pH'larda dayanıksız olduğu için çözeltilerin pH'sını bazik bölgeye kaydırarak yardımcı maddelerin kullanılmasından kaçınılmıştır. Literatürlerde (2) hidralazinin bozunma hızınının pH'ya, temperatüre, mevcut anyonun cinsine ve konsantrasyonuna bağlı olduğu kayıtlıdır. Bu bilgiler ışığı altında hidralazin hidroklorür ile fiziksel ve kimyasal olarak geçimli ve hazırlanan çözeltilerin pH'sını hidralazin'in stabil olduğu pH sınırlarınının dışına çıkarmayacak yardımcıları seçilmiştir. Çözelti pH'sı 4 civarında olan koruyucular seçilmiştir.

Koruyucu olarak yukarıdaki özellikleri taşıyan, benzil alkol, benzalkonyum klorür ve parabenler seçilmiştir.

Elde edilen deney bulgularından yararlanılarak formülasyonların birinci derece kinetiğine göre bozunduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca bu bulgulardan hareketle hesaplanan konsantrasyon, t_{50} ve t_{90} değerlerine göre eniyi formülasyonun parabenleri içeren çözeltinin olduğu saptanmıştır. Çünkü parabenleri koruyucu olarak içeren formülasyonda hidralazin hidroklorür konsantrasyonunun hiç değişmediği gözlenmiştir.

Koruyucu içeren formülasyonların hepsinde koşulların (oda ısısı aydınlık, oda ısısı karanlık ve buzdolabı) hidralazin hidroklorür'ün stabilitesine olumsuz etkisi olmadığı ve koşullar arasında fark bulunmadığı gözlenmiştir. Bu parenteral formülasyon için benzil alkol ve benzalkonyum klorür'ün de uygun koruyucular olabilecekleri bu koruyucuları içeren formülasyonların stabilitesinden anlaşılmaktadır.

Koruyucu içermeyen formülasyonda ise; hidralazin hidroklorür'ün t_{50} ve t_{90} değerleri diğer formülasyonlara göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca bu formülasyonun oda ısısına oranla buzdolabında daha stabil olduğu gözlenmiştir. Bu da formülasyonlara koruyucu katmanın lüzumunu vurgulamaktadır.

Bu değerlendirmelerden sonra formülasyonları stabil-den dayanıksıza doğru şu şekilde sıralayabiliriz.

1. Formülasyon IV (koruyucu parabenler)
2. Formülasyon II (koruyucu benzalkonyum klorür)
3. Formülasyon III (koruyucu benzil alkol)
4. Formülasyon I (koruyucu içermiyor)

Koruyucu içermeyen formülasyonda dahi ; bozunmanın yavaş olduğu literatürlerde ve farmakopelerde (21, 28, 39) verilen bilgilerle paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada amaç yeni bir miktar tayini yöntemi geliştirmekten ziyade formülasyon çalışması olduğu için Wesley, - Hadziya, Abaffy (1) ve Ruggieri'nin (34) denediği spektrofotometrik yöntem uygulanmıştır.

Ayrıca hidralazin hidroklorür pH'sı 7'den büyük sulu çözeltilerde dekompoze olduğu için değişik pH'larda stabilitesi çalışılmamıştır.

İleride bu çalışmaların devamı olarak değişik ısı-larda (20, 40, 60°C) hızlandırılmış stabilite çalışmalarının yapılması planlanmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abaffy F. and B. Wesley - Hadziija. : A simple Photometric method for the determination of hydrazinophthalazines. Croat. Chem. Acta 30,15-19, 1958. C.A. 54, 2661 i.
2. Arthur R. Schulert.: Physiological disposition of hydralazine and a metod for its determination in biological fluids. Arch. Intern. Pharmacodynamic 132, 1 - 15, 1961. C.A. 55, 22471 c .
3. Biniecki, Staislaw; moll, Maria; Niewiadomski, Krzyszto; Rzewuski, Marek : Pyrolytic decomposition of 1-hydrazinophthalazine. Acta Pol. Pharm. 1976, 33(4), 425 - 7 . C.A. 86, 161223 r .
4. Belikow, V.G. , G.Ī. Luk'yanchikova, V.N. Bernshtein, and I. Ya. Kul. : New qualitative reaktions for Apressin. Aptech. Delo 12(3), 60-2, 1963. C.A. 61, 9357 b.
5. Chester E. Orzech, Morris G. Nash, and Raymond D. Daley : Hydralazine Hydrochloride. Analytical Profiles of Drug Substances 8. 283 - 314, 1979.
6. Clarke E. G. C. : Isolation and Identification of Drugs 1, p. 416 - 417, 1979.
7. Chojnacki, Jozef ; Lebioda, Lukasz ; Stadnicka, Katarzyna: X-ray investigations on hydrazinophthalazine derivatives. Roczn. Chem. 1975, 49(6), 1163 - 6. C.A. 83, 106677 e.
8. Druey J. and B.H. Ringier : Hydrazine derivatives of the phthalazine and pridazine series. Helv. Chim. Acta 34, 195 - 210, 1961. C.A. 45, 10248 f.
9. Datta V. Naik, Brien R. Davis, Kathleen M. Minnet, and Stephen G. Schulman : Fluorescence of Hydralazine in Concentrated Sulfuric Acid. Journal of Pharmaceutical Sciences 65(2), 274 - 6, 1976.
10. Druey, Jean ; Tripon, J. : Hydralazines. Med. Chem. (New York) 7 , 223 - 62, 1967. C.A. 70, 77829 e.
11. Evstratova K.I. , N.A. Goncharova, and V. Ya. Solomko : Farmatsiya 17(4), 33 - 6, 1968. C.A. 69, 919338 a.
12. Ellert, Henryk. ; Modras, Zofia : Photometric method of determining N- cabethoxy -N²-phthazine (binazine) together with 1 -hydrazinophthlazine (Apresoline). Parm. Pol. 1971, 27(7), 511-15. C.A. 76, 6766 v.

13. Fujili, Kiichi and Shigefusa Sato : Synthesis of Phthalazine derivatives. I. synthesis of 1 -and 1,4 -substituted phthalazines. Ann. Rept. G. Tanabe Co Ltd. 1, 1 - 3, 1956. C.A. 51, 6650 c.
14. Fallab S. : Reaktivty of coordination compounds. VII. Formation of iron (II) chelates of phthalazyl - 1 -hydrazyl radical. Helv. Chem. Acta 45, 1957 - 65, 1962. C.A. 58, 5242 c.
15. Gupta, V.Das; K.R. Stewart and C. Bethea. Stability of Hydralazine Hydrochloride in Aqueous vehicles. Journal of Clinical and hospital Pharmacy 11, 215 - 223, 1986.
16. Gupta, V.Das and Alka Gupta : Stability of some oral solid Drug Products When stored in a Coating Machine. American Journal of Hospital Pharmacy 36, 1539 - 1541, 1979.
17. Güven, Kasım Cemal : Stabilite Eczacılık Teknolojisi II. 513 - 552, 1989.
18. Güven, Kasım Cemal : İso-tonik çözeltiler ve Enjektabl Preparatlar. Eczacılık Teknolojisi I, 513 - 552, 1987.
19. Grabowicz, Wlodzimierz. ; Brulinska, Jolanta : Determination of Small quantities of Apresoline in binazine. Farm. Pol. 1973, 29(9), 805 - 7. C.A. 80, 112718 y.
20. Giovanoli - Jakubrzak, Terasa ; Chedkowski, Jerzy ; Gralewska, Damuta. : Reduction of phthalazine, 1- hydrazin phthalazine, and Binazine (N - carboethoxy - N - hydrazinophthalazine) on mercury electrodes. Pocz. Chem. 1971, 45(7/8), 1315 - 28. C.A. 76, 30113 a.
21. İzgü, Enver. : Parenteral yolla kullanılan ilaç şekilleri. Farmasötik Teknoloji - II. 7 - 131, 1983.
22. Jain, N.K. and A.N. Misra : Controlled Release Tablets of Hydralazine Hydrochloride. Indian J. Pharm. Sci. , 1986, 48(1), 8 - 12.
23. Kayaalp, S. Oğuz : Antihipertansif İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji - II, 809 - 859, 1982.
24. Kuhnert - Bpandstatter, M. ; A. Kofler, R. Hoffman and H. C. Rhi : Microscopic characterization and Identification of pharmaceuticals using ultraviolet spectrofotometry. Sci. Pharm 33, 205 -30, 1965. C.A. 64, 7966 g.

25. Lesser, J.M. ; Israili, Z.H. ; Davis, D.C. ; Dayton, P.G. : Metabolism and disposition of carbon 14 - labeled hydralazine in man and dog. Drug Metab. Dispos. 1974. 2(4). 351 - 60. C.A. 82, 64 s.
26. Luk'yanchikova, G.I. ; E.N. Vergeichik. ; Baranova, A.N. ; Alfimova, G. V. ; Davydenka, A.S. ; Tiraspol - Skaya, G.G. ; Pelekhova, E.N. : Quantitative analysis of mercazole, apressin, naphthamone, and drug mixtures containing anesthezin, novacaine, codein phosphate. Aktual. Vop. Farm. 1968 (Pub. 1970), 71 - 5. C.A. 76, 90120 k.
27. Luk'yachikova, G.I. : Photocolorimetric determination of phthalazol, sulfadiazine, anesthesin and apresin. Med. Prom. SSSR 16, No 9, 46 - 8, 1962. C.A. 58, 5454 h.
28. Mitcheel, H. Perry. : Method of quantitating l-hydrazino phthalazine in body fluids. J. Lab. Clin. Med. 41, 556 - 73(1953). C.A. 47, 10601 i.
29. Modras, Zofia. : Polarographic method for the evaluation of the stability of aqueous solutions of l-hydrazinophthalazine hydrochloride (Apresoline) and l,4-dihydrazinophthalazine sulfate (Nepresol). Chem. Anal. (Warsaw) 1973, 17(5/6), 1349 - 53. C.A. 78, 128457 g.
30. Modras, Zofia. : Color reactions for differentiation of binazin, apressolin, and nepresol. Farm. Pol.
31. Physicians' Desk Reference . 42. Edition (1988), p. 857 - 858.
32. Rawlins, E. A. : Bentley's textbook of pharmaceuticals. Eighth Edition (1977) Bailliere Tindall. London p. 150 - 153.
33. Remington's Pharmaceutical Sciences. 16.th. Edition (1980) Mack Publishing company. p. 1463 - 1467.
34. Ruggieri, R. : Hydralazinophthalazine I. Determination. Farmaco (Pavia) Ed. Prat. 11, 571 - 6, 1956. C.A. 53, 14421 a.
35. Ruzhentseva, A.K. ; I.S. Tubina, and L.N. Bragina. Quantitative determination of l-hydrazinophthalazine. Med. Prom. SSSR. 14, No. 11, 34 - 6 1960. C.A. 55, 9789 s.
36. Sandri, G. Cavicchi. : Volumetric determination and microchemical behavior of monohydrazinophthalazine

- and dihydrazinophthalazine. Boll. Chim. Farm. 96, 431 - 6 (1957). C.A. 52, 4109 g.
37. Stohs, S.J.; Scratchley, G.A. : Separation of thiazide diuretics and antihypertensive drugs by thin-layer chromatography. J. Chromatogr. 1975, 114(2), 239 - 33.
 38. Sylvia, B. B. Zak, ; M. fred Bartlett, ; William E. Wagner, ; Thomas G. Gilleran, and George Lucas. : Disposition of hydralazine in man and a specific method for its Determination in Biological fluids. Journal of Pharmaceutical Sciences 65(2), 274 - 6, 1976.
 39. The Extra Pharmacopeia (MARTINDALE), Twenty - eighty Edition. The Pharmaceutical press (London), p. 148 - 150, 1982.
 40. The Merck Index (Ninth Edition). Published by MERCK and Co. , INC. Rahway, N.J. , USA. p. 625, 1976.
 41. The Pharmaceutical Codex (Eleventh Edition). The Pharmaceutical press, p. 416 - 417, 1979.
 42. The United States Pharmacopeia XXI. United States Pharmacopeial Convention, Inc. p. 495 - 496, 1980.
 43. Türk Farmakopesi 1974, Ek 1 - s. 758, Ek 37 - s. 851
 44. Türk İlaç Rehberi 1988 - 1989, s. 42 - 43.
 45. Urbanyi, Tibor ; O'connell, Arthur. : Simultaneous automated determination of hydralazine hydrochloride, hydrochlorothiazide, and reserpine in single tablet formulations. Anal. Chem. 1972, 44(3), 565 - 70. C.A. 76, 90100 d.