



Alınış tarihi (Received): 07.02.2018
Kabul tarihi (Accepted): 01.08.2018

Baş editor/Editors-in-Chief: **Ebubekir ALTUNTAŞ**
Alan editörü/Area Editor: **Ömer İŞILDAK /**
Bülent TURAN

İlaç Formülasyonlarında Galantamin Tayini İçin Yeni Bir Spektrofotometrik Yöntemin Geliştirilmesi ve Validasyonu

İbrahim BULDUK^{a*}, Süleyman GÖKCE^b

^a *Uşak Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, Uşak*

^b *Uşak Üniversitesi, Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi, Uşak*

**Corresponding author: ibrahim.bulduk@usak.edu.tr*

ÖZET: Farmasötik formülasyonlardaki galantamin tayini için yeni hassas ve hızlı spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve farklı validasyon parametreleri için International Conference on Harmonization klavuzuna (ICH) göre valide edilmiştir. Galantamin demineralize su içerisinde 289 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermiştir. Yöntemin 10–100 ppm konsantrasyon aralığında lineer ($y=0.0090x-0.0067$) olduğu bulundu ve korelasyon katsayısı $R^2 = 0.9999$ olarak hesaplandı. Galantaminin geri kazanımı 98.90 bulundu. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik testleri için bağıl standart sapma değerleri % 1'in altında idi. Teşhis limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) sırasıyla 0.39 ve 1.20 ppm olarak belirlendi. Sonuçlar metodun doğru, hassas ve tekrarlanabilir olmasının yanı sıra basit, ucuz ve daha az zaman alıcı olduğunu göstermektedir. Önerilen metot farmasötik formülasyonlardaki Galantamin miktarının belirlenmesi için uygundur ve kalite kontrolde rutin analizler için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: – *Galantamin; İlaç; Spektrofotometri; Validasyon.*

Development and Validation of a New Spectrophotometric Method for Galantamine Assay in Pharmaceutical Formulations

ABSTRACT: A new sensitive and rapid spectrophotometric method has been developed for the galantamine. Determination in pharmaceutical formulations and validated according to the International Conference on Harmonization guidelines for different validation parameters. Galantamine showed maximum absorbance at 289 nm wavelength in demineralized water. The method was linear ($y = 0.0090x-0.0067$) at a concentration range of 10-100 ppm and the correlation coefficient was calculated $R^2 = 0.9999$. The recovery percentages of galantamine were found to be 98.90 %. Relative standard deviations for intraday and interday reproducibility tests were below 1%. The detection limit (LOD) and quantification limit (LOQ) were determined to be 0.39 and 1.20 ppm, respectively.

The results show that the method is simple, inexpensive and less time consuming, as well as accurate, precise and reproducible. The proposed method is suitable for determining the amount of Galantamine in pharmaceutical formulations and can be used for routine analysis in quality control.

Key Words: – *Galantamine; Pharmaceuticals; Spectrophotometry; Validation*

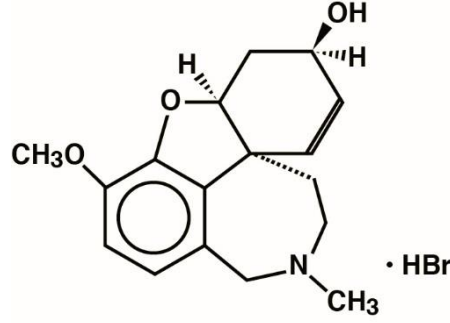
1. Giriş

Demans; öğrenme, bellek, oryantasyon, dil fonksiyonları ve kişilik gibi mental fonksiyonların bozulması ile karakterize, sosyal ve iş hayatını etkileyen, merkezi sinir sisteminin progresif nörodejeneratif bir hastalığıdır (Cankurtaran M ve ark.). Ayrıca unutkanlığın ön planda olduğu birçok hastalığın genel adıdır ve yaşlılarda sık görülen hastalıkların başında gelmektedir. En sık görülen demans tipi ise Alzheimer hastalığıdır. Alzheimer Hastalığı; merkezi sinir sisteminin çeşitli kısımlarında nöron ve sinaps kayıpları nedeni ile ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, öz bakım yetersizlikleri, çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Lleo A. ve ark.).

Alzheimer Hastalığı yaklaşık olarak yüz yıldır biliniyor olmasına rağmen radikal tedavisi henüz mümkün değildir. Ancak klinik uygulamalarla Alzheimer hastalarının bilişsel fonksiyonlarını görece iyileştirmek, duygusal ve psikotik değişimleri kontrol altına almak ve hastanın yaşam kalitesini artırmak amacıyla bazı semptomatik tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir. Bununla birlikte Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Alzheimer Hastalığı tedavisinde sadece dört kolinesteraz inhibitörü takrin, donepezil, rivastigmin, galantamini onaylamıştır (Lleo A. Ve ark.).

Galantamin ((4aS,6R,8aS)-5, 6, 9, 10, 11, 12-hegzahidro-3-metoksi-11-metil4aH[1] benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepin-6-ol) [Şekil 1], reversibl kompetitif bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Ayrıca bir allosterik nikotinik reseptör modülatörü olup nikotinik reseptörleri de allosterik olarak düzenlediği bildirilmiştir [Maelicke A.]. Bu çift yönlü etkisi galantamini, mevcut ilaçlardan yarar görmeyen Alzheimer hastalarında, kullanımını cazip hale getirmektedir. Galantamin beyin fonksiyonlarını değiştiren bir hastalık olan hafif-orta şiddette Alzheimer hastalığı belirtilerinin tedavisinde kullanılan bir kolinesteraz inhibitörüdür (Anonim 2016). Alzheimer hastalığının belirtileri hafıza kaybında artış, kafa karışıklığı ve davranış değişiklikleridir. Bunun sonucunda günlük aktiviteleri yerine getirmek oldukça zorlaşır. Belirtilerin oluşması beyin hücreleri arasında mesajların iletiminden sorumlu olan asetilkolinin eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Galantamin beyindeki asetilkolinesterazın miktarını artırır ve bu hastalığın belirtilerini düzeltir (Anonim 2016). Galantamin beyaz ya da beyaza yakın toz formunda olup suda az çözünür. Galantaminin yapısal formülü Şekil 1'de gösterilmiştir. Galantamin içeriğini belirlemek için pek çok yöntem geliştirilmiştir, floresan spektrometrisi (M.J. Culzoni ve ark.), micellar elektrokinetik kromatografi (I.N. Nicolaou ve ark.), UHPLC (R.G. Deshpande ve ark.), GC-MS (R. Gotti ve ark.), radioimmunoassay (T. Tanahashi ve ark.), CE tekniği ile ilgili sinir ağı optimizasyonu (L. Pokorna ve ark.), kapiler elektroforez (Nurullah Şanlı ve ark.), elektrokemilüminesans yöntemi ile (Y. Wang ve ark.) ve enantiomerik GA'nın ayrılması (V. Ravinder ve ark.). Bu teknikler yeterli ve hassas olmasına rağmen, çoğu ya çok maliyetli ya da zaman alıcıdır. Bitkilerin yanı sıra biyolojik sıvılarda Galantaminin belirlenmesi için HPLC (Mustafa NR. ve ark. 2003), misel elektrokinetik kromatografi-elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (Mol ve ark. 2006), UV PDA dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografik yöntem (Malakova ve ark. 2007), ters faz HPLC yöntemi (Wu ve ark. 2005), sıvı kromatografik-tandem kütle spektrometresi yöntemi (Verhaeghe ve ark. 2005, Nirogi ve ark. 2007), spektroflorimetrik (Culzoni ve ark. 2010, Amit V. ark. 2013), gibi farklı analitik metotlar bildirilmiştir. Bu teknikler yeterince duyarlı olmasına rağmen, çoğu pahalı cihazlar gerektirmekte ve zaman alıcıdır. Spektroskopik yöntemler ise basit, doğru ve duyarlıdır. Ayrıca spektroskopik yöntemlerde basit bir çözücü kullanılır ve karmaşık numune hazırlama işlemi gerektirmez.

Bu nedenle, Galantaminin ilaç formülasyonlarının rutin bir kalite kontrol analizi için hızlı, ekonomik ve seçici yöntem geliştirilip valide edilmelidir.



Şekil 1. Galantamin molekül yapısı
Figure 1. The Molecular Structure of Galantamin

2. Materyal ve Metot

2.1. Kimyasallar

Standart: Galantamin hidrobromid (Galantamin HBr), United States Pharmacopeia (USP) Reference Standart. Sigma-Aldrich (St Louis MO, USA). Pazar Numuneleri: Reminyl 8 mg tablet (Johnson & Johnson). Tüm kimyasallar ve çözücüler analitik reaktif sınıfındandı ve daha fazla saflaştırılmadan kullanıldı. Perkin Elmer marka Lambda 35 model UV-Visible Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Mettler Toledo marka Excellence XPE analitik terazi Wisebath marka 50 kHz frekanslı Ultrasonik banyo cihazı balon joje – 10 mL, 100 mL pipetler – 1 mL, 5 mL, 10 mL, beherler, dereceli silindirler kalibrasyonları yapılarak çalışmada kullanılmıştır.

2.2. Standart Solüsyonlar

Stok Standart Çözelti: Galantamin HBr stok çözeltisi için 100 mg Galantamine HBr eşdeğer 128.15 mg Galantamin Hidrobromür tartılarak 100 ml lik balonjojeye aktarıldı. 50 ml deiyonize su ilave edilip birkaç dakika karıştırıldı. Deiyonize su ile hacim 100 mL ye tamamlandı ve 1000 ppm konsantrasyonda stok standart çözelti hazırlandı. Ultrasonik banyoda 5 dk süreyle tutuldu. Bu çözelti stok standart çözelti olarak kullanıldı.

Çalışma standart çözeltisi: Spektrofotometrik ölçümler için, 100 ppm'lik çalışma çözeltisi elde etmek için; stok standart çözeltisinden 10 mL numune, 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı ve hacim 100 mL'ye deiyonize su ile tamamlandı.

2.3. Dalga Boyunun Ayarlanması

Galantamin HBr maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunu tespit etmek için, Galantamin HBr 'nin standart çözeltisi spektrofotometrede tarandı ve maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 289 nm olarak belirlendi (Şekil 2).

2.4. Analitik Yöntemin Validasyonu

Doğrusallık

Çalışma standart çözeltisinden 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 mL alınarak, 100 mL lik balon jøjeye transfer edildi. Hacim; 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm konsantrasyonlarda standart çözeltileri elde etmek için deiyonize suyla 100 ml ye tamamlandı. Çözeltiler 200-400 nm UV dalgaboyu aralığında spektrofotometre üzerinde tarandı. Galantamin HBr 289 nm de maksimum absorbans gösterdi. Beş farklı konsantrasyondaki standartların 289 nm de absorbansları ölçüldü. Konsantrasyona karşı absorbans değerleri grafiğe çizildi ve regresyon denklemi hesaplandı (Doğrukol D. at al).

Kesinlik

100 ppm çalışma standart çözeltisinden 6 mL alınarak 10 mL lik balonjojeye aktarıldı ve deiyonize suyla hacim tamamlandı (60 ppm). İyice karıştırılıp 289 nm dalga boyunda absorbansı altı kez ölçüldü. % CV Değişim Katsayısı hesaplandı.

Gün İçi ve Günler Arası Kesinlik: Gün İçi Kesinlik aynı gün içinde üç kez (10, 40 ve 100 ppm) galantamin HBr standardı analiz edildi ve % CV Değişim Katsayısı hesaplandı. Günler Arası Kesinlik beş gün için (10, 40 ve 100 ppm) galantamin HBr standardı analiz edildi ve % CV Değişim Katsayısı hesaplandı (Doğrukol D. at al)..

Doğruluk

Galantamin HBr standardından ekleme yöntemi ile geri kazanımı hesaplanarak saptanmıştır. Önceden analiz edilen galantamin HBr örneğinden (60 ppm) üç adet 10 ml lik balon jøjeye 5 mL alındı. Balon jøjelerin her birisine artan miktarlarda 500, 700 ve 900 µL standarttan (1000 ppm) eklendi. Hacim deiyonize su ile 10 mL ye tamamlandı. Her bir çözeltide galantamin HBr miktarı belirlendi (Doğrukol D. at al)..

Teşhis Limiti

Yanıtın ve eğimin standart sapmasına dayanarak: Teşhis sınırı şu şekilde ifade edilebilir:

$$LOD = 3.3 s / S \text{ burada,}$$

s = Yanıtın standart sapması

S = Kalibrasyon eğrisinin eğimi (Doğrukol D. at al).

Tayin Limiti

Yanıtın ve eğimin standart sapmasına dayanarak: Tespit sınırı şu şekilde ifade edilebilir:

$$LOQ = 10 s / S \text{ burada,}$$

s = Yanıtın standart sapması

S = Kalibrasyon eğrisinin eğimi

LOD ve LOQ değerlerinin hesaplamasında, yanıt olarak doğrusallık grafiğinde farklı konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri kullanıldı (Doğrukol D. at al)..

3. Metodun İlaç Formülasyonlarına Uygulanması

İlaç formülasyonlarında Galantaminin analizi için; on tablet (Etiket İddiası: 8 mg/tablet) tartıldı, ortalama tablet ağırlığı belirlendi ve porselen havanda ince toz haline gelinceye kadar ezildi. Bir tablete karşılık gelen kütle tartıldı, 100 mL lik erlene alındı. Üzerine 50 mL deiyonize su ilave edildi, 30 dakika süreyle ultrasonik banyoda bekletildi. Nihai çözelti 30 dakika ultrasonik banyoda tutuldu ve beyaz bant süzgeç kağıdı (Whatman) ile süzüldü ve hacim deiyonize su ile 100 mL ye tamamlandı. Bu çözeltilerden 6 mL alınarak, 50 mL lik balon jöjeye aktarıldı ve 60 ppm konsantrasyon elde etmek için deiyonize su ile hacim tamamlandı. İyice karıştırıldıktan sonra 289 nm de absorbansı ölçüldü. Galantamin HBr kalibrasyon eğrisinden numune çözeltisinin konsantrasyonu bulundu.

4. Tartışma ve Sonuç

Galantaminin HBr etken maddesini tek başına içeren preparatlarda etken madde tayini için ultraviyole spektrofotometrik yöntem önerilmiştir. Bunun için ilk olarak Galantaminin HBr maksimum absopsiyon yaptığı dalga boyunu tespit etmek için, Galantamin HBr 'nin çalışma standardı solüsyonu spektrofotometrede taranmış ve maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu olarak 289 nm olarak belirlenmiştir. Analit içindeki herhangi bir madde girişim etkisi yapmadığı gözlemlendi. Galantamin HBr 'nin UV spektrumu Şekil 2'de gösterilmiştir. Metodun 10-100 ppm konsantrasyon aralığında korelasyon katsayısı ($R^2 = 0.9996$) ile doğrusal olduğu bulunmuştur. (Şekil 3, Tablo 1). Ortalama doğruluğun % 99.67 olduğu belirlendi. (Tablo 2). Gün içi ve günler arası hassaslık sırasıyla % 0.18 ve % 0.35 olarak bulunmuştur. (Tablo 3). Teşhis limiti 0.39 ppm ve tayin limiti 1.20 ppm olarak hesaplandı. Metodun geçerliliği, standart ekleme metodu kullanılarak kontrol edilmiştir. Sonuçlar önerilen metodun ilaç formülasyonlarında galantamin HBr tayini için geçerli ve uygulanabilir olduğunu göstermektedir (Tablo 4 ve Tablo 5). Önerilen metod ICH Klavuzu Q2 (R1) na göre basit, doğru, hassas, kesin ve tekrar edilebilirdir. Tabletlerin bu yöntemle analizinin sonuçları tekrarlanabilir, güvenilir ve ilacın etiketinde iddia edilen miktar ile iyi bir şekilde uyumludur. Önerilen prosedür ile ilaç formülasyonlarının rutin bir kalite kontrol analizi için hızlı, ekonomik ve seçici yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Elde edilen veriler göz önünde bulundurularak geliştirilen yöntemin kısa sürede yapılabilmesi, hiçbir ayırma işlemi gerektirmemesi, doğru, basit olması nedeniyle tüm araştırma geliştirme laboratuvarlarında kullanılabilir olduğunu düşünmekteyiz.

Tablo 1. Galantamin standart solusyonlarının kalibrasyon verileri

Table 1. Calibration data for standard solutions of galantamine

Konsantrasyon ppm	Absorbans Ortalama \pm SS (N=5)	Varyasyon Katsayısı % CV
10	0.0822 \pm 0.0093	0.81
20	0.1769 \pm 0.0074	0.75
40	0.3559 \pm 0.0087	0.62
60	0.5302 \pm 0.0092	0.58

80	0.7191 ± 0.0065	0.44
100	0.8974 ± 0.0079	0.41

Tablo 2. Galantamin HBr'nin doğruluk verileri**Table 2.** Accuracy Data of Galantamin HBr

Analitin Başlangıç Konsantrasyonu ppm	İlave Edilen Standart (1000 ppm) Miktarı µL	Hesaplanan Konsantrasyon ppm	Bulunan Konsantrasyon Ortalama ± SS	% Geri Kazanım ± SS
60	500	80	78.50 ± 1.65	98.12 ± 1.98
60	700	100	98.90 ± 1.46	98.90 ± 1.82
60	900	120	119.60 ± 1.91	99.67 ± 1.87

Tablo 3. Gün içi ve günler arası kesinlik verileri**Table 3.** Intraday and inter-day precision data

Konsantrasyon ppm	Gün İçi Kesinlik Absorbans Ortalama ± SS (N=6)	Varyasyon Katsayısı % CV	Günler Arası Kesinlik Absorbans Ortalama ± SS (N=6)	Varyasyon Katsayısı % CV
10	0.0825 ± 0.0061	0.34	0.0823 ± 0.0087	0.33
40	0.3560 ± 0.0053	0.28	0.3561 ± 0.0092	0.31
100	0.8972 ± 0.0044	0.35	0.8973 ± 0.0083	0.23

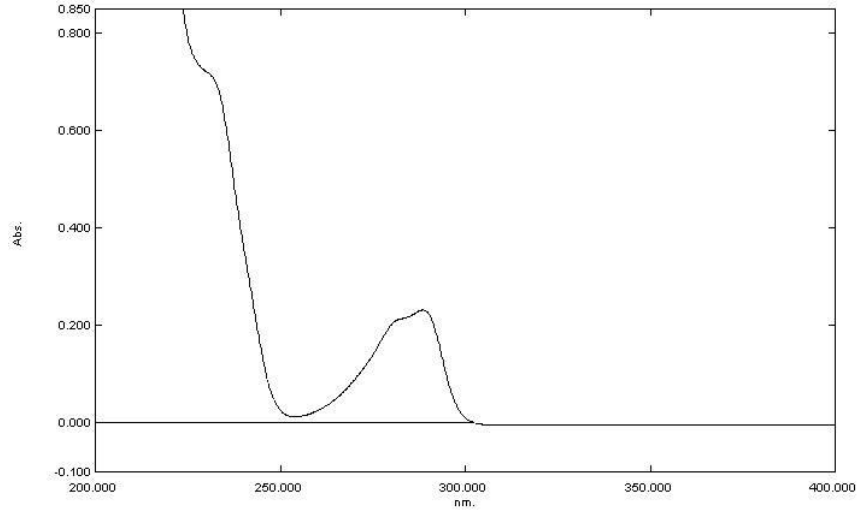
Tablo 4. İlaç formülasyonu çalışmaları**Table 4.** Studies of Drug formulation

Tablet Formülasyonu	Etiket İddiası mg/Tablet	Bulunan Miktar mg/Tablet	% Geri Kazanım ± SS
Reminyl	8	7.945	99.05 ± 0.72
Reminyl	4	3.978	99.25 ± 0.75

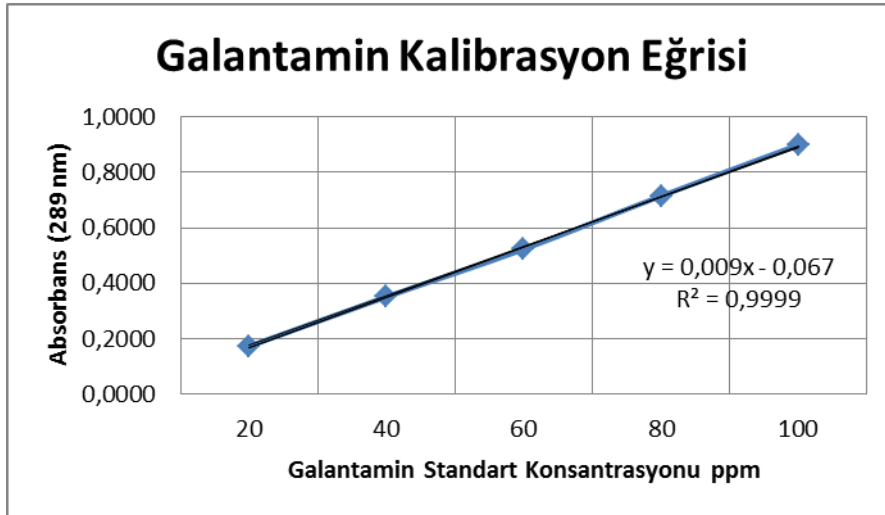
Tablo 5. Validasyon parametrelerin özeti**Table 5.** Summary of validation parameters

No	Parametreler	Sonuçlar
1	Dalga Boyu (nm)	289
2	Doğrusallık Aralığı (ppm)	10-100
3	Regresyon Denklemi	Y=0.0090X - 0.0067
4	Korelasyon Katsayısı	0.9999
5	Kayma	-0.0067
6	Eğim	0.0090
7	Doğruluk	% 98.12-99.67
8	Kesinlik	
	Gün İçi % CV (n=6)	% 0.28-0.41
	Günler Arası % CV (n=6)	% 0.23-0.43

9	Ölçümlerin Tekrarlanabilirliği % CV	% 0.75 (< % 1)
10	Teşhis Limiti (ppm)	0.39
11	Tayin Limiti (ppm)	1.20



Şekil 2. Galantamin HBr'nin UV spektrumu
Figure 2. UV Spectrum of Galantamin HBr



Şekil 3. Spektrofotometrik yöntemle Galantamin HBr'nin kalibrasyon eğrisi. $Y = m X + n$, Burada X ppm olarak konsantrasyon, Y ise 289 nm deki absorbanstır.

Figure 3. Calibration curve of Galantamin HBr by spectrophotometric method. $Y = m X + n$, where X is concentration in ppm and Y is absorbance at 289 nm.

5. Teşekkür

Bu çalışmanın tamamlanmasında katkılarından dolayı Uşak Üniversitesi Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezine teşekkür ederiz.

6. Kaynaklar

- Cankurtaran M, Arıoğul S. Alzheimer Hastalığı ve Demans tedavisinde yenilikler. *Türkiye Tıp Dergisi* 2002; 9(3): 128–136
- Lleo A, Greenberg S, and Growdon J. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Med.* 2006; 57: 513–533.
- Maelicke A. Pharmacokinetic rationale for switching from donepezil to galantamine. *Clinical Therapeutics* 2001; 23: A8–A12.
- Anonim, 2016. <https://www.ilacrehberi.com> (24.06.2016)
- M.J. Culzoni, R.Q. Aucelio, G.M. Escandar, Spectrofluorimetry in organized media coupled to second-order multivariate calibration for the determination of galantamine in the presence of uncalibrated interferences, *Talanta* 82 (2010) 325–332.
- Amit V. Patel, Vishal J. Patel, Avani V. Patel, Jayant B. Dave, and Chhaganbhai N. Patel. Determination of galantamine hydrobromide in bulk drug and pharmaceutical dosage form by spectrofluorimetry. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013 Oct-Dec; 5(4): 314–317. doi: 10.4103/0975-7406.120079
- I.N. Nicolaou, C.P. Kapnissi-Christodoulou, Simultaneous determination of nine acetylcholinesterase inhibitors using micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. Sci.* 49 (2011) 265–271.
- R.G. Deshpande, A.K. Roy, N.S. Rao, B.M. Rao, J.R. Reddy, Rapid screening of volatile ion-pair reagents using UHPLC and robust analytical method development using DoE for an acetyl cholinesterase inhibitor: GA HBr, *Chromatographia* 73 (2011) 639–648.
- R. Gotti, J. Fiori, M. Bartolini, V. Cavrini, Analysis of amaryllidaceae alkaloids from narcissus by GC–MS and capillary electrophoresis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 42 (2006) 17–24.
- T. Tanahashi, A. Poulev, M.H. Zenk, Radioimmunoassay for the quantitative determination of galanthamine, *Planta Med.* 56 (1990) 77–81.
- L. Pokorna, A. Revilla, J. Havela, J. Patocka, Capillary zone electrophoresis determination of galanthamine in biological fluids and pharmaceutical preparatives: experimental design and artificial neural network optimization, *Electrophoresis* 20 (1999) 1993–1997.
- Y. Wang, G. Zhu, X. Li, Z. Hao, Simultaneous determination of galanthamine and lycorine in lycoris radiata by a capillary electrophoresis with an electrochemiluminescence method, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 3007–3012.
- V. Ravinder, S. Ashok, A.V.S.S. Prasad, G. Balaswamy, Y.R. Kumar, B.V. Bhaskar, A validated chiral LC method for the enantiomeric separation of galanthamine, *Chromatographia* 67 (2008) 331–334.
- Nurullah Sanli, Ibrahim Bulduk, Hatice Ozkurt, Senem Sanli, Sibel A. Ozkan. Development and validation of a capillary zone electrophoretic method for rapid and sensitive determination of galanthamine: Application in plant and pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 131 (2016) 188–194
- Mustafa NR, Rhee I, Verpoorte R. Rapid method for determination of galanthamin in Amaryllidaceae plants using HPLC. *J Liq Chromatogr Relat Tech.* 2003; 26:3217–33.
- Mol R, Kragt E, Jimidar I, De jong GJ, Somsen GW. Micellar electrokinetic chromatography–electrospray ionization mass spectrometry for the identification of drug impurities. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006; 843:283–8
- Malakova J, Nobilis M, Svoboda Z, Miroslav L, Holcapek M, Kvetina J, et al. High-performance liquid chromatographic method with UV photodiode-array, fluorescence and mass spectrometric detection for simultaneous determination of galantamine and its phase I metabolites in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007; 853:265–74.
- Wu FL, Li AZ, Mao HF. Determination of galanthamine in bulb of *Lycoris radiata* by RP-HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2005; 30:523–5.
- Verhaeghe T, Diels L, De Vries R, De Meulder M, De Jong J. Development and validation of a liquid chromatographic–tandem mass spectrometric method for the determination of galantamine in human heparinised plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003; 789:337–46.
- Nirogi RV, Kandikere VN, Mudigonda K, Maurya S. Quantitative determination of galantamine in human plasma by sensitive liquid chromatography–tandem mass spectroscopy using loratidine as an internal standard. *J Chromatogr Sci.* 2007; 45:97–103.
- Culzoni MJ, Aucelio RQ, Escandar GM. Spectrofluorimetry in organized media coupled to second-order multivariate calibration for the determination of galantamine in the presence of uncalibrated interferences. *Talanta.* 2010; 82:325–32.
- Doğrukol D, Doç. Dr. Lütfi Genç. "Kromatografik Yöntemler", , BİBAM Yayınları, Eskişehir, 1-132.
- International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. 2005, Q2-R1