

154402

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇOKLU İLAÇ KARIŞIMLARININ KİSMİ EN KÜÇÜK
KARELER SPEKTROFOTOMETRİK KALİBRASYON
YÖNTEMİYLE ANALİZİ**

Yüksek Kimyager Özlem AKSU

**FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında
Hazırlanan**

DOKTORA TEZİ

Tez Savunma Tarihi : 13 Nisan 2004

Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri

: Prof. Dr. Gönül KUNT (YTÜ)

: Prof. Dr. Abdürrezzak BOZDOĞAN (YTÜ)

: Prof. Dr. Reşat APAK (İÜ)

: Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR (YTÜ)

: Prof. Dr. Sedef ATMACA (İÜ)

İSTANBUL, 2004

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KISALTMA LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Essin.....	2
2.1.1 Özellikleri	3
2.1.2 Farmakolojik Etkisi	4
2.1.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	4
2.2 Dietilamin Salisilat	6
2.2.1 Özellikleri	6
2.2.2 Farmakolojik Etkisi	6
2.2.3 Miktar Tayin ve Yöntemleri	6
2.3 Lidokain (Lignokain) Hidroklorür.....	7
2.3.1 Özellikleri	7
2.3.2 Farmakolojik Etkisi	8
2.3.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	8
2.4 Mepiramin (Prilamin) Maleat.....	11
2.4.1 Özellikleri	11
2.4.2 Farmakolojik Etkisi	12
2.4.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	12
2.5 Dekspantenol	13
2.5.1 Özellikleri	13
2.5.2 Farmakolojik Etkisi	13
2.5.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	13
2.6 Dekstrometorfan Hidrobromür	14
2.6.1 Özellikleri	14
2.6.2 Farmakolojik Etkisi	15
2.6.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	15
2.7 Psödoefedrin Hidroklorür	18
2.7.1 Özellikleri	18
2.7.2 Farmakolojik Etkisi	18
2.7.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	18
2.8 Triprolidin Hidroklorür.....	22
2.8.1 Özellikleri	22
2.8.2 Farmakolojik Etkisi	22
2.8.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	23
2.9 Dekstrometorfan HBr, Psödoefedrin HCl ve Triprolidin HCl'nin İkili ve Üçlü Birarada Tayin Yöntemleri	23
2.10 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri.....	25
2.10.1 Çoklu Lineer Regresyon (MLR).....	26
2.10.2 Ana Bileşen Regresyonu (PCR)	26

2.10.3	Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu (PLS)	28
3.	DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	33
3.1	Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler.....	33
3.1.1	İlaç Maddeleri ve Analiz Örnekleri	33
3.1.2	Kimyasal Madde ve Çözücüler.....	33
3.1.3	Çözeltiler	33
3.2	Alet ve Diğer Gereçler.....	34
3.3	Yöntemler	35
3.3.1	Essin ve Dietilamin Salisilat Karışımının Analizi.....	35
3.3.1.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	35
3.3.1.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması.....	35
3.3.1.1.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması	35
3.3.1.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	35
3.3.1.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	36
3.3.1.2.1	Spektrumların Çizilmesi.....	36
3.3.1.2.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması	36
3.3.1.3	Kıyas Yöntemi.....	36
3.3.1.3.1	Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	36
3.3.1.3.2	Jel İçinde Miktar Tayini	36
3.3.2	Dekspantenol, Mepiramin Maleat ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi	37
3.3.2.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	37
3.3.2.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması.....	37
3.3.2.1.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması	38
3.3.2.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	38
3.3.2.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	38
3.3.2.2.1	Spektrumların Çizilmesi.....	38
3.3.3	Dekstrometorfan Hidrobomür, Psödoefedrin Hidroklorür ve Triprolidin Hidroklorür Karışımının Analizi	38
3.3.3.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	39
3.3.3.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması.....	39
3.3.3.1.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması	39
3.3.3.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	39
3.3.3.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	40
3.3.3.2.1	Ölçü Eğrilerinin hazırlanması.....	40
3.3.3.2.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması	40
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	41
4.1	Essin ve Dietilamin Salisilat Karışımının Analizi.....	41
4.1.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	41
4.1.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi.....	41
4.1.1.2	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması.....	43
4.1.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	43
4.1.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	47
4.1.2.1	Spektrumların Çizilmesi.....	47

4.1.2.2	Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	48
4.2	Dekspantenol, Mepiramin Maleat ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi	49
4.2.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	49
4.2.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi.....	49
4.2.1.2	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	52
4.2.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	52
4.2.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	59
4.2.2.1	Spektrumların Çizilmesi	59
4.3	Dekstrometorfan Hidrobomür, Psödoefedrin Hidroklorür ve Triprolidin Hidroklorür Karışımının Analizi	61
4.3.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	61
4.3.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi.....	61
4.3.1.2	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması.....	64
4.3.1.3	Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği.....	64
4.3.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem	69
4.3.2.1	Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi.....	69
4.3.2.2	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	73
KAYNAKLAR.....		78
ÖZGEÇMİŞ.....		92

KISALTMA LİSTESİ

PLS	(Partial Least Squares) Kısmi en küçük kareler yöntemi
MLR	(Multiple Linear Regression) Çoklu lineer regresyon
PCR	(Principle Component Regression) Ana bileşen regresyonu
PCA	(Principle Component Analysis) Ana bileşen analizi
ES	Essin
DA	Dietilamin Salisilat
DPA	Dekspantenol
MAM	Mepiramin Maleat
LIH	Lidokain Hidroklorür
DEK	Dekstrometorfan Hidrobromür
PSE	Psödoefedrin Hidroklorür
TRP	Tripolidin Hidroklorür
UV	Ultraviyole
IR	Infrared
HPLC	(High Performance Liquid Chromatography) Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HPTLC	(High Performance Thin Layer Chromatography) Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
TLC	(Thin Layer Chromatography) İnce tabaka kromatografisi
REP	(Relative Error of Prediction) Bağlı tahmin hatası
RMSD	The Root Mean Square Difference
USP	(The United State Pharmacopoeia)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Triterpenik saponinlerin yapıları.....	2
Şekil 2.2	Spektral veri matrisinin PCA ile skor ve faktörlere parçalanması.....	27
Şekil 2.3	Spektral veri matrisinin ve konsantrasyon matrisinin skor ve faktörlere parçalanması	29
Şekil 2.4	PLS yönteminin şematik gösterilişi	30
Şekil 4.1	Essin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve dietilamin salisilatın ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) etil alkoldeki absorpsiyon spektrumları	42
Şekil 4.2	Essin ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve dietilamin salisilatın ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) asetik asit-0,1 N HCl karışımındaki absorpsiyon spektrumları	42
Şekil 4.3	Dietilamin salisilatın ($30, 40, 50, 60, 70, 80 \mu\text{g mL}^{-1}$) etil alkoldeki absorpsiyon spektrumları	43
Şekil 4.4	Essin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve dietilamin salisilatın ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) etil alkoldeki 3. derece absorpsiyon türev spektrumları	47
Şekil 4.5	Essin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve dietilamin salisilatın ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) etil alkoldeki 4. derece absorpsiyon türev spektrumları	48
Şekil 4.6	Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) sudaki absorpsiyon spektrumları	50
Şekil 4.7	Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) 0,1 N HCl'deki absorpsiyon spektrumları	50
Şekil 4.8	Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) 0,1 N NaOH'deki absorpsiyon spektrumları	51
Şekil 4.9	Dekspantenol ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) metanoldeki absorpsiyon spektrumları	51
Şekil 4.10	Dekspantenol ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($3 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($3 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) sudaki absorpsiyon spektrumları	52
Şekil 4.11	Dekspantenol ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), lidokain HCl'nin ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++ve karışımın (—) sudaki 1.türev absorpsiyon spektrumları	59
Şekil 4.12	Dekspantenol ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), lidokain HCl'nin ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) ve karışımın (—) metanoldaki 1.türev absorpsiyon spektrumları	60
Şekil 4.13	Dekstrometorfan HBr'nin ($40, 60, 80, 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları	62
Şekil 4.14	Psödoefedrin HCl'nin ($160, 200, 240, 280 \mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları	62
Şekil 4.15	Tripolidin HCl'nin ($6, 8, 10, 12 \mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları ..	63
Şekil 4.16	Dekstrometorfan HBr ($80 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl ($240 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) ve tripolidin HCl'nin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) 0,1 M H_2SO_4 çözeltisindeki absorpsiyon spektrumları	63
Şekil 4.17	Dekstrometorfan HBr ($80 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl ($240 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve tripolidin HCl'nin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) 0,1 M H_2SO_4 içindeki 1. türev absorpsiyon spektrumları	70
Şekil 4.18	Dekstrometorfan HBr ($80 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl ($240 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve tripolidin HCl'nin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) 0,1 M H_2SO_4 içindeki 2. türev absorpsiyon spektrumları	70
Şekil 4.19	Dekstrometorfan HBr'e ait ölçü eğrisi.....	71

Şekil 4.20	Psödoefedrin HCl'ye ait ölçü eğrisi.....	72
Şekil 4.21	Tripolidin HCl'ye ait ölçü eğrisi	72



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 4.1 PLS yöntemine göre essin ve dietilamin salisilat karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi	44
Çizelge 4.2 “Reparil-gel” örneklerinin analizine ait absorbans değerleri	44
Çizelge 4.3 Aynı günde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizine ait absorbans-konsantrasyon çizelgesi	45
Çizelge 4.4 Farklı günlerde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizine ait absorbans-konsantrasyon çizelgesi	45
Çizelge 4.5 Aynı günde plasebo içinde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği	46
Çizelge 4.6 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği	46
Çizelge 4.7 “Reparil-gel” (100 g’da 1g essin + 5 g dietilamin salisilat) örneklerinin analizi..	48
Çizelge 4.8a PLS yöntemine göre dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi.....	53
Çizelge 4.8b PLS yöntemine göre dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi.....	54
Çizelge 4.9a “Stilex-jel” örneklerinin analizine ait absorbans değerleri.....	55
Çizelge 4.9b “Stilex-jel” örneklerinin analizine ait absorbans değerleri	55
Çizelge 4.10a Aynı günde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi	56
Çizelge 4.10b Aynı günde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi	56
Çizelge 4.11a Farklı günlerde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi.....	57
Çizelge 4.11b Farklı günlerde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi.....	57
Çizelge 4.12 Aynı günde plasebo içinde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği.....	58
Çizelge 4.13 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği.....	58
Çizelge 4.14 “Stilex-jel” (1 g’da 50 mg dekspantenol + 15 mg mepiramin maleat + 15 mg lidokain HCl) PLS yöntemiyle analizi.....	60
Çizelge 4.15 PLS yöntemine göre dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi.....	65
Çizelge 4.16 “Actidem-şurup” örneklerine ait absorbans değerleri	66
Çizelge 4.17 Aynı günde plasebo içinde dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerine ait konsantrasyon-absorpsiyon çizelgesi	66
Çizelge 4.18 Farklı günlerde plasebo içinde dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizine ait konsantrasyon-absorpsiyon çizelgesi	67
Çizelge 4.19 Aynı günde plasebo içinde yapılan dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği	68
Çizelge 4.20 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği.....	68
Çizelge 4.21 2.türev spektrumundan psödoefedrin HCl analizinde, dekstrometorfan HBr ve triprolidin HCl etkisinin incelenmesi ve uygun noktaların bulunması	71
Çizelge 4.22 Dekstrometorfan HBr’nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi.....	71
Çizelge 4.23 Psödoefedrin HCl’nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için	

hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi.....	72
Çizelge 4.24 Triprolidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi	72
Çizelge 4.25 “ Actidem-şurup” (mL’de 2 mg dekstrometorfan HBr +6 mg psödoefedrin HCl + 0,25 mg triprolidin HCl) örneklerinin analizi.....	73



ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla yol gösteren tez danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Gönül Kunt'a, kemometri ile tanışmamı ve sevmemi sağlayan, ilgili tüm sorularımı sabır ve itina ile cevaplayan ve tezimin oluşturulmasında büyük katkılarda bulunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Abdürrezzak Bozdoğan'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam süresince bilgi ve fikirlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Sıdika Sungur'a, her türlü ilaç, hammadde, cam malzeme ve kaynak ihtiyacımızı hiç çekinmeden karşılayan Abdi İbrahim İlaç San. AŞ. AR-GE şefi Sayın Nihat Toslu'ya, tezimin hazırlanmasında yardımcı olan Gencer Dönmez'e, desteklerini esirgemeyen aileme ve tüm arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Özlem Aksu



ÖZET

Anti-enflamatuar-analjezik jel formülasyonunda essin (ES) ve dietilamin salisilat (DA), antialerjik jel formülasyonunda dekspantenol (DPA), lidokain hidroklorür (LIH) ve mepiramin maleat (MAM) ve öksürük şurubu formülasyonunda dekstrometorfan hidrobromür (DEK), psödoefedrin hidroklorür (PSE) ve triprolidin hidroklorürün (TRP) birarada tayini için kısmi en küçük kareler spektrofotometrik kalibrasyon yöntemi (PLS) geliştirildi.

ES ve DA'nın PLS yöntemiyle analizi için üç seviyeli tam deneysel tasarıma göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu ve metodun kurulması için 9 adet örnek hazırlandı. Bu tasarımda ES için 10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, DA için 40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seviyeleri seçildi ve çözeltiler etil alkolde hazırlandı. 200-325 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü. Jel örnekleri ise etil alkolde çözülerek hazırlandı ve absorpsiyonları kalibrasyon şartlarında ölçüldü. Aynı gün içinde ve farklı günlerde plaseboda yapılan analizlerde bağıl standart sapma ve bağıl tahmin hatası değerleri sırasıyla ES için % 0,45-9,80 ve % 8,50, % 0,11-14,59 ve % 8,10; DA için % 0,72-7,02 ve % 3,28, % 0,27-4,82 ve % 4,30 olarak bulundu. Geliştirilen yöntem ilaç fabrikasının uyguladığı spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı ve elde edilen sonuçlar arasında tekrarlanabilirlik açısından anlamlı fark olmadığı, sadece DA analizi için ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü.

DPA, MAM ve LIH'nın PLS yöntemi ile analizi için üç seviyeli tam deneysel tasarıma göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu ve metodun kurulması için 27 adet örnek hazırlandı. Bu tasarımda DPA için 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, MAM için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve LIH için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seviyeleri seçildi ve çözeltiler suda hazırlandı. 190-350 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü. Jel örnekleri ise suda çözülerek hazırlandı ve absorpsiyonları kalibrasyon şartlarında ölçüldü. Aynı gün içinde ve farklı günlerde plaseboda yapılan analizlerde bağıl standart sapma ve bağıl tahmin hatası değerleri sırasıyla, DPA için % 1,11-13,44 ve % 6,90, % 0,61-5,05 ve % 3,40; MAM için % 5,03-10,96 ve % 9,00, % 2,88-14,63 ve % 7,66; LIH için % 0,17-12,13 ve % 11,00, % 3,28-12,17 ve % 7,33 olarak bulundu.

DEK, PSE ve TRP'nin PLS yöntemiyle analizi için üç seviyeli tam deneysel tasarıma göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu ve metodun kurulması için 27 adet örnek hazırlandı. Bu tasarımda DEK için 60, 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ PSE için 180, 240, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve TRP için 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seviyeleri seçildi ve çözeltiler 0,1 M sülfat asitinde hazırlandı. 230-320 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü. Şurup örnekleri ise kloroformla ekstraksiyon yapılarak hazırlandı ve absorpsiyonları kalibrasyon şartlarında ölçüldü. Aynı gün içinde ve farklı günlerde plaseboda yapılan analizlerde bağıl standart sapma ve bağıl tahmin hatası değerleri sırasıyla, DEK için % 1,19-1,86 ve % 7,30, % 1,29-1,83 ve % 7,28; PSE için % 1,16-2,01 ve % 7,00, % 1,27-1,66 ve % 7,40; TRP için % 1,50-1,91 ve % 5,30, % 1,43-2,50 ve % 6,00 olarak bulundu. Geliştirilen yöntem türev spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı ve elde edilen sonuçlar arasında ortalamalar ve tekrarlanabilirlik açısından anlamlı fark olmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Essin, dietilamin salisilat, dekspantenol, lidokain HCl, mepiramin maleat, dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl, triprolidin HCl, çoklu kalibrasyon, miktar tayini, PLS.

ABSTRACT

Partial Least-Squares Multivariate Spectrophotometric Method (PLS) was developed for the simultaneous determination of escin (ES) and diethylamine salicylate (DA) in anti-inflammatory-analgesic-anti-flogistic gel formulations, dexpanthenol (DPA), lidocain hydrochloride (LIH) and mepyramine maleate (MAM) in antiallergic gel formulations and dextromethophan hydrobromide (DEK), pseudoephedrine hydrochloride (PSE) and triprolidine hydrochloride (TRP) in cough cold formulations.

The calibration set for the PLS analysis of ES and DA was generated by using a 3-level full factorial design and 9 samples were used to construct the model. The levels selected for ES are 10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and for DA 40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in this design. Calibration solutions were prepared in ethyl alcohol and absorbances were recorded between 200 and 325 nm every 5 nm. Gel samples were prepared by dissolving in ethyl alcohol and absorbances were recorded in the same conditions of calibration set. Relative standart deviation and relative error of prediction values of intra-day and inter-day analysis in placebo were found to be 0.45-9.80% and 8.50%, 0.11-14.59% and 8.10% for ES, 0.72-7.02% and 3.28%, 0.27-4.82% and 4.30% for DA, respectively. The proposed method was compared with the spectrophotometric method applied by the pharmaceutical company and it was found no significant difference between precisions of the obtained results of the two methods for ES and DA, but it was found significant difference between the mean values of DA.

The calibration set for the PLS analysis of DPA, MAM and LIH was generated by using a 3-level full factorial design and 27 samples were used to construct the model. The levels selected for DPA are 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for MAM 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and for LIH 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in this design. Calibration solutions were prepared in water and the absorbances were recorded between 190 and 350 nm every 5 nm. Gel samples were prepared by dissolving in water and absorbances were recorded in the same conditions of calibration set. Relative standart deviation and relative error of prediction values of intra-day and inter-day analysis in placebo were found to be 1.11-13.44% and 6.90%, 0.61-5.05% and 3.40% for DPA, 5.03-10.96% and 9.00%, 2.88-14.63% and 7.66% for MAM, 0.17-12.13% and 11.00%, 3.28-12.17% and 7.33% for LIH, respectively.

The calibration set for the PLS analysis of DEK, PSE and TRP was generated by using a 3-level full factorial design and 27 samples were used to construct the model. The levels selected for DEK are 60, 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for PSE 180, 240, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and for TRP 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in this design. Calibration solutions were prepared in 0.1 M sulphuric acid and the absorbances were recorded between 230 and 320 nm every 5 nm. Syrup samples were prepared by extraction of chloroform and absorbances were recorded in same conditions of calibration set. Relative standart deviation and relative error of prediction values of intra-day and inter-day analysis in placebo were found to be 1.19-1.86% and 7.30%, 1.29-1.83% and 7.28% for DEK, 1.16-2.01% and 7.00%, 1.27-1.66% and 7.40% for PSE, 1.50-1.91% and 5.30%, 1.43-2.50% and 6.00% for TRP, respectively. The proposed method was compared with derivative spectrophotometric method and it was found that there is no significant difference between the mean values and precisions of the obtained results of the two methods.

Keywords: Escin, diethylamine salicylate, dexpanthenol, mepyramine maleate, lidocaine hydrochloride, dextromethorphan HBr, pseudoephedrine HCl, triprolidine HCl, multivariate calibration, determination, PLS.

1. GİRİŞ

Çoklu ilaç karışımlarının analizi, hem yöntemlerin uygulanabilirliği ve doğruluğu, hem de insan sağlığı açısından oldukça önemli bir yere sahiptir. Genellikle bu tür analizlerde çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmakta, ancak bu yöntemlerin çoğunun fazla sayıda ön işlem gerektirmesi nedeniyle, zaman ve madde kaybına neden olmaktadır. Ayrıca kimyasal ve spektral özellikleri birbirine benzeyen ilaç maddelerinin, girişim ve diğer etkilerden dolayı bilinen yöntemlerle analizinde büyük güçlükler oluşmaktadır. Çoklu ilaç karışımlarının analizinde, bu tür girişim etkilerine, pahalı ve zaman alıcı diğer yöntemlere karşı çoklu kalibrasyon yöntemlerinden PLS yöntemi başarıyla uygulanmaktadır (Bozdoğan vd., 1992, 1994; Aksu vd., 1998; Ni ve Gong, 1997; Goicoechea ve Olivieri, 1999; Collado vd., 2000; Boeris vd., 2000; Martos vd., 2000; Ni vd., 2000; Mansilla vd., 2001; Dinç vd., 2001, 2002). Bu düşünceden hareket ederek özellikle birarada tayininde güçlük çekilen ilaç karışımları araştırılmış ve anti-enflamatuvar, anti-flojistik ve analjezik etkisiyle deride darbelerle oluşan lokal şişme ve ağrıların tedavisinde kullanılan essin-dietilamin salisilat karışımının; vitamin B, anestezik ve antihistaminik etkisiyle derideki kaşıntı ve kızarıklığın tedavisinde kullanılan dekspantenol-mepiramin maleat-lidokain HCl karışımının; antitussif, antiastmatik ve antihistaminik etkisiyle öksürük tedavisinde kullanılan dekstrometorfan HBr-psödoefedrin HCl-triprolidin HCl karışımının bulunduğu ilaç preparatlarında bu maddelerin tayin edilmesi için PLS yönteminin geliştirilmesi ve diğer spektrofotometrik tekniklerle çalışılarak yöntemin kıyaslanması amaçlanmıştır.

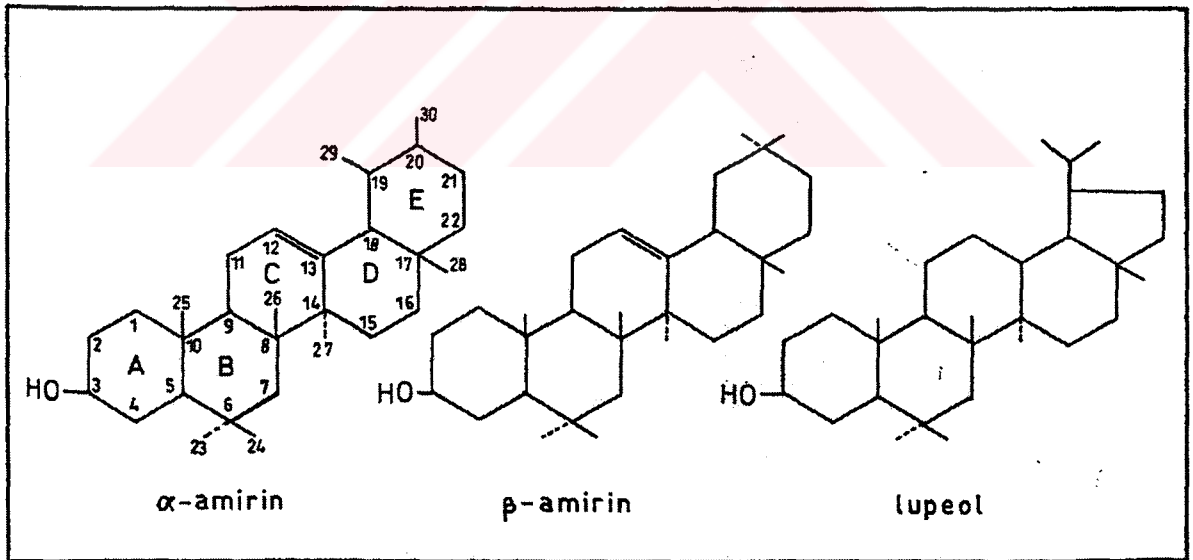
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Essin

Essin, *Aesculus Hippocastanum* L., Türkiye’de at kestanesi adı verilen ağacın meyve tohumlarında bulunan bir saponindir.

Saponinler, çok sayıda bitki familyasında bulunan glikozit yapısında maddelerdir ve aglikonun yapısına göre 3 gruba ayrılır:

1. Spirostanol Glikozitleri
2. Steroidalkoloid Glikozitleri
3. Triterpen Glikozitleri
 - a) α - Amirinler
 - b) β - Amirinler
 - c) Lupeoller



Şekil 2.1 Triterpenik saponinlerin yapıları

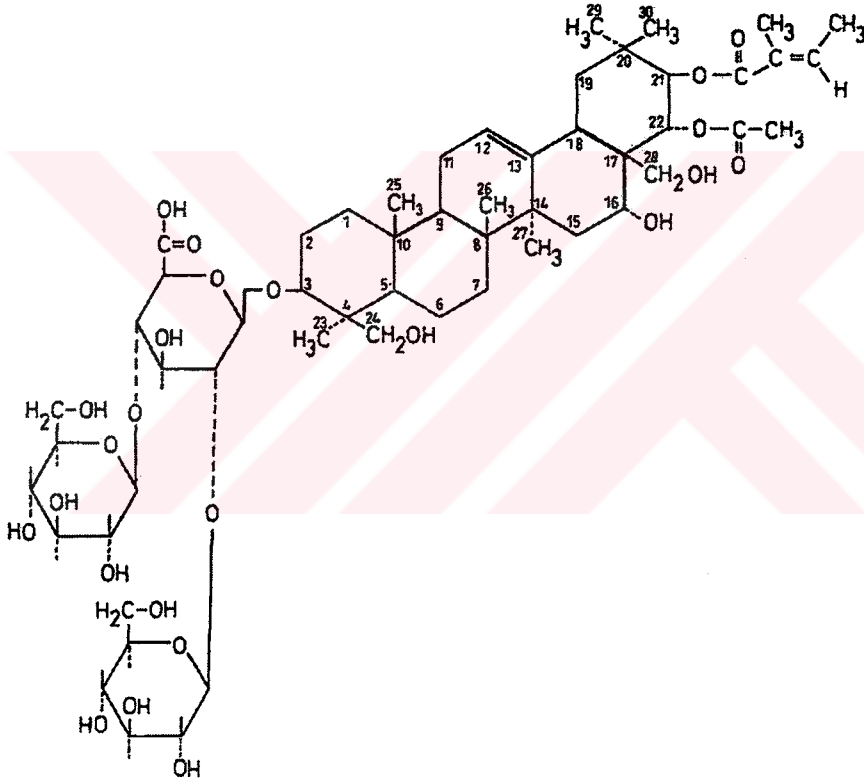
At kestanesi tohumlarında bulunan saponinler, triterpenik gruptaki β - Amirin yapısındadır. Tohumda ana halkalara bağlı $-OH$ grupları esterleşmiş olarak bulunan ve heterojen yapı gösteren bu saponine essin (aescin-escin) adı verilir.

Essin kompleksini oluşturan heterozitlerden ikisi β - essin ve kriptoesin A, diğerlerine göre daha önemlidir. Aralarındaki tek fark asetik asitin β - essinde 22. konumda, kriptoesin-A'da 28. konumda esterleşmesidir. İzomerisasyon şartlarında asetil grubu 22. ve 28. konumlar arasında göç eder. α -essin olarak adlandırılan diğer izomer β - essin ve kriptoesin-A karışımından meydana gelir. Bu izomerler, kristallenme kabiliyetleri, optik çevirmeleri, sudaki çözünürlükleri ve hemolitik aktiviteleri yönünden birbirinden farklıdır (Acar, 1991).

2.1.1 Özellikleri

(Acar, 1991)

Yapısal Formülü:



3- [2' -(β -D-glukopiranozido) – 4' – (β -D- glukopiranozido)- β -D- glukuronopiranozido]-
21 β -tigloil – 22, α -asetil-protoaessigenin (Essinde bulunan başlıca glikozit)

Görünüş ve Renk: Beyaz, ince yapraksı kristal yapılı.

Erime Derecesi: 222-223 °C

Çözünürlük: Suda çözünmez. Alkolde çözünür.

2.1.2 Farmakolojik Etkisi

Antienflamatuar, antiödem, antiflojistik ve antiöksudatif etki gösterir. Bu etkilerden dolayı ödemlerin tedavisinde ve damar hastalıklarında vazoprotektan etkili krem ve jellerde kullanılır (Acar, 1991; Canay, 1992). Ayrıca kozmetik olarak çeşitli saç, cilt ve diş preparatlarında da kullanım alanı mevcuttur (Acar, 1991).

2.1.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Essinin heterojen bir yapıya sahip olması, kantitatif analizinde güçlükler yaratmıştır. İlgili çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

Gravimetrik-titrimetrik bir çalışmada essin, essinol'e dönüştürülerek çöktürülmüş, daha sonra da titre edilmiştir. Ancak çökme tam olarak gerçekleşmediği için büyük hatalar meydana geldiği belirtilmiştir (Acar, 1991).

Polarografi ile yapılan bir çalışmada ise essin ve sodyum tuzunun analizi yapılmış, tayin sınırı 0,005-0,015 mg olarak belirlenmiştir (Acar, 1991).

Essin tayininde çeşitli spektrofotometrik yöntemler kullanılmıştır. Schlemmer'e göre geliştirilen spektrofotometrik yöntemde, renk reaktifi olarak $\text{FeCl}_3\text{-AcOH-H}_2\text{SO}_4$ kullanılmıştır (Acar, 1991). Benzer yapıdaki triterpenik veya steroidal maddeler analizi etkilediğinden önce essin tohumdan solvent ekstraksiyonu ile ayrılmıştır. Renk reaktifi ile olan reaksiyonun mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber essinin tüm izomerleri için geçerli olduğu bildirilmiş ve metot Alman farmakopesi DAB-8'e (Deutsches Arzneibuch, 1978) geçerek birçok yayında kullanılmıştır. Daha sonra yapılan bir çalışmada essin, TLC ile ayrıldıktan sonra renk reaktifi olarak CoCl_2 ile renkli bileşiği halinde fotometrik olarak, bir başkasında ise nil mavisi reaktifi kullanılarak florometrik olarak tayin edilmiştir (Acar, 1991). Lang (1977), yüzeysel olarak uygulanan essin içeren ilaçların deri, kas dokusu, kan ve idrardaki essin absorpsiyonunu incelemiştir. Bu çalışmada essin, tritium ile işaretlendikten sonra labil tritium maddeden uzaklaştırılmış ve radyoaktivitesi likit sintilasyon (liquid scintillation) spektrometresi ile ölçülüp miktar tayinine geçilmiştir. Türev spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapılan bir çalışmada, tohum unundaki essin metanole alınmış, daha sonra asetik asit-0,1 N HCl karışımındaki çözeltisinin 2. türev spektrumu kullanılarak, 234,5 nm ve 240,3 nm'deki pik uzunluğundan tayini yapılmıştır (Acar, 1993).

Grases ve arkadaşları (1994) laktoz kristalizasyonu üzerinde engelleyici etkisi olan essinin kinetik türbitimetrik metotla tayinine dayanan basit ve duyarlı yeni bir yöntem

geliştirmişlerdir.

Dansitometrik olarak yapılan çalışmaların birinde Glash, içlerinde essinin de bulunduğu çeşitli triterpenik saponinleri HPTLC-Dansitometrik olarak tayin etmiştir (Acar, 1991). Daha sonraki yıllarda aynı yöntemle ilaç preparatlarında yapılan bir çalışmada ise, spre ve daldırma reaktifi kullanılmadan basit bir yöntem geliştirilmiş, burada kromatografik ayırma işlemi HPTLC, silikajel kolonda yapıldıktan sonra 5,5 : 4,5 : 2 (propanol : etil asetat : su) sistemiyle elüe edilmiş ve dansitometrik essin tayini, 212 nm’de yapılmıştır (Constantini, 1999).

HPLC ile yapılan analizlerden ilki Steinigen tarafından yapılmıştır (Acar, 1991). Bir diğeri ise Wagner’in çalışmasıdır. Burada Hibor Li Chrospher 100 CH-18/2 kolon, mobil faz olarak % 35 asetonitril (litrede 10 mL 0,1 N H₃PO₄ bulunduran) kullanılmıştır (Acar, 1991). At keşanesi yapraklarındaki essin miktarının tayininde ise Wagner’in yöntemi uygulamıştır (Profuma vd., 1991). Bir diğerkromatografik çalışmada, C₁₈ kolon ve TFA bulunduran asetonitril gradienti kullanılmıştır (Burnauf, 1986). Ayrıca son yıllarda, at keşanesindeki essin ve diğersaponinlerin tayini için HPLC metot geliştirilmiş ve yöntem ticari olarak bilinen β-essinin tayininde kullanılmıştır (Zasshi, 1999).

Essinin biyoyararlılığı ve farmakokinetiğinin incelendiğı çalışmaları birinde, plazmadaki essin miktarı radyoimmunosorbent assay yöntemiyle, diğerbir çalışmada ise at keşanesinden farklı işlemlerle ekstrakte edilmiş essin içeriğı radyoimmunoassay yöntemiyle tayin edilmiştir (Schrader vd., 1995; Oschmann vd., 1996). Schroedter vd.’de (1998) yine bir farmakokinetik çalışmada β-essinin serum içindeki konsantrasyonunun tayininde, radyoimmunoassay metodunu kullanmıştır. Serumda yapılan diğerbir kantitatif çalışmada essin miktarı, enzim-immunoassay yöntemiyle bulunmuştur (Hentschel vd., 1994).

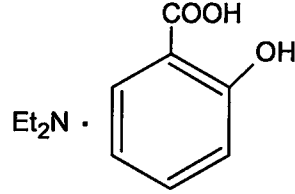
2.2 Dietilamin Salisilat

2.2.1 Özellikleri

(British Pharmacopoeia, 2000)

Kapalı Formülü: $C_{11}H_{17}NO_3$

Yapısal Formülü:



Dietilamin Salisilat

Molekül Ağırlığı: 211,3 g/mol

Görünüş ve Renk: Beyaz kristalize kokusuz.

Erime Derecesi: 100 -102 °C

Çözünürlüğü: Su, alkol ve kloroformda kolayca çözünür.

2.2.2 Farmakolojik Etkisi

Dietilamin salisilat, lokal aneljezik etkiye sahip olup romatizmal ağrıların tedavisinde kullanılır (Canay, 1992).

2.2.3 Miktar Tayin ve Yöntemleri

Dietilamin salisilatın tek başına ve birarada tayinleri, titrimetrik, spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanılarak yapılmıştır.

Dietilamin salisilat titrimetrik olarak, 1-naftolbenzein indikatörlüğünde 0,1 M perklorik asit ile susuz ortamda tayin edilmiştir (British Pharmacopoeia, 1988).

Spektrofotometrik olarak yapılan çalışmaların birinde, merhem içinde dietilamin salisilat ve metilnikotinat birarada, türev spektrofotometrisi kullanılarak tayin edilmiştir. Sulu çözeltinin 1. türev spektrumunun kullanıldığı bu çalışmada, 303 ve 236 nm’de dietilamin salisilatın, 224 nm’de metilnikotinatın analizi yapılmıştır (Abdel-Moety, 1990). Dietilamin salisilatın selülozik polimer üzerinde adsorpsiyonunu ve desorpsiyonunu inceleyen bir çalışmada ise

seyreltik asidik ortamda 295 nm’de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Gallardo vd., 2000).

HPLC ile yapılan iki çalışmaya rastlanmıştır. Bunların birinde merhem içinde dietilamin salisilat ve metilnikotinat analizi yapılmıştır. M-Bontapack C₁₈ kolon, % 1 sulu asetik asit : asetonitril (85 : 15) mobil faz kullanılmış, UV detektörle 254 nm’de ölçümler alınmıştır. Hızlı elüsyonu sağlamak için 12 dakika sonra gradient elüsyon uygulanarak % 75 ve % 25 olacak şekilde mobil fazın bileşimi değiştirilmiştir (Abounassif vd., 1992). Yüzeysel olarak uygulanan salisilat tuzları içeren ürünlerin, derideki absorpsiyonunu inceleyen diğer çalışmada ise dietilamin salisilat, salisilat üzerinden HPLC ile analiz edilmiştir. Burada C₁₈ kolon, asetonitril : % 0,03 H₃PO₄ : trietilamin (30 : 70 : 1) mobil faz kullanılmış, 273 nm de tayin yapılmıştır (Megwa vd., 1995).

Abdel-Moety vd. (1991) dietilamin salisilat ve metilnikotinatın kromatografik olarak ayrılmasını ve tayinini gaz kromatografisi kullanarak yapmıştır.

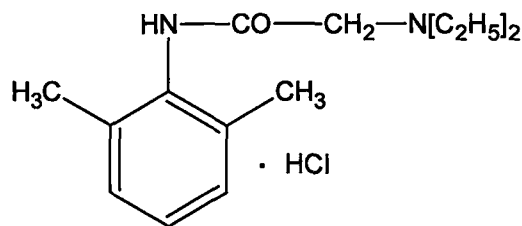
2.3 Lidokain (Lignokain) Hidroklorür

2.3.1 Özellikleri

(Florey,1986; Moffat, 1986)

Kapalı Formülü: C₁₄H₂₂N₂O.HCl.H₂O

Yapısal Formülü:



2-Dietilamino-2',6'-asetokislidid hidroklorür

Molekül Ağırlığı: 288,8 g/mol.

Elementel Bileşimi: C (% 58,22), H (% 8,72), N (% 9,7)

Görünüş ve Renk: Beyaz, kristalize, kokusuz.

Erime Derecesi: 76 – 79 °C

pKa: 7,9 (25 °C)

Renk Testi: Sudaki % 2'lik çözeltisine 1 mL nitrik asit ve 3 mL civa nitrat eklendiğinde oluşan renk sarı veya sarı-yeşil.

Çözünürlüğü: 1 mg'ı 0,7 mL su, 1,5 mL etanol ve 40 mL kloroform içinde çözünür. Eterde çözünmez.

UV Spektrumu: Suda 262 ve 271 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (KBr disk ile) 1662, 1495, 762, 1204, 1086 cm^{-1} 'dedir.

2.3.2 Farmakolojik Etkisi

Lidokain HCl, amit yapısında bir anesteziktir (Canay, 1992).

2.3.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Lidokain HCl titrimetrik, spektrofotometrik, kromatografik olmak üzere birçok yöntemle tayin edilmiştir.

Titrimetrik olarak lidokain HCl, glacial asetik asit içinde civa asetatlı ortamda ve kristal viyole indikatörlüğünde perklorik asitle tayin edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, diklorometan ve hekzadesilpiridinyumklorür eklenerek 0,1 M NaOH ile potansiyometrik olarak analizi yapılmıştır (Florey, 1985). Son yıllarda Issa vd. (1995), lidokain-kobalt tiyosiyonat, lidokain-fosfomolibdat, lidokain-raynekat iyon asosiyasyonuna dayalı lidokain seçici PVC membran elektrod geliştirmişler ve farmasötik preparatlarda lidokain HCl tayinini potansiyometrik yöntemle gerçekleştirmişlerdir.

Lidokainin çeşitli ilaç karışımlarında birkaç spektrofotometrik tayinine rastlanmıştır. Bu çalışmalardan birinde lidokain HCl, kokain yanında 0,1 M HCl'li ortamda 2. türev spektrumu kullanılarak 270,5 – 267,7 nm'de (pik-pik) analiz edilmiştir (Arufemertinez vd., 1989). Lidokain ve bazı lokal anesteziklerin tayini için geliştirilen bir çalışmada ise haematoksilin reaktifi kullanılmış ve borik asitli ortamda 555 nm de kolorimetrik olarak analiz yapılmıştır (Saleh vd., 1995). Erk ve Onur (1996), lidokain HCl ve analjinin birarada tayini için iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Bunlardan birinde türev spektrofotometrisi kullanılmış ve 1. türev spektrumundan 232,8 nm'de analjin yanında lidokain HCl tayini gerçekleştirilmiştir. Diğer çalışmada ise, kobalt nitrat ve potasyum tiyosiyonat varlığında lidokain HCl ve analjin kloroforma çekilip 625 nm'de spektrofotometrik olarak analizi yapılmıştır. Lidokain ve setrimonyum bromür içeren septalen peletlerdeki lidokain analizi 250

nm'de 2. türev spekturumundan yararlanılarak gerçekleştirilmiştir (Medenica vd., 2000). Son yıllarda yapılmış diğer spektrofotometrik çalışmada ise lidokain HCl, çoklu kalibrasyon tekniklerinden PLS regresyonu kullanılarak analiz edilmiştir (Wiberg vd., 2001). El-Hawary (2002) ilaç preparatlarında lidokain HCl ve amprolium tayinini, amonyum raynekat (Rk) ile iyon-asosiyasyon kompleksi oluşturduktan sonra bunların anorganik metal komplekslerini kullanarak atomik absorpsiyon spektroskopisi ile gerçekleştirmiştir. Bir başka çalışmada ise lidokain-bromokresol yeşili ile iyon assosiyatının ekstraksiyonuna dayalı akışa enjeksiyon (flow injection) yöntemiyle spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Nemcova vd., 2001).

Lidokainin kromatografik analizi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Florey (1985, 1986), biyolojik sıvılarda ve ilaç preparatlarında lidokain tayini ile ilgili HPLC ve gaz kromatografisiyle yapılmış tüm çalışmaları ve ilgili kromatografik şartları sınıflandırmıştır.

Son yıllarda da HPLC ile yapılmış çeşitli çalışmalara rastlanmaktadır. Bu çalışmalardan birinde serum ve plazmada lidokain ve metabolitlerinin analizi için, C₁₈ kolon ve 0,05 M potasyumdihidrojen fosfat (pH 4) : asetonitril (86 : 14) mobil faz kullanılmış, 205 nm'de tayin gerçekleştirilmiştir (Chen vd., 1992). Birçok anesteziğin analizinde de kullanılan benzer şartlardaki bir yöntemde pH 2,1 'de lidokain tayini yapılmıştır (Le Guevello vd., 1993). Aynı mobil fazın (3 : 1) oranında kullanıldığı bir başka çalışmada lidokain analizi 220 nm'de kan, plazma ve serum örneklerinde gerçekleştirilmiştir (Satake vd., 1994). Tebbett vd. (1992) at idrarında lidokain ve metabolitlerini kolon switching teknik kullanılarak HPLC ile analiz etmişlerdir. Bir başka çalışmada lidokain, prilokain ve o-toluidinin, oktil 1 B kolon, 0,05 M Na₂HPO₄ : asetonitril (73 : 23), pH 5,8 mobil faz kullanılarak 210 nm'de plazma içinde tayini yapılmıştır (Klein vd., 1994). Kanda yapılan diğer bir çalışmada ise lidokain ve bupivakain birarada likit kromatografik analiz edilmiştir (Sattler vd., 1995). Barat vd. (1996), plazma örneklerinde kokain, metabolitleri ve lidokain tayini için geliştirdikleri HPLC yönteminde C₁₈ kolon ve asetonitril, metanol ve pH 6 fosfat tamponunu mobil faz olarak kullanmışlardır. İnsan saçı ekstraktından 15 adet yasadışı ilaç yanında lidokainin tayin edildiği bir çalışmada, mobil faz olarak % 50 organik modifierin gradienti ile monobazik sodyumfosfat : asetonitril (90 : 10) ve elektrokimyasal kulometrik seri detektör kullanılmıştır. Seçicilik artan potansiyelde sıralı 8 kulometrik elektrodun kullanılmasıyla sağlanmıştır (Archilli vd., 1996). Abraham vd. (1997), lidokain, bupivakain ve enantiyomerlerini biyolojik sıvılarda, hekzan ekstraksiyonundan sonra α - (1)-asitglikoprotein kolon kullanarak 214 nm'de tayin etmişlerdir. Lidokain HCl, klorheksidinglukonat ve triamsinolon asetonidin süspansiyon içinde birarada tayinin yapıldığı bir çalışmada, C₁₈ kolon ve metanol : su : trietilamin (58 : 42 : 0,4) mobil faz

kullanılmış, pH 3 ortamda 240 nm'de UV detektör kullanılarak ölçüm yapılmıştır (Xu ve Wong, 1999). Aynı yılda yapılan bir başka çalışmada ise lidokain HCl, hiyosin N-bütillbromür ve parasetamol, enjeksiyon preparatlarında güçlü katyon değiştiricili katı faz ekstraksiyon işleminden sonra HPLC ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada C₁₈ kolon, asetonitril : amonyum asetat (30 : 70) mobil faz kullanılmış, 254 nm'de tayin gerçekleştirilmiştir (Parissipoulou ve Pander, 1999). Tolperison ve lidokainin birarada tayini için geliştirilen kromatografik yöntemde, % 5,5 trietilamin içeren asetonitril : su (70 : 30) mobil faz olarak kullanılmıştır. (Liawruangrath vd., 2001).

Devarajan vd. (2000), lidokain HCl ve toniletrin HCl'yi birarada HPTLC ile tayin etmişlerdir. Burada mobil faz olarak etilasetat:metanol:amonyak (4:1:0,4) kullanılmış, lidokain HCl'nin 262 nm'de dansitometrik olarak analizi yapılmıştır.

Lidokainin son yıllarda gaz kromatografisi ile yapılan çalışmalardan birinde, serum içinde lidokain, solvent ekstraksiyonundan sonra yüzey iyonizasyon detektörü ve silika kapiler kolon kullanılarak analiz edilmiştir (Arimoto, 1991). Diş hekimliğinde lokal anestezik olarak sıklıkla kullanılan lidokainin çeşitli uygulamalardan sonra kandaki seviyeleri yine gaz kromatografisi ile belirlenmiştir (Oertel vd., 1993). Bir grup araştırmacı ise lidokain, bupivakain ve metabolitlerini gaz kromatografisi kullanarak azot-fosfor detektörüyle tayin etmişlerdir (Lorec vd., 1994; Demedts vd., 1996). Larache vd. (1998) plazma içinde düşük konsantrasyondaki lidokain ve metabolitlerinin katı faz ekstraksiyonundan sonra kapiler gaz kromatografisi ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Plazma örneklerinde yapılan bir başka kapiler gaz kromatografik çalışmada, N-bütill-P-aminobenzoat ve lidokainin birarada analizi yapılmıştır (Grouls vd., 1995).

Lidokain ve onun ana metabolitlerinin tavşanlar üzerinde farmakokinetiğinin incelendiği bir çalışmada lidokain immunofloresans polarizasyon tekniğiyle tayin edilmiştir (Wojcicki vd., 1995).

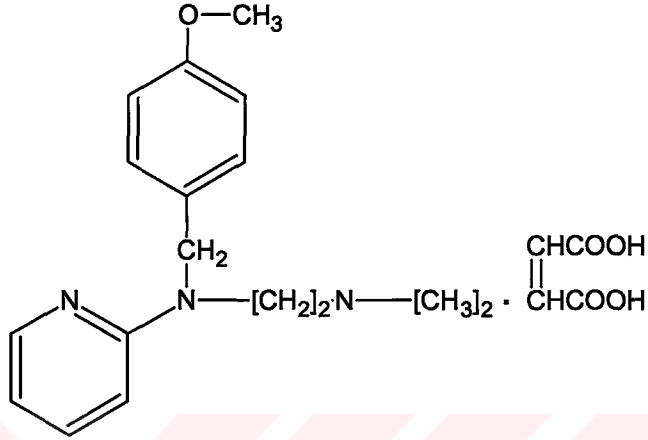
2.4 Mepiramin (Prilamin) Maleat

2.4.1 Özellikleri

(Moffat, 1986)

Kapalı Formülü: $C_{21}H_{27}N_3O_5$

Yapısal Formülü:



2[[-(Dimetilamino)etil](p-metoksi benzil) amino]piridin maleat

Molekül Ağırlığı: 401,5 g/mol.

Elementel Bileşimi (Mepiramin): C (% 71,54), H (% 8,12), N (% 14,73), O (% 5,61)

Görünüş ve Renk: Beyaz, kristalize, toz.

Erime Derecesi: 99 – 103 °C

pKa: 4,0, 8,9 (25 °C)

Renk Testi: Siyanojen bromür → sarı, Mandelin testi → viyole

Çözünürlüğü: 1 mg'ı 0,5 mL su, 2,5 mL etanol ve 1,5 mL kloroform içinde çözünür. Eterde az çözünür.

UV Spektrumu: Asidik çözeltide 239 nm ve 316 nm'de, alkali çözeltide 248 nm ve 312 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (KBr disk ile) 1492, 1512, 1598, 1247, 1175, 1035 cm^{-1} 'dedir.

2.4.2 Farmakolojik Etkisi

H₁-reseptör antagonisti bir antihistaminiktir (Abacıoğlu,2002).

2.4.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Mepiramin maleat titrimetrik, spektrofotometrik, elektroanalitik ve kromatografik yöntemlerle tayin edilmiştir.

Titrimetrik mepiramin maleat analizi glacial asetik asit içinde 0,1 N perklorik asitle yapılmıştır (USP XXII, 1990).

Farmakope yönteminde spektrofotometrik mepiramin maleat analizi, 312 nm'deki absorpsiyon ölçümüne dayanır (USP XXII, 1990). Mepiramin maleatın, asetaminofen, fenilefrin HCl ve kodein fosfat yanında tablet preparatlarında spektrofotometrik analizinde ise alginik asitle kolon kromatografisi hazırlanmış, önce asetaminofen ayrıldıktan sonra 0,01 N HCl ile kodein fosfat ve fenilefrin HCl elüe edilmiş, daha sonra da 0,1 N HCl ile mepiramin maleatın ayrılması sağlanmış ve 316 nm'de tayin edilmiştir (Fabrizio, 1968). Diğer bir spektrofotometrik çalışmada ise klorfeniramin maleat ve fenil propanolamin HCl yanında fark (difference) spektrofotometrisi kullanılarak analizi gerçekleştirilmiştir. Yöntemin esasını klorfeniramin maleatın pH 1'de, mepiramin maleatın ise pH 6'da spektrumunun farklılık göstermesi, fenilpropanolaminin ise bu pH'larda farklılık göstermemesi oluşturmuştur (Tan ve Salvador, 1986).

Elektroanalitik bir çalışmada Billedeau vd. (1990) mepiramin maleat ve onun N-oksadini, 0,1 M amonyum asetat pH 7 ortamda siklik voltametre ile tayin etmiştir.

HPLC ile yapılmış birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Bunlardan birinde mepiramin maleat bromfeniramin maleat, klorfeniramin maleat ve feniramin maleat yanında HPLC ile tayin edilmiştir (Ghanekar ve Gupta, 1977). Bir diğer çalışmada hayvan yemi ve insan idrarında eser miktarda mepiramin maleat analizi, metaprilin yanında floresans detektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Thompson ve Holder, 1984). El Gezawi vd. (1988) mepiramin maleatı, feniramin maleat ve fenirpropanolamin yanında HPLC ile tayin etmiş, mobil faz olarak metanol : pH 7 fosfat tamponu kullanmıştır. Başka bir kromatografik çalışmada ise mepiramin maleat ve onun N-oksidinin, C₁₈ kolon ve 10 mM trimetilamin hidroklorür içeren asetonitril : 75 mM amonyum asetat, pH 6,8 (30 : 70) mobil faz kullanılarak 254 nm'de analizi yapılmıştır (Billedeau vd., 1990).

De Fabrizio (1980, 1981) yaptığı iki çalışmanın ilkinde mepiramin maleatı, salisilamid,

fenilpropanolamin HCl, kafein, klorfeniramin maleat ve fenilefrin HCl ile birarada kapsül preparatları içinde, diğerinde ise mentol, fenol ve benzokain yanında aerosol çözeltilerde alev-iyonizasyon detektörü kullanarak GLC metoduyla tayin etmiştir.

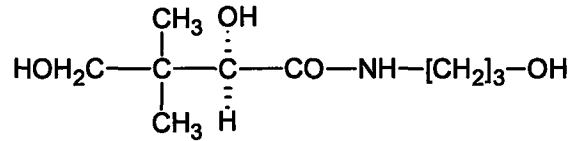
2.5 Dekspantenol

2.5.1 Özellikleri

(Moffat, 1986)

Kapalı Formülü: $C_9H_{19}NO_4$

Yapısal Formülü:



(R)-2,4-Dihidroksi-N-(3-hidroksipropil)-3,3-dimetilbütiramid

Molekül Ağırlığı: 205,3 g/mol.

Elementel Bileşimi: C (% 52,66), H (% 9,33), N (% 6,82), O (% 31,18)

Görünüş ve Renk: Şeffaf, renksiz, viskoz sıvı.

Çözünürlük: Su ve etanolde karışır, 1 mg'ı 70 mL kloroform ve 200 mL eterde çözünür.

UV Spektrumu: 230 nm ve 360 nm arası belirgin bir absorpsiyonu yoktur.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (ince filmde) 1629, 1035, 1064, 1520, 1282, 1250 cm^{-1} 'dedir.

2.5.2 Farmakolojik Etkisi

Deskpantenol, pantenol izomeridir ve epitel rejeneratörü olarak kullanılır. Vitamin B aktivitesi gösterir. Paralitik ileuslerde ve postoperativ distansiyonlarda kolinerjik etkisinden yararlanılmakta ve gastro-intestiral stimulan olarak parenteral yapılmaktadır (Canay,1992).

2.5.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Dekspantenolün titrimetrik ve kromatografik yöntemlerle tayinine rastlanmıştır.

Titrimetrik olarak dekspantenol analizi susuz ortamda 0,1 N perklorik asitle yapılmıştır (USP XXII, 1990).

Kromatografik dekspantenol analizlerinden birinde, dekspantenol ve onun parçalanma ürünleri HPLC ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada C_{18} kolon ve metanol : 0,01 M fosfat tamponu (pH 2,8) (10 : 90) mobil faz kullanılmış, dekspantenol tayini 215 nm’de yapılmıştır (Gharehbagh ve Ebel, 1995). Diğer çalışmada ise mikroemülsiyon elektrokinetik kromatografi kullanılarak (MEEKC) dekspantolün, nikotinamid, riboflavin, askorbik asit, tiamin, vitamin A ve vitamin D ile birlikte analizi yapılmıştır. Mobil faz olarak % 0,81 oktan, % 6,61 butanol, % 3,31 sodyum dodesil sülfat (SDS), % 89,27 10 mM sodyum tetraborat tamponu kullanılmıştır (Altria 1999).

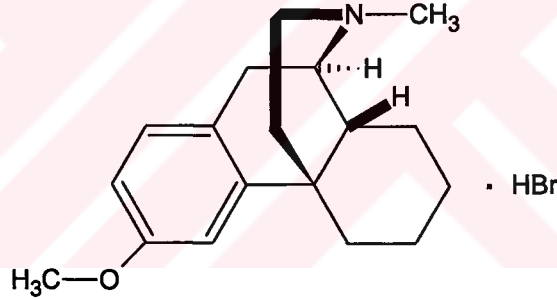
2.6 Dekstrometorfan Hidrobromür

2.6.1 Özellikleri

(Moffat, 1986)

Kapalı Formülü: $C_{18}H_{25}NO \cdot HBr, H_2O$

Yapısal Formülü:



(+)-3-Metoksi-9a-metilmorfinan hidrobromür

Molekül Ağırlığı: 370,3 g/mol

Elementel Bileşimi: C (% 79,66), H (% 9,28), N (% 5,16), O (% 5,90)

Görünüş ve Renk: Beyaz, kristalize toz.

Erime Noktası: 125 °C

pKa= 8,3

Çözünürlüğü: 1 mg dekstrometorfan hidrobromür 60 mL suda, 10 mL etanolde çözünür.

Kloroformda çözünür, eterde çözünmez.

UV Spektrumu: Asidik çözeltide 278 nm’de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (KBr disk ile) 1496, 1242, 1040, 1300, 1280, 1070 cm^{-1} 'dedir.

2.6.2 Farmakolojik Etkisi

Morfinan türevi olmakla beraber alışkanlık yapma özelliği olmadığı için antitussif olarak kullanılmaktadır (Canay, 1992). Solunum yollarındaki iltihabı sökmek için refleksi ve ifrazatı arttıran stimulanlardandır. Kuru ve alerjik kökenli öksürüklerde kullanılır (Abacıoğlu, 2002). Günlük dozaj, 15-120 mg arasındadır (Moffat, 1986).

2.6.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Dekstrometorfan HBr spektrofotometrik, elektroanalitik, kromatografik ve elektroforez yöntemlerle tayin edilmiştir.

Spektrofotometrik dekstrometorfan analiziyle ilgili çalışmaların birinde, dekstrometorfan HBr plazmada florometrik olarak tayin edilmiştir (Ramachander, 1977). Fenilpropanolamin HCl ve guaifensesin ile birarada analizine ilişkin bir çalışmada fark (difference) spektrofotometrisi kullanılmıştır. Burada sodyum metaperiyodat ile fenilpropanolaminin benzaldehite okside olması, dolayısıyla spektrumunun farklılaşması, dekstrometorfan HBr ve guaifensesinin ise spektrumlarının değişmemesi esas alınmıştır (Tan ve Salvador, 1985). Benzer bir çalışmada dekstrometorfan HBr yine fenilpropanolaminle birlikte 2.türev spektrumundan yararlanarak tayin edilmiş, 291,5-287,5 nm'de dekstrometorfan, 260-257 nm'de ise fenilpropanolamin ölçülmüştür (Tan ve Mantaka, 1989). Türev spektrofotometrisinin kullanıldığı bir başka yöntemde ise, bromheksin HCl ile birlikte 1.türev spektrumundan yararlanılarak analizi yapılmış, 234 ve 324 nm'de ölçümü alınmıştır (Tantishaiyakul vd., 1998).

Elektroanalitik olarak dekstrometorfan ve metabolitleri plazmada analiz edilmiş, milipor membran üzerinde amonyum tetrafenilborat iyon değiştirici bulunan iyon seçici elektrod kullanılmıştır (Hazemoto vd., 1989).

Dekstrometorfan HBr analizine ait çok sayıda kromatografik yöntem geliştirilmiştir. HPLC kullanılan çalışmaların birinde, oktadesilsilan kolon ve iyon çifti kullanılarak dekstrometorfan HBr analizi yapılmıştır (Kubiak ve Munson, 1980). Biyolojik sıvılarda yapılan bir başka çalışmada, semi-mikrobor kolon ve floresans detektör kullanılmıştır (Achari vd., 1984). Şuruptaki dekstrometorfan HBr analizine ait farmakope yönteminde 0,007 M sodyumdokusat ve 0,007 M amonyumnitrat içeren asetonitril : su (70:30) mobil faz sistemi verilmiştir (USP XXII, 1990). İlaç preparatlarında yapılan dekstrometorfan HBr analizlerinden birinde asetonitril : asetat tamponu, pH 4,3 (75 : 25) mobil faz sistemiyle, diğerinde metanol :

amonyum format (53: 47) mobil faz sistemiyle 278 nm'de tayin edilmiştir (Abdelmoety vd., 1995; Rauna vd., 1996). İdrarda dekstrometorfan ve 3 metabolitinin analizi için geliştirilen yöntemde, 10 mM potasyum fosfat : asetonytril (45 : 55) pH 4 mobil faz kullanılarak 280 nm'de ölçüm alınmıştır (Park vd., 1984). Benzer çalışmalar idrar ve plazmada floresans detektör kullanılarak yapılmıştır (East ve Dye, 1985; Johansson ve Svensson, 1988).

Dekstrometorfan ve metabolitlerine ait son yıllardaki HPLC çalışmalarında, Chen vd. (1990) siyano kolon ve asetonytril : trietilamin : su (17 : 0,06 : 82,94) pH 3 mobil faz, Marshall vd. (1992) % 16 metanol, % 3 asetonytril ve % 0,06 trietilamin pH 2,8 mobil faz, Hartter vd. (1996) kolon switching isokratik elüsyon ve floresans detektör, Jones vd. (1996) floresans detektör, Kimiskidis vd. (1996), asetonytril : su : n-oktilamin (19 : 80,95 : 0,05) pH 2,8 mobil faz ve floresans detektör, Mistry vd. (1998) floresans detektör, Zimova vd. (2000) asetonytril : 0,01 M KH_2PO_4 (3 : 2) ve trietilamin pH 3,6 mobil faz ve floresans detektör, El-Khalil vd. (2001) fenil analitik kolon ve % 1,5 asetik asit içinde % 0,1 trietilamin : asetonytril (75:25) mobil faz ve floresans detektör, Hendrickson vd. (2003) floresans detektör kullanmışlardır.

Dekstrometorfanın diğer ilaç maddeleriyle birarada HPLC ile yapılan çalışmalardan birinde, şurup içinde asetaminofen ve guaifenesin ile birlikte analiz edilmiş, formik asit-amonyum format (pH 4,2) tamponlu ortamda, sulu metanol mobil faz olarak kullanılmıştır (Mc Sharry ve Savage, 1980). Bir başka şurup analizinde ise ters faz iyon çifti HPLC kullanılarak fenilpropanolamin ve klorfeniramin ile birarada tayin edilmiştir (Halstead, 1984). Aynı yılda yapılan bir diğer çalışmada ise bu üçlü yanında asetaminofeninde analizi gerçekleştirilmiştir (Dasgupta ve Heble, 1984). Dekstrometorfan, benzokain ve setilpiridinyum iyonlarının birarada analizinde C_{18} kolon ve dioksil sülfosuksinat içeren su : kloroform : metanol (10 : 50 : 40) mobil faz kullanılmıştır (Linares vd., 1991). Wilson vd. (1993) soğuk algınlığı ilaçlarında yaptıkları çalışmada fenilpropanolamin ve dekstrometorfan HBr'yi silika kolonlu sistemde 263 nm'de, sulu organik mobil faz kullanarak tayin etmişlerdir. Dekstrometorfan HBr, askorbik asit, kafein, klorfeniramin maleat ve parasetamolün birarada analizinde tetrabütilamonyum hidrojen sülfat ve pentansülfonik asit ile bileşenlerin ayrılması sağlanmış ve iyon çifti likit kromatografik sistem kullanılmıştır (Thomas vd., 1994). Lau ve Mok (1995), dekstrometorfan ile birlikte bromheksin HCl, klorfeniramin maleat, kodein fosfat, difenhidramin HCl, efedrin HCl, papaverin HCl ve fenilefrin HCl'yi su : asetonytril : etanol (38 : 60 : 2) mobil fazlı sistemde kondüktometrik detektör kullanarak tayin etmiştir. Son yıllarda kompleks soğuk algınlığı ilaçlarında birçok maddeyle beraber dekstrometorfan HBr, trietilamin ve tetrahidrofuran içeren H_3PO_4 : asetonytril (85 : 15) pH 2,7 mobil faz sisteminde,

205 nm'de ölçülmüştür (Chen vd., 1999). Eichhold vd. (1997a) dekstrometorfan ve metabolitlerini plazmada HPLC-tandem kütle spektrofotometrik yöntemle analiz etmiştir. Ayrıca LC-MS ile dekstrometorfan analizine ait birkaç çalışmaya rastlanmıştır (Eichhold vd., 1997b; Mccauleymyers vd., 2000; Vengurlekar vd., 2002).

Gaz kromatografisi kullanılarak yapılan çalışmaların birinde dekstrometorfan serum içinde tayin edilmiştir (Furlanut vd., 1977). Bir başka gaz kromatografik çalışmada, dekstrometorfan ve metabolitlerinin ilaç preparatlarında azot detektör kullanılarak analizi yapılmıştır (Kintz vd., 1989). Wu vd. (2003) ise idrarda herhangi bir türevlendirme yapmaksızın alev iyonizasyon detektörü kullanarak dekstrometorfan ve metabolitlerini tayin etmiştir.

Son zamanlarda sıklıkla kullanılan elektroforez yöntemiyle birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Dekstrometorfan ve metabolitlerinin analizine ait çalışmaların birinde idrarda ön zenginleştirme yapılmaksızın kapiler zone elektroforez yöntemi kullanılmıştır (Li vd., 1993). Diğer çalışmada plazmada, sodyum borat pH 9,4 tampon çözelti kullanılarak kapiler elektroforez metodu uygulanmıştır (Kristensen, 1998). Yururi vd. (1994) dekstrometorfan HBr'yi, klorfeniramin maleat, dihidrokodein fosfat, dl-metilefedrin HCl ve noskapin ile birarada fosfat tamponu pH 3 kullanarak kapiler elektroforezle tayin etmiştir. Bir başka çalışmada SDS, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ve Na_2HPO_4 (pH 9,2-9,3) çözeltisi kullanılarak dekstrometorfanın, meprenitoin ve kafein ile birlikte kapiler elektroforezle analizi yapılmıştır (Caslawska vd., 1994). Benzer tampon çözeltinin kullanıldığı diğer çalışmalarda ise dekstrometorfan bazı soğuk algınlığını önleyici ilaçlar ile birlikte kapiler elektroforez ile tayin edilmiştir (Suntornsuk, 2001; Gomez vd., 2002).

Greenway vd. (1995) dekstrometorfan, kodein ve heroinin birarada analizini, tris (2,2'-bipiridin) ruthenyum (II) $[\text{Ru}(\text{bpy})(2)(2+)]$ ile amino gruplarının reaksiyonuna dayanan kemilüminesans ve akışa enjeksiyon yöntemleriyle gerçekleştirmiştir.

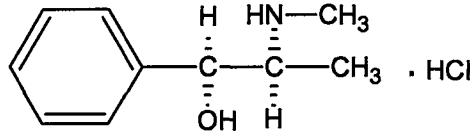
2.7 Psödoefedrin Hidroklorür

2.7.1 Özellikleri

(Florey, 1979a)

Kapalı Formülü: $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$

Yapısal Formülü:



(+)-trio- α -(1-(metilamino)etil) benzil alkol hidroklorür

Molekül Ağırlığı: 201,2 g/mol

Elementel Bileşimi: C (% 59,5), H (% 8), N (% 6,95)

Görünüş ve Renk: Beyaz kristalize toz.

Erime Derecesi: 182 – 185 °C

pKa=9,22

Çözünürlüğü: 1 mg psödoefedrin HCl, 1,6 mL suda, 4 mL etanolde ve 60 mL kloroformda çözünür. Eterde oldukça zor çözünür (Moffat, 1986).

UV Spektrumu: Alkolde 208, 251, 257 ve 264 nm’de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (KBr disk ile) 3270, 3010, 2930, 2700, 1587, 1430, 762, 702 cm^{-1} ’dedir.

2.7.2 Farmakolojik Etkisi

Ağızdan verilebilen, reseptörleri indirekt yoldan uyaran ve epinefrinden daha uzun tesirli sempatomimetiklerdendir. Efedrinin aksine santral sinir sistemini uyarmaz ve damarlar üzerine pressör etkisi yoktur. Antiastmatik şuruplarda kullanılır. Özellikle burun, sinüsler ve üst solunum yolu mukazasında dekonjestan etki yapar (Canay, 1992). Plazma yarılanma ömrü 5-8 saattir. Günlük dozaj 180-240 mg arasındadır (Moffat, 1986).

2.7.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Psödoedefrin HCl titrimetrik, spektrofotometrik, kolorimetrik, kromatografik ve elektroforez

yöntemlerle tayin edilmiştir.

Titrimetrik olarak psödoefedrin HCl, glasial asetik asit ve civa asetat ilave edildikten sonra kristal viyole indikatörlüğünde 0,1 N perklorik asitle tayin edilmiştir (Florey, 1979a).

Psödoefedrin HCl'nin tek başına ve çoklu karışımlarda çeşitli spektrofotometrik çalışmalarına rastlanmıştır. Tablette spektrofotometrik olarak yapılan bir psödoefedrin analizi, asitli ortamda 257 nm'deki absorpsiyon ölçümüne dayanılarak yapılmıştır (Florey, 1979a). USP XX'de yayınlanan spektrofotometrik yöntem, psödoefedrin HCl'nin periyodat ile oksidasyon ürününün absorpsiyon ölçümünü esas alır (Florey, 1979a). Şurup preparatlarında kullanılan bir analiz yönteminde psödoefedrin HCl, bakır sülfat ile pH 12,5'de mavi renkli çelat oluşturmuş ve kompleks 500 nm'de kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Florey, 1979a). Bir diğer kolorimetrik çalışma Pudipetti vd. (1995) tarafından yapılmıştır. Türev spektrofotometrisi ile yapılan bir çalışmada psödoefedrin, 256,3 nm'de 2. türev spektrumundan pik-pik tekniğiyle tayin edilmiştir (Davidson ve Elsheilch, 1982). Psödoefedrin HCl ve klorfeniramin maleatın yan yana analizinin yapıldığı çalışmaların birinde, 1. türev spektrumundan yararlanılarak diyod-serili spektrofotometre ile tayin gerçekleştirilmiştir (Hoover vd., 1987). Diğerinde ise yine diyod-serili spektrofotometre kullanılmış, ana bileşen regresyonu (PCR) ile analiz edilmiştir (Lo vd., 1993). Psödoefedrin HCl ve akrivastinin birarada tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemde, metanoldeki 4.türev spektrumundan yararlanılmış 269 nm'de ölçüm alınmıştır (Altuntas vd., 1998). Ivanoviç vd. (2000), psödoefedrin, ibuprofen ve loratadinin, 2. türev spektrumundan yararlanılarak birarada tayinini gerçekleştirmiştir. Bir başka spektrofotometrik çalışmada psödoefedrin HCl ve astemizol, 0,1 M HCl : metanol (1 : 3) çözücü sisteminde 1. türev spektrumundan yararlanılarak analiz edilmiştir (Güngör ve Onur, 2001). Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise psödoefedrin HCl'nin, feksofenatin, setrizin ve loratadin ile ikili karışımlarının 1. türev oran spektrofotometrik yöntemle tayini yapılmıştır (Mahgoub vd., 2003).

Psödoefedrin HCl ile ilgili çok sayıda kromatografik analiz yöntemi kaynaklara geçmiştir (Florey, 1979a). Burada son yıllarda yapılan çalışmalar örneklendirilecektir. HPLC kullanılan yöntemlerin birinde psödoefedrin tek başına ilaç preparatlarında (Dash, 1994), diğerinde plazmada asetonitril : amonyumsülfat (10 : 90) mobil faz kullanılarak kolon switching tekniğiyle (Guo vd., 1999), bir başkasında ise yine plazmada, trietilamin içeren fosfat tamponu (pH 2,4) : asetonitril (95 : 5) mobil faz kullanılarak tayin edilmiştir (Macek, 2002). Psödoefedrinin efedrin grubu diğer maddelerle analizinde, çeşitli mobil faz sistemlerinde bir

çok metot önerilmiştir. Bunlardan Kazuhiko vd. (1983), ilaç preparatlarında su : asetonitril : SDS : fosforik asit (63 : 35 : 0,5 : 0,1) mobil faz ve iyon çifti HPLC, Imaz vd. (1993), idrarda fosfat tamponu : trietilamin (pH 5,5) mobil faz, Vandermerwe vd. (1994), idrarda tetraetilamonyum fosfat : metanol mobil faz, Shao vd. (1995), plazmada ön zenginleştirme işleminden sonra % 6 fosfat tamponu (pH 6,5) : metanol (3 : 8) mobil faz, Okamuna vd. (1999), ilaç preparatlarında su : asetonitril : SDS (65 : 35 : 0,4) mobil faz kullanarak psödoefedrin HCl analizini gerçekleştirmişlerdir. Psödoefedrin HCl'nin çeşitli ilaç karışımlarılada birlikte likit kromatografik analizi yapılmıştır. Carnevale (1983) yaptığı çalışmada, oktansülfonik asit iyon çifti ve metanol : su : asetik asit (45 : 55 : 2) mobil faz kullanarak psedofedrin, asetaminofen ve guaifenesin yanında tayin etmiştir. Benzer bir çalışmada, psödoefedrinin guaifenesin ile birarada plazmada analizi yapılmış, sodyum heptan sülfonat : asetonitril (70 : 30) mobil faz kullanılarak 220 nm'de ölçüm alınmıştır (Pade ve Stauchansky, 1993). Plazmada yapılan bir başka çalışmada ise, klorfeniramin maleat ve terfenadin ile birlikte tayin edilmiş, silikajel kolon ve asetonitril : amonyum fosfat (pH 4) (55 : 45) mobil faz kullanılmıştır (Pao ve Hu, 1994). Ciklet içinde psödoefedrin HCl, parasetamol ve klorfeniramin maleat analizi için önerilen bir yöntemde, C₁₈ kolon ve hekzilamin (pH 3) : asetonitril mobil faz uygulanmıştır (Gasco-Lopez vd., 1997). Argekar vd. (1998), psödoefedrin HCl'yi ters faz iyon çifti HPLC ve asetonitril : metanol : su (60 : 15 : 25) pH 3,1 mobil faz sistemi kullanılarak terfanidin yanında tayin etmiştir. Aynı yılda Mansour (1998) ise, karbinoksamin maleat ile birarada analizine yönelik HPLC metot geliştirmiştir. İdrarda bir çok amfetaminin tayininin yapıldığı bir çalışmada psödoefedrin, % 2 trietilamin içeren 0,2 M fosfat tamponu (pH 3) kullanılarak analiz edilmiştir (Herraez-Hemande ve Campins-Falco, 1999). Psödoefedrin HCl, kodeinfosfat ve klorfeniramin maleatın ilaç preparatlarındaki HPLC ile analizinde tam deneysel tasarım uygulanmıştır (Ragonese vd., 2000). Ekpe vd. (2001), psödoefedrin HCl ve naproksen sodyumu safsızlıkları ile birarada tayin etmişler, su : asetonitril : metanol : trietilamin (850 : 75 : 75 : 5) mobil faz sistemini formik asitle pH 3,7'ye ayarlayarak kullanmışlardır. Miseller likit kromatografisi ile yapılan iki çalışmada psödoefedrin birçok fenetilamin ile birarada tayin edilmiş, SDS : pentanol mobil faz sistemi uygulanmıştır (Gil-Agusti vd., 2000, 2001).

İnce tabaka kromatografisi ve kağıt kromatografisiyle psödoefedrin HCl tayini için birçok çözücü sistemi önerilmiştir (Florey, 1979a). Son yıllarda yapılan bir çalışmada psödoefedrin ve setirizin HPTLC ile analiz edilmiş, çözücü sistemi olarak etilasetat : metanol : amonyak (7 : 1,5 : 1) kullanılarak 240 nm'de dansitometrik ölçüm alınmıştır (Makhija ve Vavia, 2001).

Gaz kromatografisi ile yapılmış bir çok çalışmanın yanı sıra (Florey, 1979a) son yıllarda yapılan analizlerin birinde psödoefedrin ve enantiomerleri, (R)-(+)-alfa-metoksi-alfa-(triflorometil) fenil asetik asit (MTPA) ile türevlendirildikten sonra gaz kromatografisi ile tayin edilmiştir (Lebelle vd., 1995). Öksürük şurubunda yapılan bir çalışmada, difenhidramin HCl ile birlikte taşıyıcı gaz azot kullanılarak analizi yapılmıştır (Raj vd., 1998). Spyridaki vd. (2001) ise idrarda psödoefedrini, efedrin türevleri ile GC-MS kullanarak tayin etmiştir.

Kapiler elektroforez yöntemiyle psödoefedrin analizine ait birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Bunlardan birinde psödoefedrin, 6 efedrin alkaloidi ile birarada tayin edilmiş, ayrılma, pH 10'da $Ba(OH)_2$ ve isolösin çözeltisiyle sağlanmıştır. Bu çalışmayı takiben şifalı bitkilerde efedrin ve psödoefedrin analizi yine pH 10'da 0,01 M valin çözeltisi kullanılarak kapiler elektroforez yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (Liu ve Sheu, 1992, 1993). Bir başka çalışmada miseller elektrokinetik kapiler elektroforez ile efedrin gruplarının analizi yapılmıştır (Swartz ve Brown 1996). Benzer bir çalışmada, mikroemülsiyon tampon içinde hareket eden yağ damlaları ve çözücü dağılımına dayalı bir kapiler elektroforez tekniği olan mikroemülsiyon elektrokinetik kromatografi (MEEKC) ile psödoefedrin ve guaifenesin birarada tayin edilmiş, ayrılma %0,81 oktan, % 6,61 butan-1-ol, % 3,31 SDS ve % 89,27 sodyum tetraborat ile sağlanmıştır (Altria, 1999). Chen vd. (1998) ise psödoefedrin HCl'yi ibuprofen ile birarada tayin etmiş, pH 8,1 tampon çözelti kullanarak 210 nm'de UV ölçümünü almıştır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada psödoefedrin ve efedrin türevleri, kapiler zon elektroforez tekniğiyle tayin edilmiş, optimum şartlar deneysel tasarım ve çoklu lineer regresyon teknikleri kullanılarak belirlenmiş ve tris-fosfat tamponu (pH 3,5) : dimetil-CD varlığında analiz gerçekleştirilmiştir (Mateus, 2003).

Akışa enjeksiyon ve kapiler elektroforezin kombine olduğu bir sistemde psödoefedrin HCl, asetat tamponu (pH 4) ve asetonitrille elue edildikten sonra bir çalışmada fosfat tamponu, diğer çalışmada asetik asit : sodyum asetat : polietilen glikol kullanılarak analiz edilmiştir (Chen ve Fang, 1997, 1999).

Proton NMR'nın kullanıldığı bir çalışmada ise psödoefedrin ve efedrin türevleri tayini yapılmıştır (Hana, 1995).

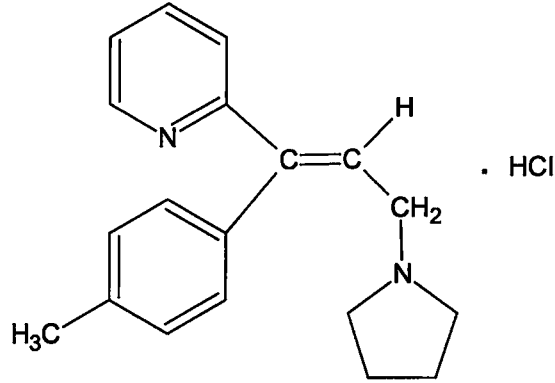
2.8 Triprolidin Hidroklorür

2.8.1 Özellikleri

(Moffat, 1986)

Kapalı Formülü: $C_{19}H_{22}N_2 \cdot HCl$

Yapısal Formülü:



(E)-2-[3-(Pirolidin-1-yl)-1-p-tolipropenil]piridin, hidroklorür

Molekül Ağırlığı: 314,85 g/mol

Elementel Bileşimi: C (% 58,59), H (% 7,58), N (% 8,39)

Görünüş ve Renk: Beyaz, kristalize, toz.

Erime Derecesi: 118-120 °C

pKa=3,6, 9,3

Renk Testi: Siyanojen bromür – turuncu, pembe

Çözünürlüğü: 1 mg triprolidin HCl, 2 mL su, 1,5 mL etanol, 1mL kloroform, 2000 mL eterde çözünür.

UV Spektrumu: Asidik çözeltide 290 nm’de maksimum absorpsiyon gösterir.

IR Spektrumu: Başlıca pikler (KBr disk ile) 775, 1580, 825, 990, 1509, 1146 cm^{-1} ’dir.

2.8.2 Farmakolojik Etkisi

H_1 reseptör antagonisti bir antihistaminiktir (Canay, 1992). Plazma yarılanma ömrü 1,5 – 20 saattir. Günlük dozaj ise 7,5 – 15 mg arasındadır (Moffat, 1986).

2.8.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Tripolidin HCl titrimetrik, spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerle tayin edilmiştir.

Titrimetrik olarak tripolidin HCl, glasial asetik asitte çözüldükten sonra, civa asetat solüsyonu eklenerek 0,1 N perklorik asitle potansiyometrik olarak tayin edilmiştir (Florey, 1979b).

Spektrofotometrik olarak yapılan analizlerin birinde, tabletlerden asidik ortamda ekstre edildikten sonra 290 nm'de UV ölçümü alınmıştır (Florey, 1979b). Şurup ve tabletlerde yapılan bir çalışmada ise tripolidin HCl bazik ortamda etilenklorür ile ekstre edildikten sonra H_2SO_4 'lü ortamda florometrik olarak tayin edilmiştir (Florey, 1979b). Son yıllarda ilaç preparatlarında çalışılan bir başka spektrofotometrik yöntemde tripolidin HCl'nin $KMnO_4$ ile alkali oksidasyonundan oluşan manganat iyonlarının 612 nm'de absorpsiyon ölçümüne dayalı kinetik bir metot geliştirilmiştir (Metwally, 2001).

HPLC ile tripolidine HCl analizine ait çeşitli çalışmalara rastlanmıştır. Bunlardan birinde mobil faz olarak $NaNO_3$ ve NaH_2PO_4 , diğerinde ise asetonitril : konsantre NH_4OH : su (1000 : 5 : 45) kullanılmıştır (Florey, 1979b). Çeşitli ilaç karışımlarında yapılmış çalışmalarda ise, asetonitril : amonyum asetat (pH 7,4) (60 : 40), etanol : amonyum asetat (4 : 1) gibi mobil faz sistemleri kullanılmıştır (Florey, 1979b). Tripolidin HCl, pirilamin maleat ve metapirilen HCl'nin birarada hayvan yemi, insan idrarı ve atık sulardaki analizi florometrik detektör kullanılarak HPLC ile, azot-fosfor detektör kullanılarak ise gaz kromatografisi ile tayin edilmiştir (Thompson ve Holder, 1984).

TLC ile yapılan çalışmaların birinde ise, kloroform : metanol : amonyak (89 : 10 : 1) çözücü sistemi kullanılmış ve dansitometrik olarak tayin edilmiştir (De Angelis vd., 1977).

Son yıllarda ilaç preparatlarında tripolidin HCl ve metiskopolamin nitratın HPTLC ile analizine ait bir yöntemde, silika jel tabakalara floresent indikatörü uygulandıktan sonra örnek ve standartlarının floresans söndürme noktaları dansitometrik olarak ölçülmüştür (Baseski ve Sherma, 2000).

2.9 Dekstrometorfan HBr, Psödoefedrin HCl ve Tripolidin HCl'nin İkili ve Üçlü Birarada Tayin Yöntemleri

Dekstrometorfan HBr ve psödoefedrin HCl birarada spektrofotometrik, kromatografik ve elektroforez tekniklerle analiz edilmiştir.

Murtha vd. (1988), dektrometorfan HBr ve psödoefedrin HCl'yi klorfeniramin maleat ile

birarada diyod serili türev spektrofotometresi ile tayin etmiştir. Bu çalışmada ilaç içindeki oranlar göz önünde tutularak farklı konsantrasyonlarda sodyum asetat tamponlu (pH 5) ortamda çözeltiler hazırlanmış, 240 – 300 nm arası 10 ölçüm alınmış, 1. ve 2. türev spektrumundan miktarlar hesaplanmıştır.

HPLC ile yapılan çalışmaların birinde dekstrometorfan HBr ve psödoefedrin HCl, difenhidramin, fenilefrin ve fenilpropanolamin ile birlikte alkali mobil faz kullanılarak tayin edilmiştir (Caraballo vd., 1995). Bir başka çalışmada psödoefedrin ve dekstrometorfanın guaifenesin yanında, silika kolon ve fosfat tamponu (pH 3) : asetonitril (60 : 40) mobil faz kullanılarak 216 nm’de analizi gerçekleştirilmiştir (Wilcox ve Stewart, 2000). Aynı yılda yapılan diğer bir çalışmada ise bu üçlü karışım, SDS ve tris pH 8,5 ortamda miseller elektrokinetik kromatografi ile 220 nm’de analiz edilmiştir (Xu ve Stewart, 2000). Soğukalgınlığı için kullanılan şurup ve süspansiyonlarda amin ve koruyucu tayini için iyon çifti ters faz HPLC metot geliştirilmiştir. Bu yöntemde iyon çifti reaktifi içeren asetonitril, metanol, tetrafuran mobil faz sistemi kullanılarak psödoefedrin, dekstrometorfan, klorfeniramin, benzoik asit, doksilamin, bütıl paraben tayini yapılmıştır (Paciolla vd., 2001).

Gaz likit kromatografisi ile psödoefedrin ve dekstrometorfanın, birçok ilaç maddesi ile birarada tayininde alev iyonizasyon detektörü kullanılmıştır (Lau ve Cheung, 1990). Zhang vd. (2000), psödoefedrin HCl ve dekstrometorfanı parasetamol ile birlikte pH 7 sodyum fosfat tamponu kullanarak kapiler elektroforez ile analiz etmiş, tayini 220 nm’de UV detektör kullanarak gerçekleştirmiştir.

Psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl birarada spektrofotometrik ve kromatografik olarak tayin edilmiştir. Spektrofotometrik çalışmaların birinde psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl’nin 4. türev spektrumundan kodein yanında analizi yapılmıştır (Davidson ve Elsheikh, 1982). Diğer bir çalışmada ise psödoefedrin ve triprolidin 1. türev spektrumundan sırasıyla 264 nm ve 291 nm’de, ikili karışımın orijinal spektrumundan ise 256,8 ve 278,1 nm’de tayin edilmiştir (Dinç ve Onur, 1998).

Psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl’nin HPLC ile yapılmış bir analizinde iyon çifti ters faz kolon kullanılmıştır (Bachman, 1980). Şurup ve tablet preparatlarındaki kromatografik analizlerine ait farmakope yönteminde alkol:amonyum asetat (1:250) mobil faz sisteminde çalışılmıştır (USP XXII, 1990). Başka bir çalışmada ise parasetamol ile birarada alkol : amonyum asetat (70 : 30) mobil faz kullanılarak bu ikilinin HPLC analizi yapılmıştır (Akhtar vd., 1994).

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl üçü birarada spektrofotometrik ve kromatografik olarak analiz edilmiştir. Spektrofotometrik yöntemlerin birinde, psödoefedrinin, HCl'li ortamda 2. türev spektrumundan 250 – 254 nm'de pik-pik tekniğiyle, diğer ikisinin kendi dalga boylarındaki absorbasları kullanılarak en küçük kareler yöntemiyle tayini yapılmıştır (Jones vd., 1985). Bir diğer çalışmada triprolidine HCl 301 nm'de orijinal spektrumundan, psödoefedrin ve dekstrometorfan ise 2. ve 4. türev spektrumundan fark (difference) absorpsiyon spektrofotometrisi kullanılarak analiz edilmiştir (Davidson ve Mkoji, 1988).

HPLC ile yapılan bir çalışmada ise üç maddenin parasetamol ile birarada C₁₈ kolon asetonitril : 0,1 M sodyum perklorat (pH 3) (5 : 95) mobil faz kullanılarak tayini yapılmıştır (Deorsi vd., 1996).

2.10 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri

Çoklu kalibrasyon, analitik kimya da uygulama alanı olan başlıca kemometrik tekniklerdendir. Mikrobileşenlerin miktarı ve diğer özelliklerinin tayininde sıklıkla kullanılır. Birçok alette geniş uygulama alanına sahiptir. Çoklu kalibrasyon yöntemleriyle;

1. Tek dalga boyunda konsantrasyon tayinine dayanan basit kalibrasyon yerine birden fazla dalga boyu kullanılarak kalibrasyon modeli oluşturulabilir.
2. İyi dizayn edilmiş bir kalibrasyon modeli kurularak çok kompleks örneklerde bileşen analizi, uygulaması yavaş ve pahalı kromatografik teknikler yerine ucuz ve hızlı spektrofotometrik tekniklerle yapılabilir.
3. Geniş kromatografik piklerde saklı olan safsızlık piklerine ait konsantrasyon tayin edilebilir.
4. Özellikle tayin edilecek madde miktarı kesin bilinmeyen ve birçok safsızlık içeren doğal örneklerde, analiz edilmek istenen maddeleri içeren uygun kalibrasyon modelleriyle analizler gerçekleştirilebilir (Martens ve Naes, 1989).
5. Bir kimyasal proseste reaksiyondaki aktif türlerin derişimi, çözücü şartlarındaki değişimler, aktif safsızlıkların varlığı gibi etkenlerin tanısında, reaksiyonun doğru işleyip işlemediğinin on-line kontrolünde kullanılabilir.

Kısmi en küçük kareler kalibrasyonu (PLS), çoklu lineer regresyon (MLR) ve ana bileşen regresyonuna dayalı çoklu kalibrasyon metotudur.

2.10.1 Çoklu Lineer Regresyon (MLR)

Çoklu lineer regresyon özellikle kompleks örneklerin analizinde sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Temelde MLR X , absorbans matrisini, Y , konsantrasyon matrisini ifade etmek üzere X ve Y arasındaki regresyona dayanır.

$$Y = XB \quad (2.1)$$

Burada X ve Y 'nin satırları örnek karışımları (spektrumlar), X 'in sütunları spektral dalga boyları, Y 'nin sütunları ise “bilinen” bileşenlerden (analiz edilecek bileşen) oluşur. B ise kalibrasyon sabitini gösterip, satırları dalga boyları sütunları “bilinen” bileşenlerden oluşur. Denklemin çözümü aşağıdaki gibidir.

$$X'Y = XX'B \quad (2.2)$$

$$(X'X)^{-1} X'Y = (X'X)^{-1} (X'X)B \quad (2.3)$$

$$B = (X'X)^{-1} X'Y = \frac{\sum_{i=1}^I X_i Y_i}{\sum_{i=1}^I X_i^2} \quad I = \text{Örnek sayısı} \quad (2.4)$$

Ancak bu modelde bileşenlerin konsantrasyonu değiştiğinde spektrumdaki absorbans değerleride artma ya da azalma eğilimindedir. Bu lineer bağımlılık $X'X$ matrisinin çözümünü zorlaştırır ve herbir bileşene karşı yapılan matematiksel çözümleme tutarsız hale gelebilir. Dolayısıyla bu yöntemde dalga boyu sayısı, deney sayısı ve bileşen sayısı ile sınırlanmalı, dalga boyu seçimi lineer bağımlılığı ortadan kaldıracak ve diğer safsızlıkların absorbans değişimini giderecek şekilde olmalıdır. MLR'deki bu tür kısıtlamalar özellikle üst üste çakışan piklerin ayrılmasını imkansız hale getirir.

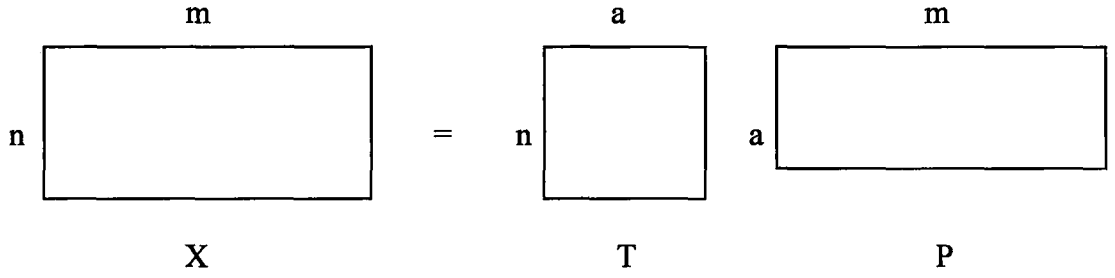
2.10.2 Ana Bileşen Regresyonu (PCR)

Ana bileşen regresyonu MLR'ye benzer ancak burada, ana bileşen analizi (PCA) skor matrisiyle konsantrasyon matrisinin regresyonu esas alınır. MLR metodu, tayin edilecek maddelerin bilinir olmasını gerektirir. Oysa PCA, bir karışımdaki maddelerden kaçınının esas bileşen olduğunu tahmin etmeye çalışır. Dolayısıyla bu maddelere ait kimyasal tanımlamaya ihtiyaç yoktur. Bu avantajından dolayı özellikle içeriği belli olmayan doğal ürünlerdeki etken madde tayinlerinde sıklıkla kullanılır.

Ana bileşen analizi (PCA) X spektral veri matrisini skor (T) ve yükleme (P) matrisine

parçalama işlemini esas alır (Şekil 2.2).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP} \quad (2.5)$$



Şekil 2.2 Spektral veri matrisinin PCA ile skor ve faktörlere parçalanması

- Skor matrisinin satırları orijinal veri matrisinin satır sayısı ile eşittir. (Örnek yada spektrum sayısı)
- Skor matrisinin sütunları veri matrisindeki esas faktörleri belirtir. Normalde faktör sayısı bileşen sayısı ile aynı olmalıdır. Ancak gürültü ve spektral girişimler bu sayıyı değiştirebilir. Her bir sütun ana bileşene bağlıdır.
- Skor matrisinin her bir sütunundaki değerin karelerinin toplamı özdeğer olarak adlandırılır. Özdeğer vektörü ne kadar büyükse esas bileşen olma olasılığı da o kadar büyüktür. Dolayısıyla ana bileşenler öz vektörlerin büyüklüğüne göre hesaplanır.
- Yükleme matrisinin sütunları orijinal veri matrisinin sütun sayısı ile eşittir (Dalga boyları).
- Yükleme matrisinin satırları esas faktör sayısına eşittir. Her bir satır ana bileşene bağlıdır.
- Yükleme matrisinin her bir sütunundaki değerlerin karelerinin toplamı 1'e eşittir.

Her bir ana bileşen a ile gösterilecek olursa, $\mathbf{T}$ 'nin a . sütunundaki a skor vektörü $\mathbf{t}_a$, $\mathbf{P}$ 'nin a . satırındaki a yükleme vektörü $\mathbf{p}_a$ 'yı göstermek üzere özvektör $\mathbf{g}_a$ aşağıdaki denklemle hesaplanır.

$$\mathbf{g}_a = \sum_{i=1}^I \mathbf{t}_i \mathbf{a}^2 \quad (2.6)$$

Esas bileşenlere ait tüm öz vektörlerin toplamı , orijinal verilerin karelerinin toplamına eşit olmalıdır.

PCR'da daha önce söz edildiği gibi PCA çözümlemesinden elde edilen T skor matrisiyle Y konsantrasyon matrisinin regresyonu söz konusudur. Buradaki B katsayısı ise aşağıdaki denklemle ifade edilir (Brereton, 2000).

$$\mathbf{B} = (\mathbf{T}'\mathbf{T})^{-1} \mathbf{T}'\mathbf{Y} \quad (2.7)$$

2.10.3 Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu (PLS)

Herman World tarafından teklif edilen, Svanta Wold, Martens ve arkadaşları tarafından geliştirilen kısmi en küçük kareler (PLS) en fazla kullanılan çoklu kalibrasyon tekniklerindendir (Geladi ve Kowalski 1986a ; 1986b; Geladi, 1988). Bu yöntemde PCA'dan farklı olarak bileşenlerin konsantrasyon setinde, örnek hazırlamadaki seyreltme ve tartma hataları ya da çevre ve biyolojik koşullardan dolayı değişimler dikkate alınarak, konsantrasyon matrisi de (Y) faktör analizine tabi tutulur ve spektral matrisle aynı anda parçalanır (Şekil 2.4). Yöntem iki matrisin izdüşümleri arasındaki regresyonu içerir.

X= Spektral absorbans matrisi

Y= Konsantrasyon matrisi

T= Spektral skor matrisi

U= Konsantrasyon skor matrisi

P= Spektral yükleme matrisi

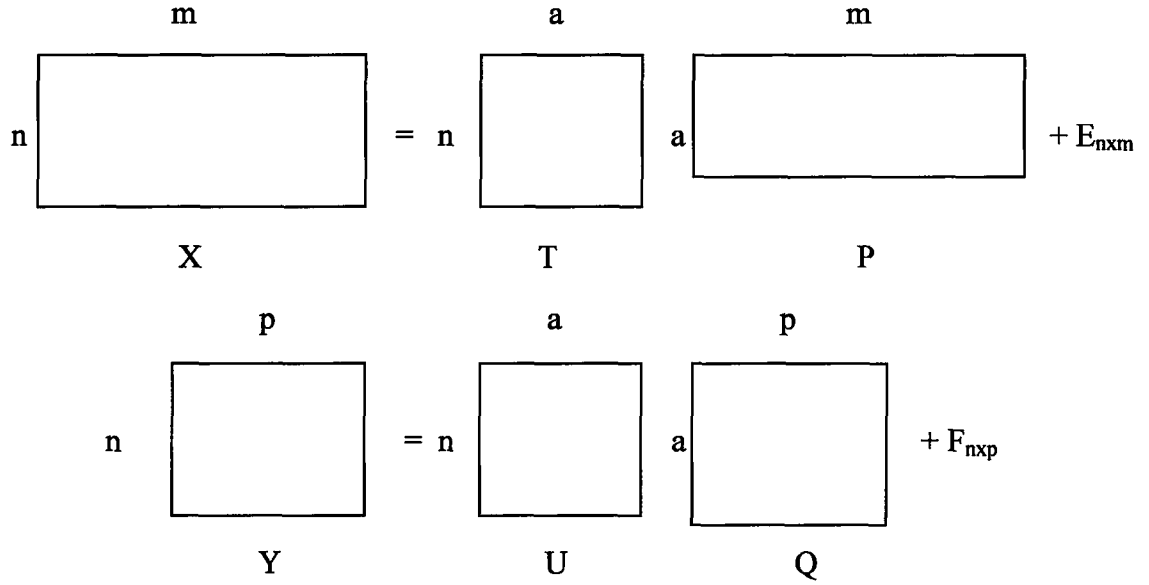
Q= Konsantrasyon yükleme matrisi

E ve F = Hata matrisleri

n= Örnek sayısı (spektrumlar)

m= Dalga boyu sayısı

p=Bilinen bileşenler



Şekil 2.3 Spektral veri matrisinin ve konsantrasyon matrisinin skor ve faktörlere parçalanması

Kısmi en küçük kareler X ve Y için ayrı ayrı dış bağıntıları ve her iki matrisi birbirine bağlayan iç bağıntıyı bulma işlemlerini içerir. Dış bağıntılar aşağıdaki denklemlerle gösterilebilir.

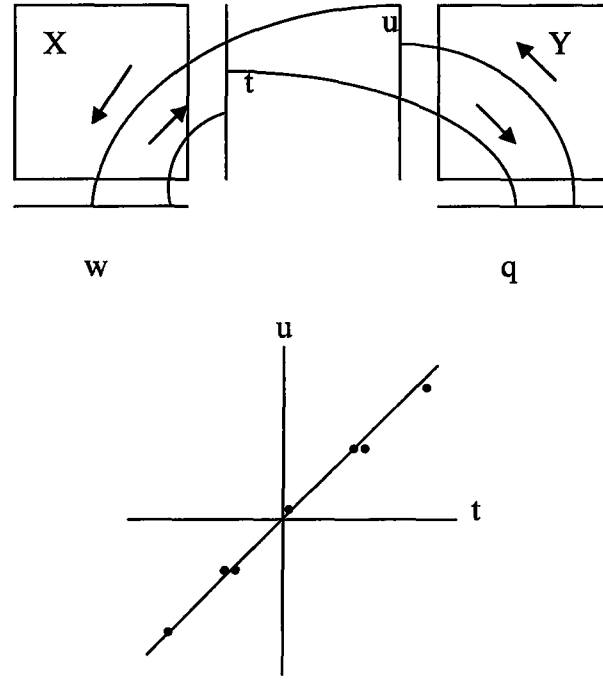
$$X = TP' + E \quad (2.8)$$

$$Y = UQ' + F \quad (2.9)$$

Burada E ve F deneysel belirsizlikten olduğu kadar modelin uygunsuzluğundan ortaya çıkan hata matrisleridir. İç bağıntı ise aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$U = TW \quad (2.10)$$

Hesaplama $|X - TP'|$ ve $|Y - UQ'|$ eşitliklerinin her ikisinde minimum oluncaya kadar X ve Y matrisleri hesaplanır. Uygulamada bu hesaplama, sırasıyla w_1 , t_1 , q_1 , u_1 ve p_1 'in bulunmasıyla olur. Bu işlemde bir w_1 değerinden başlanır ve uygunluk sağlanıncaya kadar işlem tekrarlanır (Şekil 2.5).



Şekil 2.4 PLS yönteminin şematik gösterilişi

Daha sonra, bileşen vektörlerinin dış çarpımları X ve Y matrislerinden çıkarılır ve artık matrisler elde edilir. İkinci ana bileşenleri bulmak için (w_2, t_2, q_2, u_2 ve p_2), X ve Y matrisleri artık matrisleri ile yer değiştirildikten sonra işlem tekrarlanır ve artık kareler toplamı yeterli minimuma ulaşıncaya kadar üçüncü, dördüncü ve diğer özvektörler benzer şekilde çıkarılır.

PLS modeline ait algoritma aşağıda verilmiştir. (Martens ve Naes, 1989)

$$X_0 = X - 1\bar{x}' \quad \text{ve} \quad Y_0 = Y - 1\bar{y}$$

$$X_{a-1} = \hat{u}_a w_a' + E \quad (2.11)$$

$$\hat{w}_a = c X_{a-1}' \hat{u}_a \quad (2.12)$$

$c = w_a$ 'nın son boyutunu 1'e eşitlemek için kullanılan skala faktörü.

$$c = (\hat{u}' X_{a-1} X_{a-1}' \hat{u}_a)^{-0,5} \quad (2.13)$$

$$X_{a-1} = t_a w_a' + E \quad (2.14)$$

$\hat{w}_a' \hat{w}_a = 1$ olduğundan,

$$\hat{t}_a = X_{a-1} \hat{w}_a \quad (2.15)$$

$$\mathbf{X}_{a-1} = \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{p}'_a + \mathbf{E} \quad (2.16)$$

$$\hat{\mathbf{p}}_a = \mathbf{X}'_{a-1} \hat{\mathbf{t}}_a / \hat{\mathbf{t}}'_a \hat{\mathbf{t}}_a \quad (2.17)$$

$$\mathbf{Y}_{a-1} = \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{q}_a + \mathbf{F} \quad (2.18)$$

$$\hat{\mathbf{q}}_a = \mathbf{Y}'_{a-1} \hat{\mathbf{t}}_a / \hat{\mathbf{t}}'_a \hat{\mathbf{t}}_a \quad (2.19)$$

$$\mathbf{Y}_{a-1} = \mathbf{u}_a \hat{\mathbf{q}}'_a + \mathbf{F} \quad (2.20)$$

$$\hat{\mathbf{u}}_a = \mathbf{Y}_{a-1} \hat{\mathbf{q}}_a (\hat{\mathbf{q}}'_a \hat{\mathbf{q}}_a)^{-1} \quad (2.21)$$

Faktör çarpımlarının X ve Y matrislerinden çıkarılmasıyla yeni X ve Y artık matrisleri elde edilir.

$$\hat{\mathbf{E}} = \mathbf{X}_{a-1} - \hat{\mathbf{t}}_a \hat{\mathbf{p}}'_a \quad (2.22)$$

$$\hat{\mathbf{F}} = \mathbf{Y}_{a-1} - \hat{\mathbf{u}}_a \hat{\mathbf{q}}'_a \quad (2.23)$$

Daha sonra E ve F , X ve Y matrislerinin yerine geçer.

$$\mathbf{X}_a = \hat{\mathbf{E}}$$

$$\mathbf{Y}_a = \hat{\mathbf{F}}$$

$$\mathbf{a} = \mathbf{a} + 1$$

Kalibrasyon modelinde yeterli sayıda PLS faktörü elde edilene kadar işlemlere devam edilir.

Elde edilen B katsayısı,

$$\hat{\mathbf{B}} = \hat{\mathbf{W}} (\hat{\mathbf{P}}' \hat{\mathbf{W}})^{-1} \mathbf{Q} \quad (2.24)$$

$$\mathbf{b}'_0 = \bar{\mathbf{y}} - \bar{\mathbf{x}}' \hat{\mathbf{B}} \quad (2.25)$$

$$\hat{\mathbf{y}}_i = \mathbf{b}_0 + \mathbf{x}'_i \hat{\mathbf{b}} \quad (2.26)$$

Kısmi en küçük karelerin çoklu regresyondan en önemli farkı ortogonal vektörleri çıkarma yeteneğidir. Böylece çoklu regresyon analizinde en önemli problem olan lineer bağımlılıktan kaçınılmış olur. (2.4) eşitliğinde görüldüğü gibi $\mathbf{X}'\mathbf{X}$ matrisinin tersi alınmaktadır. Bu ise

X'in sütunlarının lineer olarak bağımsız olmasını gerektirir. Kısmi en küçük kareler yöntemi ortagonal vektörlerin çıkarılmasında ana bileşen regresyonuna benzer. Fakat PLS'de ana bileşenler X matrisinden hesaplanır ve Y matrisi ile birleştirilir oysa PCR'da bileşenler sadece X matrisinden hesaplanır. Bundan dolayı PLS, kalibrasyon verilerinin sistemin bütün bileşenlerini içermediği durumlarda daha iyi tahmin gücüne sahip olur.



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

3.1.1 İlaç Maddeleri ve Analiz Örnekleri

Essin, dietilamin salisilat, “Reparil-gel”, lidokain hidroklorür, mepiramin maleat, dekspantenol, “Stilex-jel” Abdi İbrahim İlaç San. *; Psödoefedrin hidroklorür, Plantafarma İlaç San. *; Dekstrometorfan hidrobromür, İlsan İltaş İlaç San. *; Triprolidin hidroklorür ve “Actidem Şurup” Glaxo-Wellcome İlaç San. * tarafından karşılanmıştır.

3.1.2 Kimyasal Madde ve Çözücüler

Demir (III) klorür, salisilik asit, sodyum hidroksit, etil alkol, kloroform, eter, propanol, metanol, asetik asit, sülfirik asit, hidroklorik asit (Merck) ve distile su kullanıldı.

3.1.3 Çözeltiler

Essin ve dietilamin salisilat analizinde kullanılan çözeltiler:

Essin standart çözeltisi (1) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda etil alkoldeki çözeltisi.

Essin standart çözeltisi (2) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda asetik asit içindeki çözeltisi.

Essin stok çözeltisi (3) : $4000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda metanoldeki çözeltisi.

Dietilamin salisilat standart çözeltisi (4) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda etil alkoldeki çözeltisi.

Dietilamin salisilat standart çözeltisi (5) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda asetik asit içindeki çözeltisi.

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain hidroklorür analizinde kullanılan çözeltiler:

Dekspantenol stok çözeltisi (6) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Dekspantenol standart çözeltisi (6a) : $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Dekspantenol stok çözeltisi (7) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda metanoldeki çözeltisi.

Mepiramin maleat stok çözeltisi (8) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Mepiramin maleat standart çözeltisi (8a) : $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Mepiramin maleat stok çözeltisi (9) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda metanoldeki çözeltisi.

* Etken ve mamül maddelerin sağlanmasındaki yardımlarından dolayı adı geçen firmalara teşekkür ederim.

Lidokain HCl stok çözeltisi (10) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.
 Lidokain HCl standart çözeltisi (10a) : $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.
 Lidokain HCl stok çözeltisi (11) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda metanoldeki çözeltisi.

Dekstrometorfan hidrobromür, psödoefedrin hidroklorür ve triprolidin hidroklorür analizinde kullanılan çözeltiler:

Dekstrometorfan HBr standart çözeltisi (12) : $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Psödoefedrin HCl standart çözeltisi (13) : $3000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Triprolidin HCl standart çözeltisi (14) : $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Diğer Çözeltiler:

Demir (III) klorür çözeltisi : 1 g 'ı 100 mL suda hazırlandı.

Asitli demir (III) klorür çözeltisi : 75 mg demir (III) klorür % 96 'lık asetik asitte çözüldü ve 50 mL H_2SO_4 ilave edilerek karıştırıldı.

Salisilik asit stok çözeltisi : 327 mg'ı 1000 mL suda hazırlandı.

N HCl, 0,02 N H_2SO_4 , 1 M H_2SO_4 , 0,1 M H_2SO_4 , 5 M NaOH, 0,1 N NaOH, % 96 asetik asit.

3.2 Alet ve Diğer Gereçler

- 1) Spektrofotometreler (Unicam UV2-100 UV-VIS ve Philips 8700 UV-VIS)
- 2) Analitik terazi (Sartorius A 200B, 0,1 mg'a kadar duyarlı)
- 3) Santrifüj (Nüve NF 615)
- 4) Elektrikli ısıtıcı (Nüve HP 121)
- 5) Karıştırıcı (Cenco)
- 6) Evaporatör (Heidulph Laborota 4001)
- 7) 1 cm'lik kuvartz küvetler (Hellma, 10x10x45 mm)

3.3 Yöntemler

3.3.1 Essin ve Dietilamin Salisilat Karışımının Analizi

Essin ve dietilamin salisilatın birarada analizi için PLS yöntemi geliştirildi ve yöntem “Reparil-gel” preparatlarına ve farklı konsantrasyonda hazırlanmış plasebo örneklerine uygulandı. İkinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrik yöntem kullanıldı ve bu yöntemin uygunluğu araştırıldı. Kıyas yöntemi olarak essin ve dietilamin salisilatın demirle yaptığı kompleksinin absorpsiyon ölçümüne dayanan spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

3.3.1.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

3.3.1.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması

Essin ve dietilamin salisilatın kalibrasyon seti 3 seviyeli 2 faktörlü tam deneysel tasarıma göre hazırlandı (Montgomery, 1997). Buna göre 9 adet 10 mL’lik balon joje kullanıldı. Balon jojelerden ilk üçüne $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonundaki dietilamin salisilat çözeltisinden (çözelti 4) sırasıyla 0,4, 0,5, 0,6 mL, $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonundaki essin çözeltisinden (çözelti 1) herbirine 0,1 mL, diğer üçüne çözelti 4’den aynı miktarlarda çözelti 1’den herbirine 0,2 mL, son üçüne ise çözelti 4’den aynı miktarlarda çözelti 1’den herbirine 0,3 mL konuldu ve etil alkolle hacimlerine tamamlandı. Herbir çözeltinin 200-325 nm arasında 5’er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler Martens ve Naes’in (1989) algoritmasına göre yazılmış PLS programında değerlendirildi. Kalibrasyon koşullarının belirlenmesi ilgili şekil ve tablolar Bölüm 4.1.1.1’de verilmiştir.

3.3.1.1.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Essin dietilamin salisilat içeren jel preparatlarının analizi için , 0,1 g “Reparil-gel” 100 mL’lik balon joje içine mg’ın 1/10’i duyarlılıkta tartıldı. 50 mL etil alkol ilavesi ile 10 dakika çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra etil alkolle hacmine tamamlandı. Çözelti mavi bantlı süzgeç kağıdından süzildükten sonra 200-325 nm arasında 5’er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.1.1.2’de bildirilmiştir.

3.3.1.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

“Reparil-gel” plasebosunda hazırlanmış üç farklı konsantrasyonda ($10, 20, 30 \mu\text{g mL}^{-1}$) essin ve ($40, 50, 60 \mu\text{g mL}^{-1}$) dietilamin salisilat örnekleri ile Bölüm 3.3.1.1.2’de anlatıldığı gibi çalışıldı. Analizler aynı gün içinde 3 kez ve 1 ay içinde 4 farklı günde yapıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.1.1.3’de bildirilmiştir.

3.3.1.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

3.3.1.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Etil alkolde hazırlanmış standart çözeltiler kullanılarak (çözelti 1 ve çözelti 4) $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ essin ve $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ dietilamin salisilat çözeltileri hazırlandı ve 3. ve 4. türev eğrileri üst üste çakıştırıldı. Spektrumlar Bölüm 4.1.2.1’de verilmiştir.

3.3.1.2.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

0,2 g jel 100 mL’lik balon joje içine mg’ın 1/10’i duyarlılıkta tartıldı ve Bölüm 3.3.1.1.2 ’deki şartlarda hazırlanarak 3. ve 4. türev spektrumu alındı.

3.3.1.3 Kıyas Yöntemi

Kıyas yöntemi olarak ilaç fabrikasının (Santafarma İlaç AŞ.) uyguladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Yöntemin geliştirilmesi ilgili ilaç fabrikasına ait olduğu için kaynak gösterilmemiştir.

3.3.1.3.1 Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Essin Analizi:

0,1 g essinin 25 mL metanolde hazırlanmış (çözelti 3) stok çözeltisinden 5 mL bir behere alındı. Çözelti uçurulduktan sonra 40 mL % 96 ‘lık asetik asit çözeltisinde çözüldü. Bir tüp içine bu çözeltiden 1 mL konuldu ve üzerine 4 mL asitli demir (III) klorür çözeltisi ilave edildikten sonra 60°C ’de 25 dakika ısıtıldı. 5 dakika santrifüj edildikten sonra 540 nm’de absorpsiyonu ölçüldü.

Dietilamin Salisilat Analizi:

0,327 g salisilik asitin 1000 mL suda hazırlanmış stok çözeltisinden alınan 10 mL, 100 mL’lik balon joje içine konuldu. Üzerine 50 mL 0,02 N H_2SO_4 çözeltisi ve 5 mL demir (III) klorür çözeltisi eklendikten sonra suyla hacmine tamamlandı. 535 nm’de absorpsiyonu ölçüldü.

3.3.1.3.2 Jel İçinde Miktar Tayini

Essin Tayini:

1 g “Reparil-gel” tartılarak 15 mL 0,1 N HCl çözeltisi ile karıştırıldı ve ayırma hunisine alındı. 3 kez 25 mL eterle ekstre edildi. Eterli kısımlar bir başka ayırma hunisine alındıktan sonra 2 kez 0,1 N HCl çözeltisi ile ekstre edildi. Asitli kısımlar diğer bir ayırma hunisinde kloroform : propanol (100 : 40) çözeltisi ile 2 kez ekstre edildi. Toplanan çözelti uçurulduktan sonra 5 mL metanolde tekrar çözüldü ve uçuruldu. Daha sonra 40 mL asetik asitte çözüldü. Bu çözeltiden 1 mL bir tüp içine alındı, üzerine 4 mL asitli demir (III) klorür çözeltisinden

ilave edildikten sonra 60 °C de 25 dakika ısıtıldı ve 5 dakika santrifüjlendikten sonra 540 nm’de absorpsiyonu ölçüldü.

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapıldı:

$$\frac{\text{Numune Absorbansı} \times \text{Standart Tartımı}}{\text{Standart Absorbansı} \times \text{Numune Tartımı}} \times 20 = \% \text{ Essin}$$

Dietilamin Salisilat Tayini:

0,2 g “Reparil gel” tartıldı ve üzerine 25 mL 0,02 N H₂SO₄ ilave edildikten sonra 100 mL’ye su ile tamamlandı. Mavi bantlı süzgeç kağıdından süzildükten sonra 50 mL’si 100 mL’lik balon jofeye konuldu ve üzerine 5 mL demir (III) klorür çözeltisinden ilave edildikten sonra suyla hacmine tamamlandı. 535 nm’de absorpsiyonu ölçüldü. Hesaplama aşağıdaki şekilde yapıldı:

$$\frac{\text{Numune Absorbansı} \times \text{Standart Tartımı}}{\text{Standart Absorbansı} \times \text{Numune Tartımı}} \times 2 = \% \text{ Salisilik Asit}$$

Salisilik asit miktarından stokiometrik dietilamin salisilat miktarına geçildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.1.1.2’de bildirilmiştir.

3.3.2 Dekspantenol, Mepiramin Maleat ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain hidroklorürün birarada analizi için PLS yöntemi geliştirildi ve yöntem “Stilex-jel” preparatlarına ve farklı konsantrasyonda hazırlanmış plasebo örneklerine uygulandı. İkinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrik yöntem kullanıldı ve bu yöntemin uygunluğu araştırıldı.

3.3.2.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

3.3.2.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl’nin kalibrasyon seti 3 seviyeli 3 faktörlü tam deneysel tasarıma göre hazırlandı. Buna göre 27 adet 10 mL’lik balon jofe kullanıldı. 100 µg mL⁻¹ standart dekspantenol çözeltisinden (çözelti 6a) ilk 9 balon jofeye ve takiben diğer 18

balon jojeye aynı miktarları tekrarlamak üzere sırasıyla 0,8, 0,8, 0,8, 1, 1, 1, 1,2, 1,2, 1,2 mL, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ standart mepiramin maleat çözeltisinden (çözelti 8a) ilk 3 balon jojeye ve takiben diğer 24 balon jojeye sırasıyla 0,2, 0,3, 0,4 mL, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ standart lidokain HCl çözeltisinden (çözelti 10a) ilk 9 balon jojeye 0,2 mL, diğer 9 balon jojeye 0,3 mL, son 9 balon jojeye ise 0,4 mL konuldu ve su ile hacimlerine tamamlandı. Herbir çözeltinin 190-350 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Kalibrasyon koşullarının belirlenmesi, ilgili şekil ve tablolar Bölüm 4.2.1.1'de verilmiştir.

3.3.2.1.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl içeren jel preparatlarının analizi için, 0,1 g "Stilex-jel" 100 mL'lik balon joje içine mg'ın 1/10'i duyarlılıkta tartıldı. 50 mL su ilavesi ile 10 dakika çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra suyla hacmine tamamlandı. Çözelti mavi bantlı süzgeç kağıdından süzöldükten sonra bu çözeltiden 2 mL alınıp 10 mL'ye suyla tamamlandı ve 190-350 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.1.2.1'de bildirilmiştir.

3.3.2.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

"Stilex-jel" plasebosunda hazırlanmış üç farklı konsantrasyonda ($8, 10, 12 \mu\text{g mL}^{-1}$) dekspantenol, ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) mepiramin maleat ve ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) lidokain HCl örnekleri ile Bölüm 3.3.2.1.2'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Analizler aynı gün içinde 3 kez ve 1 ay içinde 4 farklı günde yapıldı. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.2.1.3'de bildirilmiştir.

3.3.2.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

3.3.2.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Su ve metanolde hazırlanmış standart çözeltiler kullanılarak (çözelti 6 ve 7, çözelti 8 ve 9, çözelti 10 ve 11) $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ dekspantenol, $90 \mu\text{g mL}^{-1}$ mepiramin maleat ve $90 \mu\text{g mL}^{-1}$ lidokain HCl çözeltileri hazırlandı ve 1. türev eğrileri üst üste çakıştırıldı. Spektrumlar Bölüm 4.2.2.1'de verilmiştir.

3.3.3 Dekstrometorfan Hidrobomür, Psödoefedrin Hidroklorür ve Triprolidin Hidroklorür Karışımının Analizi

Dekstrometorfan hidrobomür, psödoefedrin hidroklorür ve triprolidin hidroklorürün birarada analizi için PLS yöntemi geliştirildi ve yöntem "Actidem şurup" preparatlarına ve farklı konsantrasyonda hazırlanmış plasebo örneklerine uygulandı. İkinci bir yöntem olarak türev

spektrofotometrik yöntemden yararlanıldı ve bu yöntem kıyas yöntemi olarak kullanıldı.

3.3.3.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

3.3.3.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl'nin kalibrasyon seti 3 seviyeli 3 faktörlü tam deneysel tasarıma göre hazırlandı. Buna göre 27 adet 10 mL'lik balon joje kullanıldı. 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ standart dekstrometorfan HBr çözeltisinden (çözelti 12) ilk 9 balon jojeye ve takiben diğer 18 balon jojeye aynı miktarları tekrarlamak üzere sırasıyla 0,6, 0,6, 0,6, 0,8, 0,8, 0,8, 1, 1, 1 mL, 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ standart psödoefedrin HCl çözeltisinden (çözelti 13) ilk 3 balon jojeye ve takiben diğer 24 balon jojeye sırasıyla 0,6, 0,8, 1 mL, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ standart triprolidin HCl çözeltisinden (çözelti 14) ilk 9 balon jojeye 0,8 mL, diğer 9 balon jojeye 1 mL, son 9 balon jojeye ise 1,2 mL konuldu. Herbir çözeltinin üzerine 1 mL 1 M H_2SO_4 ilave edildikten sonra su ile hacimlerine tamamlandı ve 230-320 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Kalibrasyon koşullarının belirlenmesi, ilgili şekil ve tablolar Bölüm 4.3.1.1'de verilmiştir.

3.3.3.1.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl içeren şurup örneklerinin analizi için 10 mL "Actidem Şurup", 30 mL su içeren ayırma hunisine alındı. 2 mL 5 M NaOH ile alkali hale getirildikten sonra 3 kez 20 mL kloroformla ekstre edildi. Kloroform çözeltileri 2, bir ayırma hunisinde toplandı ve 20, 15, 10 mL 0,1 M H_2SO_4 ile ekstre edildi. Asidik çözeltiler 50 mL'lik balon jodede biriktirildi ve 0,1 M H_2SO_4 ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 2 mL 10 mL'lik balon jojeye konuldu ve üzerine 0,6 mL 1M H_2SO_4 eklenerek suyla hacmine tamamlandı (Davidson ve Mkoji, 1988). Çözeltinin 230-320 nm arası 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.3.1.2'de bildirilmiştir.

3.3.3.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

"Actidem şurup" plasebosunda hazırlanmış üç farklı konsantrasyonda (60, 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dekstrometorfan HBr, (180, 240, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$) psödoefedrin HCl ve (8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$) triprolidin HCl örnekleri ile Bölüm 3.3.3.1.2'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Analizler aynı gün içinde 3 kez ve 1 ay içinde 4 farklı günde yapıldı. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.3.1.3'de bildirilmiştir.

3.3.3.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

3.3.3.2.1 Ölçü Eğrilerinin hazırlanması

Dekstrometorfan HBr'e ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 10 mL'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 12'den sırasıyla 0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,2 mL ve herbirine çözelti 13'den 0,8 mL, çözelti 14'den 1 mL konuldu. Bu karışımların üzerine 1 mL 1M H₂SO₄ ilave edildikten sonra su ile hacimlerine tamamlandı. Çözeltilerin 1. türev absorbans değerleri (¹D₂₉₁) okundu. Bu değerlerle konsantrasyonlar arasında grafik çizilerek ölçü eğrisi oluşturuldu ve eğriye ait doğru denklemi en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

Psödoefedrin HCl'ye ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 10 mL'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 13'den sırasıyla 0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,2 mL ve herbirine çözelti 12'den 0,8 mL, çözelti 14'den 1 mL konuldu. Bu karışımların üzerine 1 mL 1M H₂SO₄ ilave edildikten sonra su ile hacimlerine tamamlandı. Çözeltilerin 2. türev spektrumundan 257 ve 260 nm'lerdeki pik-pik toplamları okundu. Bu değerlerle konsantrasyonlar arasında grafik çizilerek ölçü eğrisi oluşturuldu ve eğriye ait doğru denklemi en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

Triprolidin HCl'ye ait ölçü eğrisinin hazırlanması için 10 mL'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 14'den sırasıyla 0,6, 0,8, 1, 1,2, 1,4 mL ve herbirine çözelti 12'den 0,8 mL, çözelti 13'den 0,8 mL konuldu. Bu karışımların üzerine 1 mL 1M H₂SO₄ ilave edildikten sonra su ile hacimlerine tamamlandı. Çözeltilerin 1.türev absorbans değerleri (¹D₃₀₃) okundu. Bu değerlerle konsantrasyonlar arasında grafik çizilerek ölçü eğrisi oluşturuldu ve eğriye ait doğru denklemi en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı. İlgili spektrumlar ve ölçü eğrileri Bölüm 4.3.2.1'de verilmiştir.

3.3.3.2.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Şurup örneği (Actidem) Bölüm 3.3.3.1.2' de anlatıldığı gibi çalışıldı ve 1. ve 2. türev spektrumları alındı. 1. derece türev spektrumundan dekstrometorfan HBr için 291 nm' de ve triprolidin HCl için 303 nm'de absorbans değerleri, 2. türev spektrumundan psödoefedrin HCl için 257 ve 260 nm'de pik-pik absorbans değerleri toplamı okundu. Bu değerlerin ölçü eğrisindeki karşılıkları bulunarak şuruptaki madde miktarları tayin edildi. Uygulanan bu metot kıyas yöntemi olarak kullanıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.3.1.2'de bildirilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Essin ve Dietilamin Salisilat Karışımının Analizi

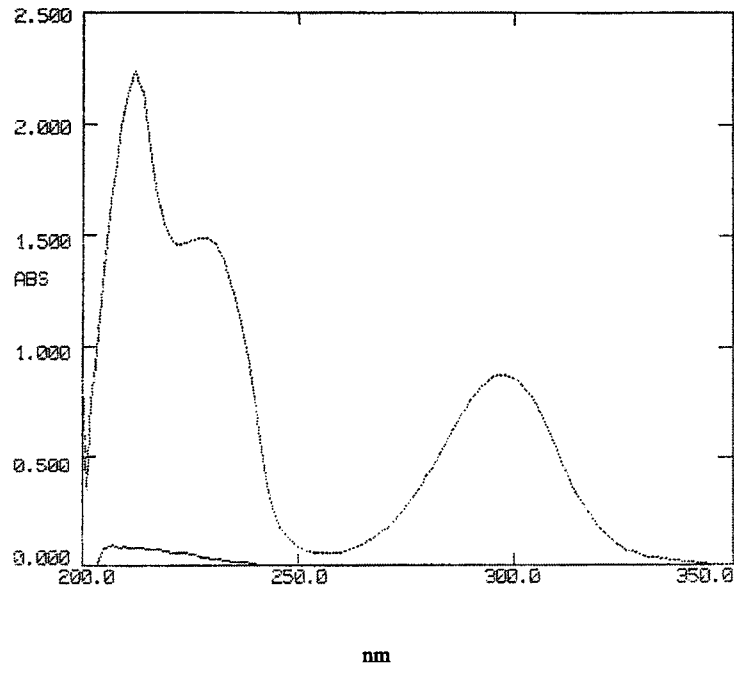
4.1.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

4.1.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi

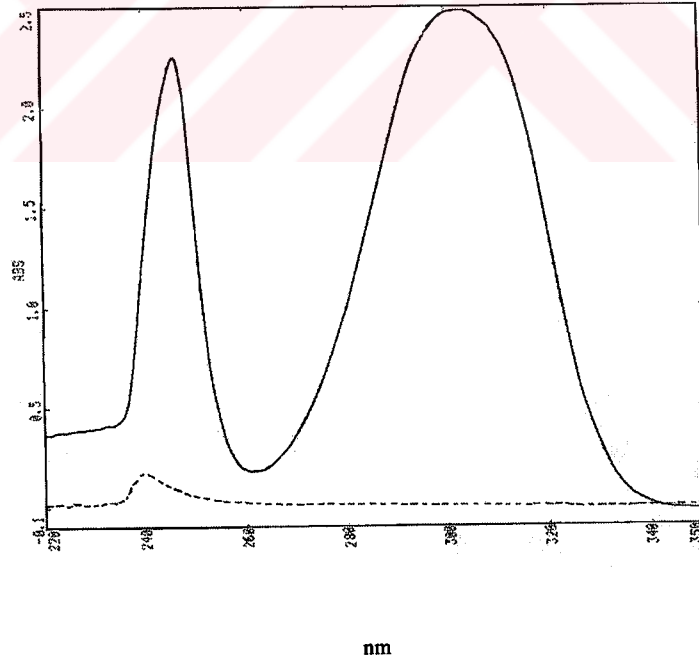
Essin ve dietilamin salisilat analizi için kalibrasyon seti oluşturulurken uygun koşulların saptanması amacıyla çeşitli çözücü sistemleri denendi ve “Reparil-gel” içindeki oranları (1:5) göz önünde tutularak $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda essin, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda dietilamin salisilatın etil alkolde (Şekil 4.1) ve $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda essin, $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda dietilamin salisilatın asetik asit-0,1 N HCl karışımındaki (Şekil 4.2) spektrumları çekildi. Asetik asitin 240 nm civarında yüksek absorpsiyon göstermesi essin spektrumunda sürekli değişime neden olduğu için etil alkol en uygun çözücü olarak saptandı. Konsantrasyon aralıkları belirlenirken dietilamin salisilatın, essine göre hem ilaç preparatı içinde miktarının, hem de molar absorptivitesinin büyük olması ve yüksek konsantrasyonlarda 200-250 nm arasında absorpsiyon spektrumunda değişiklikler göstermesi (Şekil 4.3) göz önünde tutuldu ve dietilamin salisilatın spektrumunun bozulmadığı maksimum konsantrasyon, essininde absorpsiyonunu görebileceğimiz minimum konsantrasyon olacak şekilde seviyeler tespit edildi. Buna göre PLS kalibrasyon modelini kurmak üzere en uygun seviyeler dietilamin salisilat için 40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$, essin için 10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi ve kalibrasyon matrisini oluşturmak üzere 9 adet çözelti hazırlandı. Bu tasarımda kalibrasyon çözeltileri hazırlanırken karışımların bütün etkileşim etkilerini göstermek amacıyla, karışım bileşenlerinin birbirlerine göre miktarları kademeli olarak artırılıp azaltılmıştır. Bölüm 3.3.1.1.1’ deki gibi çalışılarak elde edilen absorpsiyon değerleri ve karşılık gelen karışım konsantrasyonları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. PLS algoritmasına göre çözümlenmiş kalibrasyon bağıntısı aşağıdaki gibidir:

$$\begin{aligned} C_{ES} = & 35,3889 - 45,20A_1 + 12,49A_2 - 39,71A_3 + 132,09A_4 - 71,52A_5 + 93,09A_6 + 33,58A_7 \\ & + 29,33A_8 + 17,46A_9 + 3,41A_{10} - 3,90A_{11} - 0,29A_{12} - 7,10A_{13} - 10,78A_{14} - 21,27A_{15} \\ & - 27,12A_{16} - 41,42A_{17} - 51,54A_{18} - 47,51A_{19} - 44,60A_{20} - 45,01A_{21} - 23,73A_{22} - 8,94A_{23} \\ & - 6,77A_{24} - 21,48A_{25} \end{aligned}$$

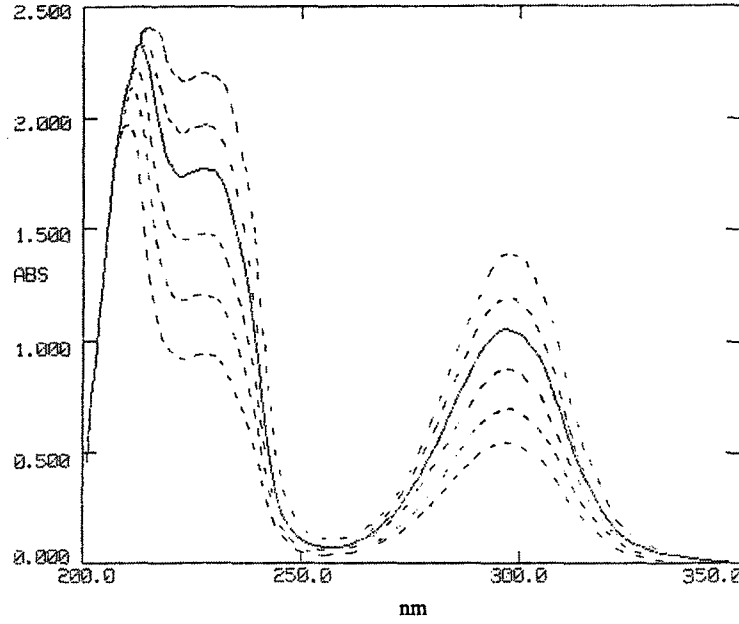
$$\begin{aligned} C_{DA} = & -14,6675 + 7,29A_1 - 0,36A_2 + 10,94A_3 - 12,62A_4 + 16,26A_5 - 7,79A_6 - 0,24A_7 - 1,42A_8 \\ & - 1,72A_9 - 0,26A_{10} + 0,63A_{11} + 0,13A_{12} + 0,19A_{13} + 1,93A_{14} + 3,75A_{15} + 5,10A_{16} \\ & + 7,68A_{17} + 9,67A_{18} + 9,46A_{19} + 9,03A_{20} + 8,75A_{21} + 5,05A_{22} + 2,26A_{23} + 1,45A_{24} + 3,23A_{25} \end{aligned}$$



Şekil 4.1 Essin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve dietilamin salisilatın ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) etil alkoldeki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.2 Essin ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$) (-----) ve dietilamin salisilatın ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) asetikasit-0,1 N HCl karışımındaki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.3 Dietilamin salisilatın (30, 40, 50, 60, 70, 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$) etil alkoldeki absorpsiyon spektrumları

4.1.1.2 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması

“Reparil-gel” içinde essin ve dietilamin salisilat miktarları Bölüm 3.3.1.1.2’de anlatıldığı gibi çalışılarak PLS yöntemi ile tayin edildi. Örneklerin absorbans değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçların kıyaslanması amacıyla aynı jel örnekleri ilaç firmasının kullandığı spektrofotometrik yöntemle analiz edildi. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.7’de toplu olarak verilmiştir.

4.1.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

Üç farklı konsantrasyonda (10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) essin ve (40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dietilamin salisilat içeren plasebo örnekleri ile Bölüm 3.3.1.1.3’de anlatıldığı gibi çalışıldı. Aynı gün içinde yapılan analizlerde her bir örnek 3 kez çalışıldı. Çözeltilere ait absorbans değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.3’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma (%s), geri kazanım (%R) ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri Çizelge 4.5’de gösterilmiştir.

1 ay içinde 4 farklı günde yapılan analizlerdeki çözeltilere ait absorbans değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.4’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma, geri kazanım ve bağıl tahmin hatası değerleri Çizelge 4.6’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 PLS yöntemine göre essin ve dietilamin salisilat karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C(mg mL ⁻¹)			Dalga Boyu(λ)																								
DA	ES		205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325
40	10		1,303	2,049	1,736	1,284	1,244	1,229	1,012	0,621	0,193	0,082	0,061	0,065	0,088	0,141	0,224	0,344	0,479	0,608	0,697	0,687	0,595	0,428	0,253	0,140	0,073
50	10		1,318	2,061	2,032	1,571	1,525	1,508	1,254	0,772	0,236	0,101	0,072	0,077	0,106	0,173	0,276	0,428	0,598	0,758	0,868	0,857	0,743	0,533	0,314	0,172	0,087
60	10		1,348	2,112	2,216	1,830	1,769	1,765	1,485	0,916	0,272	0,108	0,075	0,080	0,117	0,196	0,323	0,505	0,709	0,904	1,036	1,024	0,890	0,636	0,372	0,200	0,102
40	20		1,313	2,063	1,803	1,343	1,292	1,257	1,026	0,625	0,187	0,073	0,050	0,054	0,077	0,131	0,214	0,336	0,471	0,602	0,692	0,683	0,591	0,421	0,247	0,135	0,065
50	20		1,306	2,062	2,071	1,623	1,566	1,541	1,272	0,782	0,240	0,100	0,071	0,075	0,104	0,170	0,274	0,424	0,593	0,754	0,863	0,853	0,739	0,530	0,314	0,173	0,086
60	20		1,329	2,103	2,250	1,879	1,831	1,802	1,516	0,936	0,283	0,113	0,079	0,083	0,121	0,200	0,327	0,508	0,713	0,910	1,041	1,031	0,894	0,640	0,380	0,204	0,101
40	30		1,312	2,085	1,867	1,438	1,371	1,323	1,075	0,655	0,199	0,080	0,053	0,058	0,081	0,134	0,219	0,345	0,480	0,614	0,706	0,698	0,604	0,434	0,256	0,138	0,065
50	30		1,367	2,146	2,087	1,676	1,615	1,571	1,294	0,791	0,240	0,096	0,065	0,070	0,098	0,165	0,267	0,419	0,588	0,750	0,861	0,850	0,737	0,529	0,313	0,170	0,083
60	30		1,348	2,129	2,296	1,958	1,907	1,884	1,572	0,973	0,294	0,117	0,080	0,086	0,122	0,205	0,333	0,521	0,732	0,932	1,071	1,059	0,918	0,659	0,389	0,210	0,101

Çizelge 4.2 “Reparil-gel” örneklerinin analizine ait absorpsiyon değerleri

Örnek	Dalga Boyu(λ)																								
	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325
1	1,152	2,091	2,070	1,652	1,594	1,572	1,310	0,818	0,267	0,116	0,083	0,087	0,116	0,180	0,286	0,434	0,602	0,761	0,867	0,856	0,746	0,538	0,318	0,178	0,091
2	1,153	2,021	2,127	1,676	1,633	1,606	1,343	0,839	0,276	0,124	0,090	0,095	0,123	0,189	0,299	0,451	0,623	0,787	0,896	0,884	0,770	0,557	0,333	0,186	0,098
3	1,400	2,165	2,114	1,655	1,601	1,578	1,313	0,809	0,261	0,114	0,081	0,085	0,114	0,182	0,289	0,436	0,611	0,772	0,878	0,867	0,754	0,541	0,319	0,177	0,089
4	1,452	2,149	2,146	1,703	1,655	1,636	1,366	0,849	0,281	0,126	0,092	0,095	0,125	0,194	0,302	0,456	0,634	0,799	0,906	0,896	0,780	0,563	0,334	0,188	0,098
5	1,411	1122	2,055	1,584	1,534	1,516	1,256	0,775	0,251	0,111	0,080	0,085	0,113	0,175	0,276	0,418	0,583	0,787	0,834	0,826	0,716	0,518	0,304	0,171	0,085

Çizelge 4.3 Aynı günde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizine ait absorbands-konsantrasyon çizelgesi

Gün	C(µg mL ⁻¹)		Dalga Boyu(λ)																									
	DA	ES	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	
1	40	10	1,332	2,116	1,738	1,269	1,239	1,219	1,001	0,616	0,183	0,073	0,098	0,053	0,076	0,127	0,209	0,328	0,462	0,592	0,678	0,673	0,585	0,417	0,242	0,130	0,060	
	50	20	1,306	2,062	2,071	1,631	1,595	1,564	1,289	0,791	0,237	0,095	0,064	0,072	0,099	0,167	0,270	0,421	0,589	0,753	0,862	0,856	0,742	0,531	0,309	0,168	0,081	
	60	30	1,348	2,129	2,296	1,923	1,895	1,855	1,527	0,939	0,284	0,117	0,079	0,083	0,118	0,196	0,317	0,498	0,698	0,891	1,018	1,010	0,880	0,630	0,366	0,197	0,097	
2	40	10	1,347	2,076	1,683	1,281	1,256	1,235	1,018	0,625	0,179	0,066	0,042	0,098	0,072	0,126	0,211	0,332	0,469	0,598	0,686	0,680	0,590	0,421	0,246	0,125	0,063	
	50	20	1,357	2,131	2,025	1,594	1,558	1,524	1,254	0,762	0,212	0,072	0,043	0,098	0,082	0,145	0,251	0,400	0,569	0,732	0,841	0,834	0,723	0,518	0,294	0,148	0,070	
	60	30	1,118	2,157	2,200	1,802	1,855	1,837	1,508	0,917	0,260	0,094	0,055	0,101	0,180	0,305	0,484	0,686	0,879	1,010	1,003	1,003	0,868	0,618	0,355	0,182	0,085	
3	40	10	1,303	2,049	1,736	1,285	1,258	1,235	1,018	0,620	0,183	0,071	0,049	0,052	0,077	0,134	0,215	0,335	0,475	0,604	0,688	0,681	0,590	0,420	0,247	0,131	0,064	
	50	20	1,259	1,967	1,987	1,620	1,581	1,549	1,271	0,777	0,232	0,092	0,064	0,068	0,096	0,163	0,264	0,417	0,589	0,748	0,854	0,843	0,733	0,522	0,306	0,161	0,078	
	60	30	1,127	2,223	2,238	1,909	1,883	1,846	1,528	0,941	0,289	0,121	0,087	0,089	0,122	0,205	0,324	0,500	0,705	0,896	1,022	1,012	0,880	0,629	0,368	0,197	0,102	

Çizelge 4.4 Farklı günlerde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizine ait absorbands-konsantrasyon çizelgesi

Hafta	C($\mu\text{g mL}^{-1}$)		Dalga Boyu(λ)																									
	DA	ES	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	
1	40	10	1,335	2,055	1,751	1,303	1,268	1,248	1,027	0,629	0,189	0,078	0,053	0,058	0,079	0,134	0,215	0,337	0,474	0,608	0,693	0,687	0,597	0,424	0,245	0,133	0,064	
	50	20	1,398	2,142	2,098	1,618	1,594	1,559	1,282	0,785	0,234	0,096	0,065	0,070	0,099	0,165	0,269	0,416	0,589	0,748	0,857	0,850	0,736	0,528	0,305	0,162	0,079	
	60	30	1,337	2,213	2,310	1,917	1,901	1,850	1,528	0,937	0,281	0,114	0,078	0,083	0,118	0,197	0,316	0,497	0,698	0,892	1,021	1,014	0,880	0,628	0,362	0,196	0,090	
2	40	10	1,459	2,000	1,718	1,301	1,269	1,246	1,027	0,634	0,188	0,074	0,051	0,052	0,078	0,131	0,214	0,337	0,469	0,599	0,687	0,680	0,594	0,422	0,217	0,130	0,055	
	50	20	1,358	1,985	2,053	1,630	1,602	1,558	1,287	0,794	0,244	0,101	0,072	0,073	0,106	0,168	0,271	0,420	0,587	0,717	0,855	0,847	0,742	0,531	0,310	0,168	0,077	
	60	30	1,231	2,119	2,233	1,923	1,894	1,848	1,539	0,949	0,293	0,123	0,088	0,090	0,126	0,204	0,328	0,504	0,702	0,895	1,021	1,012	0,885	0,654	0,373	0,198	0,092	
3	40	10	1,519	1,943	1,696	1,272	1,252	1,232	1,011	0,614	0,180	0,073	0,053	0,055	0,083	0,134	0,218	0,332	0,471	0,603	0,688	0,680	0,585	0,417	0,245	0,127	0,065	
	50	20	1,500	2,025	2,022	1,618	1,592	1,557	1,282	0,778	0,231	0,098	0,068	0,072	0,105	0,167	0,276	0,422	0,592	0,757	0,863	0,854	0,736	0,526	0,309	0,160	0,076	
	60	30	1,336	2,183	2,166	1,875	1,872	1,844	1,520	0,923	0,274	0,111	0,077	0,082	0,119	0,196	0,322	0,495	0,699	0,894	1,020	1,011	0,873	0,619	0,364	0,188	0,089	
4	40	10	1,460	1,997	1,717	1,280	1,263	1,246	1,024	0,623	0,183	0,076	0,053	0,056	0,082	0,133	0,219	0,339	0,478	0,610	0,695	0,687	0,593	0,421	0,250	0,131	0,068	
	50	20	1,317	1,999	1,989	1,626	1,607	1,518	1,290	0,783	0,240	0,095	0,065	0,069	0,101	0,164	0,273	0,422	0,595	0,760	0,870	0,859	0,740	0,529	0,312	0,161	0,076	
	60	30	1,373	2,189	2,216	1,896	1,878	1,842	1,518	0,923	0,274	0,114	0,080	0,081	0,122	0,193	0,329	0,499	0,702	0,896	1,019	1,012	0,873	0,621	0,368	0,192	0,094	

Çizelge 4.5 Aynı günde plasebo içinde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)					
	ES	DA	ES	DA	ES	DA
	10	40	20	50	30	60
1	12,05	39,11	20,03	50,29	31,94	58,75
2	11,00	39,54	19,84	48,82	26,27	59,51
3	11,25	44,30	19,91	49,57	28,73	58,77
$\bar{x}$	11,43	40,98	19,92	49,49	28,98	59,01
s	0,55	2,88	0,09	0,74	2,84	0,43
%s	4,81	7,02	0,45	1,49	9,80	0,72
%R	114,30	102,40	99,60	98,98	96,60	98,35
RMSD*	1,70	1,64				
%REP*	8,50	3,28				

Çizelge 4.6 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan essin ve dietilamin salisilat analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)					
	ES	DA	ES	DA	ES	DA
	10	40	20	50	30	60
1.hafta	12,40	40,11	20,00	50,01	30,57	59,12
2.hafta	10,33	40,14	20,02	50,04	25,79	59,39
3.hafta	9,13	40,09	19,98	49,92	27,48	53,48
4.hafta	9,29	37,03	19,96	49,74	29,83	58,30
$\bar{x}$	10,28	39,34	19,98	49,92	28,42	57,61
s	1,50	1,54	0,02	0,13	2,19	2,78
%s	14,59	3,91	0,11	0,27	7,70	4,82
%R	102,80	98,35	99,90	99,84	94,73	96,01
RMSD*	1,62	2,15				
%REP*	8,10	4,30				

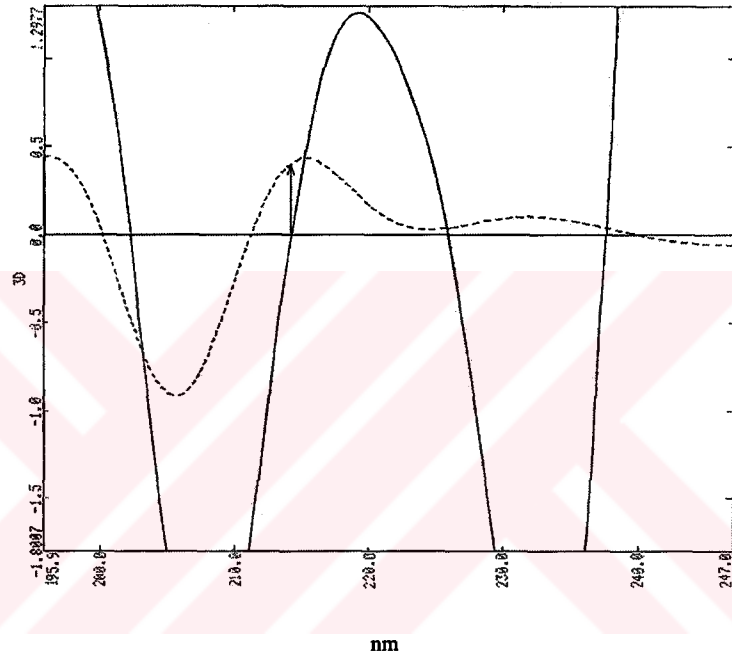
$$* \text{RMSD} = \left[\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (c_{\text{gerçek}} - c_{\text{bulunan}})^2 \right]^{1/2} ; \quad \% \text{REP} = \frac{100}{\bar{c}} \left[\frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (c_{\text{gerçek}} - c_{\text{bulunan}})^2 \right]^{1/2}$$

$\bar{c}$ = m karışım içindeki ortalama bileşen konsantrasyonu

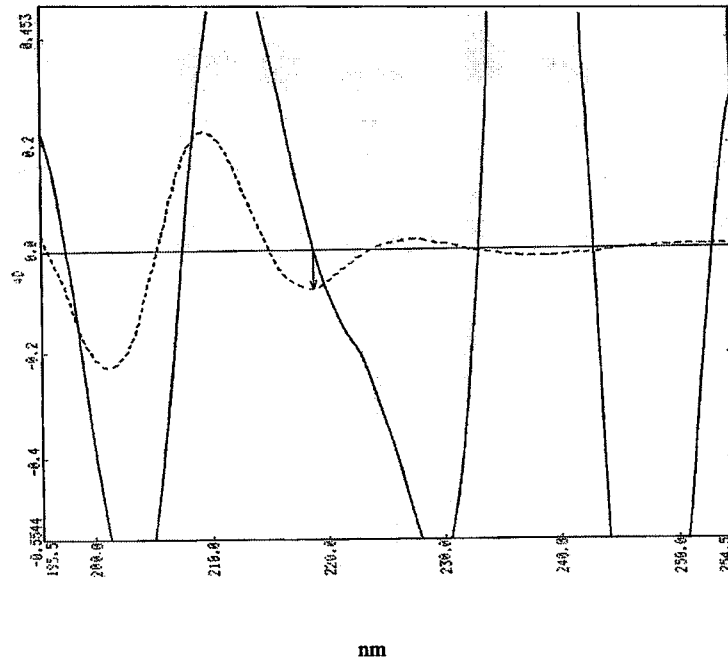
4.1.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

4.1.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Essin ve dietilamin salisilatın çeşitli çözücü sistemlerinde türev spektrumları incelendi ve “Reparil-gel” içindeki oranlar göz önünde tutularak, $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda essin ve $150 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda dietilamin salisilatın etil alkoldeki çözeltilerinin 1., 2., 3. ve 4. türev spektrumları çekildi. 3. türev spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.4) $214,3 \text{ nm}$ 'de, 4. türev spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.5) 219 nm 'de essinin dietilamin salisilat yanında tayin edilebileceği düşünüldü.



Şekil 4.4 Essin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (-----) ve dietilamin salisilatın ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) etil alkoldeki 3. derece absorpsiyon türev spektrumları



Şekil 4.5 Essin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (-----) ve dietilamin salisilatın ($150 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) etil alkoldeki 4. derece absorpsiyon türev spektrumları

4.1.2.2 Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Bu yöntem “Reparil-gel” preparatlarına uygulandığında essinin dietilamin salisilat yanında miktarının ve molar absorptivitesinin düşük oluşu ve tespit edilen noktalarda dietilamin salisilat pikinin fazla dik olması nedenleriyle iki madde türev spektrumunda ayrılmadı.

Çizelge 4.7 “Reparil-gel” (100 g’da 1g essin + 5 g dietilamin salisilat) örneklerinin analizi

İstatistik Parametreler	ES (g/100)		DA (g/100)	
	PLS Yöntemi	Spektrofotometrik Yöntem	PLS Yöntemi	Spektrofotometrik Yöntem
1	0,90	1,20	5,03	4,80
2	1,07	0,98	4,93	4,71
3	1,08	1,19	5,07	4,84
4	0,94	1,18	5,15	4,91
5	1,13	0,96	4,95	4,61
$\bar{x}$	1,02	1,10	5,03	4,77
s	0,10	0,12	0,09	0,12
%s	9,61	10,91	1,79	2,43
$\bar{x} \pm t.s/\sqrt{n}$	0,89 - 1,14	0,95 - 1,25	4,92 - 5,14	4,62 - 4,91
% R	102,00	110,00	100,60	95,40
t testi	1,15 < 2,31		3,96 > 2,31	
F testi	1,50 < 6,39		1,66 < 6,39	
$n_1 = n_2 = 5$		$t_{8}^{0,05}$ tablo = 2,31	$F_{4,4}^{0,05}$ tablo = 6,39	

4.2 Dekspantenol, Mepiramin Maleat ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi

4.2.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

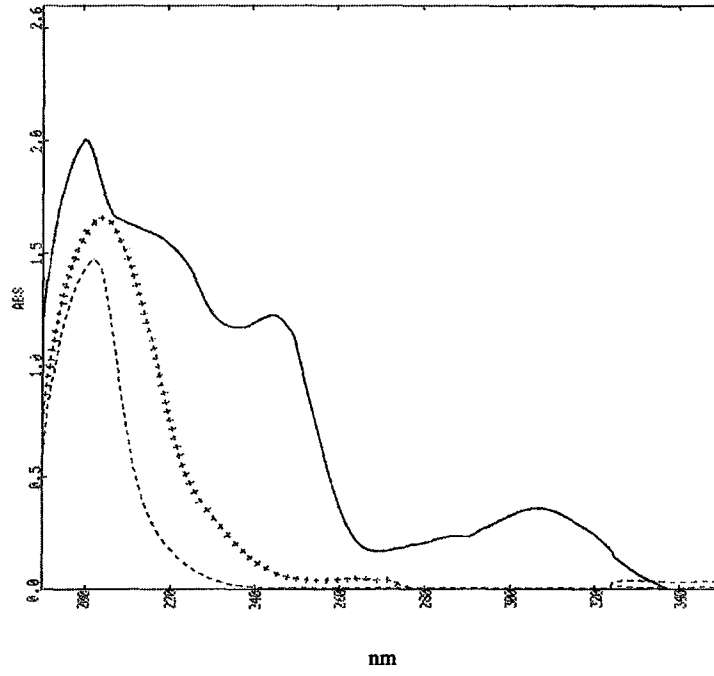
4.2.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizi için kalibrasyon seti oluşturulurken uygun koşulların saptanması amacıyla çeşitli çözücü sistemleri denendi. “Stilex-jel” içindeki oranlar göz önünde tutularak (50 : 15 : 15) bu maddelerin su (Şekil 4.6), 0,1 N HCl (Şekil 4.7), 0,1 N NaOH (Şekil 4.8) ve metanol (Şekil 4.9) içindeki spektrumları çekildi. Spektrumlar incelendiğinde, metanol ve bazik çözeltide yüksek konsantrasyonlarda bile dekspantenolün absorpsiyonunun düşük olması, asidik ve sulu çözeltilerin spektrumları arasında önemli bir fark olmaması nedeniyle su en uygun çözücü seçildi. Ancak 200 nm civarında üç maddeninde pikinin üst üste çakışması nedeniyle, hem lineerliği bozmayacak hem de pik toplamını uygun absorpsiyon seviyesinde tutacak şekilde konsantrasyonlar belirlendi (Şekil 4.10). Buna göre en uygun seviyeler dekspantenol için 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mepiramin maleat için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, lidokain HCl için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi ve kalibrasyon matrisini oluşturmak üzere 27 adet çözelti hazırlandı. Bu tasarımda kalibrasyon çözeltileri hazırlanırken karışımların bütün etkileşim etkilerini göstermek amacıyla, karışım bileşenlerinin birbirlerine göre miktarları kademeli olarak artırılıp azaltılmıştır. Bölüm 3.3.2.1.1’deki gibi çalışılarak elde edilen absorpsiyon değerleri ve karşılık gelen karışım konsantrasyonları Çizelge 4.8a ve Çizelge 4.8b’de gösterilmiştir. PLS algoritmasına göre çözümlenmiş kalibrasyon bağıntısı aşağıdaki gibidir:

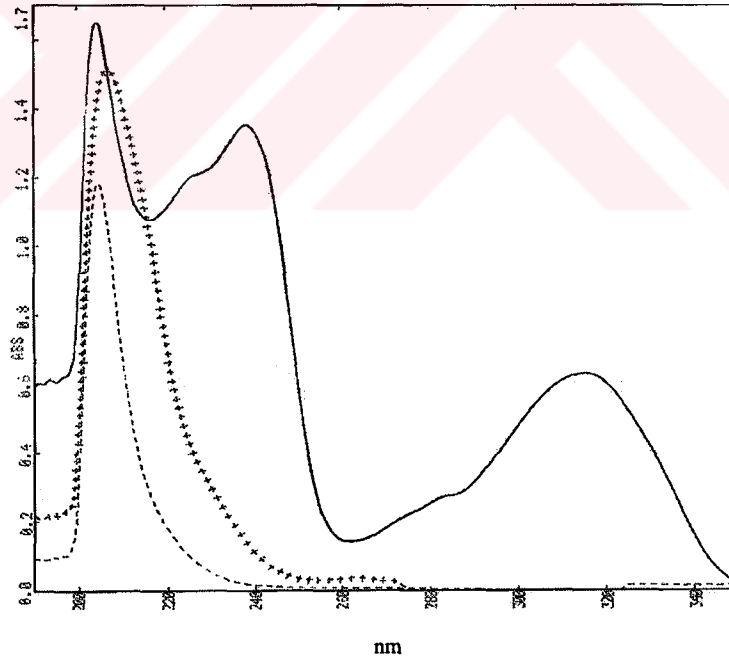
$$\begin{aligned} C_{\text{DPA}} = & - 8,9982 + 1,45A_1 + 23,78A_2 + 20,23A_3 - 12,30A_4 - 4,01A_5 - 10,01A_6 - 8,04A_7 - 6,56A_8 \\ & - 6,26A_9 - 5,57A_{10} - 4,98A_{11} - 4,53A_{12} - 3,90A_{13} - 3,51A_{14} - 3,65A_{15} - 3,17A_{16} \\ & - 3,33A_{17} - 2,39A_{18} - 2,50A_{19} - 2,15A_{20} - 2,12A_{21} - 2,41A_{22} - 2,18A_{23} - 2,37A_{24} \\ & - 2,56A_{25} - 2,19A_{26} - 2,19A_{27} + 1,22A_{28} + 1,87A_{29} + 1,06A_{30} + 0,59A_{31} - 0,08A_{32} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C_{\text{MAM}} = & 0,8259 + 0,51A_1 + 0,51A_2 - 0,65A_3 - 2,79A_4 + 1,14A_5 + 1,88A_6 + 2,01A_7 + 2,03A_8 \\ & + 1,97A_9 + 1,90A_{10} + 1,96A_{11} + 1,97A_{12} + 1,74A_{13} + 1,22A_{14} + 0,77A_{15} + 0,47A_{16} \\ & + 0,47A_{17} + 0,44A_{18} + 0,48A_{19} + 0,46A_{20} + 0,49A_{21} + 0,53A_{22} + 0,58A_{23} + 0,62A_{24} \\ & + 0,63A_{25} + 0,55A_{26} + 0,45A_{27} + 0,08A_{28} - 0,06A_{29} - 0,06A_{30} - 0,04A_{31} + 0,02A_{32} \end{aligned}$$

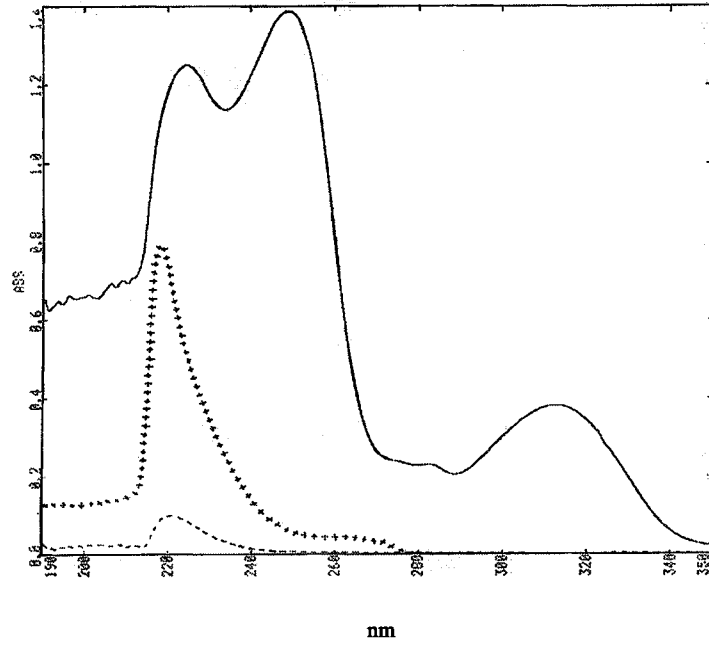
$$\begin{aligned} C_{\text{LIH}} = & - 0,1018 + 0,57A_1 - 0,39A_2 + 0,66A_3 + 4,50A_4 + 0,52A_5 + 0,29A_6 - 0,05A_7 - 0,25A_8 \\ & - 0,29A_9 - 0,32A_{10} - 0,42A_{11} - 0,47A_{12} - 0,40A_{13} - 0,17A_{14} + 0,04A_{15} + 0,17A_{16} \\ & + 0,18A_{17} + 0,13A_{18} + 0,10A_{19} + 0,11A_{20} + 0,07A_{21} + 0,09A_{22} + 0,05A_{23} + 0,04A_{24} \\ & + 0,03A_{25} + 0,05A_{26} + 0,10A_{27} + 0,09A_{28} + 0,13A_{29} + 0,15A_{30} + 0,16A_{31} + 0,15A_{32} \end{aligned}$$



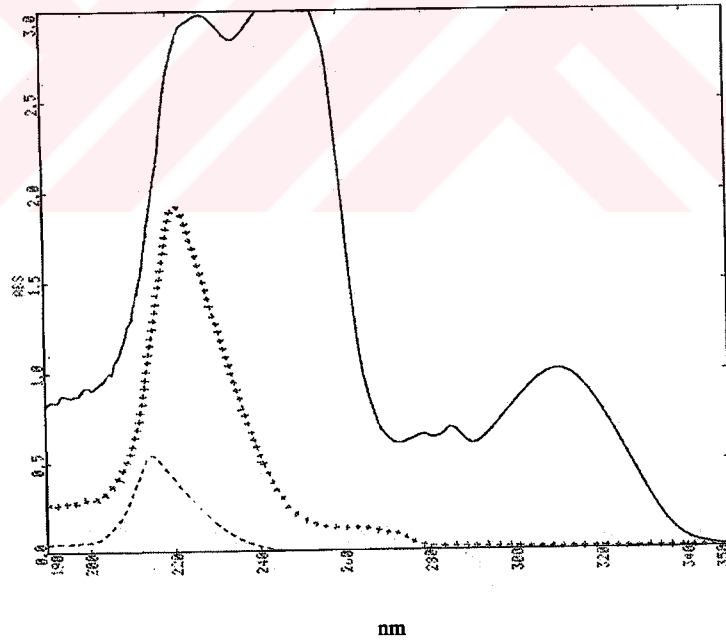
Şekil 4.6 Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++) sudaki absorpsiyon spektrumları



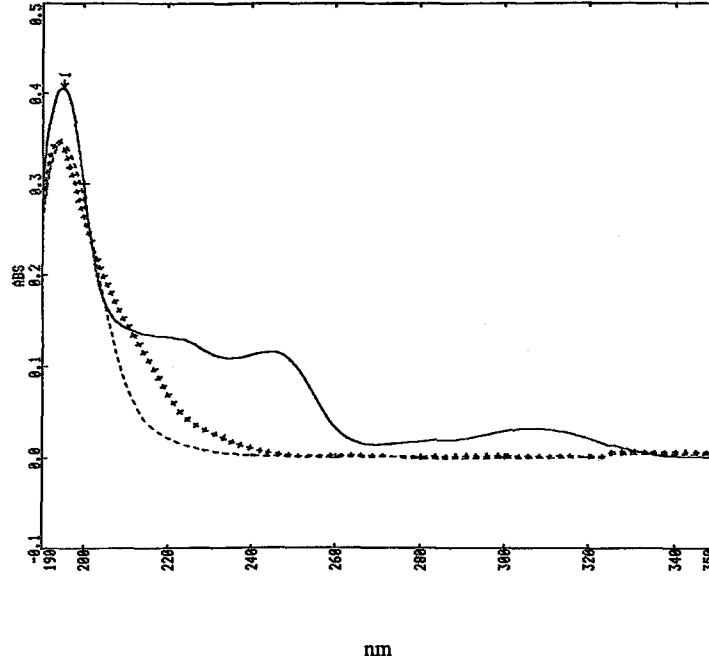
Şekil 4.7 Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++) 0,1 N HCl'deki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.8 Dekspantenol ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) 0,1 N NaOH'deki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.9 Dekspantenol ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++++) metanoldeki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.10 Dekspantenol ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----), mepiramin maleat ($3 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—) ve lidokain HCl'nin ($3 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++) sudaki absorpsiyon spektrumları

4.2.1.2 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

“Stilex-jel” içindeki dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl miktarları Bölüm 3.3.2.1.2’de anlatıldığı gibi çalışılarak PLS yöntemiyle tayin edildi. Örneklerin absorbans değerleri Çizelge 4.9a ve Çizelge 4.9b’de, bulunan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl miktarları Çizelge 4.14’de verilmiştir. Kaynaklarda üç maddenin birarada tayinine yönelik bir yöntemle rastlanmadığı için kıyas yöntemi kullanılmamıştır.

4.2.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

Üç farklı konsantrasyonda ($8, 10, 12 \mu\text{g mL}^{-1}$) dekspantenol, ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) mepiramin maleat ve ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) lidokain HCl içeren plasebo örnekleri ile Bölüm 3.3.2.1.3’de anlatıldığı gibi çalışıldı. Aynı gün içinde yapılan analizlerde her bir örnek 3 kez çalışıldı. Çözeltilere ait absorbans değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.10a ve Çizelge 4.10b’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma, geri kazanım ve bağıl tahmin hatası değerleri Çizelge 4.12’de gösterilmiştir.

1 ay içinde 4 farklı günde yapılan analizlerdeki çözeltilere ait absorbans değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.11a ve Çizelge 4.11b’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma, geri kazanım ve bağıl tahmin hatası değerleri Çizelge 4.13’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8a PLS yöntemine göre dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C(µg mL ⁻¹)			Dalga Boyu(λ)															
DPA	MAM	LH	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265
8	2	2	0,504	0,701	0,563	0,355	0,240	0,179	0,143	0,119	0,101	0,090	0,087	0,085	0,075	0,047	0,023	0,012
8	3	2	0,563	0,803	0,634	0,396	0,274	0,218	0,182	0,162	0,141	0,129	0,127	0,127	0,111	0,069	0,038	0,014
8	4	2	0,607	0,897	0,738	0,454	0,324	0,261	0,228	0,206	0,183	0,169	0,170	0,170	0,149	0,099	0,044	0,022
10	2	2	0,513	0,727	0,589	0,373	0,244	0,175	0,139	0,113	0,093	0,082	0,079	0,077	0,071	0,041	0,017	0,007
10	3	2	0,590	0,838	0,682	0,425	0,290	0,224	0,193	0,162	0,140	0,128	0,126	0,126	0,111	0,070	0,033	0,017
10	4	2	0,641	0,944	0,798	0,487	0,343	0,276	0,238	0,214	0,188	0,174	0,174	0,174	0,153	0,100	0,049	0,027
12	2	2	0,529	0,778	0,628	0,396	0,263	0,185	0,145	0,120	0,099	0,088	0,084	0,082	0,073	0,046	0,020	0,010
12	3	2	0,575	0,863	0,720	0,452	0,296	0,224	0,190	0,158	0,137	0,124	0,122	0,122	0,107	0,070	0,030	0,015
12	4	2	0,644	0,972	0,836	0,534	0,367	0,293	0,252	0,225	0,199	0,185	0,185	0,184	0,165	0,111	0,059	0,038
8	2	3	0,540	0,791	0,704	0,424	0,296	0,226	0,174	0,139	0,116	0,102	0,096	0,092	0,082	0,055	0,029	0,021
8	3	3	0,604	0,893	0,744	0,477	0,340	0,268	0,219	0,187	0,161	0,146	0,141	0,139	0,124	0,082	0,044	0,028
8	4	3	0,632	0,959	0,806	0,523	0,375	0,305	0,256	0,226	0,197	0,182	0,180	0,178	0,158	0,105	0,053	0,033
10	2	3	0,579	0,804	0,671	0,435	0,299	0,221	0,167	0,135	0,112	0,098	0,093	0,089	0,078	0,053	0,029	0,019
10	3	3	0,642	0,930	0,785	0,516	0,370	0,295	0,244	0,211	0,184	0,169	0,165	0,162	0,146	0,105	0,067	0,050
10	4	3	0,661	1,021	0,880	0,586	0,425	0,345	0,289	0,253	0,223	0,203	0,201	0,198	0,177	0,122	0,072	0,050
12	2	3	0,618	0,879	0,748	0,502	0,347	0,265	0,206	0,170	0,145	0,131	0,123	0,119	0,107	0,080	0,056	0,046
12	3	3	0,660	0,958	0,826	0,543	0,376	0,294	0,237	0,204	0,177	0,160	0,155	0,152	0,137	0,095	0,058	0,042
12	4	3	0,685	1,011	0,871	0,559	0,391	0,309	0,257	0,224	0,196	0,180	0,177	0,176	0,156	0,102	0,052	0,032
8	2	4	0,626	0,871	0,726	0,485	0,355	0,276	0,212	0,172	0,145	0,129	0,122	0,116	0,106	0,078	0,055	0,045
8	3	4	0,688	0,970	0,816	0,560	0,414	0,331	0,273	0,232	0,204	0,186	0,180	0,176	0,160	0,120	0,082	0,068
8	4	4	0,746	1,057	0,912	0,618	0,463	0,379	0,319	0,275	0,243	0,225	0,220	0,217	0,196	0,140	0,090	0,070
10	2	4	0,663	0,936	0,808	0,558	0,409	0,315	0,249	0,205	0,177	0,160	0,151	0,145	0,133	0,104	0,079	0,070
10	3	4	0,691	0,986	0,847	0,576	0,420	0,328	0,268	0,225	0,194	0,178	0,172	0,167	0,152	0,112	0,074	0,060
10	4	4	0,714	1,080	0,947	0,639	0,474	0,384	0,321	0,277	0,242	0,224	0,218	0,214	0,191	0,138	0,088	0,067
12	2	4	0,674	0,943	0,813	0,560	0,391	0,301	0,233	0,191	0,161	0,145	0,137	0,131	0,120	0,093	0,068	0,060
12	3	4	0,697	1,043	0,909	0,625	0,452	0,360	0,292	0,249	0,217	0,199	0,192	0,186	0,170	0,127	0,091	0,076
12	4	4	0,759	1,093	0,968	0,652	0,475	0,381	0,315	0,272	0,239	0,220	0,214	0,211	0,189	0,136	0,086	0,066

Çizelge 4.8b PLS yöntemine göre dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)															
DPA	MAM	LIH	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	330	335	340	345
8	2	2	0,010	0,010	0,011	0,012	0,013	0,016	0,020	0,022	0,022	0,019	0,014	0,004	0,000	0,004	0,005	0,005
8	3	2	0,012	0,013	0,014	0,016	0,017	0,022	0,028	0,031	0,030	0,026	0,019	0,007	0,000	0,005	0,007	0,008
8	4	2	0,019	0,020	0,021	0,026	0,027	0,034	0,041	0,044	0,043	0,038	0,028	0,017	0,008	0,001	0,002	0,003
10	2	2	0,005	0,005	0,006	0,008	0,008	0,012	0,016	0,018	0,017	0,014	0,009	0,004	0,000	0,003	0,004	0,005
10	3	2	0,014	0,015	0,016	0,019	0,020	0,025	0,032	0,034	0,034	0,029	0,022	0,018	0,011	0,005	0,003	0,002
10	4	2	0,024	0,025	0,026	0,030	0,030	0,038	0,045	0,048	0,047	0,041	0,032	0,033	0,021	0,014	0,011	0,009
12	2	2	0,008	0,008	0,008	0,012	0,011	0,015	0,020	0,021	0,021	0,018	0,013	0,018	0,013	0,009	0,008	0,006
12	3	2	0,012	0,013	0,016	0,018	0,017	0,025	0,030	0,032	0,032	0,027	0,020	0,024	0,016	0,012	0,009	0,007
12	4	2	0,034	0,035	0,036	0,040	0,040	0,048	0,055	0,058	0,057	0,051	0,041	0,035	0,026	0,018	0,015	0,014
8	2	3	0,019	0,017	0,017	0,019	0,018	0,023	0,027	0,028	0,027	0,024	0,020	0,022	0,017	0,014	0,012	0,011
8	3	3	0,028	0,024	0,024	0,028	0,027	0,034	0,038	0,041	0,040	0,035	0,027	0,029	0,021	0,016	0,013	0,012
8	4	3	0,030	0,030	0,031	0,035	0,035	0,043	0,051	0,053	0,052	0,046	0,037	0,035	0,025	0,019	0,015	0,014
10	2	3	0,018	0,016	0,016	0,019	0,017	0,023	0,027	0,027	0,027	0,024	0,020	0,025	0,020	0,015	0,014	0,012
10	3	3	0,047	0,046	0,045	0,050	0,047	0,054	0,060	0,061	0,059	0,055	0,048	0,048	0,041	0,034	0,032	0,030
10	4	3	0,047	0,046	0,046	0,051	0,049	0,058	0,064	0,066	0,065	0,058	0,048	0,045	0,035	0,028	0,024	0,023
12	2	3	0,043	0,041	0,039	0,043	0,041	0,046	0,049	0,050	0,048	0,045	0,040	0,044	0,038	0,035	0,033	0,031
12	3	3	0,039	0,038	0,037	0,042	0,039	0,047	0,052	0,054	0,052	0,047	0,040	0,037	0,030	0,025	0,021	0,019
12	4	3	0,029	0,029	0,029	0,036	0,034	0,044	0,051	0,054	0,053	0,047	0,038	0,038	0,028	0,020	0,018	0,015
8	2	4	0,044	0,040	0,038	0,044	0,040	0,048	0,051	0,051	0,050	0,047	0,042	0,036	0,033	0,029	0,027	0,025
8	3	4	0,065	0,062	0,060	0,067	0,063	0,073	0,077	0,078	0,077	0,072	0,065	0,056	0,051	0,045	0,042	0,040
8	4	4	0,067	0,064	0,064	0,071	0,067	0,078	0,085	0,087	0,085	0,078	0,069	0,059	0,050	0,042	0,039	0,037
10	2	4	0,068	0,063	0,061	0,066	0,062	0,069	0,072	0,071	0,069	0,066	0,061	0,054	0,050	0,046	0,044	0,042
10	3	4	0,058	0,055	0,053	0,059	0,055	0,065	0,070	0,071	0,069	0,064	0,057	0,050	0,043	0,038	0,035	0,034
10	4	4	0,064	0,061	0,061	0,067	0,063	0,075	0,082	0,083	0,081	0,074	0,064	0,052	0,044	0,036	0,033	0,030
12	2	4	0,058	0,054	0,052	0,058	0,054	0,062	0,065	0,066	0,064	0,060	0,056	0,048	0,044	0,040	0,038	0,037
12	3	4	0,073	0,071	0,069	0,075	0,071	0,080	0,085	0,083	0,079	0,079	0,072	0,059	0,055	0,048	0,044	0,042
12	4	4	0,062	0,060	0,059	0,066	0,062	0,074	0,080	0,082	0,080	0,074	0,065	0,052	0,044	0,036	0,033	0,031

Çizelge 4.9a “Stilex-jel” örneklerinin analizine ait absorbands değerleri

ÖRNEK	Dalga Boyu(λ)															
	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265
1	0,623	0,884	0,764	0,519	0,355	0,265	0,203	0,160	0,127	0,103	0,098	0,092	0,079	0,057	0,034	0,015
2	0,648	0,930	0,823	0,568	0,397	0,304	0,239	0,193	0,161	0,141	0,130	0,123	0,110	0,084	0,060	0,048
3	0,633	0,917	0,817	0,561	0,393	0,293	0,229	0,184	0,153	0,132	0,121	0,114	0,101	0,075	0,051	0,041
4	0,632	0,888	0,775	0,531	0,371	0,278	0,216	0,174	0,143	0,123	0,113	0,106	0,094	0,069	0,048	0,037
5	0,644	0,904	0,783	0,538	0,379	0,285	0,224	0,183	0,153	0,132	0,121	0,115	0,102	0,078	0,054	0,043
6	0,675	0,991	0,890	0,615	0,431	0,327	0,259	0,207	0,172	0,148	0,138	0,131	0,116	0,088	0,059	0,046
7	0,609	0,875	0,757	0,519	0,365	0,275	0,215	0,171	0,139	0,120	0,111	0,104	0,093	0,070	0,047	0,038
8	0,662	0,960	0,848	0,582	0,410	0,320	0,255	0,205	0,171	0,149	0,138	0,132	0,118	0,090	0,063	0,050
9	0,673	0,992	0,891	0,619	0,440	0,337	0,270	0,221	0,183	0,160	0,150	0,142	0,123	0,090	0,060	0,045
10	0,644	0,953	0,844	0,586	0,409	0,307	0,237	0,189	0,154	0,131	0,121	0,114	0,098	0,068	0,042	0,030

Çizelge 4.9b “Stilex-jel” örneklerinin analizine ait absorbands değerleri

ÖRNEK	Dalga Boyu(λ)															
	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	330	335	340	345
1	0,022	0,021	0,020	0,020	0,019	0,022	0,023	0,025	0,023	0,021	0,017	0,002	0,005	0,008	0,009	0,010
2	0,045	0,043	0,042	0,043	0,041	0,043	0,045	0,045	0,044	0,040	0,036	0,017	0,014	0,010	0,008	0,007
3	0,038	0,036	0,035	0,035	0,033	0,036	0,038	0,038	0,037	0,034	0,030	0,008	0,006	0,003	0,001	0,000
4	0,034	0,032	0,031	0,032	0,030	0,033	0,034	0,035	0,034	0,031	0,026	0,015	0,013	0,009	0,007	0,006
5	0,040	0,038	0,037	0,038	0,036	0,038	0,040	0,040	0,039	0,035	0,031	0,024	0,022	0,019	0,016	0,015
6	0,042	0,040	0,039	0,041	0,038	0,042	0,044	0,045	0,043	0,040	0,034	0,021	0,017	0,014	0,011	0,009
7	0,034	0,032	0,031	0,033	0,030	0,033	0,035	0,035	0,034	0,031	0,027	0,012	0,010	0,006	0,005	0,003
8	0,047	0,044	0,043	0,044	0,042	0,046	0,047	0,048	0,046	0,042	0,038	0,022	0,019	0,015	0,013	0,012
9	0,041	0,040	0,039	0,039	0,039	0,040	0,043	0,044	0,043	0,039	0,033	0,025	0,020	0,015	0,013	0,012
10	0,026	0,025	0,020	0,025	0,025	0,027	0,029	0,031	0,030	0,026	0,020	0,006	0,002	0,002	0,004	0,005

Çizelge 4.10a Aynı günde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi

Glin	C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)																
	DPA	MAM	LH	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265	
1	8	2	2	0,456	0,635	0,506	0,318	0,217	0,214	0,153	0,118	0,091	0,075	0,067	0,062	0,054	0,040	0,029	0,024	
	10	3	3	0,629	0,900	0,761	0,500	0,391	0,273	0,201	0,156	0,123	0,103	0,093	0,086	0,074	0,054	0,036	0,031	
	12	4	4	0,704	1,054	0,937	0,616	0,608	0,441	0,337	0,279	0,242	0,214	0,198	0,187	0,172	0,146	0,123	0,112	
2	8	2	2	0,527	0,695	0,559	0,360	0,244	0,230	0,168	0,127	0,101	0,080	0,071	0,064	0,055	0,041	0,030	0,026	
	10	3	3	0,655	0,925	0,770	0,504	0,399	0,283	0,212	0,164	0,132	0,110	0,101	0,095	0,082	0,061	0,044	0,035	
	12	4	4	0,839	1,178	1,024	0,720	0,698	0,519	0,402	0,333	0,288	0,255	0,234	0,222	0,206	0,177	0,154	0,139	
3	8	2	2	0,436	0,608	0,480	0,285	0,189	0,186	0,132	0,096	0,072	0,059	0,051	0,047	0,040	0,024	0,015	0,010	
	10	3	3	0,600	0,874	0,731	0,468	0,366	0,252	0,185	0,137	0,103	0,084	0,074	0,070	0,059	0,037	0,022	0,016	
	12	4	4	0,698	1,024	0,892	0,572	0,574	0,409	0,309	0,250	0,213	0,187	0,173	0,164	0,152	0,124	0,104	0,090	

Çizelge 4.10b Aynı günde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi

Gün	C(µg mL ⁻¹)			Dalga Boyu(λ)																
	DPA	MAM	LH	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	330	335	340	345	
1	8	2	2	0,020	0,021	0,019	0,020	0,014	0,019	0,019	0,016	0,018	0,013	0,012	0,012	0,004	0,006	0,001	0,001	
	10	3	3	0,025	0,026	0,023	0,022	0,021	0,024	0,023	0,024	0,023	0,021	0,017	0,015	0,008	0,013	0,004	0,003	
	12	4	4	0,099	0,086	0,075	0,064	0,052	0,050	0,044	0,040	0,038	0,031	0,027	0,025	0,013	0,013	0,011	0,009	
2	8	2	2	0,022	0,025	0,022	0,023	0,027	0,024	0,021	0,019	0,020	0,014	0,016	0,006	0,007	0,014	0,005	0,004	
	10	3	3	0,031	0,031	0,028	0,027	0,029	0,030	0,030	0,030	0,030	0,026	0,024	0,022	0,013	0,016	0,007	0,009	
	12	4	4	0,125	0,117	0,101	0,087	0,079	0,073	0,068	0,060	0,060	0,049	0,049	0,038	0,035	0,033	0,025	0,024	
3	8	2	2	0,011	0,008	0,007	0,012	0,008	0,007	0,009	0,013	0,011	0,007	0,005	0,011	0,006	0,005	0,000	0,001	
	10	3	3	0,014	0,013	0,014	0,016	0,011	0,014	0,016	0,019	0,016	0,012	0,010	0,011	0,010	0,005	0,002	0,001	
	12	4	4	0,081	0,066	0,055	0,048	0,038	0,030	0,030	0,030	0,027	0,019	0,014	0,015	0,007	0,000	0,003	0,002	

Çizelge 4.11a Farklı günlerde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi

Hafta	C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)																	
	DPA	MAM	LIH	190	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255	260	265		
1	8	2	2	0,510	0,701	0,560	0,360	0,245	0,230	0,165	0,124	0,099	0,081	0,073	0,066	0,059	0,049	0,035	0,032		
	10	3	3	0,640	0,932	0,780	0,520	0,398	0,282	0,207	0,159	0,128	0,107	0,097	0,090	0,080	0,061	0,041	0,036		
	12	4	4	0,760	1,095	0,970	0,655	0,637	0,468	0,357	0,290	0,250	0,222	0,206	0,194	0,184	0,162	0,137	0,125		
2	8	2	2	0,507	0,680	0,551	0,352	0,238	0,127	0,164	0,127	0,099	0,081	0,072	0,066	0,055	0,042	0,029	0,027		
	10	3	3	0,635	0,893	0,749	0,486	0,379	0,268	0,197	0,154	0,120	0,101	0,093	0,086	0,074	0,053	0,033	0,028		
	12	4	4	0,777	1,113	0,984	0,657	0,637	0,464	0,353	0,290	0,247	0,217	0,199	0,188	0,173	0,148	0,123	0,112		
3	8	2	2	0,468	0,556	0,549	0,356	0,257	0,250	0,186	0,144	0,114	0,096	0,087	0,079	0,071	0,055	0,043	0,035		
	10	3	3	0,565	0,868	0,746	0,492	0,392	0,277	0,206	0,158	0,123	0,102	0,092	0,085	0,074	0,052	0,033	0,025		
	12	4	4	0,652	1,019	0,942	0,633	0,627	0,458	0,350	0,286	0,245	0,215	0,198	0,188	0,175	0,146	0,122	0,106		
4	8	2	2	0,451	0,632	0,504	0,322	0,220	0,217	0,155	0,115	0,088	0,071	0,062	0,058	0,049	0,036	0,023	0,019		
	10	3	3	0,608	0,877	0,736	0,489	0,381	0,270	0,197	0,152	0,117	0,099	0,089	0,084	0,072	0,049	0,031	0,025		
	12	4	4	0,710	1,012	0,897	0,604	0,604	0,447	0,339	0,274	0,232	0,204	0,188	0,182	0,167	0,138	0,116	0,104		

Çizelge 4.11b Farklı günlerde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait konsantrasyon – absorpsiyon çizelgesi

Hafta	C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)																	
	DPA	MAM	LIH	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320	325	330	335	340	345		
1	8	2	2	0,029	0,025	0,024	0,021	0,018	0,015	0,016	0,015	0,015	0,009	0,006	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001		
	10	3	3	0,031	0,029	0,026	0,024	0,022	0,021	0,021	0,021	0,028	0,018	0,009	0,013	0,002	0,005	0,003	0,001		
	12	4	4	0,110	0,091	0,072	0,059	0,045	0,039	0,036	0,033	0,033	0,024	0,015	0,018	0,007	0,003	0,001	0,000		
2	8	2	2	0,025	0,024	0,024	0,025	0,021	0,024	0,024	0,021	0,019	0,016	0,012	0,009	0,001	0,007	0,003	0,002		
	10	3	3	0,022	0,023	0,023	0,022	0,019	0,022	0,025	0,024	0,024	0,021	0,015	0,016	0,004	0,007	0,003	0,000		
	12	4	4	0,099	0,087	0,074	0,062	0,050	0,046	0,043	0,035	0,032	0,029	0,022	0,021	0,013	0,011	0,008	0,003		
3	8	2	2	0,035	0,033	0,034	0,031	0,030	0,028	0,028	0,029	0,030	0,022	0,021	0,013	0,018	0,010	0,014	0,013		
	10	3	3	0,024	0,024	0,024	0,022	0,012	0,021	0,024	0,026	0,024	0,020	0,016	0,010	0,005	0,005	0,007	0,003		
	12	4	4	0,093	0,078	0,066	0,053	0,046	0,038	0,037	0,033	0,035	0,027	0,022	0,010	0,008	0,005	0,006	0,003		
4	8	2	2	0,018	0,018	0,014	0,017	0,014	0,013	0,013	0,013	0,014	0,015	0,009	0,006	0,004	0,005	0,003	0,000		
	10	3	3	0,022	0,020	0,018	0,021	0,020	0,019	0,025	0,024	0,023	0,022	0,012	0,008	0,002	0,010	0,003	0,002		
	12	4	4	0,090	0,076	0,063	0,054	0,045	0,039	0,041	0,039	0,033	0,031	0,020	0,022	0,004	0,012	0,008	0,007		

Çizelge 4.12 Aynı günde plasebo içinde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								
	DPA	MA	LIH	DPA	MAM	LIH	DPA	MAM	LIH
	8	2	2	10	3	3	12	4	4
1	8,94	1,94	1,70	9,86	2,81	2,80	11,60	3,80	3,90
2	7,05	2,00	2,18	9,93	2,90	2,89	11,05	4,40	4,58
3	9,02	1,70	1,60	9,72	2,63	2,60	11,42	3,56	3,63
$\bar{x}$	8,33	1,88	1,83	9,84	2,78	2,76	11,36	3,92	4,04
s	1,12	0,16	0,31	0,11	0,14	0,15	0,28	0,43	0,49
%s	13,44	8,51	0,17	1,11	5,03	5,43	2,46	10,96	12,13
%R	104,10	94,0	91,50	98,40	92,66	92,00	94,66	98,00	101,00
RMSD	0,69	0,27	0,33						
%REP	6,90	9,00	11,00						

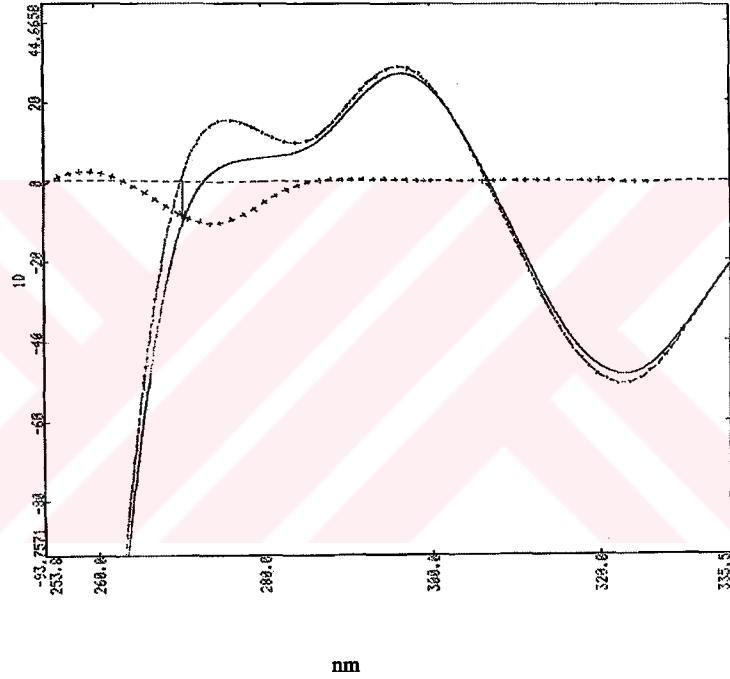
Çizelge 4.13 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								
	DPA	MAM	LIH	DPA	MAM	LIH	DPA	MAM	LIH
	8	2	2	10	3	3	12	4	4
1.hafta	7,20	2,11	2,07	9,91	2,88	2,87	11,73	3,98	4,10
2.hafta	7,76	1,79	2,11	9,83	2,76	2,73	11,75	4,01	4,13
3.hafta	7,83	2,45	1,68	9,79	2,73	2,69	11,57	3,77	3,86
4.hafta	8,14	1,85	1,70	9,78	2,71	2,68	11,51	3,68	3,77
$\bar{x}$	7,73	2,05	1,89	9,85	2,77	2,74	11,64	3,86	3,96
s	0,39	0,30	0,23	0,06	0,08	0,09	0,12	0,16	0,18
%s	5,05	14,63	12,17	0,61	2,88	3,28	1,03	4,14	4,55
%R	96,62	102,50	94,50	98,50	92,33	91,33	97,00	96,50	99,00
RMSD	0,34	0,23	0,22						
%REP	3,40	7,66	7,33						

4.2.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

4.2.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl'nin çeşitli çözücü sistemlerinde türev spektrumları incelendi ve "Stilex-jel" içindeki oranlar göz önünde tutularak $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda dekspantenol, $90 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda mepiramin maleat ve lidokain HCl'nin su ve metanoldeki çözeltilerinin 1., 2., 3. ve 4. türev spektrumları çekildi. 1. türev spektrumları incelendiğinde (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12) belirtilen noktalarda lidokain HCl'nin mepiramin maleat ve dekspantenol yanında, yine aynı spektrumlardan 280 nm sonrasında mepiramin maleatın, lidokain HCl ve dekspantenol yanında tayin edilebileceği düşünüldü. Ancak dekspantenol tayini için uygun bir noktaya rastlanamadı.



Şekil 4.11 Dekspantenol ($300 \mu\text{g mL}^{-1}$) (---), mepiramin maleat ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (-.-.-), lidokain HCl'nin ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (++) ve karışımın (—) sudaki 1. türev absorpsiyon spektrumları

4.3 Dekstrometorfan Hidrobomür, Psödoefedrin Hidroklorür ve Triprolidin Hidroklorür Karışımının Analizi

4.3.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

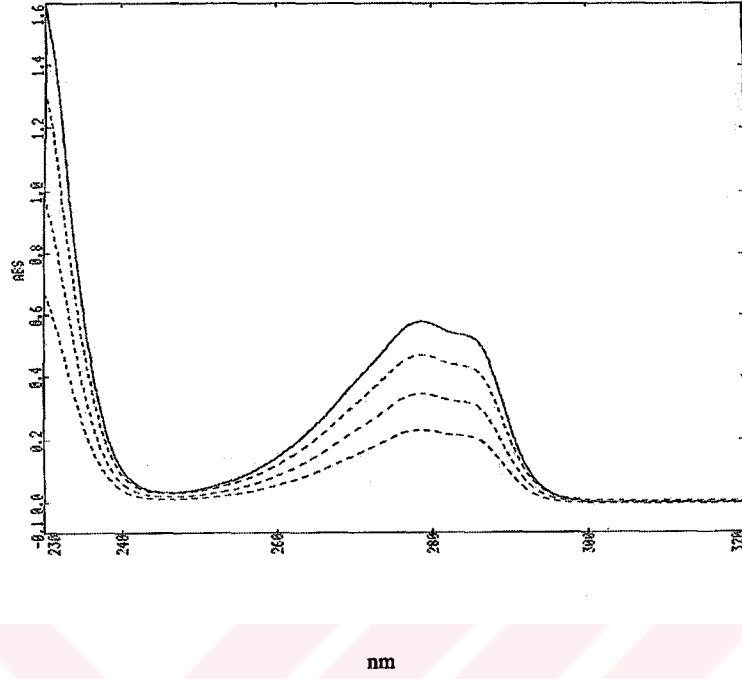
4.3.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizi için kalibrasyon seti oluşturulurken su, üç maddenin de çözünürlüklerinin oldukça iyi olması ve spektrumlarının birbirine benzememesi nedeniyle en uygun çözücü olarak seçilmiştir (Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15). Örnek hazırlama da ekstraksiyon sırasında, kloroforma geçen maddeler asidik çözeltiye alındığı için kalibrasyonu oluşturan çözeltiler 0,1 M H₂SO₄ içinde hazırlandı. “Actidem Şurup” içindeki oranlar göz önünde tutularak (10 : 30 : 1,25) hazırlanmış asidik çözeltilerin spektrumları Şekil 4.16’da gösterilmiştir. Buna göre en uygun seviyeler dekstrometorfan HBr için 60, 80, 100 µg mL⁻¹, psödoefedrin HCl için 180, 240, 300 µg mL⁻¹, triprolidin HCl için 8, 10, 12 µg mL⁻¹ olarak belirlendi ve kalibrasyon matrisini oluşturmak üzere 27 adet çözelti hazırlandı. Bu tasarımda kalibrasyon çözeltileri hazırlanırken karışımların bütün etkileşim etkilerini göstermek amacıyla, karışım bileşenlerinin birbirlerine göre miktarları kademeli olarak artırılıp azaltılmıştır. Bölüm 3.3.3.1.1’deki gibi çalışılarak elde edilen absorpsiyon değerleri ve karşılık gelen karışım konsantrasyonları Çizelge 4.15’de gösterilmiştir. PLS algoritmasına göre çözümlenmiş kalibrasyon bağıntısı aşağıdaki gibidir:

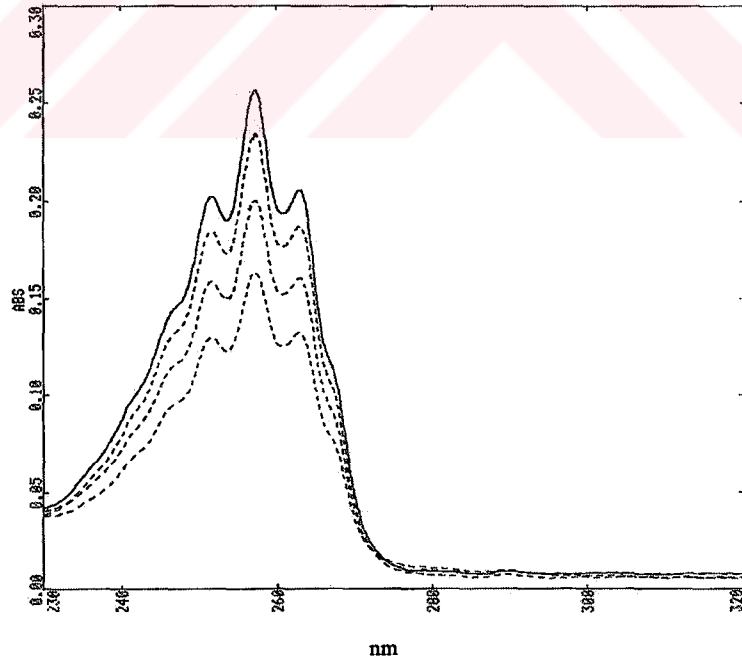
$$C_{DEK} = 14,0060 + 8,23A_1 + 10,10A_2 + 14,34A_3 + 20,46A_4 + 23,50A_5 + 20,93A_6 + 15,59A_7 \\ + 5,48A_8 + 3,24A_9 + 3,16A_{10} + 2,84A_{11} + 1,72A_{12} + 1,14A_{13} + 0,96A_{14} + 0,79A_{15} \\ + 1,09A_{16} + 0,67A_{17}$$

$$C_{PSE} = 62,1346 + 22,19A_1 + 27,22A_2 + 30,66A_3 + 55,15A_4 + 63,34A_5 + 56,41A_6 + 42,02A_7 \\ + 14,78A_8 + 8,73A_9 + 8,51A_{10} + 7,65A_{11} + 4,63A_{12} + 3,08A_{13} + 2,59A_{14} + 2,13A_{15} \\ + 2,94A_{16} + 1,79A_{17}$$

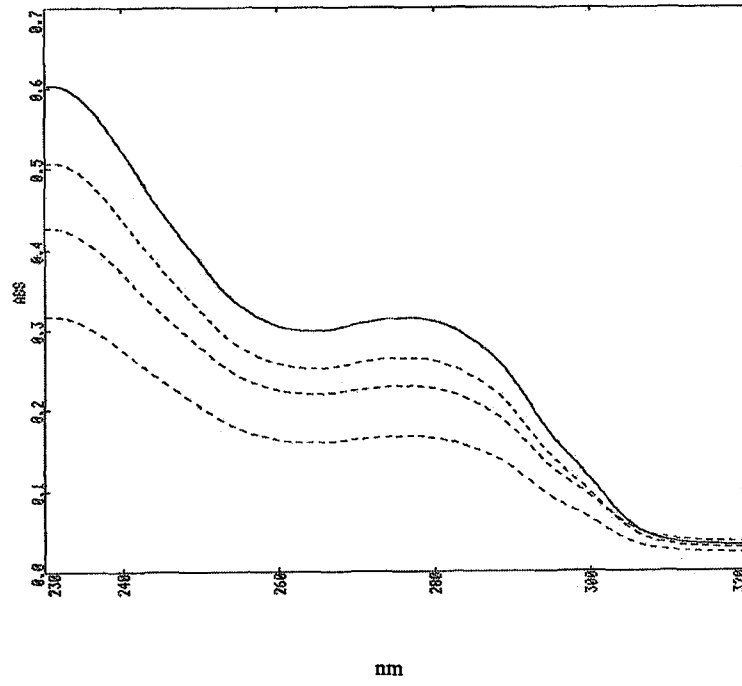
$$C_{TRP} = -0,3093 + 1,29A_1 + 1,58A_2 + 2,24A_3 + 3,20A_4 + 3,67A_5 + 3,27A_6 + 2,44A_7 + 0,86A_8 \\ + 0,51A_9 + 0,49A_{10} + 0,44A_{11} + 0,27A_{12} + 0,18A_{13} + 0,15A_{14} + 0,12A_{15} + 0,17A_{16} \\ + 0,10A_{17}$$



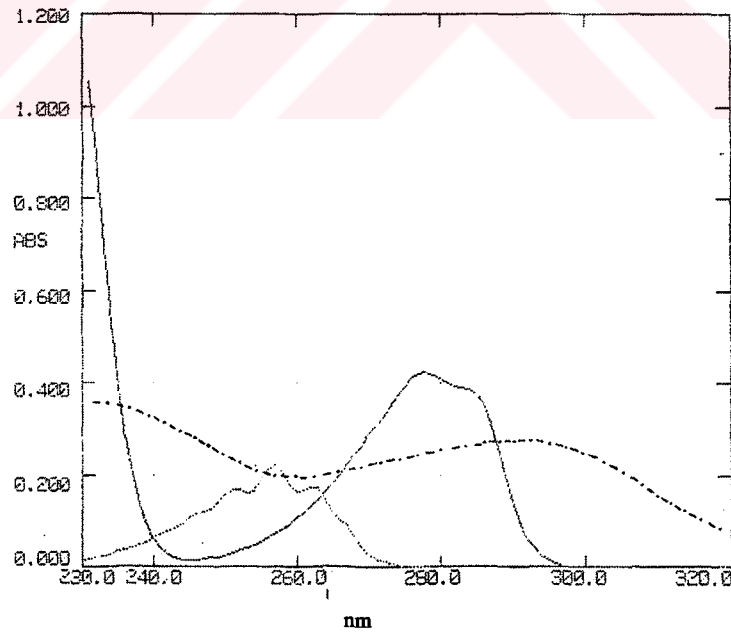
Şekil 4.13 Dekstrometorfan HBr'nin (40, 60 , 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.14 Psödoefedrin HCl'nin (160, 200, 240, 280 $\mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.15 Triprolidin HCl'nin (6, 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$) sudaki absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.16 Dekstrometorfan HBr (80 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl (240 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) ve triprolidin HCl'nin (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (---) 0,1M H_2SO_4 çözeltisindeki absorpsiyon spektrumları

4.3.1.2 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması

“Actidem-Şurup” içindeki dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl miktarları Bölüm 3.3.3.1.2’de anlatıldığı gibi çalışılarak PLS yöntemiyle tayin edildi. Örneklerin absorbens değerleri Çizelge 4.16’da gösterilmiştir. Bulunan sonuçlar kıyas yöntemi olarak geliştirilen türev spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.25’de toplu olarak verilmiştir.

4.3.1.3 Aynı Gün İçinde ve Farklı Günlerde Yapılan Analizlerin Doğruluğu ve Tekrarlanabilirliği

Üç farklı konsantrasyonda ($60, 80, 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) dekstrometorfan HBr, ($180, 240, 300 \mu\text{g mL}^{-1}$) psödoefedrin HCl ve ($8, 10, 12 \mu\text{g mL}^{-1}$) triprolidin HCl içeren plasebo örnekleri ile Bölüm 3.3.3.1.3’de anlatıldığı gibi çalışıldı. Aynı gün içinde yapılan analizlerde her bir örnek 3 kez çalışıldı. Çözeltilere ait absorbens değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.17’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma, geri kazanım ve bağıl tahmin hatası değerleri Çizelge 4.19’da gösterilmiştir.

1 ay içinde 4 farklı günde yapılan analizlerdeki çözeltilere ait absorbens değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonlar Çizelge 4.18’de, bulunan sonuçlara ait bağıl standart sapma, geri kazanım ve bağıl tahmin hatası değerleri Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.15 PLS yöntemine göre dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)																
DEK	FSE	TRP	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315
60	180	8	0,643	0,365	0,328	0,336	0,348	0,356	0,389	0,418	0,495	0,522	0,508	0,333	0,230	0,201	0,165	0,122	0,087
60	240	8	0,648	0,383	0,357	0,379	0,398	0,403	0,419	0,420	0,491	0,518	0,505	0,332	0,227	0,202	0,163	0,121	0,084
60	300	8	0,656	0,400	0,385	0,419	0,443	0,442	0,444	0,427	0,490	0,518	0,504	0,332	0,229	0,204	0,165	0,124	0,084
80	180	8	0,740	0,377	0,331	0,344	0,363	0,385	0,433	0,485	0,588	0,621	0,600	0,366	0,230	0,201	0,163	0,121	0,083
80	240	8	0,751	0,398	0,363	0,388	0,413	0,429	0,464	0,492	0,586	0,620	0,599	0,365	0,233	0,204	0,164	0,122	0,085
80	300	8	0,765	0,418	0,391	0,427	0,458	0,469	0,493	0,500	0,591	0,622	0,601	0,372	0,236	0,207	0,166	0,125	0,088
100	180	8	0,846	0,400	0,343	0,367	0,382	0,418	0,484	0,557	0,685	0,723	0,694	0,406	0,239	0,205	0,166	0,122	0,086
100	240	8	0,853	0,415	0,369	0,395	0,428	0,457	0,511	0,566	0,688	0,724	0,693	0,406	0,235	0,202	0,166	0,124	0,087
100	300	8	0,870	0,439	0,401	0,439	0,477	0,502	0,544	0,574	0,693	0,728	0,697	0,410	0,241	0,205	0,166	0,127	0,087
60	180	10	0,724	0,440	0,394	0,392	0,395	0,405	0,435	0,464	0,544	0,574	0,563	0,393	0,286	0,253	0,209	0,154	0,108
60	240	10	0,730	0,456	0,420	0,431	0,441	0,444	0,462	0,467	0,540	0,571	0,558	0,392	0,288	0,257	0,209	0,157	0,109
60	300	10	0,734	0,471	0,444	0,468	0,483	0,481	0,484	0,468	0,537	0,567	0,556	0,388	0,285	0,253	0,207	0,156	0,106
80	180	10	0,811	0,447	0,391	0,391	0,402	0,424	0,472	0,525	0,628	0,665	0,646	0,422	0,286	0,248	0,204	0,151	0,106
80	240	10	0,827	0,468	0,421	0,434	0,452	0,467	0,504	0,533	0,632	0,669	0,699	0,426	0,287	0,253	0,206	0,155	0,109
80	300	10	0,843	0,487	0,449	0,476	0,499	0,510	0,536	0,544	0,638	0,674	0,653	0,426	0,286	0,249	0,206	0,153	0,107
100	180	10	0,915	0,465	0,399	0,402	0,420	0,452	0,520	0,596	0,727	0,763	0,737	0,460	0,289	0,251	0,206	0,155	0,109
100	240	10	0,932	0,485	0,427	0,444	0,469	0,497	0,554	0,608	0,734	0,773	0,746	0,462	0,291	0,253	0,204	0,154	0,109
100	300	10	0,939	0,503	0,454	0,483	0,512	0,534	0,578	0,612	0,731	0,768	0,742	0,462	0,293	0,253	0,205	0,154	0,107
60	180	12	0,797	0,510	0,455	0,442	0,438	0,445	0,477	0,509	0,594	0,627	0,617	0,451	0,343	0,309	0,250	0,189	0,134
60	240	12	0,805	0,527	0,483	0,484	0,486	0,487	0,506	0,513	0,589	0,624	0,615	0,449	0,342	0,305	0,252	0,188	0,133
60	300	12	0,813	0,543	0,509	0,523	0,532	0,528	0,534	0,519	0,588	0,621	0,612	0,446	0,341	0,307	0,252	0,190	0,131
80	180	12	0,894	0,518	0,453	0,444	0,448	0,468	0,520	0,577	0,685	0,723	0,707	0,481	0,341	0,302	0,247	0,186	0,127
80	240	12	0,911	0,543	0,487	0,492	0,501	0,515	0,553	0,585	0,688	0,728	0,709	0,486	0,345	0,306	0,251	0,189	0,133
80	300	12	0,913	0,555	0,508	0,525	0,541	0,549	0,577	0,588	0,684	0,722	0,703	0,481	0,345	0,304	0,249	0,189	0,132
100	180	12	1,008	0,547	0,469	0,461	0,470	0,501	0,572	0,652	0,784	0,828	0,803	0,527	0,353	0,310	0,253	0,192	0,134
100	240	12	1,037	0,577	0,509	0,514	0,531	0,557	0,613	0,669	0,795	0,839	0,813	0,536	0,360	0,312	0,258	0,197	0,139
100	300	12	1,066	0,617	0,557	0,574	0,595	0,614	0,658	0,692	0,811	0,853	0,828	0,551	0,378	0,332	0,275	0,213	0,155

Çizelge 4.16 “Actidem-şurup” örneklerine ait absorpsan değerleri

Örnek	Dalga Boyu(λ)														
	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	315
1	0,826	0,495	0,443	0,448	0,463	0,474	0,508	0,533	0,628	0,663	0,643	0,436	0,310	0,272	0,127
2	0,793	0,465	0,417	0,428	0,444	0,456	0,491	0,516	0,608	0,641	0,624	0,417	0,289	0,255	0,106
3	0,866	0,514	0,463	0,473	0,488	0,500	0,537	0,565	0,661	0,698	0,677	0,455	0,319	0,282	0,130
4	0,858	0,503	0,452	0,459	0,471	0,484	0,524	0,554	0,656	0,691	0,675	0,452	0,315	0,279	0,115
5	0,875	0,513	0,460	0,468	0,481	0,496	0,534	0,565	0,666	0,705	0,689	0,461	0,321	0,285	0,117

Çizelge 4.17 Aynı günde plasebo içinde dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerine ait konsantrasyon-absorpsiyon çizelgesi

Gün	C(µg mL ⁻¹)			Dalga Boyu(λ)														
	DEK	PSE	TRP	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	315
1	60	180	8	0,599	0,364	0,329	0,335	0,347	0,349	0,373	0,390	0,458	0,480	0,469	0,318	0,225	0,197	0,089
	80	240	10	0,759	0,448	0,403	0,415	0,432	0,441	0,473	0,496	0,588	0,612	0,599	0,391	0,273	0,239	0,106
	100	300	12	0,967	0,563	0,509	0,527	0,552	0,563	0,607	0,639	0,755	0,791	0,770	0,497	0,343	0,301	0,132
2	60	180	8	0,584	0,351	0,316	0,323	0,336	0,341	0,366	0,381	0,450	0,471	0,461	0,302	0,215	0,189	0,081
	80	240	10	0,756	0,442	0,399	0,411	0,431	0,438	0,473	0,496	0,589	0,615	0,598	0,386	0,269	0,234	0,102
	100	300	12	0,953	0,552	0,498	0,515	0,541	0,555	0,600	0,630	0,749	0,785	0,764	0,486	0,334	0,292	0,126
3	60	180	8	0,604	0,364	0,330	0,336	0,437	0,351	0,374	0,393	0,459	0,484	0,470	0,317	0,224	0,199	0,088
	80	240	10	0,786	0,468	0,425	0,434	0,451	0,459	0,490	0,514	0,603	0,634	0,615	0,408	0,288	0,252	0,119
	100	300	12	0,977	0,569	0,516	0,533	0,558	0,572	0,612	0,645	0,759	0,802	0,777	0,505	0,346	0,305	0,138

Çizelge 4.18 Farklı günlerde plasebo içinde dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizine ait konsantrasyon-absorpsiyon çizelgesi

Hafta	C($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Dalga Boyu(λ)																
	DEK	FSE	TRP	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315
1	60	180	8	0,599	0,363	0,331	0,339	0,348	0,356	0,379	0,394	0,463	0,489	0,477	0,324	0,233	0,207	0,170	0,128	0,094
	80	240	10	0,774	0,463	0,422	0,434	0,451	0,463	0,493	0,515	0,604	0,634	0,616	0,409	0,289	0,255	0,214	0,159	0,118
	100	300	12	0,968	0,565	0,513	0,532	0,556	0,572	0,614	0,645	0,764	0,802	0,782	0,507	0,351	0,307	0,252	0,190	0,138
2	60	180	8	0,584	0,352	0,316	0,323	0,336	0,343	0,366	0,381	0,452	0,471	0,462	0,303	0,215	0,189	0,160	0,113	0,082
	80	240	10	0,756	0,440	0,400	0,411	0,433	0,436	0,475	0,497	0,593	0,616	0,599	0,389	0,270	0,237	0,198	0,145	0,102
	100	300	12	0,954	0,553	0,496	0,516	0,542	0,558	0,598	0,630	0,746	0,788	0,768	0,490	0,334	0,294	0,241	0,183	0,128
3	60	180	8	0,584	0,348	0,317	0,324	0,334	0,342	0,365	0,385	0,451	0,474	0,463	0,307	0,217	0,191	0,157	0,118	0,078
	80	240	10	0,751	0,437	0,397	0,410	0,429	0,440	0,473	0,500	0,590	0,619	0,603	0,387	0,270	0,235	0,194	0,141	0,098
	100	300	12	0,955	0,546	0,496	0,516	0,541	0,557	0,602	0,638	0,754	0,794	0,772	0,494	0,335	0,293	0,241	0,177	0,122
4	60	180	8	0,579	0,343	0,310	0,317	0,329	0,336	0,360	0,378	0,446	0,467	0,458	0,301	0,213	0,186	0,150	0,112	0,076
	80	240	10	0,765	0,444	0,401	0,414	0,430	0,441	0,477	0,501	0,592	0,622	0,605	0,395	0,273	0,239	0,197	0,147	0,101
	100	300	12	0,954	0,544	0,492	0,510	0,534	0,552	0,596	0,629	0,745	0,783	0,763	0,491	0,333	0,288	0,237	0,176	0,121

Çizelge 4.19 Aynı günde plasebo içinde yapılan dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								
	DEK	PSE	TRP	DEK	PSE	TRP	DEK	PSE	TRP
	60	180	8	80	240	10	100	300	12
1	64,71	192,71	7,39	76,16	227,91	9,33	91,57	276,39	11,99
2	63,43	188,51	7,16	75,90	226,92	9,28	90,47	272,16	11,78
3	64,86	193,18	7,41	78,51	235,39	9,74	92,66	278,44	12,13
$\bar{x}$	64,33	191,46	7,32	76,85	230,07	9,45	91,56	275,66	11,96
s	0,78	2,57	0,14	1,43	4,63	0,25	1,09	3,20	0,18
%s	1,21	1,34	1,91	1,86	2,01	2,64	1,19	1,16	1,50
%R	107,20	106,36	91,50	96,06	95,86	94,50	91,56	91,88	99,66
RMSD	5,84	16,81	0,53						
%REP	7,30	7,00	5,30						

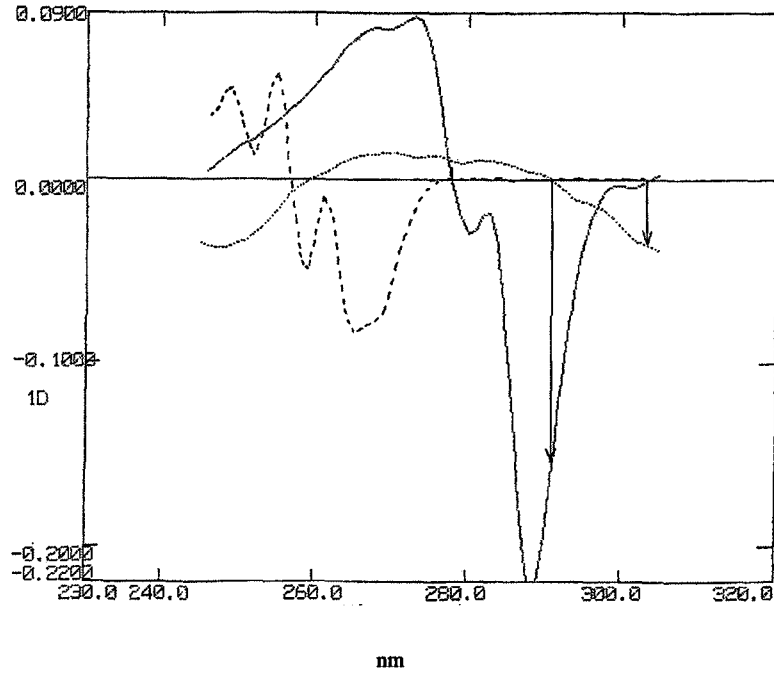
Çizelge 4.20 Farklı günlerde plasebo içinde yapılan dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl analizlerinin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği

Bulunan konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Plasebodaki Konsantrasyon ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								
	DEK	PSE	TRP	DEK	PSE	TRP	DEK	PSE	TRP
	60	180	8	80	240	10	100	300	12
1. hafta	65,30	193,88	7,47	78,25	234,62	9,70	92,38	278,21	12,10
2. hafta	63,42	188,48	7,19	76,01	227,00	9,30	92,50	272,92	11,88
3. hafta	63,27	188,75	7,16	75,62	226,67	9,26	90,76	272,12	11,79
4. hafta	62,56	186,46	7,03	76,04	228,10	9,33	90,12	270,00	11,68
$\bar{x}$	63,63	189,39	7,21	76,48	229,09	9,40	91,44	273,31	11,86
s	1,17	3,16	0,18	1,19	3,73	0,20	1,18	3,48	0,17
%s	1,83	1,66	2,50	1,55	1,62	2,12	1,29	1,27	1,43
%R	106,50	105,21	90,12	95,60	95,45	94,00	91,44	91,10	98,83
RMSD	5,83	17,76	0,60						
%REP	7,28	7,40	6,00						

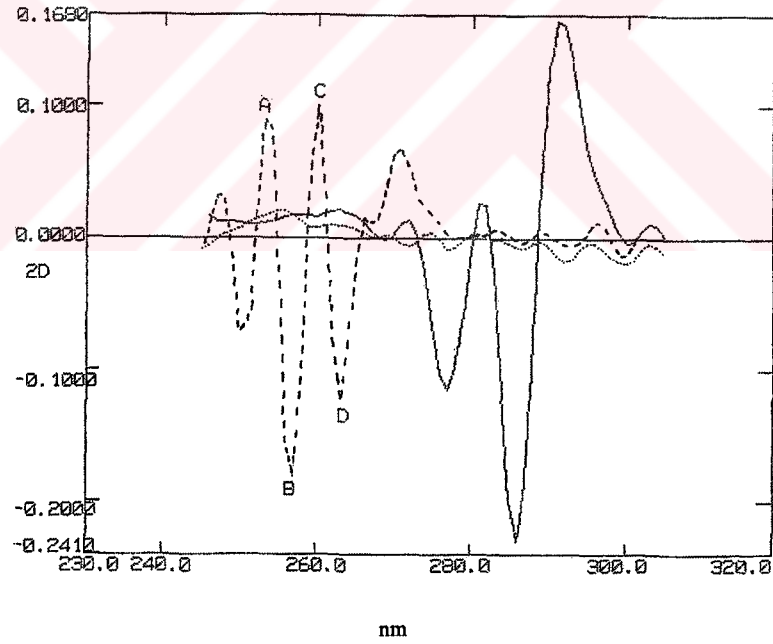
4.3.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

4.3.2.1 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl'nin türev spektrofotometrik analizinde daha önce bu maddelerle türev spektrofotometresi ile yapılmış çalışmalardan yararlanıldı (Davidson ve Elsheikh, 1982; Jones vd., 1985; Murtha vd., 1987; Davidson ve Mkoji, 1988). PLS yöntemiyle aynı çözücü şartlarında şurup içindeki oranlar göz önünde tutularak $80 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda dekstrometorfan HBr, $240 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda psödoefedrin HCl ve $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda triprolidin HCl'nin 1., 2., 3. ve 4. türev spektrumları çekildi. 1. türev spektrumu incelendiğinde, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl'nin sıfır olduğu 291 nm, dekstrometorfan HBr tayini, psödoefedrin HCl ve dekstrometorfan HBr'nin sıfır olduğu 303 nm, triprolidin HCl tayini için uygun olduğu belirlendi (Şekil 17). 2. türev spektrumu incelendiğinde ise, 240-270 nm arası dekstrometorfan HBr ve triprolidin HCl'ye ait absorbansların psödoefedrin HCl analizini etkilemeyeceği ve AB, BC ya da CD uzunlukları kullanılarak (pik-pik tekniği) psödoefedrin HCl'nin diğer iki madde yanında tayin edilebileceği düşünüldü (Şekil 18). Bu amaçla $240 \mu\text{g mL}^{-1}$ psödoefedrin HCl tek başına, $80 \mu\text{g mL}^{-1}$ dekstrometorfan HBr $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ triprolidin HCl ve $160 \mu\text{g mL}^{-1}$ dekstrometorfan HBr $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ triprolidin HCl ile birarada 6 kez ayrı ayrı 2. türev spektrumları çekildi. Herbir spektrumun AB, BC ve CD pik uzunlukları okunarak bu dalga boylarında diğer iki maddenin etkisi incelendi ve istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı (Çizelge 21). Sonuç olarak psödoefedrin HCl'nin 257 ve 260 nm'deki pik uzunluğu (BC) kullanılarak tayininin yapılmasına karar verildi. Buna göre türev spektrofotometrik yöntemle dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl'ye ait ölçü eğrileri, dekstrometorfan HBr için $40\text{-}120 \mu\text{g mL}^{-1}$, psödoefedrin HCl için $120\text{-}360 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve triprolidin HCl için $6\text{-}14 \mu\text{g mL}^{-1}$ olacak şekilde Bölüm 3.3.3.2.1'deki gibi hazırlandı. Elde edilen absorbans değerleri ve ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri Çizelge 4.22, Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24, ölçü eğrileri ise Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Bu ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri "Actidem-şurup" da dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl tayininde kullanılmıştır.



Şekil 4.17 Dekstrometorfan HBr ($80 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl ($240 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve triprolidin HCl'nin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) 0,1 M H_2SO_4 içindeki 1. türev absorpsiyon spektrumları



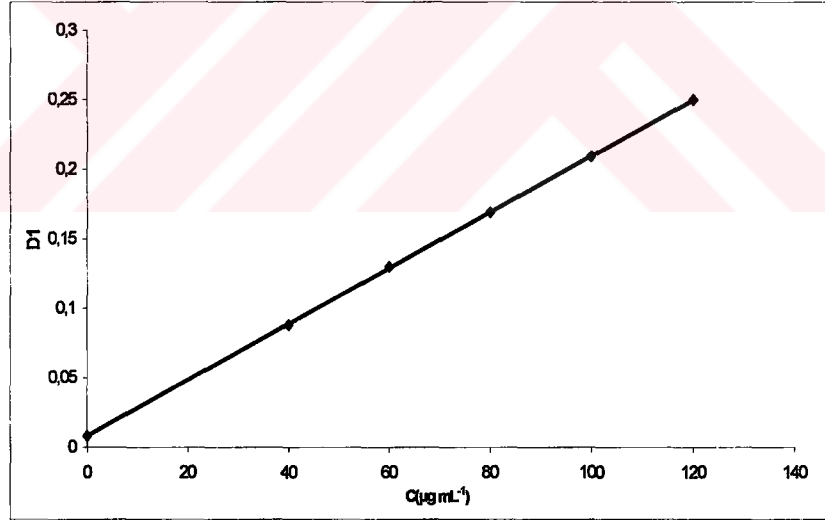
Şekil 4.18 Dekstrometorfan HBr ($80 \mu\text{g mL}^{-1}$) (—), psödoefedrin HCl ($240 \mu\text{g mL}^{-1}$) (----) ve triprolidin HCl'nin ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) (.....) 0,1 M H_2SO_4 içindeki 2. türev absorpsiyon spektrumları

Çizelge 4.21 2.türev spektrumundan psödoefedrin HCl analizinde, dekstrometorfan HBr ve tripolidin HCl etkisinin incelenmesi ve uygun noktaların bulunması

Karışım	PSE	DEK	TRP	PSE	DEK	TRP	PSE	DEK	TRP
C ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	240	0	0	240	80	10	240	160	20
2D	AB	BC	CD	AB	BC	CD	AB	BC	CD
$\bar{x}$	0,271	0,278	0,221	0,272	0,280	0,226	0,266	0,278	0,222
s	0,001	0,002	0,003	0,004	0,003	0,002	0,003	0,002	0,002
%s	0,700	0,860	1,750	1,680	1,200	1,190	1,200	0,820	0,900
t testi				0,680	0,760	2,330	3,390	0,660	0,580
F testi				5,860	2,000	2,080	2,830	1,080	3,800
$n_1 = n_2 = 6$			$t_{10}^{0,05}$ tablo = 2,23			$F_{5,5}^{0,05}$ tablo = 5,05			

Çizelge 4.22 Dekstrometorfan HBr'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

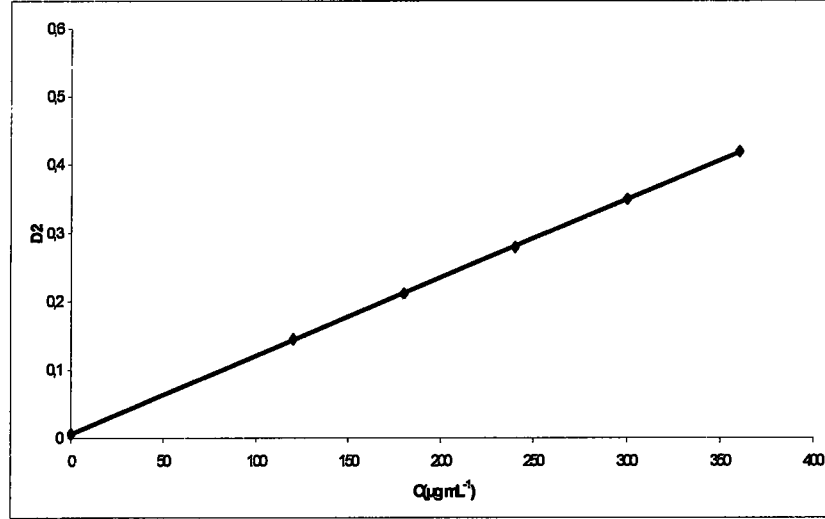
C($\mu\text{g mL}^{-1}$)	40	60	80	100	120
$^1D_{291}$	0,0880	0,1298	0,1692	0,2091	0,2499
$^1D_{291} = 7,96 \cdot 10^{-3} + 2,016 \cdot 10^{-3} C$ $r = 0,9999$					



Şekil 4.19 Dekstrometorfan HBr'ye ait ölçü eğrisi

Çizelge 4.23 Psödoefedrin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

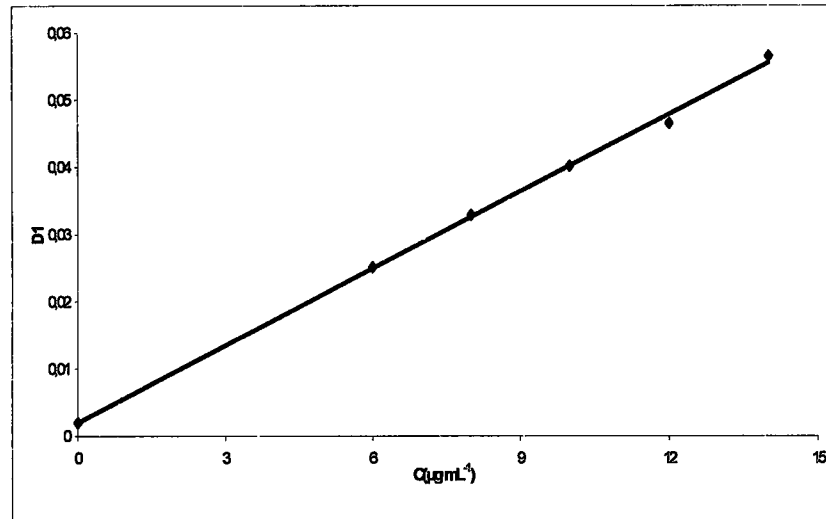
C($\mu\text{g mL}^{-1}$)	120	180	240	300	360
$^2D_{257-260}$	0,1458	0,2109	0,2791	0,3496	0,4192
$^2D_{257-260} = 6,72,10^{-3} + 1,142,10^{-3} C$ $r = 0,9998$					



Şekil 4.20 Psödoefedrin HCl'ye ait ölçü eğrisi

Çizelge 4.24 Triprolidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

C($\mu\text{g mL}^{-1}$)	6	8	10	12	14
$^1D_{303}$	0,0251	0,0329	0,0402	0,0465	0,0565
$^1D_{303} = 2,04,10^{-3} + 3,82,10^{-3} C$ $r = 0,9970$					



Şekil 4.21 Triprolidin HCl'ye ait ölçü eğrisi

TARTIŞMA

Çok bileşenli ilaç preparatlarında bulunan etken madde analizleri genellikle, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi ve spektrofotometrik yöntemler kullanılarak yapılmaktadır. Ancak UV absorpsiyon spektrumları üst üste çakışan ve ilaç preparatı içindeki oranları oldukça farklı olan ilaç maddelerinin doğrudan analizi spektrofotometrik yöntemlerle mümkün olmamaktadır. Kromatografik yöntemler ise, enjeksiyon öncesinde çeşitli hazırlık işlemlerini ve uygun mobil faz seçimini gerektirdiğinden pahalı ve zaman alıcı bulunmaktadır. Son zamanlarda çoklu kalibrasyon yöntemlerinden kısmi en küçük kareler kalibrasyonu (PLS), bilinen spektrofotometrik ve kromatografik tekniklere göre ucuzluğu ve pratikliğiyle iyi bir alternatif oluşturmuş, sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada, sözü edilen tayin güçlüklerine sahip ilaç karışımları araştırıldı ve essin-dietilamin salisilat, dekspantenol-mepiramin maleat-lidokain HCl ve dekstrometorfan HBr-psödoefedrin HCl-triprolidin HCl içeren preparatlara PLS yöntemi uygulandı.

Essin ve dietilamin salisilatın birarada analizi için herhangi bir yöntem farmakopede yer almamıştır. İlaç fabrikasının kullandığı yöntem ise çok kademeli ekstraksiyon işlemlerine dayanmakta, zaman ve madde kaybına neden olmaktadır. Bu tür analiz zorluklarına karşı geliştirilen PLS yönteminde öncelikle uygun çözücü seçimi yapıldı. Essinin alkolde çok kolay çözünmesi ve asetik asit-HCl ortamında (Acar, 1991) en iyi absorpsiyon pikini vermesi nedeniyle, essin ve dietilamin salisilatın preparat içindeki oranları (1 :5) dikkate alınarak bu çözeltilerdeki absorpsiyon spektrumları alındı. Ancak asetik asitin, essin ve dietilamin salisilat absorpsiyonunun maksimum olduğu dalga boylarında yüksek absorpsiyon göstermesi, molar absorptivitesi ve ilaç preparatı içindeki miktarı dietilamin salisilata göre düşük olan essin analizini olumsuz etkilediği görüldü ve çözücü olarak etil alkolün kullanılmasına karar verildi. Kalibrasyon seti oluşturulması için çözelti karışımlarının hazırlanmasında preparat içindeki miktarlar ve uygun absorpsiyon koşulları göz önünde tutuldu ve seviyeler essin için 10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dietilamin salisilat için 40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi. Jel örnekleri hiçbir ön ayırma ve ekstraksiyon işlemine tabi tutulmaksızın alkolde çözülerek hazırlandı ve absorpsiyon ölçümleri kalibrasyon çözeltileriyle aynı şartlarda yapıldı. Jel plasebosuna örnekle aynı işlem uygulandıktan sonra spektrum alındığında absorpsiyon yapmadığı görüldü. Geliştirilen yöntemin doğruluk ve tekrarlanabilirliğini belirlemek üzere üç farklı konsantrasyonda (10, 20, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) essin ve (40, 50, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dietilamin salisilat içeren plasebo örnekleri aynı gün içinde ve bir ay içinde farklı günlerde analiz edildi. Aynı gün içinde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri essin için % 0,45-9,80; dietilamin

salisilat için % 0,72-7,02; bağıl tahmin hatası (% REP) essin için % 8,50; dietilamin salisilat için % 3,28; farklı günlerde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri essin için % 0,11-14,59; dietilamin salisilat için % 0,27-4,82; bağıl tahmin hatası essin için % 8,10; dietilamin salisilat için % 4,30 olarak bulundu.

Essin ve dietilamin salisilat analizinde ikinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Alkoldeki 3. ve 4. türev spektrumları incelendiğinde 214,3 ve 219 nm'de essinin tayin edilebileceği düşünülse de essinin miktarının düşük ve dietilamin salisilatın pikinin ise seçilen noktalarda dik olması nedeniyle yöntem jel preparatlarına uygulanamadı.

Geliştirilen PLS yönteminin sonuçlarının geçerliliğini saptamak amacıyla ilaç fabrikasının kullandığı yöntemle jel preparatları analiz edildi. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar % 95 güvenilirlik düzeyinde karşılaştırıldı ve tekrarlanabilirlik açısından anlamlı fark olmadığı, sadece dietilamin salisilat analizi için ortalamalar arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü. Bu durum, geliştirilen PLS yönteminin jel preparatlarında essin ve dietilamin salisilat analizi için basit, tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği yüksek bir metot olduğunu belirtmektedir. Örnek hazırlamada ön hazırlık ve ekstraksiyon işleminin uygulanmaması, bilinen spektrofotometrik yöntemlerle birarada tayine imkan vermeyen absorpsiyon girişimine rağmen orijinal spektrumlar ve dalga boyları kullanılarak analizin yapılması, yöntemin üstünlüklerini oluşturmakta ve jel preparatlarının rutin analizlerinde rahatlıkla kullanılabileceği düşünülmektedir.

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl üçlünün birarada analizi için PLS yönteminin geliştirilmesindeki en önemli sebep, kaynaklarda bu maddelerin birlikte analizine ait bir çalışmaya rastlanmaması ve spektrumların oldukça fazla girişim yapması olmuştur. Bu doğrultuda yöntemin uygulanmasına öncelikle uygun çözücü seçimiyle başlandı. İlaç içindeki oranlar göz önünde tutularak (50 : 15 : 15) çeşitli çözücülerdeki spektrumlar incelendiğinde, dekspantenolün maksimum dalga boyunda diğer iki maddeninde spektrumlarının üst üste çakışması nedeniyle çözücü olarak su seçildi. Kalibrasyon setini oluşturmak üzere konsantrasyon seviyeleri, lineerliği bozmayacak ve yüksek absorbans düzeylerine çıkmayacak şekilde ayarlanarak dekspantenol için 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mepiramin maleat için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve lidokain HCl için 2, 3, 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi. Jel örnekleri hiçbir ön ayırma ve ekstraksiyon işlemine tabi tutulmaksızın suda çözülerek hazırlandı ve absorpsiyon ölçümleri kalibrasyon çözeltileriyle aynı şartlarda yapıldı. Jel plasebosuna örnekle aynı işlem uygulandıktan sonra spektrum alındığında absorpsiyon yapmadığı görüldü. Yöntemin

doğruluk ve tekrarlanabilirliğini belirlemek üzere üç farklı konsantrasyonda ($8,10,12 \mu\text{g mL}^{-1}$) dekspantenol, ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) mepiramin maleat ve ($2, 3, 4 \mu\text{g mL}^{-1}$) lidokain HCl plasebo örnekleri aynı gün içinde ve bir ay içinde farklı günlerde analiz edildi. Aynı gün içinde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri dekspantenol için % 1,11-13,44; mepiramin maleat için % 5,03-10,96; lidokain HCl için % 0,17-12,13; bağıl tahmin hatası dekspantenol için % 6,90; mepiramin maleat için % 9,00; lidokain HCl için % 11,00; farklı günlerde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri dekspantenol için % 0,61-5,05; mepiramin maleat için % 2,88-14,63; lidokain HCl için % 3,28-12,17; bağıl tahmin hatası dekspantenol için % 3,40; mepiramin maleat için % 7,66; lidokain HCl için % 7,33 olarak bulundu.

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizinde ikinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Maddelerin su ve metanoldeki 1. türev spektrumları incelendiğinde lidokain HCl ve mepiramin maleatın dekspantenol yanında tayin edilebileceği ancak dekspantenol tayini için uygun bir dalga boyunun olmadığı görüldü.

Dekspantenol, mepiramin maleat ve lidokain HCl analizine ait bir karşılaştırma yöntemi bulunmadığı için PLS yönteminin değerlendirilmesi ortalama % R (Geri kazanım) sonuçlarına bakılarak yapıldı. Bu değerler, dekspantenol için % 95,06, mepiramin maleat için % 96,53 ve lidokain HCl için % 96,73 olarak bulundu. Elde edilen sonuçlar % 90-110 sınırları arasında olduğu için bu PLS uygulamasında, yüksek absorpsiyon girişimine rağmen pratik bir analiz yöntemi olması nedeniyle kontrol laboratuvarlarındaki rutin analizler için rahatlıkla kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Dekstrometorfan HBr, psödoefedrin HCl ve triprolidin HCl'nin birlikte tayinine yönelik kaynak araştırmasında iki spektrofotometrik (Jones, vd.,1985; Davidson ve Mkoji;1988) bir de likit kromatografik yöntem (Deorsi, vd., 1996) rastlanmıştır. Spektrofotometrik yöntemlerin ilkinde, psödoefedrin HCl 2.türev spektrumundan, triprolidin HCl ve dekstrometorfan HBr ise 275-300 nm arası 6 dalga boyu kullanılarak en küçük kareler yöntemiyle tayin edilmiştir. Diğer çalışma ise asidik ve bazik çözeltilerdeki spektrum farklarından yararlanılarak yapılmış, triprolidin HCl orijinal spektrumundan, psödoefedrin HCl ve dekstrometorfan HBr ise 2. ve 4. türev spektrumundan fark (difference) absorpsiyon spektrofotometrisi kullanılarak tayin edilmiştir. PLS yöntemi bu maddelerin analizinde, hem aynı anda tayin olanağı vermesi hem de pahalı kromatografik tekniklere alternatif oluşturması amacıyla geliştirilmiştir. Yöntemin uygulanmasındaki çözücü seçiminde su, üç maddeninde çok iyi çözünmesi ve spektrumlarının birbirinden farklı olması nedeniyle en uygun çözücü olarak belirlendi. Ancak şurup preparatının sudaki spektrumu alındığında gerek renkten

gerekse metil paraben gibi diğer katkı maddelerinden dolayı çok yüksek absorbands değerleri görüldü. Şurup preparatına aktif kömürle çalkalama ve Al_2O_3 kolondan geçirme gibi işlemler uygulandı. Her iki yöntemlede renk tutuldu ancak diğer katkı maddelerinin etkisi yok edilemedi. Bu nedenlerden dolayı örnek hazırlamada Davidson ve Mkoji'nin (1988) çalışmasından yararlanıldı. Kalibrasyon modeli oluşturulurken şurup içindeki miktarlar göz önünde tutuldu (2 : 6: 0,25) ve uygun seviyeler dekstrometorfan HBr için 60, 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ psödoefedrin HCl için 180, 240, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve triprolidin HCl için 8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi. Çözeltiler preparatın hazırlanmasına uygun olarak sülfat asitli ortamda hazırlandı. Şurup örneklerine bazik ortamda kloroformla ekstraksiyon yapıldı ve daha sonra asidik çözeltiye alınan maddelerin absorpsiyon ölçümleri, kalibrasyon çözeltileriyle aynı şartlarda yapıldı. Şurup plasebosunun aynı ekstraksiyon işlemlerinden geçirildikten sonra spektrumu alındığında absorpsiyon gözlenmedi. Yöntemin doğruluk ve tekrarlanabilirliğini belirlemek üzere üç farklı konsantrasyonda (60, 80, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dekstrometorfan HBr, (180, 240, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$) psödoefedrin HCl ve (8, 10, 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$) triprolidin HCl plasebo örnekleri aynı gün içinde ve bir ay içinde farklı günlerde analiz edildi. Aynı gün içinde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri dekstrometorfan HBr için % 1,19-1,86; psödoefedrin HCl için % 1,16-2,01; triprolidine HCl için % 1,50-1,91; bağıl tahmin hatası dekstrometorfan HBr için % 7,30; psödoefedrin HCl için % 7,00; triprolidine HCl için % 5,30; farklı günlerde yapılan analizlerde bağıl standart sapma değerleri dekstrometorfan HBr için % 1,29-1,83; psödoefedrin HCl için % 1,27-1,66; triprolidine HCl için % 1,43-2,5; bağıl tahmin hatası dekstrometorfan HBr için % 7,28; psödoefedrin HCl için % 7,40; triprolidine HCl için % 6,00 olarak bulundu.

Bu üçlü karışımın analizinde ikinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrisi kullanıldı. Yöntemin uygulamasında daha önce yapılmış çalışmalardan yararlanıldı (Davidson ve Elshaikh, 1982; Jones vd., 1985; Murtha vd., 1987; Davidson ve Mkoji, 1988). Buna göre, PLS yöntemiyle aynı şartlarda hazırlanmış şurup örneklerinin, 1. türev spektrumu kullanılarak 291 nm'de dekstrometorfan HBr, 303 nm'de triprolidin HCl, 2. türev spektrumu kullanılarak 257-260 nm'de psödoefedrin HCl analizi yapıldı. Yöntem PLS sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla kıyas yöntemi olarak kullanıldı. İki yöntemle elde edilen sonuçlar % 95 güvenilirlik düzeyinde karşılaştırıldı ve ortalamalar ve tekrarlanabilirlik açısından anlamlı fark olmadığı görüldü. Ancak türev spektrofotometrik yöntemin spesifik dalga boyu seçimi gerektirmesi ve bu işlemlerin zaman alıcı olması nedeniyle PLS yönteminin rutin analizlerde daha uygun olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

Abacıoğlu, N., (2002), Güncel Farmalist, Ozhan Matbaacılık San. AŞ., Ankara.

Abdel-Moety, E.M., (1990), "Simultaneous Derivative Spectrophotometric Quantification of Diethylamine Salicylate and Methyl Nicotinate in Ointments", Spectroscopy Letters, 23(5):669-677.

Abdel-Moety, E.M., Alrashood, K.A. ve Khattab, N.A., (1991), "GLC-Quantification of Diethylamine Salicylate and Methyl Nicotinate in Ointments", Acta Pharmaceutica Jugoslavica, 41(1):33-39.

Abdel-Moety, E.M., Aldeeb, O.A. ve Khattab, N.A., (1995), "Determination of Dextrometorphan HBr in Bulk Form and Dosage Formulations by HPLC", J. Liq. Chromatogr., 18(20):4127-4134.

Abounassif, M.A., Abdel-Moety, E.M. ve Gad-Kariem, R.A., (1992), "HPLC Quantification of Diethylamine Salicylate and Methyl Nicotinate in Ointments", J. of Liq. Chromotogr., 15(14):625-636.

Abraham, I., Fawcett, J.P., Kennedy, J., Kumar, A. ve Ladger, R., (1997), "Simultaneous Analysis of Lignocaine and Bupivacaine Enantiomers in Plasma by HPLC", J. Chromatogr. B, 703(1-29):203-208.

Acar, A.M, (1991), Türkiye’de Yetişen Aesculus Hippocastanum L, Bitkisinin Tohumların Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi, Doktora Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Acar, A.M ve Paksoy, Ş., (1993), "Derivative Spectrophotometric Determination of Aescin in Aesculus-Hippocastanum L Seeds", Pharmazie, 48(1):65-66.

Achari, R.G., Ederma, H.M., Chin, D. ve Oles, S.R., "Determination of Dextrometorphan in Biological Fluids by LC by Using Semi-Microbore Columns", J. Pharm. Sci., 73(12):1821-1822.

Akhtar, M.J., Sharfuddin, K. ve Hafız, M., (1994), "HPLC Assay for the Determination of Paracetamol, Pseudoephedrine HCl ve Triprolidine HCl", J. Pharm. Biomed. Anal., 12:379-382.

Aksu, Ö., Bozdoğan, A.ve Kunt G., "Simultaneous Determination of Theobromine and Caffeine in Cocoa by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", Anal. Lett., 31(5):859.

Altıria, K.D., (1999), "Application of Microemulsion Electrokinetic Chromatography to Analysis of a Wide of Pharmaceuticals and Excipients", J. Chromatogr. A, 844:371-386.

Altuntaş, T.G., Zanoöz, S.S. ve Nebioğlu, D.,(1998), "Quantitative Determination of Acrivastine and Pseudoephedrine HCl in Pharmaceutical Formulation by HPLC and Derivative Spectrophotometry", J. Pharm. Biomed. Anal., 17(1):103-109.

Archilli, G., Cellerino, G.P., Deril, G.V.M. ve Tagliaro, F., (1996), "Determination of Illicit Drugs and Related Substances by HPLC with an Electrochemical Coulometric Array-

Detector", J. Chromatogr. A, 729(1-2):273-277.

Argekar, A.P., Shah, S.J. ve Raj, S.V., (1998), "Simultaneous Determination of Pseudoephedrine HCl and Terfanidine from Formulations by Reverse-Phase Ion Pair HPLC", Drug Development Industrial Pharmacy, 24(3):219-223.

Arimoto, H. ve Shiomi, K., (1991), "Determination of Lidocaine in Human Serum by Capillary Gas Chromatography with Surface Ionization Detection", HRC Journal of High Resolution Chromatography, 14(10):672-675.

Arufemartinez, M.I., Romeroplanco, J.L., Gamarolucas, J. ve Vizcayarojas, M.A., (1989), "The Application of Derivative Spectrophotometry for the Simultaneous Determination of Cocaine and Other Local Anesthetic", J. of Anal. Toxicology, 13(6), 237-341.

Bachman, W.S., (1980), "HPLC Determination of Antihistamine-Adrenergic Combination Products", J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63(1):91-94.

Barat, S.A., Kardos, S.A. ve Abdelrahman M.S., (1996), "Development and Validation of a HPLC Method for the Determination of Cocaine, Its Metabolites and Lidocaine", J. Appl. Toxicology, 16(3):215-219.

Baseski, H.M. ve Sherma, J., (2000), "Quantitation of Triprolidine HCl and Methscopolamine Nitrate in Pharmaceutical Tablets by HPTLC with UV-Absorption Densitometry", JPC, J. Planar Chromatogr.-Modern TLC, 13(1):16-19.

Billedeau, S.M., Holder, C.L. ve Getek, T.A., (1990), "HPLC of the Antihistamine Pyrilamine and Its N-Oxide Using Electrochemical Detection", J. Chromatogr. Biomed. Appl., 534:151-159.

Boeris, M., Luco, J.M. ve Olsina, R.A., (2000), "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Phenobarbital, Phenytoin, and Methylphenobarbital in Pharmaceutical Preparations by Using Partial-Least Squares and Principal Component Regression Multivariate Calibration", J. Pharm. Biomed. Anal., 24:259-271.

Bozdogan, A., Acar, A. ve Kunt G., (1992), "Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine in Tablet Preparations by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", Talanta, 39:979.

Bozdogan, A., Acar, A., Kunt, G. ve Çağlar, H., "Simultaneous Determination of Paracetamol, Metamizol Sodium and Caffeine in Tablet Preparations by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", Pharmazie, 49:457.

Brereton, R.G. (2000), Introduction To Multivariate Calibration in Analytical Chemistry, School of Chemistry, University of Bristol, Cantock's Close, Bristol.

British Pharmacopoeia, (1988), H.M Stationary Office, London.

British Pharmacopoeia, (2000), H.M Stationary Office, London.

Burnouf, R. and Deftel N., (1986), "High Performance Liquid Chromatography of Triterpene Saponins" J. Chromatogr., 368:433-438

Canay, O., (1992), İlaç Sözlüğü-İlaç İndeksi, Baskı ve Boyut Maatbaacılık Aş.,İstanbul.

Caraballo, I., Fernandezarevalo, M., Holgado, M.A., Alvarezfuentess, J. ve Rabasko, A.M., (1995), "Simultaneous HPLC Determination of Some Drugs Commonly Used in Cold Medications-Dextrometorphan, Diphenhydramine, Phenyleprine, Phenylpropanolamine and Pseudoephedrine", Drug Development and Industrial Pharmacy, 21(5):605-613.

Carnevale, L., (1983), "Simultaneous Determination of Acetaminophen, Guaifenesin, Pseudoephedrine, Pholcodine and Paraben Preservatives in Cough Mixture by HPLC", J.Pharm. Sci., 72(2):196-198.

Caslawska, J., Hufschmid, E., Theurillat, R., Desiderio, C., Wolfishberg, H. ve Thormann, W., (1994), "Screening for Hydroxylation and Acetylation Polymorphisms in Man Via Simultaneous Analysis of Mephenytoin, Dextrometorphan and Caffeine by Capillary-Electrophoretic Procedure", J. Chromatogr. B Biomed. Appl., 656(1):219-231.

Chen, H., Huang, D., Chen, O. ve Li, H., (1998), "Rapid Determination Active Constituents in Compound Ibuprofen Tablets by CZE", Se Pu, 16(4):289-292.

Chen, H.W. ve Fang, Z.L., (1997), "Combination of Flow Injection with Capillary Electrophoresis-Part 3- On Line Sorption Column Preconcentration by Capillary Electrophoresis System", Anal. Chim. Acta, 355(2-3):135-143.

Chen, H.W. ve Fang, Z.L., (1999), "Combination of Flow Injection with Capillary Electrophoresis-Part 5-Automated Preconcentration nad Determination of Pseudoephedrine in Human Plasma", Anal. Chim. Acta, 394(1):13-22.

Chen, Y., Potter, J.M., ve Ravenscroof, P.J., (1992), "High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Monoethylglycinexylidide and Lignocaine", J. Chromatogr., 574:361-364.

Chen, Y.P., Wang, P., Shaw, C.Y. ve Chang, B.L., (1999), "Simultaneous Determination of Complex Cold Medicine Formulations by HPLC", J. Food and Drug Anal., 7(1):13-22.

Chen, Z.R., Somogyi, A.A. ve Bochner, F., (1990), "Simultaneous Determination of Dextrometorphan and Three Metabolites in Plasma and Urine Using HPLC with Application to Their Disposition in Max", Therapeutic Drug Monitoring, 12(1):97-104.

Collado, M., Mantovani, V.E., Goicoechea, H.C. ve Olivieri, A.C., (2000), "Simultaneous Spectrophotometric- Multivariate Calibration Determination of Several Components of Ophthalmic Solutions: Phenyleprine, Chloramphenicol, Antipyrine, Methylparaben and Thimerosal", Talanta, 52:909-920.

Constantini, A., (1999), "Escin in Pharmaceutical Oral Dosage Forms Quantitative Densitometric HPTLC Determination", Farmaco, 54(11-12):728-732.

Dasgupta, V. ve Heble, A.R., (1984), "Quantification of Acetaminophen, Chlorpheniramine Maleate, Dextrometorphan HBr and Phenylpropanolamine Hydrochloride in Combination Using HPLC", J. Pharm. Sci., 73(11):1553-1556.

Dash, A.K., (1994), "Determination of Pseudoephedrine in Dosage Forms by Liquid

Chromatography", J. Pharm. Biomed. Anal., 12(12):1601-1606.

Davidson, A.G. ve Elsheikh, H.,(1982), "Assay of Ephedrine or Pseudoephedrine in Pharmaceutical Preparations by Second and Fourth Derivative Ultraviolet Spectrophotometry", Analyst, 107:879-884.

Davidson, A.G. ve Mkoji, L.M., (1988), "The Simultaneous Assay of Triprolidine, Pseudoephedrine and Dextrometorphan in Combined Preparations by Derivative-Difference Spectrophotometry", 6(5):449-460.

De-Angelis, R.L., Kearney, M.F. ve Welch, R.M., (1977), "Determination of Triprolidine in Human Plasma by Quantitation TLC", J. Pharm. Sci., 66(6):842-843.

De-Fabrizio, F.,(1968), "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen, Phenyleprine Hydrochloride, Codeine Phosphate and Pyrilamine Maleate in Tablets or Powder", J. Pharm. Sci., 57(4):644-645.

De-Fabrizio, F.,(1980), "Simultaneous GLC Analysis of Salicylamide, Phenylpropanolamine Hydrochloride, Caffeine, Chlorpheniramine Maleate, Phenyleprine Hydrochloride and Pyrilamine Maleate in Capsule Preparations", J. Pharm. Sci., 69(7):854-855.

De-Fabrizio, F., (1981), "GLC Analysis of Menthol, Phenol, Benzocaine and Pyrilamine Maleate in Aerosol Spray Lotion", J. Pharm. Sci., 70(10):51.

Demedts, P., Wauters, A., Franck, F. ve Neels, H., (1996), "Simultaneous Determination of Lidocaine, Bupivacaine and Their 2 Main Metabolites Using Gas Chromatography and a Nitrogen-Phosphorus Detector Selection of Stationary Phase and Chromatographic Conditions", Therapeutic Drug Monitoring, 18(2):208-209.

Deorsi, D., Gagiargi, L., Bolasco, A. ve Torelli, D.,(1996), "Simultaneous Determination of Triprolidine, Pseudoephedrine, Paracetamol and Dextromethorphan by HPLC", Chromatographia, 43(9-10):496-500.

Deutsches Arzneibuch, (1978), 8 Ausgabe, 428. Deutscher Apot. Heker Verlag Stuttgart Govi-Verlag G.m.b.H., Frankfurt.

Devarajan, P.V., Adani, M.H. ve Gandhi, A.S., (2000), "Simultaneous Determination of Lignocaine Hydrochloride and Phenyleprine Hydrochloride by HPLC", J. Pharm. Biomed. Anal., 22(4):685-690.

Dinç, E. ve Onur, F., (1998), "Comparison of the Ratio Spectra Derivative Spectrophotometry, Derivative Spectrophotometry and Vierordts Method Applied Quantitative Analysis of Pseudoephedrine HCl and Triprolidine HCl in Tablets", STP Pharm. Sci., 8(3):203-208.

Dinç, E., Baleanu, D. ve Onur, F., (2001), "Spectrophotometric Multicomponent Analysis of Mixture of Metamizol, Acetaminophen and Caffeine in Pharmaceutical Formulations by Two Chemometric Techniques", J. Pharm. Biomed. Anal., 26:949-957.

Dinç, E. ve Kanbur, M., (2002), "Spectrophotometric Multicomponent Resolution Veterinary Formulation Containing Oxfendazole and Oxytocanide by Multivariate Calibration-

Prediction Techniques”, J. Pharm. Biomed. Anal., 28:779-788.

East, T. ve Dye, D., (1985), “Determination of Dextromethorphan and Metabolites in Urine HPLC with Fluorescence Detection”, J. Chromatogr. Biomed. Appl., 338:99-112.

Eichold, T.H., Quijano, M., Seibel, W.L., Cruze, C.A., Roy, L.M. ve Wehmeyer, D., (1997a), “Highly Sensitive HPLC-Tandem Mass Spectrophotometric Method for the Analysis of Dextromethorphan in Human Plasma”, J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 698(1-2):147-154.

Eichold, T.H., Greenfield, L.J., Hoke, S.H. ve Wehmeyer, K.R., (1997b), “Determination of Dextromethorphan and Dextrorphan in Human Plasma Liquid Chromatography/Tandem-Mass Spectrophotometry”, J. Mass Spectrom, 32(11):1205-1211.

Ekpe, A., Tong, J.H. ve Rodriguez, L., (2001), “HPLC Method Development and Validation for the Simultaneous Quantification of Naproxen Sodium and Pseudoephedrine HCl Impurities”, J. Chromatogr., 39(3):81-86.

El-Gezawi, S., Omar, N. ve El-Rabbat, N., (1988), “Analysis of Some Dosage Forms Containing Pyridine Derivatives Using Cyclodextrin Bonded Stationary Phase in HPLC”, J. Pharm. Biomed. Anal., 6(4), 393-398.

El-Hawary, W.F., (2002), “Determination of Lignacaine and Amprolium in Pharmaceutical Formulations using AAS”, J. Pharm. Biomed. Anal., 26(5-6):865-872.

El-Khalil, B., Markoglou, N. ve Wainer, I.W., (2001), “HPLC Assay for Simultaneous Determination of Dextromethorphan and Its Main Metabolites in Urine and Microsomal Preparations”, J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 754(1):209-215.

Erk, N. ve Onur, F., (1996), “Simultaneous Spectrophotometric Determination of Analgin and Lidocaine Hydrochloride in Injection Solutions”, STP Pharma Sciences, 6(3):216-220.

Florey, K., (1979a), Analytical Profiles of Drug Substances, 8:489-507.

Florey, K., (1979b), Analytical Profiles of Drug Substances, 8:509-527.

Florey, K., (1985), Analytical Profiles of Drug Substances, 14:207-243.

Florey, K., (1986), Analytical Profiles of Drug Substances, 15:261-279.

Furlanut, M., Cima, L., Beretello, P. ve Giusti, P., (1977), “Gas Liquid Chromatographic Determination of Dextromethorphan in Serum and Brain”, J. Chromatogr. A, 140(3):270-274.

Gallardo, V., Zouaki Y., Parena A. ve Ruiz, A.M., (2000), “Employment of Cellulosic Polymer As Carrier of Diethylamine Salicylate in Topical Formulations”, Reactive & Functional Polymers, 43:351-357.

Gasco-Lopez, A.I., Izquierdo-Honillos, R. ve Jimirez, A., (1997), “Development and Validation a HPLC Method for the Determination of Cold Relief Ingredients in Chewing Gum”, J. Chromatogr. A, 775(1-2):179-185.

Geladi, P. and Kowalski B.R., (1986a), "Partial Least Squares Regression: A Tutorial", *Anal. Chim. Acta*, 185:1-17.

Geladi, P. and Kowalski B.R., (1986b), "An Example of 2-Block Predictive Partial Least-Squares Regression with Simulated Data", *Anal. Chim. Acta*, 185:19-32.

Geladi, P., (1988), "Notes on the History and Nature of Partial Least Squares(PLS) Modelling", *Journal of Chemometrics*, 2(4):231-246.

Ghanekar, A.G. ve Gupta, V.D., (1977), "Quantitative Determination of Four Antihistamines ani Combination by HPLC", *Am. J. Hosp.Pharm.*, 34(6):651-653.

Gharehbagh, R.K. ve Ebel, S., (1995), "Stability Analysis of Dexpanthenol, 1.: Determination of Dexpanthenol and Pantolactone by HPLC"

Gil-Agusti, M., Torreslapasio, J.R., Garcialvarezcoque, M.C. ve Esteve Romero, J., (2000), Comparison of the Performance Butanol and Pentanol as Modifiers in the Micellar Chromatographic Determination of Some Phenethylamines", *J. Chromatogr. A*, 866(1):35-49.

Gil-Agusti, M., Pons, L.M., Garcio M.C. ve Romero, J., (2001), "Determination of Active Ingredients in Cough Cold Preparations by Micellar Liquid Chromatography", *Talanta*, 54(4):621-630.

Goicoechea, H.C. ve Olivieri, A.C., (1999), "Simultaneous Multivariate Spectrophotometric Analysis of Paracetamol and Minor Components in Tablet Preparations", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 20:255-261.

Gomez, M.R., Olsina, R.A., Martinez, L.D. ve Silva, M.F., (2002), "Simultaneous Determination of Dextromethorphan, Diphenhydramine and Phenyleprine in Expectorant and Decongested Syrups by Capillary-Electrophoresis", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 30(3):791-799.

Grases, F., Garcia-Ferragut, L., Costa-Bauza, A., Prieto, R. ve March, J.G., (1994), "Determination of Escin Based on Its Inhibitory Action on Lactose Crystallization", *Anal. Chim. Acta*, 288:265-269.

Greenway, G.M., Knight, A.W. ve Knight, P.J.(1995), "Electrogenerated Chemiluminescent Determination of Codeine and Related Alkaloids and Pharmaceuticals", *Analyst*, 12(10):2549-2552.

Grouls, R.J., Machielsen E., Korsten, H.H.M., Hellebrekers, L.J., Bremier, D.D. ve Ackerman, E.W., (1995), "Capillary Gas Chromatographic Method for the Determination of N-Butyl-P-Aminobenzoate and Lidocaine in Plasma Samples", *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 673(1):51-57.

Gua, P., Li, Z.W., Li, T., Wang, X.M. ve Liz, F.M., (1999), "Direct-Injection of Plasma to Determine Pseudoephedrine by HPLC with Column-Switching", *Biomed. Chromatogr.*, 13(1):61-64.

Güngör, S. ve Onur, F., (2001), "Determination of Astemizole in Pharmaceutical Preparations Using Spectrophotometric Methods", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 25(3-4):511-521.

- Halstead, G.W., (1984), "Determination of Amine Ingredients in Cough-Cold Liquids by Reverse-Phase Ion-Pair HPLC", *J. Pharm. Sci.*, 71(10):1108-1112.
- Hanna, G.M., (1995), "Determination of Ephedrine, Pseudoephedrine and Norephedrine in Mixtures by Proton NMR", *J. AOAC International*, 78(4):946-954.
- Hartter, S., Baier, D., Dingemanse, J., Ziegler, G. ve Hiemjke, C., (1996), "Automated Determination of Dextrometorphan and Its Main Metabolites in Human Plasma by HPLC Column-Switching", *Therapeutic Drug Monitoring*, 18(3):297-303.
- Hazemoto, N., Ishizaka, S., Haga, M., Kato, Y., Kurosawa S., Kamo, N. ve Kobatake, Y., (1989), "Plasma-Polymerized Membrane Electrode for the Determination of Dextromethorphan and Dimemorphan", *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, 37(8):2153-2154.
- Hendrickson, H.P., Gurley, B.J. ve Wessinger, W.D., (2003), "Determination of Dextrometorphan and Its Main Metabolites in Rat Serum by Liquid-Liquid Chromatography with Fluorescence Detection", *J. Chromatogr. B*, 788:261-268.
- Hentschel, C., Schossler, W., Liebrich, G. ve Brattstrom, A., (1994), "Enzyme-Immunoassay For Quantitative Analysis of Beta-Aescin in Human Serum", *Pharmazie*, 49(12):929-930.
- Herraez-Hemande, R. ve Campins-Falco, P., (1999), "Automated Trace Enrichment for Screening and Determination of Primary, Secondary and Tertiary Amphetamines in Biological Samples by Liquid Chromatography", *Analyst*, 124(3):239-244.
- Hoover, J.M., Soltero, R.S. ve Bansal, P.C., (1987), "Analysis of Multicomponent Formulations Containing Pseudoephedrine HCl and Chlorpheniramine Maleate Using First-Derivative Spectroscopy on a Diode-Array Spectrophotometer", *J. Pharm. Sci.*, 76(30):242-244.
- Imaz, C., Carreras, D., Navages, R., Rodriguez, A., Mayner, J. ve Cortes, R., (1993), "Determination of Ephedrines in Urine by HPLC", *J. Chromatogr.*, 631(1-2):201-205.
- Issa, Y.M., Shoukry, A.F., Rizk, M.S. ve Atia, E.M., (1995), "Lignocaine Ion-Selective Electrodes Based on Its Ion Associates with Cobalt Thiocyanate, Phosphomolybdate and Reineckate Complex-Ion", *J. of Chemical Technology and Biotechnology*, 64(4):379-385.
- Ivanović, D., Medenica, M., Marković, S. ve Mandić, G., (2000), "Second-Derivative Spectrophotometric Assay of Pseudoephedrine, Ibuprofen and Loratadine in Pharmaceuticals", *Arzneimittelforschung*, 50(11):1004-1008.
- Johansson, M. ve Svensson, C., "Determination of Dextromethorphan and Metabolites in Plasma by Dual Column Liquid Chromatography and Fluorimetric Detection", *J. Pharm Biomed. Anal.*, 6(3):211-220.
- Jones, R., Orchard, M.J. ve Hall, K., (1985), "The Use of Derivative and Least-Squares Methods to Analyse a Polypharmaceutical Product by UV Spectrophotometry", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 3:335-342.
- Jones, D.R., Gorski, J.C., Hamman, M.A. ve Hall, S.D., (1996), "Quantification of

Dextrometorphan and Metabolites-A Dual Phenotypic Marker for Cytochrome-P450 3A 415 and 2D6 Activity", *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 678(1):105-111.

Kazuhiko, S., Toshiyuki, O. ve Tetsua M., (1983), "Simultaneous Determination of Norephedrine, Pseudoephedrine, Ephedrine and Methylephedrine in Ephedrae Herba and Pharmaceutical Preparations by HPLC", *Chem. Pharm. Bull.*, 31(7):2359-2365.

Kimiskidis, V.K., Kazis, A.D. ve Niopas, I., (1996), "Determination of Dextromethorphan and Dextrorphan in Human Plasma, Urine and Cerebrospinal-Fluid by HPLC with Fluorescence Detection", *J. Liq. Chromatogr. & Related Technologies*, 19(8):1267-1275.

Kintz, P., Mangin, P., Lugnier, A. ve Chaumont, A.J., (1989), "Determination of Dextromethorphan and Its Major Metabolite Dextrorphan by Gas Chromatography", *Ann. Biol. Clin.(Paris)*, 47:4.

Klein, J., Fernandes, D., Gazarian, M., Kent, G. ve Koren, G., (1994), "Simultaneous Determination of Lidocaine, Prilocaine, Metabolite O-Toluidine in Plasma by HPLC", *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 655:83-88.

Kristensen, H.T., (1998), "Determination of Dextromethorphan and Its Metabolites in Human Plasma by Capillary-Electrophoresis", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 28(4-5):827-838.

Kubiak, E.J. ve Munson, J.W., (1980), "Determination of Dextrometorphan HBr by Using Ion-Pair Formation", *J. Pharm. Sci.*, 69(12):1380-1384.

Lang, W., (1977), "Studies on the Percutaneous Absorption of ³H-Aescin in Pigs", *Res. Experimental Medicine*, 169:175-178.

Larache, N., Leneveu, A., Roux, A., ve Flouvat, B., (1998), "Capillary Gas Chromatographic Method of Small Concentrations of Monoethylglycinexylidide and Lidocaine in Plasma", *J. Chromatogr. B*, 716(1-2):375-381.

Lau, O.W. ve Cheung, U.M., (1990), "Simultaneous Determination of Some Active Ingredients in Cough-Cold Syrups by Gas-Liquid Chromatography", *Analyst*, 115(10):1349-1353.

Le Guevello, P., Le Corne, P., Chevanne, F. ve Le Verge, R., (1993), "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Bupivacaine in Plasma Samples for Biopharmaceutical Studies and Application to Seven Other Anaesthetics", *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 622:284-290.

Lebelle, M.J., Savard, C., Dawson, B.A., Black, D.B., Katyal, L.K., Zreck, F. ve Aw, B.Y., (1995), "Chiral Identification and Determination of Ephedrine, Pseudoephedrine, Methamphetamine and Metecathinone by Gas Chromatography", *Forensic Science International*, 71(3):215-223.

Liawruangrath, S., Liawruangrath, B. ve Piboll, P., (2001), "Simultaneous Determination of Tolperisone and Lidocaine by High Performance Liquid Chromatography", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 26(5-6): 865-872.

Lin, S., Fried, K., Wainer, I.W. ve Lloyd, D.K., (1993), "Determination of Dextrometorphan

and Dextrophan in Urine by Capillary Zone Electrophoresis" *Chromatographia*, 35(3-4):216-222.

Linares, P., Gutierrez, M.C., Lazaro, F., De-Castro, L. ve Valcarcel, M., (1991), "Determination of Benzocaine, Dextrometorphan and Cetylpridinium Ion by HPLC", *J. Chromatogr. A*, 558(1):147-153.

Liu, Y.M. ve Sheu, S.J., (1992), "Determination of Ephedrine Alkaloids by Capillary Electrophoresis", *J. Chromatogr.*, 600(2):370-372.

Liu, Y.M. ve Sheu, S.J., (1993), "Determination of Ephedrine and Pseudoephedrine in Chinese Herbal Preparations by Capillary Electrophoresis", *J. Chromatogr.*, 637(2):219-273.

Lo, S.C., Dorahve, S.M. ve Brown, C.W., (1993), "Automated Drug Dissolution Monitor that Uses a UV-Vis Diode Array Spectrophotometer", *J. Pharm. Sci.*, 82(4):350-354.

Lorec, A.M., Bruguerolle, B., Attolini, L. ve Roucoules, X., (1994), "Rapid Simultaneous Determination of Lidocaine, Bupivacaine and Their Main Metabolites Using Capillary Gas Liquid Chromatography with Nitrogen Phosphorus Detector", *Therapeutic Drug Monitoring*, 16(6):592-595.

Lou, O.W. ve Mok, C.S., (1995), "HPLC Determination of Active Ingredients in Cough Cold Syrups with Indirect Conductometric Detection", *J. Chromatogr. A*, 693(1):45-54.

Macek, J., (2002), "Rapid Determination Pseudoephedrine in Human Plasma by HPLC", *J. Chromatogr. B, Anal. Tech. Biomed. Life Sci.*, 766:28-294.

Mahgoub, H., Gazy, A.A., El-Yazbi, F.A., El-Sayed, A.M. ve Youssef, M.R., (2003), "Spectrophotometric Determination of Binary Mixtures of Pseudoephedrine with H1-Receptor Antagonists Using Derivative Ratio Spectrum Method", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 31(4):801-809.

Makhija, N.S. ve Vavia P.R., (2001), "Stability Indicating HPTLC Method for the Simultaneous Determination of Pseudoephedrine and Cetirizine in Pharmaceutical Formulations", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 25(3-4):663-667.

Mansour, A.M., (1998), "Determination of Pseudoephedrine HCl and Carbinoxamine Maleate in Combination-Drug Formulation by Liquid Chromatography", *J. AOAC International*, 81(5):958-962.

Mansilla, A., Valenzuela, M.I., Munoz de la Pena, A., Salinas, F. ve Canada, F., (2001), "Comparative Study of Partial Least Squares and a Modification of Hybrid Linear Analysis Calibration in the Simultaneous Determination of Rifampicin, Pyrazinamide and Isoniazid", *Anal. Chim. Acta*, 427:129-136.

Marshall, P.S., Strake, R.J. ve Johnson, K., (1992), "Determination of Dextromethorphan and Its O-Demethylated Metabolite from Urine", *Therapeutic Drug Monitoring*, 14(5):402-407.

Martens, H. ve Naes, T., (1989), *Multivariate Calibration*, Wiley, Chichester.

Martos, N.R., Diaz, A.M., Navalon, A., Paya, L.F. ve Vallvey, L.F., (2000), "Simultaneous

Spectrofluorimetric Determination of Salicylic Acid, Codeine and Pyridoxine in Pharmaceutical Preparations Using Partial Least-Squares Multivariate Calibration", J. Pharm. Biomed. Anal., 23:837-844.

Mateus, L., Mangin, A. ve Saugy, M., (2003), "Development and Validation of by Capillary Zone Electrophoresis Method for the Determination of Ephedrine and Related Compounds in Urine without Extraction", J, Chromatogr. B, 791(1-2):203-216.

Mc-Sharry, W.O. ve Savage, I.V., (1980), "Simultaneous HPLC Determination Acetaminophen, Guaifenesin and Dextrometorphan HBr in Cough Syrup", J. Pharm. Sci., 69(2):212-214.

Mccauleymyers, S.L., Eichhold, T.H., Bailey, R.E., Dobrozsi, D.J., Best, K.J., Hayes, J.W. ve Hoke, S.H., (2000), "Rapid Bioanalytical Determination of Dextrometorphan in Canine Plasma by Dilute and Shoot Preparation Combined with One Minute Per Sample LC-MS/MS Analysis to Optimize Formulations for Drug Delivery", J. Pharm. Biomed. Anal., 23(5):825-835.

Medenica, M., Ivanović D. ve Malenović A., (2000), "Simultaneous Determination of Compounds in Septalen(R) Pellets by Derivative Spectrophotometry", J. of the Serbian Chemical Society, 65(5-6):339-334.

Megwa, S.A., Beson H.A.E. ve Roberts, M.S., (1995), "Percutaneous Absorption of Salicylates From Some Commercially Available Topical Products Containing Methyl Salicylate or Salicylate Salts in Rats", J.of Pharm. Pharmacol., 47:891-896.

Metwally, F.H., (2001), "Kinetic Spectrophotometric Methods for the Quantitation of Triprolidine in Bulk and Drug Formulations", J. Pharm Biomed. Anal., 26:265-272.

Mistry, B., Leslie, J. ve Eddington, N.E., (1998), "Determination of Dextromethorphan and Its Metabolite Dextrophan in Urine with HPLC and Fluorometric Detection", J. Pharm. Biomed. Anal., 16(6):1041-1049.

Moffat, A.C., (1986), Clarke's Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, London.

Montgomery, D.C., (1997), Design and Analysis of Experiments, Wiley.

Murtha, J.L., Julian, T.N. ve Radebangh, G.W., (1988), "Simultaneous Determination of Pseudoephedrine HCl, Chlorpheniramine Maleate and Dextrometorphan HBr by Second-Derivative Photodiode Array Spectroscopy", J. Pharm. Sci., 77:715.

Nemcova, I., Rychlousky, P., Tomankova V. ve Zivanovich, L., (2001), "Extraction Spectrophotometric Determination of Lidocaine Using Flow Injection Analysis", Anal.Lett., 34(14):2457-2464.

Ni, Y. Ve Gong, X., (1997), "Simultaneous Determination of Mixtures of Food Colorants", Anal Chim. Acta, 354:163-171.

Ni, Y., Liu, C. ve Kokot, S., (2000), Simultaneous Kinetic Determination of Acetaminophen and Phenobarbital by Artificial Neural Networks and Partial Least Squares", Anal. Chim.

Acta, 419:185-186.

Oertel, R., Oertel, A. ve Feller, K., (1993), "A New Method of Blood-Sampling and Determination of the Local-Anesthetic Agent Lidocaine in Dentistry", *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 15(2):131-136.

Okamuna, N., Miki, H., Harada, T., Yamashita, S., Masaoka, Y., Nakamoto, Y., Tsuguma, M., Yoshitomi, S. ve Yagi, A., (1999), "Simultaneous Determination of Ephedrine, Pseudoephedrine, Norephedrine and Methylephedrine in Kampo Medicines by HPLC", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 20(1-2):363-372.

Oschmann, R., Biber, A., Lang, F., Stumpf, H. Ve Kunz, K., (1996), "Pharmacokinetics of β -Escin After Administration of Different Aesculus-Extract Containing Formulations", *Pharmazie*, 51:577-580.

Paciolla, M.D., Jansen, S.A., Martellucci, S.A. ve Osei, A.A., (2001), "A Fast and Efficient Determination of Amines and Preservatives in Cough and Cold Liquid and Suspension Formulations Using a Single Isocratic Ion-Pairing HPLC Method", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 26(1):143-149.

Pade, V. ve Stavchansky, S., (1993), "HPLC Determination of Pseudoephedrine in Plasma in the Presence of Guaifenesin", *Anal. Lett.*, 26(5):867-873.

Pao, L.H. ve Hu, O.U.P., (1994), "HPLC Assay for Basic Amine Drug in Plasma Using Silica-Gel Column and Aqueous Mobile Phase Application in a Pilot Bioavailability Study of Chlorpheniramine Maleate Controlled-Release Dosage Form", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 20(17):2695-2706.

Parissipoulou, M. ve Panderi, I., (1999), "Determination of Hyoscine N-Butyl, Lidocaine HCl and Paracetamol in Injection Forms Using Solid-Phase Extraction, HPLC and UV-Vis Spectrophotometry", *J. Liq. Chromatogr. & Related Technologies*, 22(7):1055-1068.

Park, Y.H., Kullberg, M.P. ve Hinsvark, O.N., (1984), "Quantitative Determination of Dextromethorphan and Three Metabolites in Urine by Reverse HPLC", *J. Pharm. Sci.*, 73(1):24-29.

Profumo, P., Cauiglia, M., Gastaldo, P. ve Dameri, M.R., (1991), "Aescin Content in Embryogenic Callus and in Embryoids from Leaf Explants of *Aesculus Hippocastanum*", *Planta Med.*, 57:50-52.

Pudipeddi, M., Sokoloski, T.D., Duddu, S.P. ve Carstensen, J.T., (1995), "Colorimetric Determination of the Heat of Precipitation of Pseudoephedrine Racemic Compound – Its Agreement with Heat of Solution", *J. Pharm. Sci.*, 84(10):1236-1239.

Ragonese, R., Mulholland, M. ve Kalman, J., (2000), "Full and Fractionated Experimental-Designs for Robustness Testing in the HPLC Analysis of Codeine Phosphate, Pseudoephedrine HCl and Chlorpheniramine Maleate in Pharmaceutical Preparation", *J. Chromatogr. A*, 870(1-2):45-51.

Raj, S.V., Kapadia, S.U. ve Argekar, A.P., (1998), "Simultaneous Determination of Pseudoephedrine HCl and Diphenhydramine HCl in Cough Syrup by Gas Chromatography",

Talanta, 46(1):221-225.

Ramachander, G., Williams, F.D. ve Emele, J.F., (1977), "Determination of Dextropran in Plasma and Evaluation of Bioavailability of Dextromethorphan HBr in Plasma", J.Pharm. Sci., 66(7):1047-1048.

Rauna, J.P., Salomies, H. ve Aalto, M., (1996), "Determination of Dextromethorphan HBr in Cough Cold Syrup by HPLC", J. Pharm. Biomed. Anal., 15(2):287-293.

Saleh, G. and Askal, H.F., "Spectrophotometric Determination of Certain Local Anesthetics in Pharmaceutical Preparations", Anal. Lett., 28(15):2663-2671.

Satake, H., Yajima, A., Ikeda, S. ve Kaneshima, S., (1994), "Determination of Local-Anesthetic, Lidocaine, in Human Whole-Blood by HPLC", Bunseki Kagaku, 43(10):799-803.

Sattler, A., Kramer, I., Jage, S., Vrana, S. ve Kleemann, P.P., (1995), "Development of a HPLC-System for Quantitative Measurement of Lidocaine and Bupivacaine in Patients Plasma During Postoperative Epidural Pain Therapy", Pharmazie, 50(11):741-744.

Schroedter, A., Loew, D., Schwankl, W. and Rietbrock, N., (1998), "Validity of Pharmacokinetic Data of Horse Chestnut Seemed Extracts Determined by Radioimmunological Methods", Arzneim.Forsch., 48(9):905-909.

Shao, G., Wang, D.S., Wu, F., Chen, J. ve Luo, X., (1995), "Separation and Determination of (I) Ephedrine and (D)- Pseudoephedrine in Plasma by HPLC", J. Liq. Chromatogr., 18(11):2133-2145.

Shrader, E., Schwankl, W., Sieder, C.H. ve Christoffel, V., (1995), "Comparative Study of β -Escin After Single Oral Administration of Two Different Drug Formulations Containing an Extract of Horse-Chestnut Seeds", Pharmazie, 50.

Spyridaki, H.E., Tsitsimpikou, C.J., Siskes, P.A. ve Georgakopoulos, C.G., (2001), "Determination of Ephedrines in Urine by Gas Chromatography-Mass Spectrometry", J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 748(2):311-314.

Suntornsuk, L., (2001), "Separation of Cold Medicine Ingredients by Capillary-Electrophoresis", Electrophoresis, 22(1):139-143.

Swartz, M.E. ve Brown, P.R., (1996), "Use of Mathematically Enhanced Spectral-Analysis and Spectral Contrast Techniques for the Liquid Chromatographic and by Capillary Electrophoretic Detection", Chirality, 8(1):67-76.

Tan, H.S. ve Salvador, G.C., (1985), "Difference Spectrophotometric Assay of Mixtures of Phenylpropanolamine Hydrochloride with Guaifenesin or Dextromethorphan HBr in Oid Cough Formulations", Anal. Chim. Acta, 176:71-76.

Tan, H.S. ve Salvador, G.C., (1986), "Assay of Mixtures of Chlorpheniramine Maleate, Pyrillamine Maleate and Phenylpropanolamine Hydrochloride in Cold-Allergy Tablets by Difference Spectrophotometry", Anal. Chim. Acta, 188:295-300.

Tan, H.S. ve Mantaka, K., (1989), "Second-Derivative Spectrophotometric Determination of Mixtures of Phenylpropanolamine Hydrochloride and Dextromethorphan HBr in Some Pharmaceutical Preparations", *Anal. Chim. Acta*, 226:159-164.

Tantishaiyakul, V., Poeoknaopo, C., Sribun, P. ve Sirisuppanon, K., (1998), " Simultaneous Determination Dextromethorphan HBr and Bromhexine HCl in Tablets by First-Derivative Spectrophotometry", *J.Pharm. Biomed. Anal.*, 17(2):237-243.

Tebbett, I., R., Negrusz, A., Larsen, A.K. ve Jensen, R.C., (1992), "A Column Switching Technique for the Determination of Lidocaine and Its Metabolites in Horse Urine", *Chromatographia*, 34(3-4):143-145.

The United States Pharmacopeia, XXII, (1990), United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville.

Thomas, B.R., Fang, X.G., Shan, P. ve Ghodbane, S., (1994), "Mixed Ion-Pair Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Assay of Ascorbic Acid, Caffeine, Chlorpheniramine Maleate, Dextromethorphan HBr and Paracetamol in Frenadol Sackets", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1281:85-90.

Thompson, H.C. ve Holder, C.L., "Trace Analysis of the Antihistamines Methopirylene Hydrochloride, Pyrilamine Maleate and Triprolidine Hydrochloride in Animal Feed, Human Urine and Wastewater by HPLC and Gas Chromatography with Nitrogen Phosphorus Detection", *J. Chromatogr. A*, 283:251-264.

Vandermerwe, P.J., Brown, L.W. ve Hendrikz, S.E., (1994), "Simultaneous Quantification of Ephedrine in Urine by HPLC", *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 661(2):357-361.

Vengurlekar, S.S., Heitkamp, J., McCush, F., Velagaleti, P.R., Brisson, J.H. ve Bramer, S.L., (2002), "A Sensitive LC-MS/MS Assay for the Determination of Dextromethorphan and Metabolites in Human Urine", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 30(1):113-124.

Wiberg, K., Hagman, A., Buren, P. ve Jacobsson S.P., (2001), "Determination of the Content and Identity of Lidocaine Solutions with UV-Vis Spectroscopy and Multivariate Calibration", *Analyst*, 126(7):1142-1148.

Wilcox, M.L. ve Stewart, J.T., (2000), "HPLC Determination of Guaifenesin with Selected Medications on Underivatized Silica with an Aqueous Organic Mobile-Phase", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 23(5):909-916.

Wilson, T.D., Jump, W.G., Neumann, W.C. ve Sanmartin, T. (1993), "Validation of Improved Methods for HPLC Determination of Phenylpropanolamine, Dextromethorphan, Guaifenesin and Sodium Benzoate in Cough-Cold Formulation", *J. Chromatogr.*, 641(2):241-248.

Wojcicki, J., Sulikowski, T., Wojcicki, M. ve Drozdziak, M., (1995), "Pharmacokinetics of Lidocaine and Its Major Metabolite Monoethylglycinexylidide in Rabbits with Experimental Common Bile-Duct Obstruction", *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 20(2):119-123.

Wu, Y.J., Cheng, Y.Y., Zeng, S. ve Ma, M.M., (2003), "Determination of Dextromethorphan

and Dextrorphan in Human Urine by Capillary Gas Chromatography without Derivatization", *J. Chromatogr.B*, 784(2):219-224.

Xu, X.H. ve Stevart, J.T., (2000), "Mekc Determination of Guaifenesin, Pseudoephedrine and Dextromethorphan in Capsule Dosage Forms", *J. Liq. Chromatogr.& Related Technologies*, 23(1):1-13.

Xu, Y.M. ve Wong, G.Y., (1999), "Simultaneous Determination of Lignocaine Hydrochloride, Chlorhexidine Gluconate and Triamcilon Acetpnide in Suspension by Reversed Phase HPLC", *J. Liq.Chromatogr.&Releated Technologies*, 22(13):2071-2091.

Yururi, M., Nakanishi, H. ve Taniguchi, K., (1994), "Simultaneous Analysis of Ingredients in Anti-Cold Preparations Using Capillary-Electrophoresis", *Bunseki Kagaku*, 43(7):575-580.

Zhang, L., Hu, Q., Chen, G.N. ve Fang, Y.Z., (2000), "Simultaneous Determination of the Active Ingredients in Composite Pseudoephedrine HCl Tablets by Capillary Electrophoresis", *Anal. Chim. Acta*, 424(2):257-262.

Zasshi, Y., (1999), "Bioactive Saponins and Glycosides -XIII Horse Chestnut-(3)-Quantitative-Analysis of Escins 1a,1b,Ila and Ilb by Means of HPLC", *J. of Pharm.Society of Japan*, 119(1):81-87.

Zimova, G., Chladek, J., Martinkova, J. ve Berarek, M., (2000), "Determination of Dextromethorphan and Its Metabolities in Urine", *Chemicke Listy*, 94(2):132-135.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	09.04.1973
Doğum yeri	Rize
Lise	1987 - 1990 Kastamonu Abdurrahmanpaşa Lisesi
Lisans	1990 - 1994 Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	1994 - 1997 Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora	1997 - Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı

Çalıştığı Kurumlar

1994 - Devam ediyor	YTÜ Fen Edebiyat Fak. Araştırma Görevlisi
---------------------	---

