

Tabletlerde Mebendazolün Spektroflorimetrik Tayini

Spectrofluorimetric Assay of Mebendazole in Tablets

Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Selçuk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Konya-TÜRKİYE

Beniz GÜNDÜZ

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Esmâ KILIÇ

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

ÖZET

Bu çalışmada, tabletlerde mebendazol (MBZ) ilaç etken maddesinin tayini için spektroflorimetrik bir yöntem geliştirildi. Bu amaçla, mebendazol ilaç etken maddesinin çeşitli çözücülerde floresans spektrumları alınarak en uygun çözücünün dimetil sülfoksit ve bu çözücü ortamında uyarma (λ_{uy}) ve emisyon (λ_{em}) dalga boylarının sırasıyla 390 nm ve 473,6 nm olduğu belirlendi. Kalibrasyon grafikleri çizildi ve bunların 0-2,5 mg/L derişim aralığında doğrusal olduğu görüldü ($R^2 = 0,9993$). Doğrudan kalibrasyon grafiklerinden ve standart katma yöntemiyle Vermazol tabletindeki mebendazol miktarı tayin edildi. Geliştirilen spektroflorimetrik yöntemle elde edilen sonuçlar, standart USP 24 yöntemi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı ve iki yöntem arasında % 95 güven seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Önerilen yöntemin, ilaçlarda rutin mebendazol analizinde kalite kontrol amacıyla kullanılabilir olacak kolay, doğru ve kesinliği yüksek bir yöntem olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: Spektroflorimetri, tayin, benzimidazol, mebendazol, ilaç

ABSTRACT

In this study a spectrofluorimetric method has been developed for assay of mebendazole (MBZ) drug active compound in tablets. For this purpose; taking measured fluorescence intensities of mebendazole drug active compound in various solvents, it was determined that suitable solvent was dimethyl sulfoxide and the wavelengths of excitation and emission were 390 nm and 473,6 nm, respectively. Calibration graphs were drawn and the fluorescence intensity was linearly related to the drug

concentration which is between 0-2,5 mg/L ($R^2 = 0,9993$). Mebendazole in Vermazol tablet was determined both from calibration graph and from standard addition method. The validity of the method was tested by the recovery studies of standard addition to pharmaceuticals and the result was found to be satisfactory. The results obtained from spektrofotometric method were compared with official USP 24 method and were in good agreement and no significant difference between the two methods at 95 % confidence level was found. The proposed method is simple, accurate and sufficiently precise for quality control purposes in routine analysis of mebendazole in drugs.

Key words: Spectrofluorimetry, assay, benzimidazole, mebendazole, pharmaceuticals

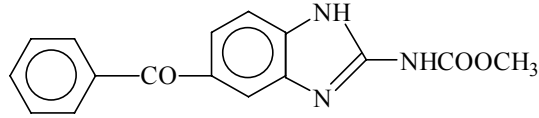
1. Giriş

Günümüzde muhtelif maksatlarla çok çeşitli ilaç kullanılmakta ve bunlara her geçen gün yenileri eklenmektedir. İlaçların etkili olan kısımları ilaçların etken maddeleridir. Gerek imalat ve gerekse piyasa kontrolleri sırasında ilaç etken maddelerinin miktarlarının doğru olarak tayini kullanım açısından çok önemlidir. Eksik etken madde içeren ilaçlar gereken yararı göstermemekte ve ilaçların yan etkileri dikkate alındığında, fazla ilaç etken maddeli olanlar ise pek çok zararlı etkilere neden olmaktadır. İlaç etken maddeleri farklı ilaçlarda farklı matrikslerde bulunduğundan bunların tayinini doğru olarak yapmak bilimsel açıdan da önemlidir. İmidazol türevi antihelmintik ilaçlar, dünyada özellikle de ülkemizde sıklıkla görülen helmintiyazis hastalığının tedavisinde kullanılan, sadece cerrahi girişimle tedavisi mümkün olabilen bir çeşit helminte karşı ağız yoluyla kullanılabilen ilaçlar olmasından dolayı oldukça önem taşımaktadır. Tayinleri için ise, literatürde florimetrik yöntem hemen hemen hiç bulunmamaktadır.

Mebendazol de (MBZ; Metil-5-benzoil-2-benzimidazol karbamat) antihelmintik olarak tıp ve veterinerlikte kullanılan etkili bir benzimidazol ajanıdır (Şekil 1). Literatürlerde tablette mebendazol etken maddesinin tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Abdel Fattah, F., 1983; Wang ve Lo, 1984; Baeyens, 1986; Al-Kurdi, 1999; Orsine ve arkadaşları, 2000; Gomes, A.R., Nagaraju, V. 2001), spektrofotometri (Kar, 1985), ^1H NMR (Al-Khamees, 1988) gibi çeşitli yöntemler tanımlanmaktadır.

Florimetri, spesifikliği, düşük tayin sınırı, yüksek duyarlılığı ve kullanım kolaylığı gibi üstünlükleri sebebiyle farmakolojide miktar analizlerinde oldukça tercih edilen bir yöntemdir. Florimetri yönteminin, derişimleri 10^{-6} - 10^{-9} M olan maddeleri çok büyük bir kesinlik, doğruluk ve seçicilikle tayin etme özelliğinden dolayı, ultraviyole spektroskopisi ve atomik absorpsiyon spektroskopisi gibi diğer enstrümental yöntemlere göre bazı üstün özelliklere sahip olduğu görülmektedir. İlâç etken maddelerinin pek çoğu molekül yapıları nedeniyle floresans özellik göstermektedir. Bir çok benzimidazol türevleri karakteristik lüminesans (π - π^* floresans ve n - π^* fosforesans) özelliği gösterirler (Udenfriend, S., 1962 ve 1969, New York). Fakat gerek farmakopilerde gerekse literatürlerde ultraviyole ve diğer yöntemlerle tayinleri olmasına rağmen daha duyarlı ve seçici olan spektrofluorimetrik tayin yöntemlerine fazla değinilmemiştir.

Bu çalışmada, antihelmintik etki gösteren mebendazol ilâç etken maddesi için spektrofluorimetrik bir yöntem geliştirilmesi ve bu yöntemin piyasada mevcut olan bazı ilâçlara uygulanabilirliği amaçlanmıştır.



Şekil-1. Mebendazolün yapısı

2. Materyal ve Yöntem

Kullanılan cihazlar

Floresans ölçümleri *Schumadzu RF 5000* ve *Perkin-Elmer LS 50B* marka spektrofluorimetreler kullanılarak yapıldı. Schimadzu marka spektrofluorimetrenin kalibrasyonunda, 2-10 $\mu\text{g/L}$ derişim aralığında olacak şekilde hazırlanan uranın (floresseinin sodyum tuzu) çözeltileri kullanıldı. Ayrıca, ölçümler yapılmadan önce, ksenon ark lambasının performansı 0,1 ppm'lik kinin sülfat çözeltilisiyle kontrol edildi. Cihazın sinyal/gürültü (S/N) oranı ise, deiyonize su kullanılarak, dikey ve yatay ayna ayarlarının değıştırilmesiyle, 70'in üzerinde olacak şekilde ayarlandı. Kullanılan

cihazda S/N değeri 100 idi. Uyarma ve emisyon monokromotorlarının slit aralıkları 5 nm olarak ayarlandı ve tüm ölçümler bu aralıkta yapıldı.

USP 24 de verilen spektroskopik yöntem için *Schimadzu 160-A* marka ultraviyole ve görünür alan spektrofotometresi kullanıldı.

Kullanılan çözücüler, kimyasal maddeler ve çözeltiler

Çözücü olarak kullanılan dimetil sülfoksit, Sigma-Aldrich firmasından; dimetil formamit ve tetrahidrofuran ise Merck firmasından kromatografik saflıkta temin edildi ve kullanıldı. Diğer tüm çözücü ve kimyasal maddeler analitik saflıktaydı.

Spektroflorimetrik analiz yönteminin geliştirilmesinde kullanılan standart ilaç etken maddesi mebendazol, İbrahim Ethem Ulagay İlaç Sanayii T.A.Ş. temin edildi.

Mebendazol içeren Vermazol isimli ilaç (çiğneme tableti) İbrahim Ethem Ulagay İlaç Sanayii T.A.Ş. firmasının ürünü olup her çiğneme tableti 100 mg mebendazole eşdeğerti.

Mebendazol stok standart çözeltisi: Derişimi 2,953 mg/L olan mebendazol stok standart çözeltileri dimetil formamit ve dimetil sülfoksitte hazırlandı. Bu çözeltilerden alınan 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mL'lik kısımlar 25 mL'lik ölçülü balonlarda seyreltilerek bir seri standart çözelti elde edildi. Bu çözeltilerin derişimleri 0,295-2,95 mg/L arasındadır.

Mebendazolün floresans özelliklerinin incelenmesi

Mebendazolün (MBZ) tayininde kullanacağımız uygun çözücülerini belirlemek amacı ile her bir etken madde için aşağıdaki işlemler yapıldı:

Mebendazolden derişimi 0,3 mg/L olacak şekilde tartımlar alındı ve sırasıyla su, kloroform, etanol, metanol, propanol, dimetilformamid (DMF), karbontetraklorür, eter, hekzan, aseton, tetrahidrofuran, asetonitril, dioksan, etilasetat, dimetilsülfoksit (DMSO), benzen, toluen, dietilamin, etilendiamin ve nitrobenzende çözünürlükleri incelendi. Oda sıcaklığında çözünmeyenler 40°C'da su banyosunda ısıtılarak çözülmeye çalışıldı.

Mebendazol'un çözüldüğü çözücülerden her birinde floresans özelliklerini incelemek amacı ile spektrofotometrede uyarma dalga boyu 250 nm'den başlayarak 10 nm aralıklarla 450 nm'ye kadar çoklu emisyon spektrumları alındı. Ayrıca kullandığımız çözücünün de çoklu emisyon spektrumu aynı dalga boyları arasında tarandı. Spektrumlardan, uygun çözücülerini belirlemek için, çözücünün floresans emisyonunun etken maddenin floresans emisyonunu en az etkilediği dalga boyları göz önüne alındı. Mebendazol'un ise DMF, tetrahidrofuran ve DMSO'da çözüldüğü belirlendi, bu çözücülerde floresans emisyonları taranarak mebendazolün floresans şiddetine çözücünün etkisi araştırıldı.

Mebendazol için uyarma ve emisyon dalga boyunun belirlenmesi

İlaç etken maddelerinin spektrofotometrik analizlerini yapabilmek amacı ile öncelikle çeşitli çözücülerde mebendazol için uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Bunun için bu etken maddenin 1,5 mg/L'lik çözeltileri hazırlandı ve bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alınarak incelendi. Mebendazol için uyarma ve floresans emisyon piklerinin net bir şekilde gözlendiği ve floresans şiddetinin en yüksek olduğu dalga boyları göz önüne alınarak en uygun uyarma dalga boyu (λ_{uy}) ve emisyon dalga boyu (λ_{em}) belirlendi.

Mebendazol için kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi

Mebendazol için kalibrasyon eğrileri 0,295 - 2,95 mg/L derişim aralığında çizildi. Bu amaçla DMF ve DMSO çözücülerini kullanılarak stok mebendazol çözeltilerinden bir seri çözeltiler hazırlandı ve en uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında floresans şiddetleri kaydedildi. Mebendazol derişimine karşı floresans şiddetleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri elde edildi. Her bir eğrinin istatistik değerlendirmesi yapıldı.

Tabletin analize hazırlanması

Mebendazol içeren Vermazol tabletlerinden 20 adet alınarak tartıldı ve havanda iyice toz haline getirildi. Yaklaşık 100 mg mebendazol'a eşdeğer toz numune tartılarak cam

kapaklı 100 mL' lik bir erlen içine aktarıldı ve üzerine 50,0 mL DMSO ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 4-5 saat süreyle karıştırıldı. Bu işlemle mebendazol etken maddesinin çözücüye geçmesi sağlandı. Bu çözelti orta gözenekli süzgeç kağıdından süzülerek cam kapaklı bir balon içine aktarıldı.

Kalibrasyon grafikleri kullanılarak tabletteki mebendazol miktarının tayini

Floresans emisyon şiddetlerinin mebendazol derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle çizilen kalibrasyon grafikleri kullanılarak, Vermazol tabletlerindeki mebendazol tayin edildi. Bu amaçla dimetil sülfoksitte hazırlanan Vermazol çözeltilerinin mebendazol için uygun uyarma ve emisyon dalga boyları kullanılarak floresans şiddeti ölçüldü. Bu floresans şiddetine karşı gelen mebendazol derişimi kalibrasyon grafiklerinden bulundu ve tabletlerdeki mebendazol miktarı hesaplandı. Numune hazırlama ve kalibrasyon eğrilerinden derişim bulma işlemi altı kez tekrarlandı ve istatistik değerlendirmesi yapıldı.

Standart Katma Yöntemi Kullanarak Tabletteki Mebendazol Miktarı Tayini

DMSO ortamında Vermazoldeki mebendazolün standart katma yöntemi ile tayini için 5 adet 25,0 mL'lik ölçülü balona 6,0'şar mL Vermazol kullanılarak hazırlanan DMSO'li çözelti kondu. Bu ölçülü balonlara stok mebendazol çözeltilerinden sırasıyla 0,0; 2,0; 4,0; 6,0 ve 8,0 mL ilave edildi ve hacimleri DMSO ile 25,0 mL'ye tamamlandı. Her bir çözeltinin uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında floresans şiddetleri kaydedilerek katılan standartların derişimine karşı grafiğe geçirildi. Çizilen doğrunun derişim eksenini kestiği noktadan yararlanarak tabletlerdeki mebendazol miktarları hesaplandı. Bu işlem her bir numune için 3 kez tekrarlandı ve elde edilen sonuçların istatistik değerlendirmesi yapıldı.

USP Yöntemi Kullanılarak Tabletteki Mebendazol Miktarı Tayini

Farmakopilerde verilen spektrofotometrik yöntem kullanılarak Vermazol tabletlerindeki mebendazol tayini yapıldı (United States Pharmacopoeia , 2000).

3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

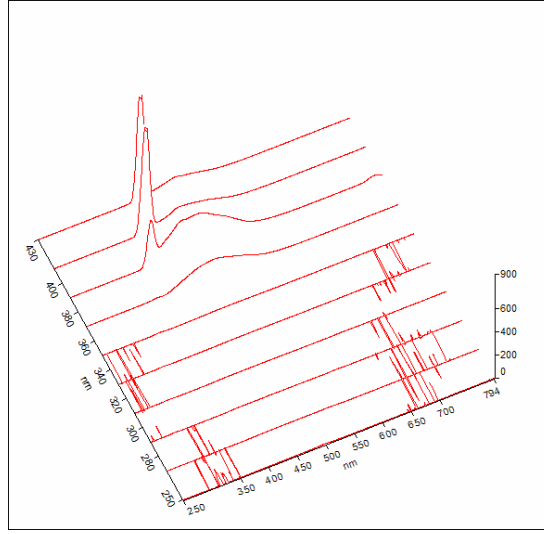
Mebendazol'ün floresans şiddetine çözücünün etkisi

Mebendazolün hangi çözücünde en yüksek floresans şiddeti verebileceğini belirlemek amacıyla, Çizelge 1'de verilen çözücüler kullanılarak, belli bir derişimde mebendazol çözeltisi hazırlandı ve çeşitli dalga boylarında uyarılarak çoklu emisyon spektrumları kaydedildi. DMSO'de hazırlanmış çözelti için elde edilen çoklu floresans spektrumu Şekil 2'de verildi. DMSO ve diğer çözücülerden elde edilen çoklu spektrumlardan yararlanılarak en yüksek floresans şiddetinin elde edildiği uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi ve Çizelge-1'de verildi. Çizelge incelendiğinde, mebendazol için en yüksek floresans şiddetinin DMSO ve DMF'de elde edildiği görüldü. Ancak, çalışmamızda, DMF'i kullanmamamızın nedeni mebendazol için seçtiğimiz uyarma dalga boyunda emisyon pikinin bulunması ve ayrıca mebendazol etken maddesi içeren tablette DMSO ile daha iyi sonuçlar almamızdır.

DMSO ortamında en uygun uyarma dalga boyunun 390 nm ve buna karşılık gelen uygun emisyon dalga boyunun 473,6 nm olduğu tespit edildi. Bu uyarma ve emisyon dalga boylarında çözücünün floresans şiddetinin ihmal edilebilecek kadar düşük olması da bir avantaj olarak görüldü.

Çizelge-1: *Mebendazolün floresans şiddetine çözücünün etkisi (1,5 mg/L)*

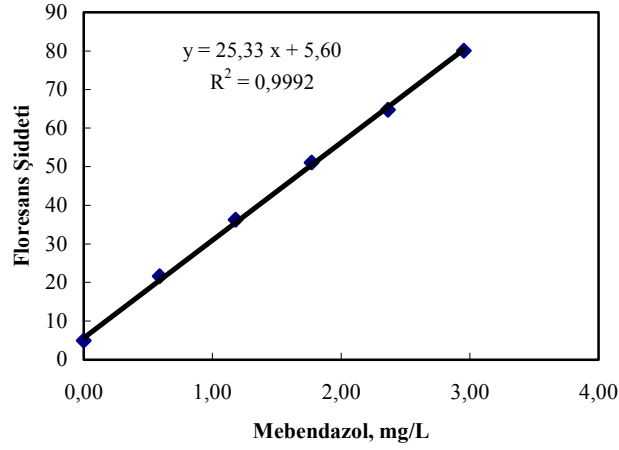
Çözücü	λ_{uy}	λ_{em}	Floresans Şiddeti	
			Çözücü	Mebendazol
DMF	390	470,4	5,6	60,2
THF	360	440,0	3,2	25,1
DMSO	390	473,6	1,0	62,6



Şekil-2: Mebendazolün dimetil sülfoksitte çoklu floresans spektrumu

Kalibrasyon grafiklerinin değerlendirilmesi

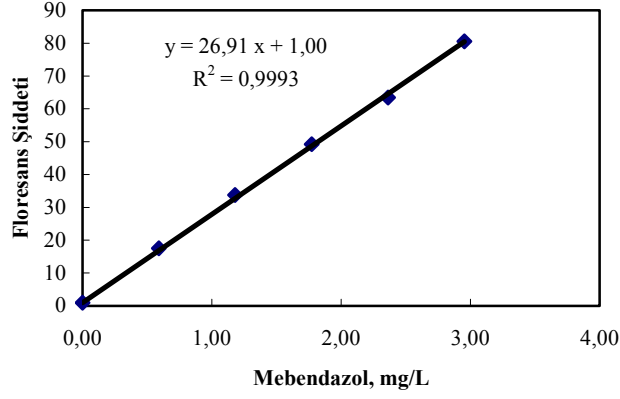
Mebendazol için kalibrasyon eğrileri DMSO ve DMF ortamlarında çizildi ve bu eğriler Şekil 3 ve 4'da verildi. Bu eğriler incelendiğinde, her iki çözücü ortamında oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin doğrusallığının iyi olduğu görüldü. Ancak, DMSO'da elde edilen kalibrasyon eğrisinin regresyon katsayısının bire daha yakın, eğimi biraz daha yüksek olduğu için duyarlılığının daha iyi ve çözücünün floresans şiddetinin en az olduğu bulundu. Bu nedenle de, DMSO'nun mebendazol için daha uygun bir ortam olduğu söylenebilir. Bundan sonraki tüm çalışmalarımız, bu çözücü ortamında yapıldı.



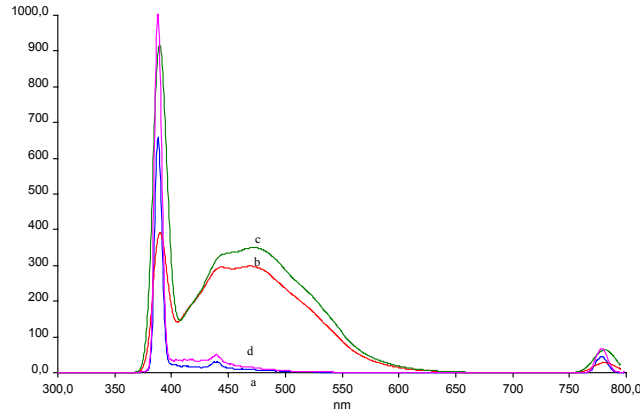
Şekil-3: Mebendazolün $\lambda_{uy} = 390 \text{ nm}$ ve $\lambda_{em} = 470,4 \text{ nm}$ 'de dimetil formamitte çizilen kalibrasyon grafiği.

Mebendazolün floresans şiddetine tabletlerdeki katkı maddelerinin etkisi

Mebendazol içeren Vermazol tabletler, DMSO'de çözülerek 390 nm'de uyarılarak floresans spektrumu kaydedildi ve standart mebendazol çözeltisinin floresans şiddetiyle karşılaştırıldı. Şekil-5b ve 5c'de görüldüğü gibi iki spektrumun birbirine benzer olduğu gözlemlendi. Ancak tabletlerde bulunan katkı maddelerinin floresans şiddeti üzerine etkisinin olup olmadığı da araştırıldı ve prospektüslerde yazılan katkı maddelerinin (sodyum sakkarin, Ponceau 4R, frambuaz esansı) DMSO'deki çözeltilerinin aynı uyarma dalga boyundaki floresans spektrumu alındı (Şekil-5d). Şekilden görüleceği gibi 473,6 nm emisyon dalga boyunda katkı maddelerinin floresans şiddeti üzerine etkisi ihmal edilebilecek kadar olduğu tespit edildi.



Şekil-4: Mebendazolün $\lambda_{uy} = 390 \text{ nm}$ ve $\lambda_{em} = 473,6 \text{ nm}$ 'de dimetilsülfoksitte çizilen kalibrasyon grafiği.



Şekil-5. Dimetil sülfoksit ortamında ortamında $\lambda_{uy} = 390 \text{ nm}$ uyarma dalga boyundaki floresans spektrumları: (a) çözücü, (b) standart mebendazol çözeltisi, (c) vermazol tablet ve (d) katkı maddeleri.

Tablette Mebendazol Tayini

Tabletlerdeki mebendazol tayini hem doğrudan kalibrasyon grafikleri kullanılarak hem de standart katma yönteminden yararlanarak yapıldı.

Kalibrasyon grafiklerinden doğrudan tayin

Tabletlerdeki mebendazolün kalibrasyon grafiklerinden doğrudan tayinini yapabilmek için Şekil-4'te verilen kalibrasyon grafiğinden yararlanıldı. Vermazol tabletlerinden hazırlanan dimetil sülfoksitli çözelti 390 nm uyarma ve 473,6 nm emisyon dalga boylarında floresans şiddetleri ölçülerek kalibrasyon grafiklerinden mebendazol derişimi belirlendi. Elde edilen sonuçlar Çizelge-2'de verildi. Çizelgeden de görüleceği gibi, doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen sonuçların bağıl standart sapması ve tekrarlanabilirliği oldukça iyi olduğu tespit edildi. Dolayısıyla, bu yöntemle tabletlerde mebendazolün kantitatif tayini, iyi bir kesinlik ve tekrarlanabilirlikle yapılabileceği gözlemlendi.

Çizelge-2. Tabletlerde mebendazol için kalibrasyon grafiği yöntemiyle elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirilmesi.

Deney No	Alınan, mg/L	Bulunan $\pm s^a$, mg/L	Geri Kazanma, %
1	2,135	2,040 \pm 0,03	95,6
2	0,620	0,623 \pm 0,01	100,5
3	2,134	2,040 \pm 0,03	95,6
4	2,104	2,121 \pm 0,03	100,8
5	1,946	1,856 \pm 0,03	95,4
6	1,749	1,689 \pm 0,03	96,6

Deney Sayısı, N = 6

Ortalama Değer = \bar{x} = % 97,4

Standart Sapma, s = 2,5

Bağıl Standart Sapma, BSS = $(s/\bar{x}) \times 100$ = % 2,6

Güven Aralığı^b, $\bar{x} \pm ts/\sqrt{N}$ = % 97,4 \pm 2,6

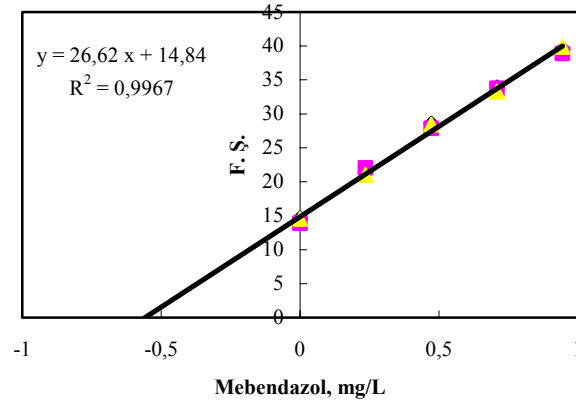
Tekrarlanabilirlik, $r = ts\sqrt{2}$ = 9,2

^a her numune için 5 ölçüm alınmıştır.

^b % 95 güven seviyesinde

Standart katma yöntemi ile tayin

Katkı maddelerinin floresans şiddeti üzerine etkisinin oldukça az olduğu görülmesine rağmen matriks etkilerini tekrar incelemek amacıyla, kantitatif tayinler ayrıca standart katma yöntemi kullanılarak da yapıldı (Şekil-6) ve elde edilen sonuçlar Çizelge-3'te verildi.



Şekil-6: Standart katma yöntemi ile tablette mebendazol tayini için elde edilen eğri ($\lambda_{uy} = 390 \text{ nm}$ ve $\lambda_{em} = 473,6 \text{ nm}$).

Şekil-4 ve Şekil 6 karşılaştırıldığında iki doğrunun eğiminin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Bu da bir kere daha bize tabletlerde bulunan katkı maddelerinin yöntem üzerinde bozucu etkisinin az olduğunu düşündürmektedir. Çizelge-2 ve 3 deki verilerden yararlanılarak yapılan *F*- ve *t*-testleri bu iki yöntemin kesinlikleri arasında ve yöntemler arasında fark olmadığını % 95 güven seviyesinde göstermektedir.

Çizelge-3. Tabletlerde mebendazol için standart katma yöntemiyle elde edilen sonuçlar ve istatistik değerlendirilmesi.

Deney No	Alınan, mg/L	Bulunan $\pm s^a$, mg/L	Geri Kazanma %
1	0,673	0,633 \pm 0,03	94,0
2	0,640	0,607 \pm 0,02	94,8
3	0,640	0,603 \pm 0,02	94,2
4	0,583	0,573 \pm 0,01	98,3
5	0,598	0,582 \pm 0,01	97,3
6	0,591	0,586 \pm 0,02	99,2

Deney Sayısı, n=6

Ortalama Değer = $\bar{x} = \% 96,3$

Standart Sapma, s = 2,2

Bağıl Standart Sapma, BSS = $(s/\bar{x}) \times 100 = \% 2,3$

Güven Aralığı^b, $\bar{x} \pm ts/\sqrt{N} = \% 96,3 \pm 2,3$

Tekrarlanabilirlik, r = $ts\sqrt{2} = 8,0$

^a her numune için 3 ölçüm alınmıştır.

^b %95 güven seviyesinde

İstatistik sonuçlardan iki yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Fakat spektrofotometrik olarak tabletlerde mebendazol tayini için standart katma yönteminin doğrudan kullanılması daha uygundur. Çünkü mebendazol içeren Vermazol çiğneme tabletinde etken maddenin yanı sıra belirtilen katkı maddelerinin tam miktarı bilinmemektedir. Bu nedenle kalibrasyon yöntemi kullanılarak yapılan doğrudan analizde çözücü ve katkı maddelerinin floresans şiddeti üzerine yaptığı katkının çıkarılması mümkün değildir. Tablettten numune hazırlama işleminin kolay olduğu ve zaman alıcı olmadığı için, tabletlerde mebendazol tayini için standart katma yöntemi kolaylıkla kullanılabilir.

Tabletlerde mebendazol tayini için geliştirilen spektrofotometrik yöntemlerin doğruluğunu kontrol etmek için, aynı numuneler USP'de verilen ve spektrofotometrik yöntem ile de analiz edildi. Bu yöntem ile elde edilen veriler Çizelge-4'te verildi.

Çizelge-4. Mebendazol tabletlerde aktif madde analizinin USP yöntemine göre sonuçları ve istatistik değerlendirmesi.

Deney No	Alınan, mg/L	Bulunan $\pm s^a$, mg/L	Geri Kazanma, %
1	6,000	6,162 \pm 0,075	102,7
2	6,000	5,864 \pm 0,011	97,7
3	7,000	7,061 \pm 0,019	100,8
4	8,000	7,744 \pm 0,022	96,8

Deney Sayısı, n = 4

Ortalama Değer = \bar{x} = % 99,5

Standart Sapma, s = 2,7

Bağıl Standart Sapma, BSS = $(s/\bar{x}) \times 100 = \% 2,7$

Güven Aralığı^b = $\bar{x} \pm ts/\sqrt{N} = \% 99,5 \pm 4,4$

Tekrarlanabilirlik, $r = ts\sqrt{2} = 12,3$

^a her numune için 3 ölçüm alınmıştır.

^b % 95 güven seviyesinde

Çizelge-2, 3 ve 4'teki verilerin istatistik değerlendirmesi yapıldığında, % 95 güven seviyesinde geliştirdiğimiz spektrofotometrik yöntemin doğru bir yöntem olduğu söylenebilir (Küçükkolbaşı, S., 2003).

4. Sonuç

Mebendazol için geliştirilen spektrofotometrik yöntem için istatistik analiz verilerine dayanarak şunu söylemek mümkündür. Bu çalışmada, benzimidazol türevi olan mebendazol içeren ilaçlarda söz konusu etken maddelerin geliştirdiğimiz spektrofotometrik metotla doğrudan veya standart katma yaparak kolayca tayin edilebilir. Ayrıca, geliştirdiğimiz spektrofotometrik yöntemin USP yöntemlerine göre;

- daha az ön işlem (ısıtma, süzme, özütleme gibi) yaparak numune hazırlanabilmesi,
- daha az zaman alması,
- daha az sayıda ve daha az miktarda çözücü gerektirmesi

gibi üstün yönleri olduğu belirlendi. İstatistik sonuçlardan, tabletlerde etken madde tayini için önerilen spektrofotometrik yöntemle standart yöntemin kesinlik düzeylerinde (*F*-testi) ve ortalama değerlerinde %95 güven seviyesinde fark olmadığı görüldü. Numune hazırlamadaki kolaylığı, doğruluğu ve kesinliği ile ilgili sonuçlardan, tabletlerde mebendazol için tayini için önerilen bu spektrofotometrik yöntemin standart yöntem olan USP yöntemine alternatif bir yöntem olabileceği sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Abdel Fattah, F., Baeyens, W. and De Moerloose, P. (1983). Fluorimetric determination of mebendazole and flubendazole in pharmaceutical dosage forms after alkaline hidrolisis, *Analytica Chimica Acta*, 154, 351-354.
- Al-Khamees, H.A. and El-Shozly, M.Eb. (1988). Determination of mebendazole and its formulations using ¹H nuclear magnetic resonance spectrometry, *Analyst*, 113, 599-602.
- Al-Kurdi, Z., Al-Jallad, T., Badwan, A., Jaber, A.M.Y. (1999). High Performance liquid chromatography method for determination of methyl-5-benzoyl-2-benzimidazole carbamate(mebendazole) and its main degradation product in pharmaceutical dosage forms, *Talanta*, 50,1089-1097.
- Baeyens, W., Abdel Fattah, F. and De Moerloose, P. (1986). Fluorescence analysis of imidazole drugs with N-bromosuccinimide, *Pharmazie*, 41, 636-639.
- Gomes, A.R., Nagaraju, V. (2001). High-performance sıvı chromatographic seperation and determination of the process related impurities of mebendazole, fenbendazole and albendazol in bulk drugs, *Jounal of. Pharm. and Biomedical Analysis*, 26, 919-927.
- Kar., A. (1985). Spectrophotometric determination of mebendazole in pure and dosage forms by complexation with potassium bismuth(III)iodide, *Analyst*, 110,1031-1033.
- Küçükcolbaşı, S., (2003). İmidazol Türevi İlaçlarda Etken Madde Tayini İçin Spektrofotometrik Yöntem Geliştirilmesi”, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü., Konya, TÜRKİYE.
- Orsine, E.M.A., Kedor*Hackmann, E.R.M. and Santoro, M.I.R.M. (2000). Simultaneous determination of thiabendazole and mebendazole in tablets by HPLC, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(8), 879-883.

Udenfriend, S. (1962 and 1969). Fluorescence Assay in Biology and Medicine, Vols. I and II, Academic Press, New York,

United States Pharmacopoeia, 24 Revision, United States Pharmacopoeial Convention. (2000). Board of Trustees, 1020-22

Wang, D-P. And Lo, H-S. (1984). Assay of mebendazole in tablets by high-performance liquid chromatography, Analyst, 109, 669-670.