

Araştırma Makaleleri

Pharmacia-JTPA
30 (2), 53-59,1990

HİDROKLOROTİAZİDİN AMİLORİD HİDROKLORÜR VARLIĞINDA TÜREV SPEKTROFOTOMETRİSİ İLE MİKTAR TAYİNİ

Cem YÜCESOY(*)

ÖZET

Bu çalışmada hidroklorotiazidin amilorid hidroklorür varlığında tayini için türev spektrofotometrisine dayanan bir yöntem verilmektedir. Yöntem, birinci türev spektrumunda 284.7 nm 'de yapılan absorbans ölçümlerine dayanmaktadır. Amioridhidroklorür, 361.5 nm'deki maksimum absorbansı okunarak direkt olarak tayin edilmektedir. Tayinlerin bağıl standart sapması hidroklorotiazid ve amilorid hidroklorür için sırasıyla % 0.38 ve % 0.39'dur. Ticari müstahzarlarda standart ilavesi yöntemiyle yapılan analizlerde her iki madde için de güvenilir sonuçlar elde edilmiştir.

DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF HYDROCHLOROTHIAZIDE IN THE PRESENCE OF AMILORIDE HYDROCHLORIDE

SUMMARY

In this study, a derivative spectrophotometric method for the determination of hydrochlorothiazide in the presence of amiloride hydrochloride was presented. The method based on the measurement of the first derivative spectra at 284.7 nm. Amiloride hydrochloride was determined directly by reading the maximal absorbance at 361.5 nm. The RSD of the determinations were 0.38% and 0.39 % for hydrochlorothiazide and amiloride hydrochloride, respectively. Good recoveries of the drugs were obtained in the analysis of commercial preparations.

Key words: Hydrochlorothiazide, Amiloride hydrochloride, derivative spectrophotometry, commercial preparations.

(*)Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan-Ankara

GİRİŞ:

Hidroklorotiazid ve amilorid hidroklorürünün 10:1 (m/m) kombinasyonunu içeren preparat, diüretik olarak dış ülkelere yıllardır kullanılmaktadır. Sözkonusu preparat kısa bir süre önce Türkiye'de de kullanıma sunulmuştur. Kombinasyonda başlıca diüretik/hipertansif etki hidroklorotiazidten ileri gelmektedir. Amilorid hidroklorür ise hem additif etki göstermekte, hem de potasyum tutucu özelliğe sahip olduğundan tiazid grubu diüretik kullanan hastalarda görülebilen aşırı potasyum kaybını önlemektedir.

Yapılan literatür araştırmasında hidroklorotiazidin yalnız olarak, diğer etken maddelerle değişik kombinasyonlarından ve biyolojik sıvılardan analizi için çok sayıda tayin yöntemine raslanmasına karşılık (1-12) amilorid hidroklorür için üç tayin yöntemi bulunmuştur (13-15). Kombine preparatların analizinde Bulut ve Türeli hidroklorotiazidi iki ayrı dalgaboyunda yapılan ölçümlerin absorpsiyon farkına (DA) dayanan spektrofotometrik bir yöntemle, amilorid hidroklorürü ise hidroklorotiazidin absorbans vermediği 360 nm'de ölçüm yaparak tayin etmektedirler (16). U.S.P.XXI, kombine preparatın analizi için sıvı kromatografisi kullanmakta, karışımındaki etken maddelerin çözümüne hızlarının tayininde ise amilorid hidroklorürü maksimum absorbans verdiği 363 nm'de direkt olarak, hidroklorotiazidi de 270 nm'de -Bulut ve Türeli gibi amilorid hidroklorür için absorbans düzeltilmesi yaparak- tayin etmektedir. (17).

Bu çalışmada, hidroklorotiazidin tayini için türev spektrofotometrisine dayanan (18-21) bir yöntem geliştirildi, amilorid hidroklorür ise maksimum absorbans verdiği 361.5 nm'de direkt, spektrofotometrik olarak tayin edildi.

MATERYAL VE YÖNTEM

Ölçümler, spektral slit genişliği 3 nm olan SHIMADZU UV-160 model kaydedicili bir spektrofotometre ile yapılmıştır. Hidroklorotiazid ölçümlerinde 310-260 nm arasında tarama yapılmış, tarama hızı 8 nm sn^{-1} , $\Delta \lambda = 6.4 \text{ nm}$ (N=9), ordinat maksimum ve minimum $\pm 0.400 \text{ A}$ olarak saptanmıştır.

Çalışmada kullanılan hidroklorotiazid, amilorid hidroklorür dihidrat ve numune preparatlar Fako İlaçları A.Ş.den, metanol ise Merck Firmasından temin edilmiştir.

Stok Çözeltilerin Hazırlanması :

50.0 mg hidroklorotiazid hassas olarak tartılır, % 50'lik metanolla 100 ml'ye tamamlanır (H-çözeltisi: 500 μg /ml).

50.0 mg amilorid hidroklorür dihidrat hassas olarak tartılır, % 50'lik metanolla 100 ml'ye tamamlanır (A çözeltisi: 500 μg /ml).

Kalibrasyon eğrilerinin çizimi için H- ve A- çözeltilerinin belli hacimleri distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak 2.5-15 μg /ml aralığında H- ve A- standart serileri hazırlanır. Hidroklorotiazid serisinin, birinci türev eğrilerinin 284.7 nm'deki absorbansları; amilorid serisinin ise normal spektrumlarının 361.5

nm'deki absorbansları suya karşı ölçülür, bulunan değerler konsantrasyona karşı grafiğe geçilir.

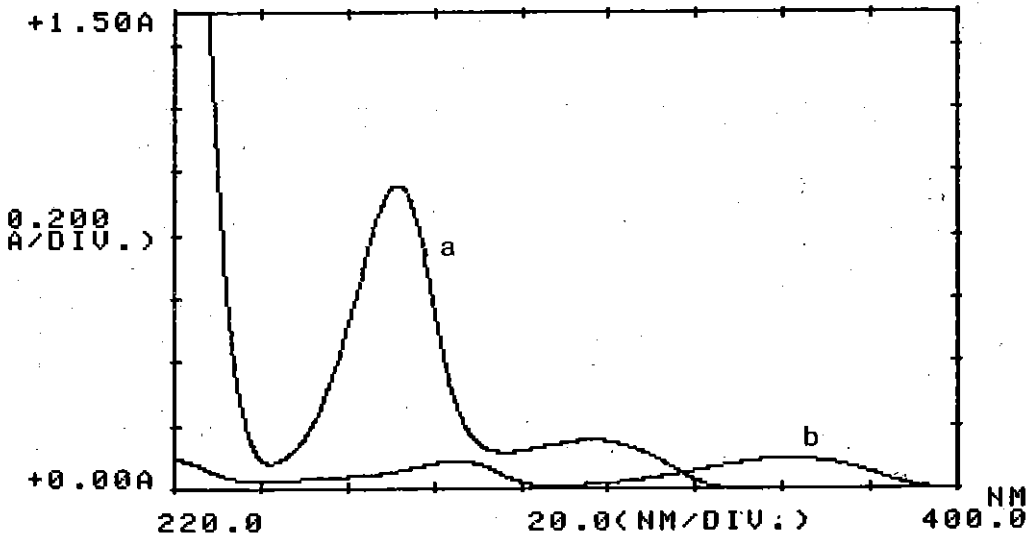
Numunelerin Hazırlanması :

20 tablet hassas olarak tartılır ve ortalama tablet ağırlıkları bulunur. Tabletler havanda iyice toz haline getirilir ve ortalama tablet ağırlığına karşılık gelen miktarda toz, hassas olarak tartılır. % 50'lik metanolle 100 ml'ye seyreltilir ve magnetik karıştırıcı ile 15 dakika karıştırılır. Çözelti Whatman no.42 kağıdından mümkün olduğunca kısa sürede süzülür. Bu çözeltiden hidroklorotiazid tayini için 2.0 ml, amilorid hidroklorür tayini için ise 20.0 ml ayrı balonjölere alınır ve distile su ile 100 ml'ye tamamlanır (Amilorid hidroklorür tayini için 5.0 ml numune çözeltisi alınıp 25 ml'ye seyreltme de yapılabilir). Numune çözeltilerinde, H- ve A- standart çözeltileri için verilen şartlarda ölçüm yapılır.

Ticari müstahzarlarda etken madde miktarı amilorid hidroklorür olarak verildiğinden amilorid hidroklorür dihidrat cinsinden bulunan sonuçlar -kristal suyu düzeltmesi için- 0.8807 ile çarpılırlar.

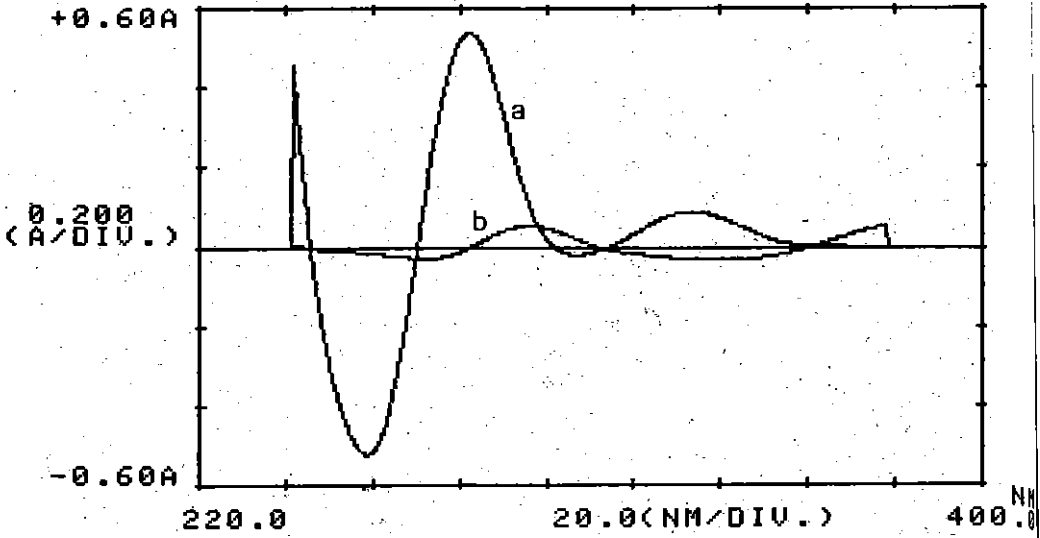
BULGULAR VE TARTIŞMA

Hidroklorotiazidin absorbans verdiği spektrum bölgesinde amilorid hidroklorür de absorbans verdiği için bu iki maddenin karışımlarında hidroklorotiazidin direkt spektrofotometrik tayini mümkün değildir (Şekil 1). Amilorid



Şekil 1: a) Hidroklorotiazidin (15µg/ml)

b) Amilorid hidroklorürün (1.5µg/ml) normal absorpsiyon spektrumları



Şekil 2: a) Hidroklorotiazidin (15 µg/ml)
b) Amilorid hidroklorürün (1.5 µg/ml) birinci türev spektrumları

hidroklorürün maksimum absorbans verdiği 361.5 nm'de ise hidroklorotiazidin absorpsiyonu olmadığından bu maddenin direkt spektrofotometrik tayini mümkündür (Şekil 1)

Tablo 1: Hidroklorotiazidin amilorid HCl yanında tayin sonuçları

(*)Kombine preparatta bulunan madde miktarları

ALINAN (mg)		BULUNAN (mg)
Hidroklorotiazid	Amilorid HCl	Hidroklorotiazid
50	0.0	100.0
50(*)	5.0(*)	100.2
50	6.0	99.7
50	7.5	99.5
50	10.0	100.0
Ortalama		99.9

Standart amilorid hidroklorür çözeltileri ile bu dalgaboyunda okunan absorbansların konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesiyle $y=59.99X+3.60$ ($r=0.99996$) eşitliğiyle tanımlanan kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir.

Standart çözeltilerin birinci türev spektrumlarında ise amilorid hidroklorürün hiç absorpsiyon vermediği 284.7 nm'de hidroklorotiazidin maksimuma yakın absorpsiyon verdiği gözlenmektedir (Şekil 2). Standart hidroklorotiazid

Tablo 2: Hidroklorotiazid için kombine preparatlarda yapılan tayinlerin sonuçları

HİDROKLOROTİAZİD			
Etikette yazılı olan (mg)	Bulunan (mg)	İlave edilen (mg)	Bulunan (%)
50	50.6	12.50	98.4
50	50.3	12.50	100.0
50	50.6	12.50	100.0
50	50.3	18.75	101.8
50	50.6	18.75	99.3
50	50.6	18.75	99.3
50	50.1	25.00	100.4
50	50.3	25.00	99.4
50	50.6	25.00	99.4
50	50.6	25.00	99.4
Ortalama	: 50.5		99.7
Standart sapma	: 0.19		0.90
% bağıl stand. sapma	: 0.38		0.90

Tablo 3: Amilorid Hidroklorür için kombine preparatlarda yapılan tayinlerin sonuçları

AMİLORİD HİDROKLORÜR			
Etikette yazılı olan (mg)	Bulunan (mg)	İlave edilen (mg)	Bulunan (%)
5	5.21	1.10	97.4
5	5.16	1.10	98.7
5	5.15	1.10	100.7
5	5.18	1.54	99.1
5	5.20	1.54	99.5
5	5.16	1.54	97.1
5	5.17	2.20	98.0
5	5.19	2.20	98.4
5	5.19	2.20	99.0
5	5.16	2.20	98.7
Ortalama	: 5.18		98.7
Standart sapma	: 0.02		1.04
%bağıl stan.sapma	: 0.39		1.05

çözeltileri ile bu dalgaboyunda okunan absorbanların konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesiyle $y=21.36X+1.93$ ($r=99999$) eşitliğiyle tanımlanan kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir.

Sabit hidroklorotiazid miktarına karşılık artan miktarlarda amilorid hidroklorür içeren standart karışımlarla yapılan analizler, amilorid hidroklorür-

rün kombine preparattaki miktarına göre % 100 artırılması halinde bile hidroklorotiazid tayininde bir hataya neden olmadığını göstermektedir (Tablo 1). Amilorid hidroklorürün tayin edildiği 361.5 nm'de ise hidroklorotiazid absorpsiyon vermediğinden aynı test amilorid hidroklorür için uygulanmamıştır. Tablo 2 ve Tablo 3'te hidroklorotiazid ve amilorid hidroklorür için kombine preparatlarda yapılan tayinlerin sonuçları görülmektedir. Bağlı standart sapmanın hidroklorotiazid ve amilorid hidroklorür için sırasıyla % 0.38 ve % 0.39; ilâve edilen standart maddelerin geriye kazanımının % 99.7 ve % 98.7 olması, hem hidroklorotiazid için geliştirilen türev spektrofotometrik yöntemin, hem de amilorid hidroklorür için kullanılmakta olan direkt spektrofotometrik yöntemin kısa sürede hassas ve doğru sonuçlar veren basit yöntemler olduğunu göstermektedir.

Müstahzarın içerdiği amilorid hidroklorür miktarı etikette belirtilen miktardan yüksek çıkmakla birlikte (5.18/5.0 =% 103.6) elde edilen değerler U.S.P.XXI tarafından verilen % 100 ±10 sınırları içerisinde.

KAYNAKLAR

- 1- Kulusheva, A.Nin'o, N. (1963):New method for qualitative and quantitative determination of acetazolamide and hydrochlorothiazide, **Farmatsiya**,13(3),21-25
- 2- Przyborowski,L, Pionka, G. (1976) : Complexometric determination of chlorothiazide and hydrochlorothiazide in pharmaceuticals, **Farmacia**, 32(5), 399-402.
- 3- Friedrich,F., Kottke,K.(1976) : Determination of organically bound halogens with particular reference to hydrochlorothiazide, **Zentrbl.Pharm.Pharmacother.u.Lab-diagnostic**,115(3), 235-241.
- 4- Fazzari,F.R. (1970) : Extraction and spectrophotometric determination of benzthiazide, hydrochlorothiazide and hydroflumethiazide in drugs, **J.Assoc.Off.Anal.Chem.**, 53(3), 582-584.
- 5- Urbanyi,T.,O'Connell,A.(1972) : Simultaneous automated determination of hydrallazine HCl, hydrochlorothiazide and reserpine in single-tablet formulations, **Anal.Chem.**, 44(3), 565-570.
- 6- Abdine,H., Elsayed,M.,Abdel-Hady,M.(1978): Spectrophotometric determination of hydrochlorothiazide and reserpine in combination, **Analyst**, 103, 354-358.
- 7- Koopmans,P.P., Tau,Y., Van Ginneken, C.A.M., Gribnan,F.W.J.(1984): High-performance liquid chromatographic determination of hydrochlorothiazide in plasma and urine, **J.Chromatogr.**, 307(2), 445-450.
- 8- Kirschbaum,J., Perlman,S. (1984) : Analysis of captopril and hydrochlorothiazide combination tablet formulations by liquid chromatography, **J.Pharm.Sci.**, 73(5), 686-687.

- 9- Moussa,B.A.(1985) : Colorimetric analysis of some diuretic drugs; hydrochlorothiazide and spironolactone, **Pharm.Weekbl.(Sci)**,7(2), 79-82.
- 10- Stewart,J.T., Clark,S.S. (1986) : Liquid chromatographic determination of guanethidino salts and hydrochlorothiazide using electrochemical detection and ion-pair techniques, **J.Pharm.Sci.**, 75(4), 413-415.
- 11- Cieri, U.R.(1988) : Determination of reserpine and hydrochlorothiazide in commercial tablets by liquid chromatography with fluorescence and uv absorption detectors in series, **J.Assoc.Off.Anal.Chem.**, 71(3), 515-518.
- 12- Beyrich,T.,Feldmeier,H.G., Herberg,H.(1989) : Spectrophotometric analysis of the multicomponent system; dihydralazine sulfate, hydrochlorothiazide and reserpine, **Pharmazie**, 44(1), 36-39.
- 13- Sastry, C.S.P., Suryanarayana,M.V., Tipirneni,A.S.R. (1989) : A new method for estimation of amiloride hydrochloride, **J.Inst. Chem (India)**, 61(3), 86.
- 14- Yip,M.S., Coates,P.E., Thiessen,J.J. (1984) : High-performance liquid chromatographic analysis of amiloride in plasma and urine, **J.Chromatogr.**, 307(2), 343-350.
- 15- Réuter,K., Knauf,H., Mutschler,E. (1982) : Fluorometric determination of amiloride in human plasma using thin-layer chromatography, **J.Chromatogr.**, 233, 432-436.
- 16- Bulut,P., Türoli,F. (1983) : Hidroklorotiazid-amilorid HCl karışımının spektrofotometrik tayini, **Türk Hij.Der.Biyol.Der.**, 206-213.
- 17- **United States Pharmacopoeia (U.S.P.XXI)** (1985) : Washington, Mack Printing Co., 36-37.
- 18- Knowles,A., Burgess,C. (1984) : Practical Absorption Spectrometry, London, **Chapman and Hall Ltd.**, Vol.III, 179-184.
- 19- Talsky,G., Mayring,L., Kreuzer,H. (1978) : Feinauflösende UV/VIS Derivativspektrofotometrie höherer Ordnung, **Angew.Chem.**, 90, 840-854.
- 20- Levillain, P., Fompeydie,D. (1986) : Spectrophométrie dérivée: Intèret, Limites et Applications, **Analusis**, 14(1), 1-20.
- 21- Onur,F., Yücesoy,C. (1988): Türev Spektrofotometrisi, **FABAD**, 13(3), 462-469.