

168446

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLORHEKSİDİN HCL - LİDOKAİN HCL VE  
TRİPROLİDİN HCL - PSÖDOEFEDRİN HCL  
KARIŞIMLARININ KISMİ EN KÜÇÜK KARELER  
SPEKTROFOTOMETRİK KALİBRASYON  
YÖNTEMİYLE TAYİNİ**

Kimyager Yasemin DİV

**F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gönül KUNT**

Prof. Dr. Abdurrezzak Bozdoğan

*A. Bozdoğan*

**İSTANBUL, 2005**

Prof. Dr. Gönül KUNT

*G. Kunt*

Yrd. Doç. Dr. Derya YILMAZ

*D. Yılmaz*

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KISALTMA LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ .....	v
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Klorheksidin Hidroklorür .....	2
2.1.1 Özellikleri .....	2
2.1.2 Farmakolojik Özellikleri .....	2
2.1.3 Miktar Tayini.....	3
2.2 Lidokain (Lignokain) Hidroklorür .....	4
2.2.1 Özellikleri .....	4
2.2.2 Farmakolojik Özellikleri .....	5
2.2.3 Miktar Tayin Yöntemi.....	5
2.3 Triprolidin Hidroklorür .....	8
2.3.1 Özellikleri .....	8
2.3.2 Farmakolojik Özellikleri .....	9
2.3.3 Miktar tayin yöntemleri.....	9
2.4 Psödoefedrin Hidroklorür.....	10
2.4.1 Özellikleri .....	10
2.4.2 Farmakolojik Özellikleri .....	11
2.4.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	12
2.5 Triprolidin HCl ve Psödoefedrin HCl' nin Bir Arada Tayin Yöntemleri .....	15
2.6 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri.....	16
2.6.1 Çoklu Lineer Regresyon (MLR) .....	17
2.6.2 Ana Bileşen Regresyonu (PCR) .....	18
2.6.3 Kısmi En Küçük Kareler Kalibrasyonu (PLS) .....	19
2.7 Türev Spektroskopisi.....	23
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....	27
3.1 Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler.....	27
3.1.1 İlaç Maddeleri ve Analiz Örnekleri.....	27
3.1.2 Kimyasal Madde ve Çözücüler .....	27
3.1.3 Çözeltiler .....	27
3.2 Alet ve Diğer Gereçler.....	27
3.3 Yöntemler .....	28

3.3.1	Klorheksidin HCl ve Lidokain HCl Karışımının Analizi.....	28
3.3.1.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	28
3.3.1.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması.....	28
3.3.1.1.2	Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması .....	28
3.3.1.1.3	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması .....	28
3.3.1.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem .....	29
3.3.1.2.1.	Spektrumların Çizilmesi.....	29
3.3.1.2.2.	Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması.....	29
3.3.1.2.3.	Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması.....	29
3.3.1.2.4.	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	29
3.3.2	Triprolidin HCl ve Psödoefedrin HCl Karışımının Analizi .....	30
3.3.2.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	30
3.3.2.1.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	30
3.3.2.1.2.	Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması.....	30
3.3.2.1.3.	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	30
3.3.2.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem .....	31
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1	Klorheksidin Hidroklorür ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi.....	32
4.1.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	32
4.1.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi .....	32
4.1.1.2	Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması .....	33
4.1.1.3	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması.....	33
4.1.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem .....	37
4.1.2.1	Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi.....	37
4.1.2.2	Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması .....	41
4.1.2.2.1	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması .....	42
4.2	Triprolidin Hidroklorür ve Psödoefedrin Hidroklorür Karışımının Analizi.....	44
4.2.1	Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS).....	44
4.2.1.1	Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi.....	44
4.2.1.2	Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması .....	45
4.2.1.3	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması.....	45
4.2.2	Türev Spektrofotometrik Yöntem .....	49
4.2.2.1	Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi.....	49
4.2.2.2	Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması .....	53
4.2.2.3	Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması .....	54
	TARTIŞMA.....	56
	KAYNAKLAR.....	60
	ÖZGEÇMİŞ.....	70

## **KISALTMA LİSTESİ**

PLS	(Partial Least Squares) Kısmi en küçük kareler yöntemi
MLR	(Mutiple Lineer Regression) Çoklu lineer regresyon
PCR	(Principle Component Regression) Ana bileşen regresyonu
PCA	(Principle Component Analysis) Ana bileşen analizi
LİH	Lidokain Hidroklorür
CLH	Klorheksidin Hidroklorür
PSE	Psödoefedrin Hidroklorür
TRP	Triprolidin 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

Sayfa

Şekil 2.1 Spektral veri matrisinin PCA ile skor ve faktörlere parçalanması.....	18
Şekil 2.2 Spektral veri matrisinin ve konsantrasyon matrisinin skor ve faktörlere parçalanması.....	20
Şekil 2.3 PLS yönteminin şematik gösterilişi .....	21
Şekil 2.4 Türev yönteminin şematik gösterilişi.....	26
Şekil 4.1 Klorheksidin HCl (6 µgml <sup>-1</sup> ) (---), lidokain HCl (240 µgml <sup>-1</sup> ) (— ·) ve karışımın (6-240 µgml <sup>-1</sup> ) (—) metanol: su: formik asitteki absorpsiyon spektrumları .....	33
Şekil 4.2 Klorheksidin HCl (6 µgml <sup>-1</sup> ) (---), Lidokain HCl (240µgml <sup>-1</sup> ) (.....) ve karışımın (6:240) (—) metanol :su: formikasitteki (16:3:1) 1.türev absorpsiyon spektrumları .....	37
Şekil 4.3 Klorheksidin HCl (6 µgml <sup>-1</sup> ) (.....) Lidokain HCl (240µgml <sup>-1</sup> ) (- · -),ve karışımın (6:240) (—) metanol :su: formikasitteki (16:3:1) 2.türev absorpsiyon spektrumları .....	38
Şekil 4.4 Klorheksidin HCl'nin (5, 6, 7, 8, 9 µgml <sup>-1</sup> ) metanol:su: formikasitteki (16:3:1)1. türev absorpsiyon spektrumları.....	39
Şekil 4.5 Lidokain HCl'nin (160, 240, 320, 400, 480 µgml <sup>-1</sup> ) metanol:su: formikasitteki (16:3:1) 2. türev absorpsiyon spektrumları.....	39
Şekil 4.6 Klorheksidin HCl'ye ait ölçü eğrisi .....	40
Şekil 4.7 Lidokain HCl'ye ait ölçü eğrisi.....	41
Şekil 4.8 Triprolidin HCl (15 µmL <sup>-1</sup> ) (---), Psödoefedrin HCl (360 µg mL <sup>-1</sup> ) (— ·)ve karışımın (15:360) (—) sudaki absorpsiyon spektrumları.....	45
Şekil 4.9 Triprolidin HCl (15 µg mL <sup>-1</sup> ) (— ·) ve psödoefedrin HCl (360 µg mL <sup>-1</sup> ) (---) ve karışımın (15:360) (—) sudaki 1. türev absorpsiyon spektrumları.....	50
Şekil 4.10 Triprolidin HCl (15 µg mL <sup>-1</sup> ) (---) ve Psödoefedrin HCl (360 µg mL <sup>-1</sup> ) (— ·) ve karışımın (15:360) (—) sudaki 2. türev absorpsiyon spektrumları.....	50
Şekil 4.11 Triprolidin HCl 'nin (9, 12, 15,18,21 µg mL <sup>-1</sup> ) sudaki 1.türev absorpsiyon spektrumları .....	51
Şekil 4.12 Psödoefedrin HCl'nin (240, 300, 360,420, 480 µg mL <sup>-1</sup> ) sudaki 2.türev absorpsiyon spektrumları.....	51
Şekil 4.13 Triprolidin HCl 'ye ait ölçü eğrisi.....	52
Şekil 4.14 Psödoefedrin HCl'ye ait ölçü eğrisi .....	53

## ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1 PLS yöntemine göre klorheksidin HCl ve lidokain HCL karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi .....	34
Çizelge 4.2 "Cathejell-jel" örneklerinin analizine ait absorpsiyon değerleri.....	35
Çizelge 4.3 Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi .....	36
Çizelge 4.4 Klorheksidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorpsiyon değerleri ve regresyon analizi .....	40
Çizelge 4.5 Lidokain HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorpsiyon değerleri ve regresyon analizi .....	41
Çizelge 4.6 Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi .....	42
Çizelge 4.7 "Cathejell-jel" ( 100gr'da 0,05g klorheksidin HCl + 2g lidokain HCl) örneklerinin analizi.....	43
Çizelge 4.8 PLS yöntemine göre triprolidin HCl ve psödoefedrin HCL karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi.....	46
Çizelge 4.9 "Actifed – tablet" örneklerinin analizine ait absorpsiyon değerleri.....	47
Çizelge 4.10 Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi .....	48
Çizelge 4.11 Triprolidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorpsiyon değerleri ve regresyon analizi .....	52
Çizelge 4.12 Psödoefedrin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorpsiyon değerleri ve regresyon analizi .....	53
Çizelge 4.13 Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi .....	54
Çizelge 4.14 "Actifed-tablet " (1 tablette 2.5 mg triprolidin HCL ve 60 mg psödoefedrin HCl içeren ) örneklerinin analizi .....	55

## **ÖNSÖZ**

Bana bu çalışmayı gerçekleştirmek fırsatını ve olanaklarını tanıyan, tez danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Gönül Kunt'a, çalışmam sırasında fikir ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Abdürrezzak Bozdoğan'a ve çalışmamın her aşamasında tüm sorularımı sabır ve itina ile cevaplayan, her zaman yanımda olan çok değerli hocam Sayın Yrd. Dr. Özlem Aksu'ya sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca çalışmam sırasında bana destek olan aileme ve tüm arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.



## ÖZET

Antiseptik jel formülasyonunda klorheksidin hidroklorür (CLH) ve lidokain hidroklorür (LİH) ve antigribal tablet formülasyonunda triprolidin hidroklorür (TRP) ve psödoefedrin hidroklorür (PSE)'ün bir arada tayini için kısmi en küçük kareler spektrofotometrik kalibrasyon yöntemi (PLS) geliştirildi.

CLH ve LİH'in PLS yöntemiyle analizi için üç seviyeli tam deneysel tasarıma göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu ve metodun kurulması için 9 adet örnek hazırlandı. Bu tasarımda, CLH için 5, 6, 7  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , LİH için 220, 240, 260  $\mu\text{g mL}^{-1}$  seviyeleri seçildi ve çözeltiler metanol:su:formik asit (16:3:1)' te hazırlandı. 240-310 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü. Jel örnekleri ise metanol:su:formik asit (16:3:1)' te çözümlenerek hazırlandı ve absorpsiyonları kalibrasyon şartlarında ölçüldü. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan sentetik örneklerde yapılan analizlerde ortalama geri kazanım (%R) ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri sırasıyla, CLH için %99,39 ve %3,33, LİH için % 100,75 ve %1,52 olarak bulundu. İkinci bir yöntem olarak geliştirilen türev spektrofotometrik yöntemde LİH 2. türev spektrumu kullanılarak 272-276 nm'de, CLH ise 1. türev spektrumu kullanılarak 290 nm'de tayin edildi. Geliştirilen her iki yöntemin sonuçları, ortalamalar ve tekrarlanabilirlik açısından karşılaştırıldı ve anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

TRP ve PSE 'nin PLS yöntemiyle analizi için üç seviyeli tam deneysel tasarıma göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu ve metodun kurulması için 9 adet örnek hazırlandı. Bu tasarımda TRP için 13,15,17  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , PSE için 330,360, 390  $\mu\text{g mL}^{-1}$  seviyeleri seçildi ve çözeltiler destile suda hazırlandı. 235-315 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü. Tablet örnekleri ise suda çözülerek hazırlandı ve absorpsiyonlar kalibrasyon şartlarında ölçüldü. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan sentetik örneklerde yapılan analizlerde ortalama geri kazanım (%R) ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri sırasıyla TRP için % 101,06 ve % 2,8, PSE için %99,05 ve %3,86 olarak bulundu. Geliştirilen yöntem türev spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı ve elde edilen sonuçlar arasında ortalamalar ve tekrarlanabilirlik açısından anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Klorheksidin HCl, lidokain HCl, triprolidin HCl, psödoefedrin HCl, çoklu kalibrasyon, miktar tayini, PLS, türev spektrofotometrik yöntem.



## ABSTRACT

Partial Least- Squares Multivariate Spectrophotometric Method (PLS) was developed for the simultaneous determination of chlorhexidine HCl (CLH) and lidocaine HCl in anti-septik gel formulations, triprolidine HCl (TRP) and psödoephedrine (PSE) in anti-gribal tablet formulations.

The calibration set for the PLS analysis of CLH and LIH was generated by using a 3- level full factorial design and 9 samples were used to construct the model. The levels selected for CLH are 5,6,7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and for LIH are 220, 240, 260  $\mu\text{g mL}^{-1}$  in this design. Calibration solutions were prepared in methanol:water:formic acid (16:3:1) and absorbances were recorded between 240-310 nm every 5 nm. Gel samples were prepared by dissolving in methanol:water:formic acid (16:3:1) and absorbances were recorded in the same conditions of calibration set. Recovery and relative error of prediction values of synthetic mixtures in different concentrations were found to be %99,38 and 3,3 for CLH, %100.75 and % 1,52 for LIH, respectively. Also, the derivative spectrophotometric method was proposed and in this second method, CLH was analysed at 290 nm, by using 1. derivative spectrophotometric method, LIH was analysed at 272-276 nm, by using 2. derivative spectrophotometric method. The proposed both methods were compared and it was found that there is no significant difference between the mean values and precisions of the obtained results of the two methods.

The calibration set for the PLS analysis of TRP and PSE was generated by using a 3 - level full factorial design and 9 samples were used to construct the model. The levels selected for TRP are 13, 15, 17  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and for PSE are 330,360,390  $\mu\text{g mL}^{-1}$  in this design. Calibration solutions were prepared in water and absorbances were recorded between 235-315 nm every 5 nm. Tablet samples were prepared by dissolving in water and absorbances were recorded in the same conditions of calibration set. Recovery and relative error of prediction values of synthetic mixtures in different concentration were found to be %101,06 and 2,8 for TRP, % 99,05 and 3,86 for PSE, respectively. The proposed method was compared and it was found that there is no significant difference between the mean values and precisions of the obtained results of the two methods.

**Key words:** Chlorhexidine HCl, lidocaine HCl, triprolidine HCl, psödoephedrine HCl, multivariate calibration, determination, PLS, derivative spectrophotometric method.

## 1. GİRİŞ

İlaç kalite kontrolünde, analiz yöntemlerinin uygulanabilirliği ve doğruluğu önemli bir yere sahiptir. Çoklu ilaç karışımlarının analizinde, genellikle kullanılan spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerin çoğu fazla sayıda ön işlem gerektirdiği için, zaman ve madde kaybına neden olmaktadır. Ayrıca kimyasal ve spektral özellikleri birbirine benzeyen ilaç maddelerinin, girişim ve diğer etkilerden dolayı bilinen yöntemler ile analizinde büyük güçlükler meydana gelmektedir. Bu yöntemlere karşı, özellikle çoklu ilaç karışımlarının analizinde pratik, ucuz ve güvenilir olması nedeniyle iyi bir alternatif olan 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). Çalışmamızda bu düşünceden yola çıkarak çeşitli ilaç karışımları araştırılmış ve antiseptik ve anestezik etkisiyle etkisiyle antiseptik olarak kullanılan klorheksidin hidroklorür - lidokain hidroklorür karışımının,; antihistaminik ve dekonjestan etkisiyle soğuk algınlığı tedavisinde kullanılan triprolidin hidroklorür - psödoefedrin hidroklorür karışımının bulunduğu ilaç preparatlarında bu maddelerin tayin edilmesi için PLS yönteminin geliştirilmesi ve diğer spektrofotometrik tekniklerle çalışılarak yöntemin kıyaslanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

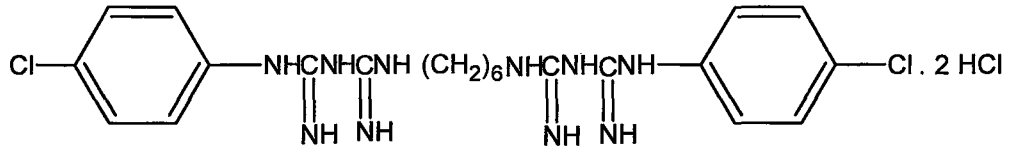
### 2.1 Klorheksidin Hidroklorür

#### 2.1.1 Özellikleri

(British Pharmacopoeia, 2000)

Kapalı Formülü:  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$

Yapısal Formülü:



1,6-bis (  $N^5$ - p - klorofenil-  $N'$ - diguanido)heksan hidroklorür

Molekül Ağırlığı: 578.4 g/mol

Görünüş ve Renk : Beyaz kristal toz

Erime Derecesi: 132°-136 °C

Çözünürlüğü: Su ve propilen glikolde az, alkolde çok az çözünür

#### 2.1.2 Farmakolojik Özellikleri

Antiseptik olarak kullanılır. Antibakteriyel spektrumu geniştir. Hem gram pozitif hem de gram negatif bakterileri öldürür. Pseudomonoslara karşı etkinliği fazla değildir. Sporlar, virüsler ve aside dayanıklı bakterilere etkisizdir. Bazı mantarlara karşı fungistatik etkisi vardır. Cilt üzerine uygulandığı zaman orada kısmen tutulur, tekrarlanarak uygulandığında antiseptik etkisi kümülatif olarak artar ve uzun sürelidir. Klorheksidin ağız antiseptisi, cerrahi yaraların, mesane ve vajinanın irrigasyonu, yanık yaraların tedavisi ve periton diyalizi yapılan hastalarda peritonit tedavisi için kullanılabilir (Kayaalp, O., 2000).

### 2.1.3 Miktar Tayini

Klorheksidin HCl spektrofotometrik, kromatografik ve elektroanalitik olarak tayin edilmiştir.

İlaç preparatlarında klorheksidin eser miktarda tayini için bromokresol yeşili kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile akışa-enjeksiyon spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir (Calatayud, vd., 1986). Calatayud, vd. (1989), tarafından yapılan çalışmada, atomik absorpsiyon spektroskopisi kullanılmış ve yöntemde 5-20 ppm arasında klorheksidin analizi gerçekleştirilmiştir. Benzer bir çalışma bromfenol-mavisi ile gerçekleştirilmiş ve  $1.10^{-4}$ - $1.10^{-5}$  M konsantrasyon aralığında klorheksidin tayin edilmiştir (Ruiz, vd., 1999).

Klorheksidin kromatografik analizleriyle ilgili çeşitli çalışmalara rastlanmıştır. Bunlardan birinde, farklı ilaç preparatlarında klorheksidin kalite kontrol amaçlı analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilen HPLC metodu ile idrar ve kandaki miktar tayini yapılmıştır (Carolyn, vd., 1982). HPLC metoduyla yapılan bir diğer çalışmada idrardaki klorheksidin analizi, C<sub>18</sub> ters faz kromatografik kolon glisial asit ile pH 5' e ayarlanmış metanol:su (60:40) hareketli faz kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Marcus, vd., 1984). Serum ve idrardaki klorheksidin analiziyle ilgili çalışmada kromatografik ayırma, 0.005 M sodyum heptan sulfanat içeren C<sub>18</sub> kolonun metanol-su (70:30) ile şartlandırılmasıyla gerçekleştirilmiştir (Linda R.vd., 1986). L. Miribel ve arkadaşları (1983), klorheksidin tayini için gaz-sıvı kromatografi yöntemi, Michel Bauer ve arkadaşları (1984), klorheksidin ve tetrasinin birarada tayini için iyon-çifti sıvı kromatografi yöntemi geliştirmişlerdir. Tükürükte klorheksidin tayinine yönelik geliştirilen HPLC çalışmasında tükürük örneği, metilen klorid ile ekstre edilmiş, kromatografik ayırma C<sub>18</sub> kolonda, asetonitril - 0.05 M sodyum asetat ve 0.005 M heptansülfanik asit (40:60) hareketli faz sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Lam, vd., 1993). Diğer bir çalışmada tükürükteki klorheksidin tayini ise ters faz HPLC metoduyla Timo Pesonen vd. (1995) tarafından bildirilmiştir.

Merhemlerde bulunan beş aktif madde; krotamiton, prednisolon, gliserhitenik asit, dibikain ve klorheksidin isokritik ters faz, C<sub>8</sub> kolon ve hareketli faz olarak SDS- 2-propanol kullanılarak HPLC ile eş zamanlı tayini yapılmıştır (Izumoto, vd., 1996). Yine merhemlerdeki yedi aktif madde; difenirhidramin HCl, dibukain HCL, klorheksidin HCL, fenilefrin HCl, hidrokortizon asetat, allantoin ve tokoprol asetatın eş zamanlı tayini hidrofobik etkileşim elektrokinetik kromatografisiyle yapılmıştır (Hitoshi Okomato, 2001). Günlük sütlerdeki klorheksidin ayrılması için ters faz HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Yöntemde mobil faz, pH 3,6 asetat tamponu ve ters faz kromatografik kolon ile optimize edilerek mobil faza amin modifiyerleri veya iyon çiftleri katılmadan pik rezolüsyonu iyileştirilmiştir. (Herbert, vd., 2003).

Polarografik bir çalışmada Jacobsen ve Glyseth (1975), ilaç preparatlarındaki klorheksidini puls polarografisi tekniği kullanarak saptamışlar. Vert ve arkadaşları (1983) ise proguanil ve klorheksidini polarografik yöntemle tayin etmişlerdir.

Ayrıca klorheksidinin voltametrik davranışından yararlanılarak diş macunlarındaki klorheksidin, alüminyum florid ve sodyum florid ile birarada pik sıyırma metodu ile tayin edilmiştir (Lai-Hao wang, 2001).

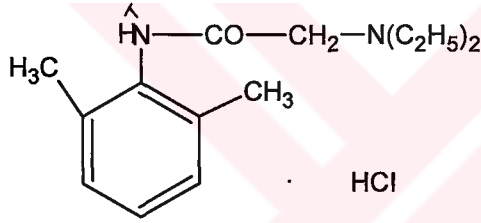
## 2.2 Lidokain (Lignokain) Hidroklorür

### 2.2.1 Özellikleri

(Florey, 1986; Moffat, 1986)

Kapalı Formülü:  $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$

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.

### 2.2.2 Farmakolojik Özellikleri

Lidokain anestezi ve antiaritmik olarak kullanılır. Diğer anestezi gibi sadece karaciğerde hidroliz edilerek parçalanır. Lokal anestezi olarak kullanılan solüsyonlarına vazokonstriktör ilaç katılması mutlaka gerekmez; çünkü ilacın vazodilatör etkisi yoktur. Buna rağmen bir çok lidokain müstahzarına adrenalin katılmıştır. Tek başına lidokain içeren solüsyonu uygulanırsa etkisi uygulanan konsantrasyona bağlı olarak, 1 saat veya daha fazla sürdüğü halde, adrenalin içeren solüsyonu uygulanırsa etkisi en az 2 saat sürer. Lokal anestezi etkisi, uygulandıktan 3-5 dakika sonra başlar ve 10-15 dakikada maksimuma erişir. Yüzeysel anestezi için lidokain %2'lik veya %4'lük solüsyonu kullanılır. Ciltteki veya anorektal bölgedeki lezyonlara karşı %2,5 veya %5'lik pomadları uygulanabilir.

Lidokain ayrıca ventriküler aritmilerin önlenmesi veya tedavisi için i.v. yoldan injeksiyon ve infüzyon şeklinde kullanılır. Bu amaçla kullanılacak olan solüsyonun adrenalinsiz olmasına dikkat etmek gerekir (Kayaalp, O., 2000).

### 2.2.3 Miktar Tayin Yöntemi

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

Titrimetrik olarak lidokain HCl, glasiyal asetik asit içinde civa asetatlı ortamda ve kristal viyole indikatörlüğünde perklorik asitle tayin edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, diklorometan ve heksadesilpiridinyumklorür 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 anesteziğin tayini için geliştirilen bir çalışmada ise haematoksinin 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 lidokain analizi 250 nm'de 2. türev spektrumundan yararlanılarak gerçekleştirilmiştir (Medenica vd., 2000). Son yıllarda yapılan diğer spektrofotometrik çalışmalarda ise lidokain HCl, çoklu kalibrasyon tekniklerinden PLS regresyonu kullanılarak analiz edilmiş, daha sonraki yıllarda diyod serili detektör (DAD) ile HPLC kullanılarak yöntem geliştirilmiştir. Yöntem sıvı kromatografisiyle karşılaştırılmış ve analizin çok daha kısa sürede gerçekleştiği görülmüştür (Wiberg vd., 2001, 2002, 2003). Bir başka çalışmada ise lidokain-bromokresol yeşili ile iyon assosiyatının ekstraksiyonuna dayalı akış enjeksiyon yöntemiyle spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Nemcova vd., 2001). El- Hawaray (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 gerçekleştirilmiştir.

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 C<sub>18</sub> kolon ve 0,05 M potasyumdihidrojen fosfat (pH 4): asetonitril (86:14) mobil faz kullanılmış, 205 nm'de tayin gerçekleştirilmiştir (Chen vd., 1992). Bir çok anesteziğin analizinde de kullanılan benzer şartlardaki bir yöntemde pH 2,1'de lidokain tayini yapılmıştır (Aksu, Ö., 2004). Aynı mobil fazın (3:1) oranında kullanıldığında 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 β kolon, 0,05 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 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 bir arada likit kromatografik olarak analiz edilmiştir (Sattler vd., 1995). Barat vd. (1996), plazma örneklerinde kokain, metabolitleri ve lidokain tayini için geliştirdikleri HPLC yönteminde C<sub>18</sub> kolon ve asetonitril, metanol ve pH 6 fosfat tamponunu mobil faz olarak kullanmışlardır. İnsan saçı ekstratından 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 dedektör 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  $\alpha$ -(1)-asitglikoprotein kolon kullanarak 214 nm'de tayin etmişlerdir. Kanjanawattana ve arkadaşları (2001), diş etinde lidokain tayini için güvenilir ve tekrarlanabilir bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda billuribin içeren insan serumundaki lidokain ve onun metaboliti olan monoetilglisinksilid tayini için geliştirilen HPLC çalışmasında örnek mobil fazda çözülmüş, Supelcosil LC-8-DB kolon ve UV detektör (205 nm) kullanılmıştır (Piwowska, vd., 2004). Aynı yılda Sherry K. Cox ve arkadaşları (2004) porsine microsome örneklerinde bulunan bu maddeleri yine 205 nm'de  $\mu$ Bondopak C<sub>18</sub> kolon kullanılarak analiz etmişlerdir.

Lidokain HCl'nin çeşitli ilaç maddeleriyle birarada tayin edildiği komatografik yöntemlere rastlanmıştır. Bunlardan birinde çeşitli ilaç ve enjeksiyon solüsyonlarında lidokainin kalite kontrol amaçlı analizlerinde kullanılmak üzere RP-HPLC ve TLC – UV densitometrik yöntemler geliştirilmiş ve 254 nm'de alınan sonuçlar karşılaştırılmıştır (Zivanovic, 1996). Lidokain HCl, klorheksidinglukonat ve triamsinolon asetonidin süspansiyon içinde birarada tayinin yapıldığı bir çalışmada, C<sub>18</sub> kolon ve metanol:su:triethylamin (58:42:0,4) mobil faz kullanılmış, pH 3 ortamında 240 nm'de UV detektör kullanılarak ölçüm alınmıştır. (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 C<sub>18</sub> 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 ters faz HPLC yönteminde, %5,5 triethylamin içeren asetonitril : su (70:30) mobil faz olarak kullanılmış ve 254 nm'de UV detektör ile ölçülmüştür (Liawruangrath vd., 2001). Youngvises ve arkadaşları (2002) lidokain hidroklorür ve tolperison hidroklorürün birlikte tayini için misellar sıvı kromatografisini (MLC) geliştirmişler. Bu yöntemde kısa C<sub>18</sub> kolon, az miktarda isopropanol içeren sodyum dodesil sülfat ve diod serili detektör kullanılmış, akış hızı 0,7 ml/dk'ya ayarlanarak 210 nm'de ölçüm yapılmıştır. Bu geliştirilen yöntem birçok ilaç preparatlarındaki lidokain HCl ve tolperison HCl'nin eş zamanlı tayininde başarıyla uygulanmaktadır. Lidokain ve setrimonyum bromürün RP-HPLC metoduyla eş zamanlı tayini için A. Malenovic ve arkadaşları (2004) tarafından bir metot geliştirilmiştir. Bu metotta akış hızı 1 ml/dk'ya ayarlanmış, mobil faz olarak su:asetonitril (72:28) kullanılmış ve 208 nm'de ölçümler alınmıştır. Deneyler sonucunda bu yöntemin ticari ilaçların formülasyonunun analizinde doğru ve uygun olduğu kanıtlanmıştır.



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 anestezi olarak kullanılan lidokainin çeşitli uygulamalardan sonra kandaki seviyeleri yine gaz kromatografisi ile belirlenmiştir (Oertel vd., 1993). Bir grup araştırmacı ise lidokain, bupivakain ve metabolitlerinin katı faz ekstraksiyonundan sonra kapiler gaz kromatografisi ile analizini gerçekleştirmişlerdir. Plazma örneklerinde yapılan bir başka kapiler gaz kromatografik çalışmada, N-bütül-P-aminobenzoat ve lidokainin birarada analizi yapılmıştır (Grouls vd., 1995). Demedts P. ve arkadaşları (1996) lidokain, bupivakain ve bunların iki ana metabolitlerinin gaz kromatografisi ve nitrojen-fosfor detektör kullanılarak eş zamanlı tayinini yapmışlardır. İnsan idrarındaki lidokain analizi ilaçlardaki biyoakışkanların tayininde popüler olmaya başlayan katı-faz mikro-ekstraksiyon (SPME) yöntemi ile GC veya LC kullanılarak gerçekleştirilmiştir (de Jong GJ , 2000). Baniceru vd. (2004), serumda mepvakain, bupivakain ve lidokain analizi için katı faz ekstraksiyonu kapiller gaz kromatografisiyle birleştirmişlerdir.

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

Taguchi vd. (2003), lidokain gibi zayıf bazların analizi için bir voltametrik yöntem geliştirmişlerdir.

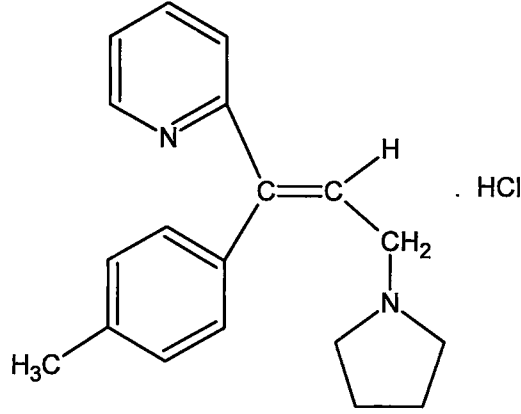
## **2.3 Triprolidin Hidroklorür**

### **2.3.1 Özellikleri**

(Moffat, 1986)

Kapalı Formülü :C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>.HCl

Yapısal Formülü :



(E)-2-[ 3-( prolidin- 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

Çözünürlüğü: 1 mg triprolidin HCl, 2 mL su, 1,5 mL etanol, 1 mLkloroform, 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  $\text{cm}^{-1}$ dedir.

### 2.3.2 Farmakolojik Özellikleri

Antihistaminik etki gösterirler. Klasik atihistaminiklerin biyoyaralanımı tam değildir ve bireyler arası değişkenlik gösterir. Doruk plazma konsantrasyonuna oral alınımlarından genellikle 2-3 saat sonra ulaşırlar. Plazma proteinlerine nispeten yüksek oranda (%80-96) bağlanırlar. Etki süreleri genellikle 4-6 saat kadar sürer ve güne 3-4 kez verilirler. Alerjik hastalıklar, saman nezlesi ve soğuk algınlığında kullanılırlar (Kayaalp, O., 2000).

### 2.3.3 Miktar tayin yöntemleri

Triprolidin HCl titrimetrik, spektrofotometrik ve kromatografik olarak tayin edilmiştir.

Titrimetrik olarak triprolidin HCl, glacial 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 triprolidin HCl bazik ortamda etilen klorür ile ekstre edildikten sonra H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 'lü ortamda florometrik olarak tayin edilmiştir (Florey, 1979b). Son yıllarda ilaç preparatlarında çalışılan bir başka yöntemde triprolidin HCl 'nin KMnO<sub>4</sub> ile alkali oksidasyonundan oluşan manganat iyonlarının 612 nm'de absorpsiyon ölçümüne dayalı kinetik bir metot geliştirilmiştir (Metwally, 2001). Bir başka yöntemde triprolidin HCl m-dinitrobenzen ve sodyum hidroksit ile reaksiyona sokulduğunda oluşan mor renkli kompleks 60 °C 'ye ısıtılarak 550 nm'de ölçülmüştür (Aman T. vd. , 2002).

HPLC ile triprolidin HCl analizine ait çeşitli çalışmalara rastlanmıştır. Bunlardan birinde mobil faz olarak NaNO<sub>3</sub> ve NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, diğerinde ise asetonitril: konsantre NH<sub>4</sub>OH: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). Triprolidin HCl, pirlamin 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 (Thampson 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 yapılmış ilaç preparatlarında triprolidin 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).

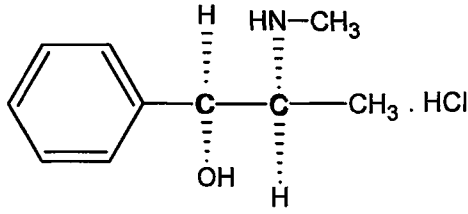
## **2.4 Psödoefedrin Hidroklorür**

### **2.4.1 Özellikleri**

(Florey,1979a)

Kapalı Formülü: C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO.HCl

Yapısal Formülü:



(+)-trio- $\alpha$ -(1-(metilamino)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 (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  $\text{cm}^{-1}$ 'dedir.

#### 2.4.2 Farmakolojik Özellikleri

Dekonjestan olarak kullanılır.Efedrinin stereoizomeridir, efedrin gibi epherda türü bitkiletrde doğal olarak bulunur. İlaç olarak, sentetik üretilen rasemik ve dekstro şekilleri kullanılır. Efedrin gibi hem direkt hem de indirekt sempatomimetik etkinlik gösterir. Mide-barsak kanalından çabuk ve tam olarak absorbe edilir. Ağızdan alındıktan 1-3 saat sonra plazmada doruk konsantrasyonuna erişir. Karaciğerde az kısmı N- demetilasyonla norpsödoefedrine dönüştürülür. Büyük kısmı değişmeksizin böbreklerden idrarla atılır. Sütte plazmadakinden daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Eliminasyon yarılanma ömrü 5-8 saattir. Tek başına veya öksürük şurupları içinde, burun mukozasında ve solunum yollarının diğer kısımlarında dekonjestiyon yapmak için ağızdan 60 mg dozunda 6 saatte bir verilir. Alınan cevap yetersiz ise interval 4 saate indirilebilir. 6-12 yaşındaki çocuklarda 30 mg, 2-5 yaşındakilerde 15 mg dozunda yukarıdaki intervallerle verilir. 2 yaşından küçüklerde genellikle tavsiye edilmez. Bronkodilatör etkinliği zayıf olmakla beraber, bronşiyal ödemi azalttığından bu amaçla kullanılabilir.

Ağız kuruluğu, anoreksi,uykusuzluk, anksiyete, tremorlar, huzursuzluk ve palpasyon gibi yan tesirlere neden olabilir. Başta hipertansiyon olmak üzere kalp-damar hastalığı olanlarda, hipertirotizm, diabetes ve prostat hipertrofisi ve emziren kadınlarda kontraindikedir. Ayrıca MAO inhibitörü ilaç almakta olanlarda veya son 15 gün içinde almış olanlarda kontraindikedir (Kayaalp, O., 2000).

### 2.4.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Psödoefedrin HCl titrimetrik, spektrofotometrik, kolorimetrik, kromatografik ve elektroforez yöntemlerle tayin edilmiştir.

Titrimetrik olarak psödoefedrin HCl, glisyal 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 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 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 bir arada tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemde, metanoldeki 4. türev spektrumundan yararlanılmış 269 nm'de ölçüm alınmıştır (Altuntaş vd.,1998). Ivanoviç vd. (2000), psödoefedrin, ibuprofen ve loratadinin 2. türev spektrumundan yararlanılarak bir arada tayinini gerçekleştirmiştir. Bir başka spektrofotometrik çalışmada psödoefedrin HCl ve astemizol, 0,1M 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). Şurupta psödoefedrin HCl, dekstrometorpan HBr ve sodyum benzoatın, çoklu kalibrasyon tekniğine dayalı hibrit lineer analizi yapılmıştır (Mirzaei, 2004).

Psödoefedrin ve ibuprofenin eş zamanlı tayini için beş farklı metot geliştirmiştir (1. türev spektrum, klasik en küçük kareler, ters en küçük kareler, anabileşen regresyonu, kısmi en küçük kareler (PLS)). Burada 240-285 nm arasında 2,5 nm aralıklarla 18 dalga boyunda ölçümler alınmış ve tabletlere uygulanan bu metotlar karşılaştırılmıştır (Palabıyık., 2003) . Daha sonra Dijiba vd. (2004), efedrin ve psödoefedrin analizini difüzyon yansıma infrared dönüşüm spektroskopisi (DRIFTS) ile PLS'i birleştirerek yapmıştır.

Psödoefedrin HCl ile ilgili çok sayıda kromatografik analiz yöntemi kaynaklara geçmiştir (Florey, 1979a). Burada son yapılan çalışmalar örneklendirilecektir. HPLC kullanılan yöntemlerin birinde, psödoefedrin tek başına ilaç preparatlarında (Dash, 1994), diğerinde plazmada asetonyitril : amonyumsülfat (10:90) mobil faz kullanılarak kolon switching tekiğiyle (Guo vd., 1999) bir başkasında ise yine plazmada, trietilamin içeren fosfat tamponu (pH2,4) : asetonyitril (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:asetonyitril: 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, Shao vd. (1995), plazmada ön zenginleştirme işleminden sonra %6 fosfat tamponu (pH 6,5) : metanol : su (3:8) mobil faz, Okumana vd. (1999), ilaç preparatlarında su:asetonyitril:SDS (65:35:0,4) mobil faz olarak kullanarak psödoefedrin HCl analizi gerçekleştirmişlerdir.

Psödoefedrin HCl'nin çeşitli ilaç karışımlarıyla birlikte likit kromatografik analizi yapılmıştır. Carnevala (1983), yaptığı çalışmada, oktansülfanik asit iyon çifti ve metanol:su: asetik asit (45:55:2) mobil faz kullanarak psödoefedrin, asetaminofen ve guaifenesin yanında tayin etmiştir. Benzer bir çalışmada, psödoefedrinin guaifenesin ile birarada plazma analizi yapılmış, sodyum heptansülfonat :asetonyitril (70:30) mobil faz kullanılarak 220 nm'de ölçüm alınmıştır (Pade ve Stauchansky, 1993). Plazmada yapılan bir başka çalışmada ise, klorfeniramin maleat ve terfanadin ile birlikte tayin edilmiş, silikajel kolon ve asetonyitril :amonyum fosfat (pH 4) (55:45) mobil faz kullanılmıştır (Pao ve Hu,1994). Psödoefedrin HCl, dekstrometorfan HBr, difenhidramin, fenilefrin ve fenilpropanolamin ile birlikte alkali mobil faz kullanılarak HPLC ile tayin edilmiştir (Caraballo vd., 1995). Çiklet içinde Psödoefedrin HCl, parasetamol ve klorfeniramin maleat analizi için önerilen bir yöntemde, C<sub>18</sub> kolon ve hekzilamin (pH3):asetonyitril mobil faz uygulanmıştır (Gasco-Lopez vd., 1997). Argekar vd. (1998), psödoefedrin HCl'yi ters faz iyon çifti HPLC ve asetonyitril:metanol:su (60:15:25: ) pH 3,1 mobil faz sistemi kullanılarak terfanidin yanında tayin etmiştir. Aynı yılda

Mansour (1998) ise, karbinoksamin maleat ile bir arada analizine yönelik HPLC metot geliştirilmiştir. İdrarda bir çok amfetaminin tayininin yapıldığı bir çalışmada psödoefedrin, %2 trietilamin içeren 0,2 M fosfat tamponu (pH: 3 ) kullanılarak analiz edilmiştir (Aksu, Ö., 2004). Psödoefedrin HCl, kodein fosfat ve klorfeniramin maleatın ilaç preparatlarındaki HPLC ile analizinde tam deneysel tasarım uygulanmıştır (Ragonese vd., 2000). Bir başka HPLC ile çalışmada psödoefedrin, dekstrometorfan ve guaifenessinin yanında, silika kolon ve fosfat tamponu (pH 3) : asetonitril (60:40) mobil faz kullanılarak 216 nm'de analiz edilmiştir (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 200 nm'de analiz edilmiştir (Xu ve Stewart, 2000). Ekpe vd. (2001), psödoefedrin HCl ve naproksen sodyumu safsızlıkları ile bir arada tayin etmişler, su : asetonitril : metanol: trietilamin (850: 75:75:5) mobil faz sistemini formik asitle pH 3,7 'ye ayarlayarak kullanmışlardır. Soğuk algınlığı için kullanılan şurup ve süspansiyonlarda amin ve koruyucu tayini için iyon çifti ters faz HPLC metot geliştirilmiş ve yöntemde iyon çifti reaktifi içeren asetonitril, metanol, tetrafuran mobil faz sistemi kullanılarak psödoefedrin, dekstrometorfan, klorfeniramin, benzoik asit, doksilamin, bütülpaben tayini yapılmıştır (Paciolla vd., 2001).

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 ve kağıt kromatografisiyle psödoefedrin HCl tayini 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 )- (+)- $\alpha$ -metoksi- $\alpha$ -(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 etmişlerdir.

Kapiler elektroforez yöntemiyle psödoefedrin analizine ait birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Bunlardan birinde psödoefedrin, 6 efedrin alkaloidi ile bir arada 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). 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). Chen vd. (1998) ise psödoefedrin HCl'yi ibuprofen ile bir arada tayin etmiş, pH 8,1 tampon çözelti kullanarak 210 nm'de UV ölçümünü almıştır. Diğer bir çalışmada, mikroemülsiyon tampon içinde hareket eden yağ damlaları ve çözücü dağılımına dayalı bir kapiler elektroforez tekniği olan mikroemülsiyon elektrokinetik kromatografi (MEECK) ile psödoefedrin ve guaifenesin birarada tayin edilmiştir, ayrılma %0,81 oktan, %6,61 butan-1-ol, %3,31 SDS ve %89,27 sodyum tetraborat ile sağlanmıştır (Altria,1999). Zang vd. (2000), psödoefedrin HCl'yi dekstrometorfan ve parasetamol ile birlikte pH 7 sodyum fosfat tamponu kullanarak kapiler elektroforez ile analiz etmiş, tayini 220 nm'de UV detektör kullanarak gerçekleştirmiştir. 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). Soğuk algınlığı ilaçlarında bulunan psödoefedrin ve diğer 13 aktif maddenin siklodekstrin-gelişmiş mikroemülsiyon elektrokinetik kromatografi (CD-MEEKC) yöntemiyle eş zamanlı tayini yapılmıştır (Okamoto, 2004).

Proton NMR' nin kullanıldığı bir çalışmada ise psödoefedrin ve efedrin türevleri tayini yapılmıştır (Aksu, Ö., 2004).

## 2.5 Triprolidin HCl ve Psödoefedrin HCl' nin Bir Arada Tayin Yöntemleri

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl ikili ve diğer ilaç maddeleriyle spektrofotometrik ve kromatografik olarak tayin edilmiştir.

Spektrofotometrik çalışmaların birinde triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl 'nin 4. türev spektrumundan kodein yanında analizi yapılmıştır (Davidson ve Elsheikh, 1982). Triprolidin HCl, psödoefedrin HCl ve dekstrometorfan HBr ile birarada yapılan spektrofotometrik analizlerinin birinde, psödoefedrinin, HCl'li ortamda 2. türev spektrumundan 250-254 nm'de pik-pik tekniğiyle, triprolidin HCl ve dekstrometorfan HBr'nin ise kendi dalga boylarındaki



absorbansları kullanılarak en küçük kareler yöntemiyle tayini yapılmış (Jones vd., 1985), diğerinde ise, triprolidin 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). Bir başka spektrofotometrik çalışmada, triprolidin ve psödoefedrin 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).

Triprolidin HCl ve psödoefedrin 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 ile analizi yapılmıştır (Akhtar vd., 1994). HPLC ile yapılan diğer bir çalışmada ise triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl 'in yanında dekstrometorfan HBr ve parasetamol ile bir arada C<sub>18</sub> kolon, asetonitril : 0,1M sodyum perklorat (pH 3) (5:95) mobil faz kullanılarak tayin edilmiştir (Deorsi vd., 1996).

## 2.6 Çoklu Kalibrasyon Yöntemleri

Çoklu kalibrasyon, analitik kimyada 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 bir çok safsızlık içeren doğal örneklerde, analiz edilmek istenen maddeleri içeren uygun kalibrasyon modelleriyle analizler gerçekleştirilebilir.

5. Bir kimyasal procese reaksiyondaki aktif türlerin derişimi, çözücü şartlarındaki değişimler, aktif safsızlıkların varlığı gibi etkenlerin tanısında, reaksiyonların doğru işleyip işlemediğinin on-line kontrolünde kullanılabilir.

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

### 2.6.1 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.

$$Y=XB$$

Burada  $X$  ve  $Y$  'nin satırları örnek karışımları (spektrumları),  $X$ '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.

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

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

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

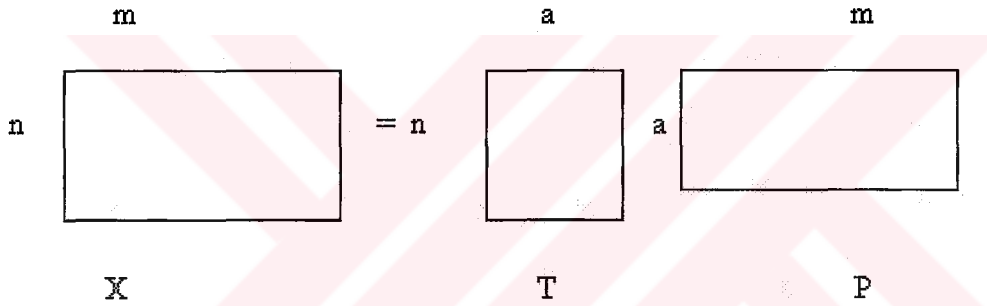
Ancak bu modelde bileşenlerin konsantrasyonu değiştğinde spektrumdaki absorbans değerlerinde artma ya da azalma eğilimindedir. Bu lineer bağımlılık  $X'X$  matrisinin çözümünü zorlaştırır ve her bir bileşene karşı yapılan matematiksel çözümlere tutarsız hale gelebilir. Dolayısıyla bu yöntemde dalga boyu sayısı, deney sayısı ve bileşen sayısı 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.

### 2.6.2 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 biliniyor olmasını gerektirir. Oysa PCA, bir karışımdaki maddelerden kaçının 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 tayininde sıklıkla kullanılır.

Ana bileşen analizi (PCA) X spektral veri matrisini skor (T) ve yükleme (P) matrisine parçalama işlemini esas alır (Şekil 2.1)

$$X=TP \quad (2.5)$$



Şekil 2.1 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 sütundaki değerlerin karelerinin toplamı özdeğer olarak adlandırılır. Özdeğer vektörü ne kadar büyükse esas bileşen olma olasılığı da o kadar büyüktür. Dolayısıyla ana bileşenler öz vektörün büyüklüğüne göre hesaplanır.
- Yükleme matrisinin sütunları esas faktör sayısına eşittir (Dalga boyları).
- Yükleme matrisinin satırları esas faktör sayısına eşittir. Her bir satır ana bileşene bağlıdır.
- Yükleme matrisinin her bir sütunundaki değerlerin kareleri toplamı 1'e eşittir.

Her bir ana bileşen  $a$  ile gösterilecek olursa,  $T$ 'nin  $a$ . sütunundaki  $a$  skor vektörü  $t_a$ ,  $P$ 'nin  $a$ . satırındaki,  $a$  yükleme vektörü  $p_a$ 'yı göstermek üzere özvektör  $g_a$  aşağıdaki denklemle hesaplanır.

$$g_a = \sum_{i=1}^I t_i a^2 \quad (2.6)$$

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.

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

### 2.6.3 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 tekniklerindedir (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 2.2 ). Yöntem iki matrisin izdüşümleri arasındaki regresyonu içerir.

$X$ = Spektral absorpsiyon matrisi

$Y$ = Konsantrasyon matrisi

$T$ = Spektral skor matrisi

$U$ = Konsantrasyon skor matrisi

$P$ = Spektral yükleme matrisi

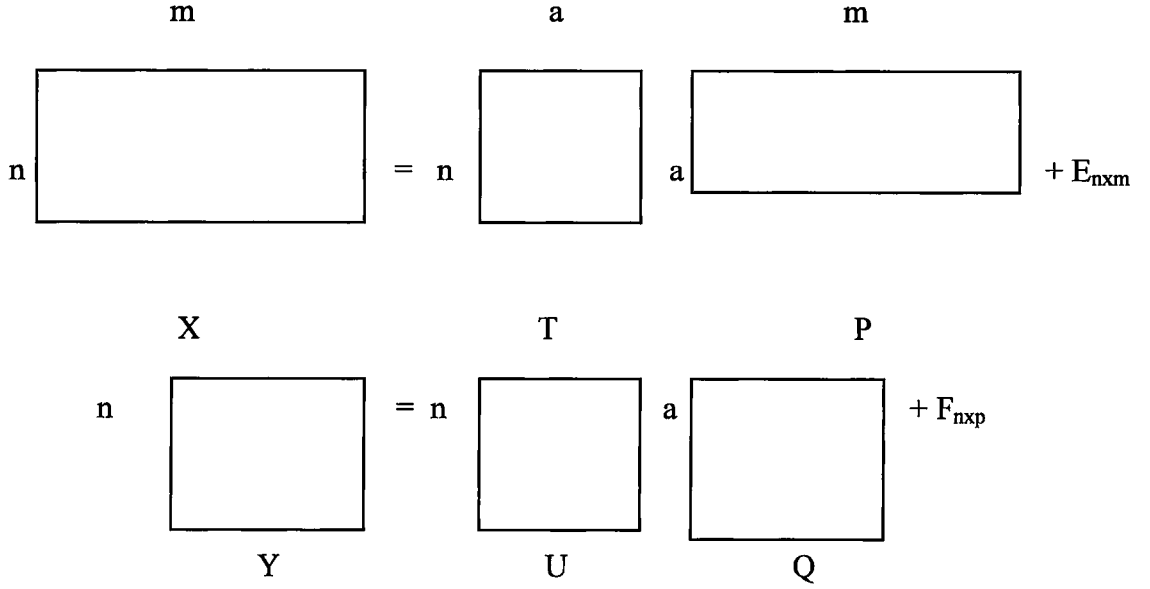
$Q$ = Konsantrasyon yükleme matrisi

$E$  ve  $F$  = Hata matrisleri

$n$ = Örnek sayısı (spektrumlar)

$m$ = Dalga boyu sayısı

$p$ =Bilinen bileşenler



Şekil 2.2 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.

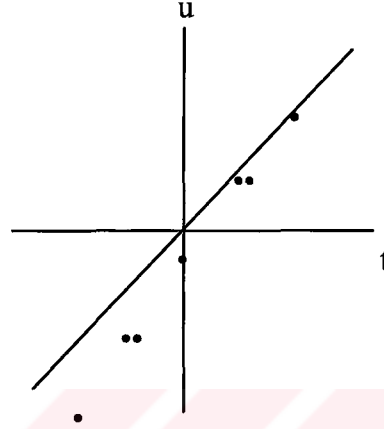
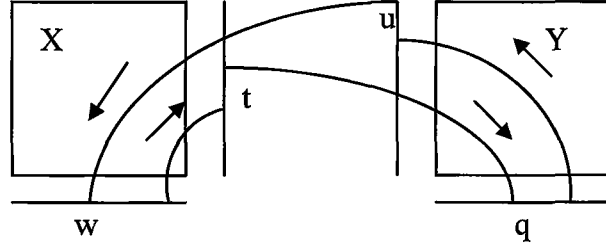
$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad (2.8)$$

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

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

$$\mathbf{U} = \mathbf{TW} \quad (2.10)$$

Hesaplama  $|\mathbf{X} - \mathbf{TP}'|$  ve  $|\mathbf{Y} - \mathbf{UQ}'|$  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 2.3 )



Şekil 2.3 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.

$$\mathbf{X}_0 = \mathbf{X} - \mathbf{1}\bar{\mathbf{x}}' \quad \text{ve} \quad \mathbf{Y}_0 = \mathbf{Y} - \mathbf{1}\bar{\mathbf{y}}$$

$$\mathbf{X}_{a-1} = \hat{\mathbf{u}}_a \mathbf{w}'_a + \mathbf{E} \quad (2.11)$$

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

$\mathbf{c} = \mathbf{w}_a$  'nın son boyutunu 1'e eşitlemek için kullanılan skala faktörü.

$$\mathbf{c} = (\hat{\mathbf{u}}' \mathbf{X}_{a-1} \mathbf{X}'_{a-1} \hat{\mathbf{u}}_a)^{-0.5} \quad (2.13)$$

$$\mathbf{X}_{a-1} = \mathbf{t}_a \mathbf{w}'_a + \mathbf{E} \quad (2.14)$$

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

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

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

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

$$Y_{a-1} = \hat{t}_a q_a + F \quad (2.18)$$

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

$$Y_{a-1} = u_a \hat{q}'_a + F \quad (2.20)$$

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

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

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

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

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,

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

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

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

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

## 2.7 Türev Spektroskopisi

Türev spektroskopisi , UV-VIS spektroskopisinin nispeten yeni bir uygulamasıdır. 1950 'li yıllarda absorpsiyon spektrumlarının ayrıntılarının belirginleştirilmesi amacıyla ortaya konmuş ancak analitik kimyadaki uygulaması 1970 'li yıllarda analitik cihazlarda kullanılması ile başlamıştır. Günümüzde özellikle farmasötik analizlerde geniş uygulama alanı bulmuştur.

Türev spektrofotometrisinin prensibi, klasik absorpsiyon spektrumlarının yerine, türev spektrumlarının kullanılmasıdır. Türev spektrumlarının oluşturulması için gerekli olan matematiksel işlemler spektrofotometredeki bilgisayarlar yardımı ile yapılmaktadır.



Bir fonksiyonun herhangi bir noktasındaki türevi  $dy / dx$  'dir. Absorpsiyon spektrumları söz konusu olduğunda ise; türev  $dA / d\lambda$  olacaktır. Spektrumun herhangi bir noktasındaki türev değerleri hesaplanıp, dalga boyunun fonksiyonu olarak grafik edildiğinde 1. türev absorpsiyon spektrumu elde edilir. Buna benzer şekilde  $d^2A / d\lambda^2$  .....  $d^n A / d\lambda^n$  derecesinde türev spektrumları elde edilir.

Absorpsiyon spektrumlarında herhangi bir dalga boyunda Lambert-Beer yasası geçerli ise bu yasanın ifadesinden hareketle n. dereceden türev spektrumunda türev absorbansı  ${}^nD$ 'nin konsantrasyon ile ilişkisini ifade eden eşitlik türetilebilir.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Absorbans molar absorptivite ile doğru orantılı olduğu için:

${}^nD = d^n A / d\lambda^n = (d^n \epsilon / d\lambda^n) \cdot b \cdot c$  yazılabilir. Görüldüğü gibi türev absorbans değerleri ile konsantrasyon arasında doğrusal ilişki vardır. Bu da türev spektrofotometrisinin kantitatif uygulamalarının temelini oluşturur.

UV-VIS Türev spektroskopisinin avantajları ve kullanım alanları oldukça çeşitlidir:

#### **$\lambda$ max 'un kesin olarak belirlenmesi :**

Orijinal spektrumda maksimum absorbansın bulunduğu dalga boyunda 1. türev eğrisinin sıfırdan geçmesi, bu dalga boyunun çok daha kesin bir şekilde saptanabilmesine olanak sağlar.

#### **Rezölüsyondaki artış :**

Türev spektrumlarının 2. bir avantajı da orijinal spektrumda zor görülebilen ince yapının, ortaya çıkması yani rezölüsyonun artmasıdır. Bunun için çift sayılı türev spektrumları daha avantajlıdır. Çünkü orijinal spektrumda bulunan maksimum ve minimumlar bu spektrumlarda yine aynı dalga boylarında birer ekstremum halinde ortaya çıkar.

#### **İdentifikasyon :**

Özellikle absorpsiyonu görünür bölgede olan renkli maddelerin absorpsiyon spektrumları geniş bantlar halinde olduğu için bu spektrumlar maddenin karakterizasyon ve identifikasyonunda önem taşımaz. Buna karşın orijinal spektrumundaki omuzların türev spektrumlarında özellikle yüksek dereceli olanlarda ekstremum haline dönüşmesi, piklerin

sayısının artması ve keskinleşmesi ile spektrumun ince yapısı ortaya çıkar ve adeta infrared parmak izi spektrumlarına benzeyen spesifik spektrumlar elde edilir .

### **Bulanık Çözeltilerde Kantitatif Analiz :**

Bulanık çözeltiler ve süspansiyonlarda yada emülsiyonlu katı yada sıvı maddeler içeren çözeltilerle spektrofotometrik ölçümlerin yapılması zordur. Özellikle UV alanda ışın saçılması sebebi ile, analitin spektrumu kuvvetli yada zayıf bir zemin absorpsiyonu ile çakışır. Türev spektrumdaki uygun pik-pik uzaklıkları değerlendirilerek, bulanıklığın spektrum üzerindeki olumsuz etkisi yok edilebilir. Bu teknik atık sularda fenol tayinini amaçlayan bir çalışmada kullanılmıştır .

### **Matriks Etkisinin Giderilmesi:**

Türev spektrumların alınması ile orijinal spektrumlardaki keskin spektral özellikler kuvvetlenmekte ve keskinleşmekte, buna karşın geniş ve yaygın bantlar daha da basıklaşmaktadır. Bu özellik analit piki ile çakışan değişken zemin absorpsiyonunun düzeltilmesine ve bu şekilde matriks etkisinin giderilmesine olanak sağlar.

### **Saflik Kontrolü:**

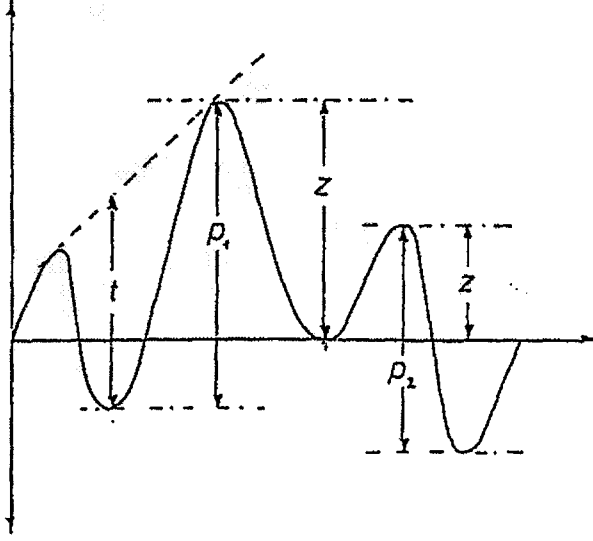
Türev spektrumundaki spektral ayrıntılar maddelerin saflık testlerinde de avantaj sağlar. Eser miktardaki safsızlıklara ait küçük absorpsiyon pikleri türev spektrumlarında daha kolay saptanabilen pikler haline dönüşür. Bu spektrumların saf maddenin aynı koşullarda kaydedilen spektrumları ile karşılaştırılması ile saflık kontrolü yapılabilir.

### **Eser Analiz:**

İlaç maddesi, besinler v.b. maddelerde bulunabilen eser miktardaki safsızlıkların saptanması ve miktarlarının tayin edilmesi de türev spektrofotometresinin bir başka uygulama alanıdır. Buna örnek olarak etanolde eser miktarda bulunan benzenin tayini gösterilebilir.

### **Karışımların simultane analizi :**

Türev spektrofotometresinin oldukça yaygın bir kullanım alanı da absorpsiyon bantları çakışan ve bir sebeple absorpsiyon spektrofotometresi ile bir ön ayırma yapmaksızın tayin edilemeyen karışımların simultane analizidir. Bu konuda yapılmış çalışmalar kombine ilaç preparatlarında ve besinlerdeki katkı maddelerinin analizine yoğunlaşmıştır. Bu analizlerde pik – sıfır, pik-pik, ve pik-pik oranı ölçümleri kullanılmıştır (Bora, O., 1996).



Şekil 2.4 Türev yönteminin şematik gösterilişi

z : pik- sıfır ölçümü

p : pik - pik ölçümü

t : tanjant tekniği

### 3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1 Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

##### 3.1.1 İlaç Maddeleri ve Analiz Örnekleri

Klorheksidin hidroklorür, Seba İlaç San. \* ; Lidokain hidroklorür Abdi İbrahim İlaç San. \* ; Triprolidin hidroklorür, Glaxo- Wellcome İlaç San. \* ; Psödoefedrin hidroklorür, Plantafarma İlaç San.\* tarafından karşılanmıştır. "Actifed - tablet" ve "cathejell- jel" piyasadan temin edilmiştir.

##### 3.1.2 Kimyasal Madde ve Çözücüler

Metanol, formik asit (Merck) ve distile su kullanıldı.

##### 3.1.3 Çözeltiler

Lidokain hidroklorür ve klorheksidin hidroklorür analizinde kullanılan çözeltiler:

Klorheksidin HCl standart çözeltisi (1):100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda metanol:su: formik asit (16:3:1) 'deki çözeltisi.

Lidokain HCl standart çözeltisi (2): 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda metanol:su: formik asit (16:3:1) 'deki çözeltisi.

Lidokain HCl standart çözeltisi (3): 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda metanol:su: formik asit (16:3:1) 'deki çözeltisi.

Triprolidin hidroklorür ve psödoefedrin hidroklorür analizinde kullanılan çözeltiler:

Triprolidin HCl standart çözeltisi (4) : 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Triprolidin HCl standart çözeltisi (5) : 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

Psödoefedrin HCl standart çözeltisi (6) : 3000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda sudaki çözeltisi.

#### 3.2 Alet ve Diğer Gereçler

Spektrofotometre (Agilent 8453)

Analitik terazi (Sartorius A 200B, 0,1 mg'a kadar duyarlı)

Karıştırıcı (Cenco)

1 cm'lik kuvarz küvetler (Hellma, 10 x10 x 45 mm)

### 3.3 Yöntemler

#### 3.3.1 Klorheksidin HCl ve Lidokain HCl Karışımının Analizi

Klorheksidin HCl ve lidokain HCl ' in birarada tayini için PLS yöntemi ve türev spektrofotometrik yöntemi geliştirildi. Her iki yöntem farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış karışımlara ve ticari preparatlara uygulandı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

##### 3.3.1.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

###### 3.3.1.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması

Klorheksidin HCl ve lidokain HCl 'in kalibrasyon seti 3 seviyeli 2 faktörlü tam deneysel tasarıma göre hazırlandı (Montgomery1997). Buna göre 9 adet 10 mL'lik balon joje kullanıldı. Balon jolerden ilk üçüne  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonundaki klorheksidin HCl çözeltisinden (çözelti 1) sırasıyla 0.5, 0.6, 0.7 mL,  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  lidokain HCL çözeltisinden (çözelti 2) her birine 2.2 mL, diğer üçüne çözelti 1'den aynı miktarlarda çözelti 2'den her birine 2.4 mL, son üçüne ise çözelti 1'den aynı miktarlarda çözelti 2'den her birine 2,6 mL konuldu ve ekstraksiyon çözeltisi [(metanol:su:formik asit) (16:3:1)] ile hacimlerine tamamlandı. Her bir çözeltinin 240-310 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 Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması

Üç farklı konsantrasyonda ( $5, 6, 7 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) klorheksidin HCl ve ( $220, 240, 260 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) lidokain HCl 'in farklı oranlardaki karışımları Bölüm 3.3.1.1.1'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlar 4.1.1.2 'de bildirilmiştir.

###### 3.3.1.1.3 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Klorheksidin HCl ve lidokain HCl içeren jel preparatlarının analizi için, 0.6 g "Cathejell " 50 mL 'lik balon joje içine mg'ın 1/10'i duyarlılıkta tartıldı. 25 mL ekstraksiyon çözeltisi ilavesi ile 30 dakika çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra ekstraksiyon çözeltisi ile hacmine tamamlandı. Çözelti beyaz bantlı süzgeç kağıdından süzildükten sonra 240-310 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.1.1.3'te bildirilmiştir.

### 3.3.1.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

#### 3.3.1.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Ekstraksiyon çözeltilerinde hazırlanmış standart çözeltiler kullanılarak (çözelti 1 ve çözelti 3)  $6 \mu\text{g mL}^{-1}$  klorheksidin HCl ve  $240 \mu\text{g mL}^{-1}$  lidokain HCl çözeltileri hazırlandı ve 1. ve 2. türev eğrileri üst üste çakıştırıldı. Spektrumlar Bölüm 4.1.2.1'de verilmiştir.

#### 3.3.1.2.2 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

Klorheksidin HCl ölçü eğrisinin hazırlanması için, 10 ml 'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 1'den sırasıyla 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ml konuldu ve ekstraksiyon çözeltisi ile hacmine tamamlandı. Çözeltilerin 1. türev absorbanans değerleri 290 nm'de (  $D_{290}$  ) okundu. Bu değerlerle konsantrasyonlar arasında grafik çizilerek ölçü eğrisi oluşturuldu ve eğriye ait doğru denklemi en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

Lidokain HCl ölçü eğrisinin hazırlanması için, çözelti 3'ten sırasıyla 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 mL konuldu ve ekstraksiyon çözeltisi ile hacmine tamamlandı. Çözeltilerin 2. türev spektrumundan 272 ve 276 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.

#### 3.3.1.2.3 Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması

Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'nin ölçü eğrileri sınırlarında [ $(5-9 \mu\text{g mL}^{-1})$  ve  $(160-480 \mu\text{g mL}^{-1})$ ] çeşitli karışımları Bölüm 3.3.1.1.1'te anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.1.2.2'de bildirilmiştir.

#### 3.3.1.2.4 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Jel örneği (cathejell) Bölüm 3.3.1.1.3'te anlatıldığı gibi çalışıldı ve 1. ve 2. türev spektrumları alındı. 1.derece türev spektrumundan klorheksidin HCl için 290 nm de ve 2.türev spektrumundan lidokain için 272-276 nm'de pik-pik absorbanans değerleri okundu Bu değerlerin ölçü eğrisindeki karşılıkları bulunarak jel içindeki madde miktarları tayin edildi. Uygulanan bu metot kıyas yöntemi olarak kullanıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.1.2.3'te bildirilmiştir.

### 3.3.2 Triprolidin HCl ve Psödoefedrin HCl Karışımının Analizi

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl 'nin birarada tayini için PLS yöntemi geliştirildi ve yöntem "actifed" örneklerine uygulandı. İkinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrik yöntemden yararlanıldı ve bu yöntem kıyas yöntemi olarak kullanıldı.

#### 3.3.2.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

##### 3.3.2.1.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl 'in kalibrasyon seti 3 seviyeli 2 faktörlü tam deneysel tasarıma göre hazırlandı. Buna göre 9 adet 10 mL 'lik balon joje kullanıldı. Balon jojelerden ilk üçüne  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonundaki triprolidin HCl çözeltisinden (çözelti 4) sırasıyla 1.3, 1.5, 1.7, mL,  $3000 \mu\text{g mL}^{-1}$  çözeltisinden (çözelti 6) her birine 1.1 mL, diğer üçüne çözelti 4'ten aynı miktarlarda çözelti 4'ten her birine 1.2 mL, son üçüne ise çözelti 4'ten aynı miktarlarda çözelti 6'ten her birine 1,3 mL konuldu ve ekstraksiyon çözeltisi ile hacimlerine tamamlandı. Her bir çözeltinin 235-315 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 Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması

Üç farklı konsantrasyonda ( $13, 15, 17 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) triprolidin HCl ve ( $330, 360, 420 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) psödoefedrin HCl 'in farklı oranlardaki karışımları Bölüm 3.3.2.1.1'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlar 4.2.1.2 'de bildirilmiştir.

##### 3.3.2.1.3 Yöntemin Farmasötik Preraratlara Uygulanması

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl içeren tablet örneklerinin analizi için, 20 adet tablet teker teker tartılıp tartım toplamından bir tabletin ortalama ağırlığı hesaplandı ( $0,22106$ ). Tabletler havanda toz haline getirildikten sonra  $0.3315 \text{ g}$  "Actifed " 25 ml'lik balon joje içine mg'ın  $1/10$ 'i duyarlılıkta tartıldı. 15 mL distile su ilavesi ile 15 dakika çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra destile su ile hacmine tamamlandı. Çözelti mavi bantlı süzgeç kağıdından süzöldükten sonra 1 mL alınıp 10 mL 'ye tamamlandı. 245-315 nm arasında 5'er nm aralıklarla absorpsiyonları ölçüldü ve elde edilen veriler PLS programında değerlendirildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.2.1.3 'de bildirilmiştir.

### 3.3.2.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

#### 3.3.2.2.1 Spektrumların Çizilmesi

Su ile hazırlanmış standart çözeltiler kullanılarak (çözelti 5 ve çözelti 6)  $15 \mu\text{g mL}^{-1}$  triprolidin HCl ve  $360 \mu\text{g mL}^{-1}$  psödoefedrin HCl çözeltileri hazırlandı ve 1. ve 2. türev eğrileri üst üste çakıştırıldı. Spektrumlar Bölüm 4.2.2.1'de verilmiştir.

#### 3.3.2.2.2 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

Triprolidin HCl'ye ait ölçü eğrisinin hazırlanması için, 10 mL 'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 6'dan sırasıyla 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL konuldu ve su ile hacmine tamamlandı. Çözeltilerin 1. türev absorbans değerleri 291 nm 'de ( $^1D$  291) okundu. Bu değerlerle konsantrasyonlar arasında grafik çizilerek ölçü eğrisi oluşturuldu ve eğriye ait doğru denklemi en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

Psödoefedrin HCl ölçü eğrisinin hazırlanması için, 10 mL 'lik 5 adet balon jöjeye çözelti 6'dan sırasıyla 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 mL konuldu ve distile su ile hacmine tamamlandı. Çözeltilerin 2. türev spektrumundan 257 ve 259 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. İlgili spektrumlar ve ölçü eğrileri Bölüm 4.2.2.1'de verilmiştir.

#### 3.3.2.2.3 Yöntemin Farklı Konsantrasyondaki Karışımlara Uygulanması

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl ölçü eğrileri sınırlarında [(9-21  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) ve (240-480  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )] çeşitli karışımları Bölüm 3.3.2.1.1'te anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.2.2.2 'de bildirilmiştir.

#### 3.3.2.2.4 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Tablet örneği (actifed) Bölüm 3.3.2.1.3'te anlatıldığı gibi çalışıldı ve 1. ve 2. türev spektrumları alındı. 1.türev spektrumundan triprolidin HCl için 291 nm de ve 2.türev spektrumundan psödoefedrin HCl için 257-259 nm de pik-pik absorbans değerleri okundu. Bu değerlerin ölçü eğrisindeki karşılıkları bulunarak tabletteki madde miktarı tayin edildi. Uygulanan bu metot kıyas yöntemi olarak kullanıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.2.3'te bildirilmiştir.



## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Klorheksidin Hidroklorür ve Lidokain Hidroklorür Karışımının Analizi

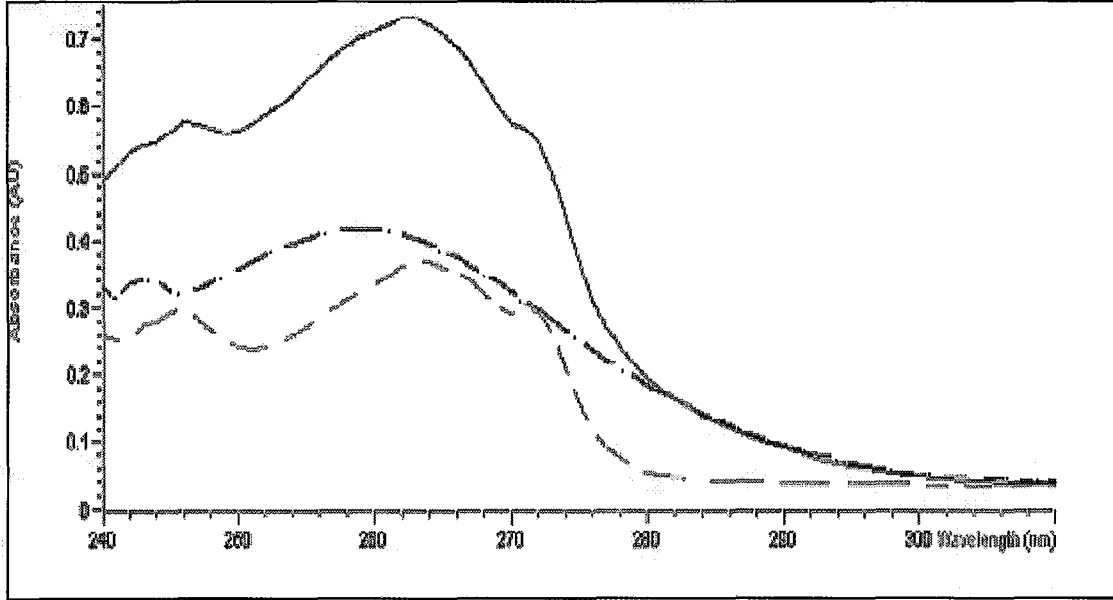
#### 4.1.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

##### 4.1.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi

Klorheksidin HCl ve Lidokain HCl analizi için kalibrasyon seti oluşturulurken uygun koşulların saptanması amacıyla çeşitli çözücüler denendi ve "cathejell-jel" içindeki oranları (% 0.05: % 2) göz önünde tutularak bu maddelerin su ve metanolde spektrumları çekildi. Ancak klorheksidin sudaki çözünürlüğünün çok az olması, metanolde karalı bir spektrum vermemesi ve jel preparatlarından bu maddenin tam olarak alınmamasından dolayı çeşitli çözücü karışımları denendi. Bu maddelerle ilgili yapılmış tüm çalışmalar incelendi ve metanol: su: formik asit (16:3:1) çözücü sistemi en uygun çözücü olarak saptandı (İzomoto,1996). Hem lineerliği bozmayacak hem de pik toplamını en uygun absorpsiyon seviyesinde tutacak şekilde konsantrasyonlar belirlendi (Şekil 4.1). Buna göre en uygun seviyeler, klorheksidin hidroklorür için 5, 6, 7,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , lidokain hidroklorür için 220, 240, 260  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak belirlendi ve kalibrasyon matrisini oluşturmak üzere 9 adet çözelti hazırlandı. Bölüm 3.3.1.1.1'de anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen absorbans değerleri ve karşılık gelen konsantrasyonları Çizelge 4.1 'de gösterilmiştir. PLS algoritmasına göre çözümlenmiş kalibrasyon bağıntısı aşağıdaki gibidir.

$$C_{CLH} = 7.8891 + 4.59A_1 - 1.51A_2 + 4.00A_3 + 7.63A_4 + 5.77A_5 - 7.81A_6 + 3.13A_7 + 5.94A_8 + 7.67A_9 + 5.49A_{10} + 3.45A_{11} + 1.74A_{12} + 0.79A_{13} + 0.61A_{14} + 0.45A_{15}$$

$$C_{LIH} = 350,0528 - 86.19A_1 + 100.37A_2 - 28.08A_3 - 141.61A_4 - 101.54A_5 + 284.67A_6 - 45.71A_7 - 133.66A_8 - 190.49A_9 - 137.79A_{10} - 86.84A_{11} - 43.26A_{12} - 19.48A_{13} - 15.64A_{14} - 12.26A_{15}$$



Şekil 4.1 Klorheksidin HCl ( $6 \mu\text{gml}^{-1}$ ) (—), lidokain HCl ( $240 \mu\text{gml}^{-1}$ ) (— ·) ve karışımın ( $6\text{-}240 \mu\text{gml}^{-1}$ ) (—) metanol: su: formik asitteki absorpsiyon spektrumları

#### 4.1.1.2 Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla  $5,6,7 \mu\text{g mL}^{-1}$  klorheksidin HCl ve  $220, 240, 260 \mu\text{g mL}^{-1}$  lidokain HCl 'in farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımlar bölüm 3.3.1.1.2.'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlara ait geri kazanım (%R), ve bağlı tahmin hatası (%REP) değerleri çizelge 4.3' te gösterilmiştir.

#### 4.1.1.3 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Sonuçların Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması

"Cathejell-jel" içindeki klorheksidin HCl ve lidokain HCl miktarları Bölüm 3.3.1.1.3'te anlatıldığı gibi çalışılarak PLS yöntemiyle tayin edildi. Örneklerin absorbans değerleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Bulunan sonuçlar kıyas yöntemi olarak yeni geliştirilen türev spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.6'da toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1 PLS yöntemine göre klorheksidin HCl ve lidokain HCL karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	DALGA BOYU ( $\lambda$ )														
	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310
5	0.427	0.467	0.454	0.539	0.616	0.617	0.502	0.316	0.167	0.114	0.080	0.057	0.043	0.036	0.033
6	0.470	0.510	0.504	0.600	0.680	0.676	0.550	0.353	0.193	0.131	0.091	0.064	0.048	0.040	0.036
7	0.537	0.547	0.574	0.654	0.737	0.727	0.592	0.383	0.213	0.143	0.097	0.066	0.047	0.038	0.034
5	0.460	0.536	0.517	0.582	0.656	0.656	0.533	0.332	0.170	0.115	0.080	0.057	0.043	0.036	0.033
6	0.488	0.564	0.563	0.637	0.711	0.705	0.573	0.363	0.193	0.130	0.089	0.063	0.046	0.038	0.035
7	0.533	0.620	0.619	0.699	0.776	0.765	0.623	0.399	0.218	0.146	0.099	0.069	0.049	0.040	0.034
5	0.477	0.526	0.520	0.590	0.666	0.667	0.541	0.334	0.169	0.114	0.080	0.058	0.045	0.037	0.034
6	0.499	0.586	0.580	0.652	0.728	0.724	0.587	0.369	0.192	0.128	0.088	0.062	0.045	0.039	0.035
7	0.565	0.707	0.784	0.780	0.807	0.786	0.636	0.403	0.214	0.143	0.098	0.068	0.049	0.039	0.035

Çizelge 4.2 "Cathejell -jel" örneklerinin analizine ait absorpsiyon değerleri

ÖRNEK	DALGA BOYU (Å)															
	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	
1	0.552	0.599	0.650	0.681	0.708	0.688	0.554	0.348	0.181	0.117	0.076	0.049	0.031	0.023	0.019	
2	0.524	0.675	0.691	0.687	0.705	0.681	0.545	0.338	0.169	0.106	0.065	0.038	0.021	0.013	0.010	
3	0.556	0.693	0.707	0.695	0.710	0.685	0.550	0.343	0.175	0.111	0.070	0.043	0.026	0.017	0.014	
4	0.557	0.672	0.704	0.690	0.704	0.681	0.545	0.339	0.171	0.107	0.066	0.039	0.022	0.013	0.010	
5	0.548	0.636	0.673	0.681	0.700	0.678	0.545	0.341	0.175	0.112	0.072	0.045	0.027	0.018	0.015	

Çizelge 4.3 Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi

Karışımlar	CHL ( µg mL <sup>-1</sup> )			LİH ( µg mL <sup>-1</sup> )		
	Katılan	Bulunan	%R	Katılan	Bulunan	%R
1	5	5,13	102,60	220	228,55	103,88
2	6	5,63	93,83	220	224,91	102,23
3	7	6,95	99,28	220	223,30	101,50
4	5	4,82	96,40	240	240,97	100,39
5	6	6,04	100,60	240	240,10	100,04
6	7	7,15	102,14	240	240,86	100,35
7	5	4,75	95,00	260	260,32	100,12
8	6	6,00	100,00	260	258,03	99,24
9	7	7,33	104,70	260	257,61	99,08
ortalama			99,39			100,75
RMSD	0,20			3,64		
% REP	3,33			1,52		

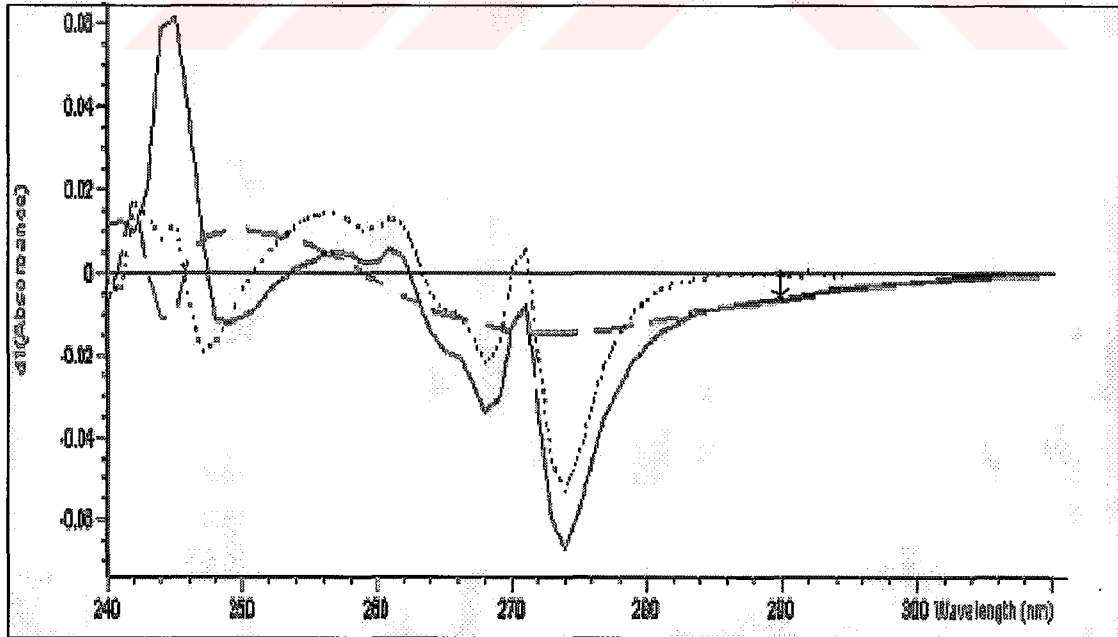
$$\text{RMSD} = \left[ \frac{1}{m} \sum_1^m (c_{\text{gerçek}} - c_{\text{bulunan}})^2 \right]^{1/2} \quad \text{\% REP} = \frac{100}{\bar{c}} \left[ \frac{1}{m} \sum_1^m (c_{\text{gerçek}} - c_{\text{bulunan}})^2 \right]^{1/2}$$

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

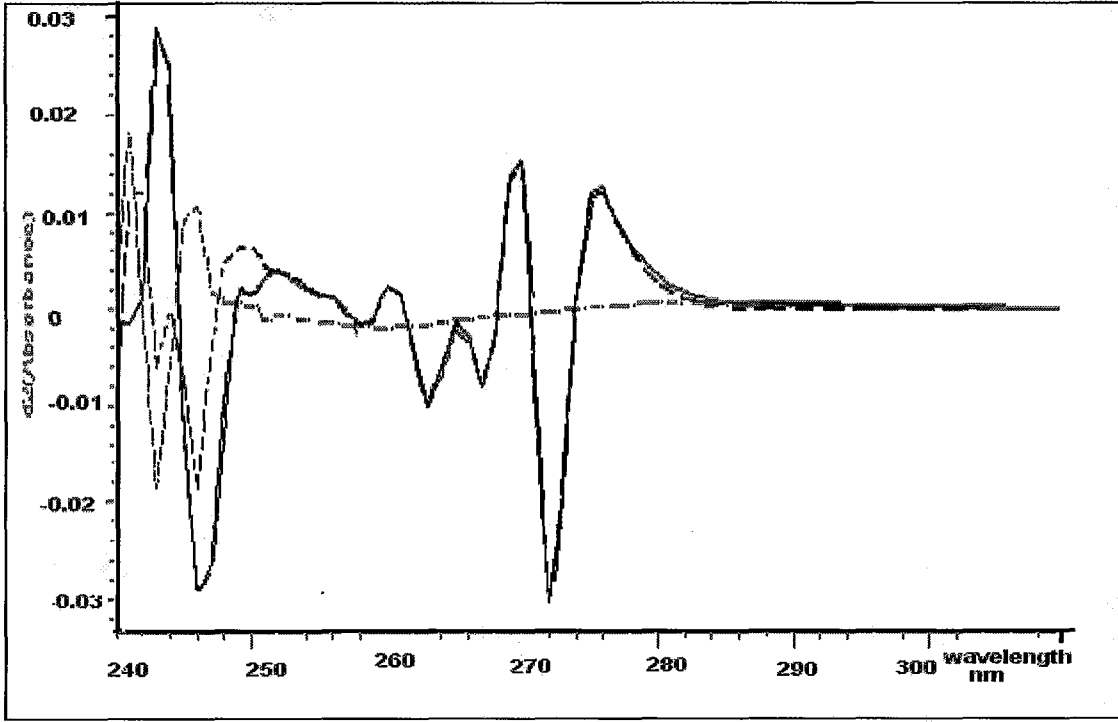
## 4.1.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

### 4.1.2.1 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi

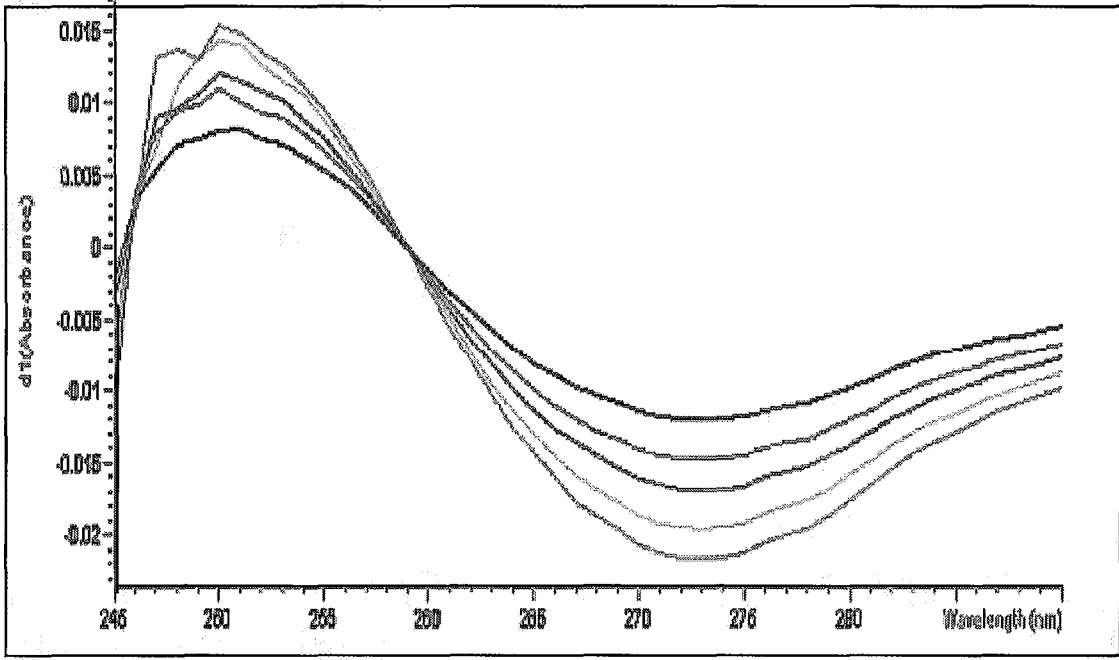
Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'nin türev spektrofotometrik yöntemle birarada analizi için uygun koşulların saptanması amacıyla çeşitli çözücü sistemleri denendi. Bölüm 4.1.1.1'de anlatıldığı gibi her iki madde için en uygun çözücü sistemi olan metanol : su :formik asit ( 16 :3 : 1) kullanıldı. Her iki maddenin " cathejell-jel" içindeki oranları göz önünde tutularak  $6 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda klorheksidin HCl ve  $240 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda lidokain HCl'nin 1. türev, 2. türev spektrumları çekildi. 1. türev spektrumu incelendiğinde lidokain HCl' in spektrumunun sıfır olduğu 290 nm (Şekil 4.2) klorheksidin tayini için, 2.derece türev spektrumu incelendiğinde klorheksidin HCl absorpsiyonunun etkili olmadığı 272-276 nm arasındaki pik uzunluğunun (pik-pik tekniği) lidokain HCl tayini için uygun olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Buna göre türev spektrofotometrik yöntemle klorheksidin HCl ve lidokain HCl'ye ait ölçü eğrileri, klorheksidin HCl için  $5-9 \mu\text{g mL}^{-1}$ , lidokain HCl için  $160-480 \mu\text{g mL}^{-1}$  olacak şekilde Bölüm 3.3.1.2.2 'deki gibi hazırlandı. Elde edilen absorbans değerleri ve ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, absorpsiyon spektrumları Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 'de gösterilmiştir. Bu ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri 'Cathejell-jel" de klorheksidin HCl ve lidokain HCl tayininde kullanılmıştır.



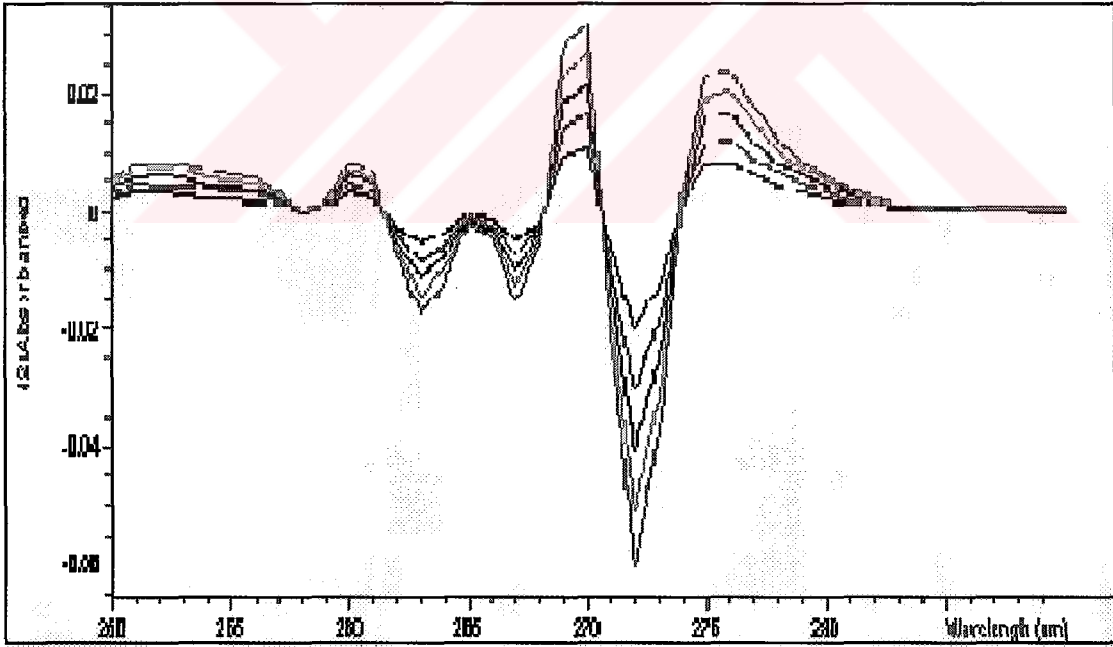
Şekil 4.2 Klorheksidin HCl ( $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (---), Lidokain HCl ( $240 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (.....) ve karışımın (6:240) (—) metanol :su: formik asitteki (16:3:1) 1.türev absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.3 Klorheksidin HCl ( $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (.....) Lidokain HCl ( $240 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (- · -),ve karışımın (6:240) (—) metanol :su: formikasitteki (16:3:1) 2.türev absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.4 Klorheksidin HCl'nin (5, 6, 7, 8, 9  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) metanol:su: formikasitteki (16:3:1) 1. türev absorpsiyon spektrumları

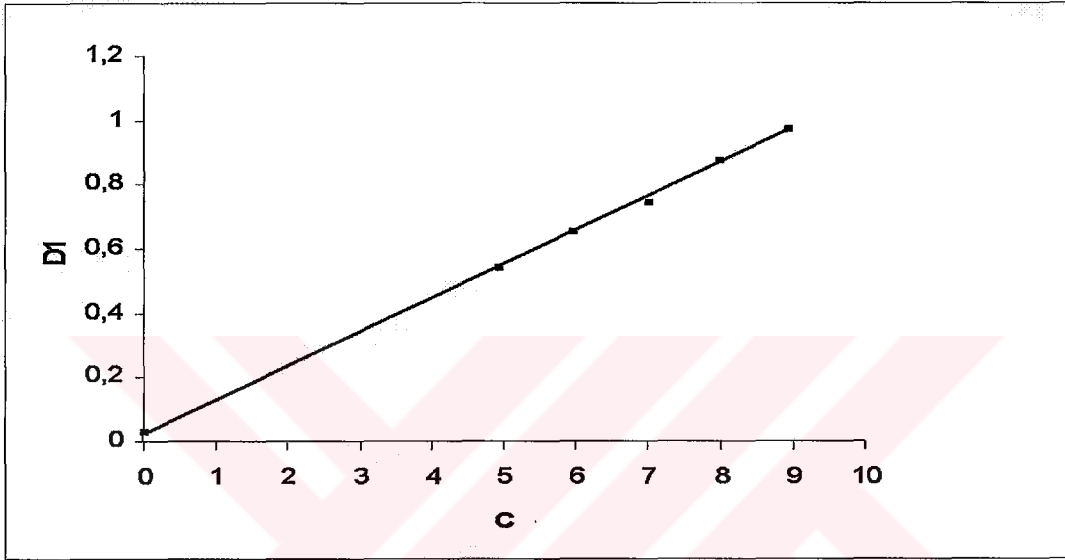


Şekil 4.5 Lidokain HCl'nin (160, 240, 320, 400, 480  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) metanol:su: formikasitteki (16:3:1) 2. türev absorpsiyon spektrumları



Çizelge 4.4 Klorheksidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

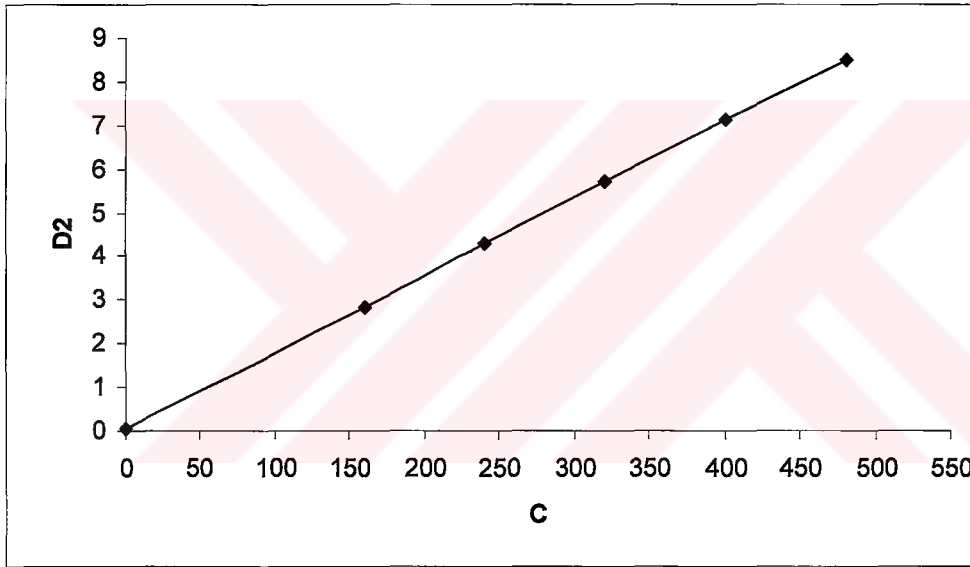
C ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	5	6	7	8	9
$^1D_{290}$	0,545	0,669	0,757	0,874	0,975
$^1D_{290} = 0,0185 + 0,1065 C \quad r = 0,9989$					



Şekil 4.6 Klorheksidin HCl'ye ait ölçü eğrisi

Çizelge 4.5 Lidokain HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

C( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	160	240	320	400	480
$^2D_{272-276}$	2,850	4,310	5,711	7,127	8,491
$^2D_{272-276} = 0,0582 + 0,0176C$ $r = 0,9999$					



Şekil 4.7 Lidokain HCl'ye ait ölçü eğrisi

#### 4.1.2.2 Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla klorheksidin HCl ve lidokain HCl'nin ölçü eğrileri sınırlarında [ (5-9  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) ve (160-480 $\mu\text{g mL}^{-1}$  )] farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımlar Bölüm 3.3.1.2.3'te anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlara ait geri kazanım (%R) ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri çizelge 4.6 'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6 Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi

Karışımlar	CHL ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )			LİH ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
	Katılan	Bulunan	%R	Katılan	Bulunan	%R
1	5	5,19	103,80	160	171,07	106,91
2	6	5,64	94,00	240	253,22	105,50
3	7	7,13	101,80	320	338,34	105,73
4	8	8,23	102,80	400	419,25	104,81
5	9	9,34	103,70	480	502,09	104,60
6	5	5,30	106,00	480	509,70	108,30
7	9	9,28	103,11	160	172,28	106,18
ortalama%R	102,17			106,00		
RMSD	0,27			19,08		
% REP	3,85			5,96		

#### 4.1.2.2.1 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Jel örneğindeki klorheksidin HCl ve lidokain HCl miktarları Bölüm 3.3.1.2.4'te anlatıldığı gibi çalışılarak türev spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Elde edilen sonuçlar ve PLS ile karşılaştırılması Çizelge 4.7 'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 "Cathejell-jel" ( 100gr'da 0,05g klorheksidin HCl + 2g lidokain HCl) örneklerinin analizi

İstatistik	CLH (0,05g/100)		LİH (2 g/100)	
	PLS	Türev	PLS	Türev
1	0,053	0,052	2,053	1,990
2	0,050	0,051	2,002	2,017
3	0,055	0,050	2,065	1,990
4	0,054	0,051	2,072	2,028
5	0,053	0,050	2,015	1,999
$\bar{x}$	0,053	0,051	2,041	2,005
S	$1,87,10^{-3}$	$8,36 \cdot 10^{-4}$	0,031	0,017
%s	3,52	1,64	1,52	0,84
%R	106,00	102,00	102,05	100,25
$\bar{x} \pm t.s/\sqrt{n}$	0,050 – 0,055	0,05 – 0,052	2,00 – 2,08	1,98 – 2,03
t testi	2,18 < 2,31		2,27 < 2,31	
F testi	5,00 < 6,39		3.32 < 6,39	
N=n=5	$t_8^{0.05}$ tablo = 2.31		$F_{4,4}^{0.05}$ tablo = 6.39	

## 4.2 Triprolidin Hidroklorür ve Psödoefedrin Hidroklorür Karışımının Analizi

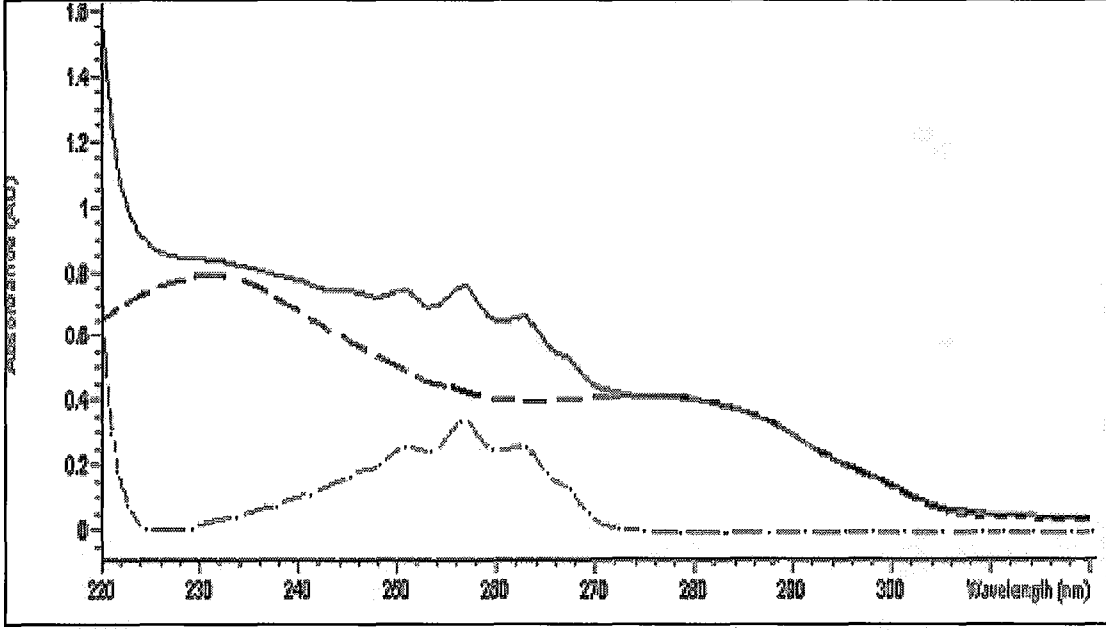
### 4.2.1 Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyonu (PLS)

#### 4.2.1.1 Kalibrasyon Setinin Hazırlanması İçin Uygun Şartların Belirlenmesi

Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl analizi için kalibrasyon seti oluşturulurken su, iki maddenin de çözünürlüklerinin iyi olması ve spektrumlarının birbirine benzememesi nedeniyle en uygun çözücü olarak seçilmiştir. "Actifed - tablet" içindeki oranları göz önünde tutularak (2,5-60) hazırlanmış sulu çözeltilerinin spektrumları (Şekil 4.8) 'da gösterilmiştir. Buna göre en uygun seviyeler triprolidin HCl için 13, 15, 17,  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ve psödoefedrin için 330, 360, 390  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak belirlendi ve kalibrasyon matrisini oluşturmak üzere 9 adet çözelti hazırlandı. Bölüm 3.3.2.1.1 'deki gibi çalışılarak elde edilen absorban değerleri ve karşılık gelen karışım konsantrasyonları Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. PLS algoritmasına göre çözümlenmiş kalibrasyon bağıntısı aşağıdaki gibidir.

$$C_{\text{TRP}} = 1.1677 + 0.39A_1 + 1.96A_2 + 2.86A_3 + 4.03A_4 + 4.56A_5 + 4.03A_6 + 2.93A_7 + 0.88A_8 + 0.31A_9 + 0.26A_{10} + 0.25A_{11} + 0.24A_{12} + 0.22A_{13} + 0.18A_{14} + 0.16A_{15} + 0.16A_{16} + 0.17A_{17}$$

$$C_{\text{PSE}} = -48.8483 + 11.52A_1 + 57.87A_2 + 84.53A_3 + 119.22A_4 + 134.83A_5 + 119.22A_6 + 86.65A_7 + 26.05A_8 + 9.24A_9 + 7.73A_{10} + 7.27A_{11} + 7.12A_{12} + 6.36A_{13} + 5.45A_{14} + 4.85A_{15} + 4.85A_{16} + 5.00A_{17}$$



Şekil 4.8 Triprolidin HCl ( $15 \mu\text{mL}^{-1}$ ) (- -), Psödoefedrin HCl ( $360 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (- ·) ve karışımın (15:360) (—) sudaki absorpsiyon spektrumları

#### 4.2.1.2 Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla  $13, 15, 17 \mu\text{g mL}^{-1}$  triprolidin HCl ve  $330, 360, 390 \mu\text{g mL}^{-1}$  psödoefedrin HCl 'in farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımları bölüm 3.3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlara ait geri kazanım (%R), ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

#### 4.2.1.3 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması ve Kıyas Yöntemiyle Karşılaştırılması

"Actifed- tablet" içindeki triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl miktarları Bölüm 3.3.2.1.3 'te anlatıldığı gibi çalışılarak PLS yöntemiyle tayin edildi. Örneklerin absorban değerleri Çizelge 4.9 'da gösterilmiştir. Bulunan sonuçlar kıyas yöntemi olarak kullanılan türev spektrofotometrik yöntemle karşılaştırıldı. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar ve istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.14 'te toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.8 PLS yöntemine göre triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl karışımlarına ait kalibrasyon çizelgesi

C ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		Dalga Boyu ( $\lambda$ )																
		235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	85	290	295	300	305	310	315
TRİP	PSE	0.748	0.712	0.685	0.691	0.669	0.603	0.520	0.408	0.379	0.367	0.332	0.268	0.186	0.123	0.063	0.042	0.037
13	330	0.840	0.796	0.757	0.753	0.723	0.653	0.569	0.547	0.427	0.414	0.374	0.300	0.207	0.135	0.067	0.043	0.038
17	330	0.922	0.867	0.816	0.800	0.762	0.689	0.606	0.500	0.472	0.458	0.414	0.333	0.229	0.149	0.073	0.047	0.041
13	360	0.760	0.727	0.703	0.713	0.693	0.624	0.535	0.414	0.382	0.369	0.334	0.269	0.187	0.124	0.064	0.043	0.037
15	360	0.869	0.824	0.789	0.789	0.761	0.686	0.594	0.471	0.437	0.424	0.383	0.308	0.214	0.141	0.072	0.0478	0.041
17	360	0.953	0.898	0.851	0.841	0.804	0.727	0.635	0.513	0.481	0.466	0.420	0.337	0.231	0.149	0.071	0.045	0.038
13	390	0.757	0.726	0.703	0.712	0.692	0.623	0.534	0.412	0.379	0.367	0.331	0.267	0.186	0.123	0.062	0.041	0.036
15	390	0.876	0.838	0.809	0.817	0.792	0.714	0.613	0.475	0.437	0.423	0.382	0.308	0.212	0.139	0.069	0.044	0.038
17	390	0.968	0.916	0.872	0.867	0.832	0.751	0.653	0.522	0.487	0.472	0.426	0.342	0.235	0.152	0.074	0.046	0.039

Çizelge 4.9 "Actifed – tablet" örneklerinin analizine ait absorpsiyon değerleri

C(µg mL <sup>-1</sup> )	Dalga Boyu (Å)																
	235	240	245	250	255	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315
1	0.815	0.773	0.741	0.744	0.718	0.648	0.562	0.443	0.411	0.399	0.362	0.239	0.205	0.138	0.073	0.049	0.044
2	0.744	0.706	0.678	0.683	0.659	0.591	0.506	0.388	0.357	0.346	0.310	0.242	0.155	0.088	0.024	0.006	0.003
3	0.830	0.785	0.753	0.756	0.729	0.658	0.569	0.448	0.416	0.403	0.365	0.295	0.205	0.137	0.069	0.045	0.039
4	0.749	0.710	0.681	0.686	0.662	0.594	0.509	0.390	0.360	0.349	0.312	0.244	0.157	0.090	0.026	0.004	0.001
5	0.820	0.777	0.745	0.748	0.722	0.652	0.564	0.444	0.413	0.401	0.363	0.294	0.205	0.137	0.072	0.049	0.042



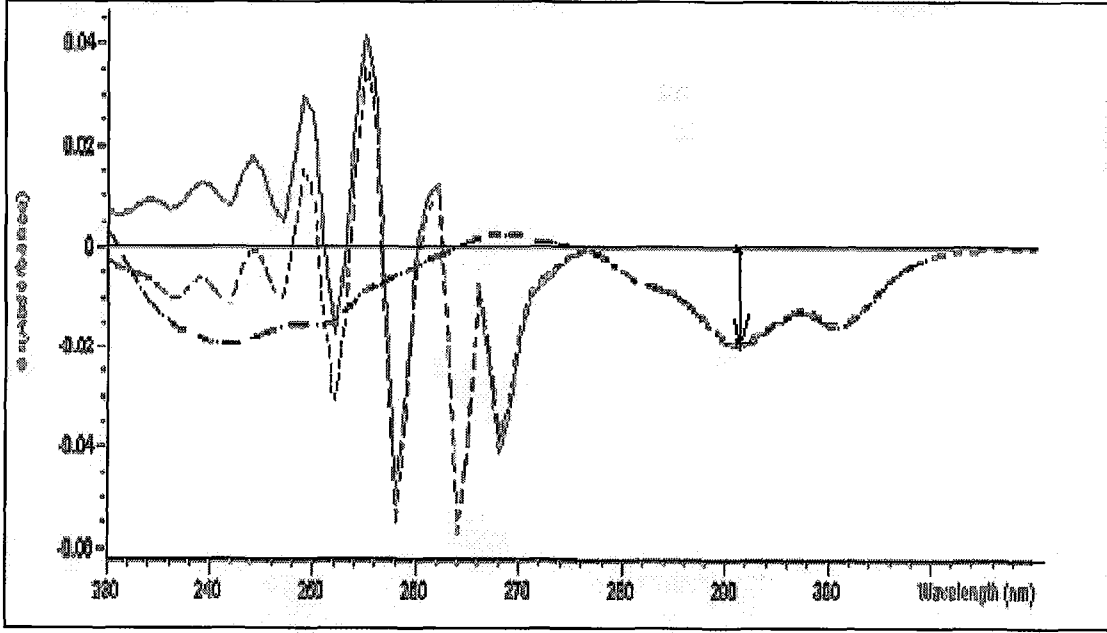
Çizelge 4.10 Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi

Karışımlar	TRP ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )			PSE ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
	Katılan	Bulunan	%R	Katılan	Bulunan	%R
1	13	12,81	98,51	330	350,04	106,07
2	15	14,45	96,33	330	337,88	102,38
3	17	17,46	102,70	330	313,24	94,92
4	13	13,27	102,07	360	352,14	97,82
5	15	15,32	102,13	360	361,47	100,40
6	17	16,77	98,64	360	368,07	102,24
7	13	13,23	101,76	390	381,97	97,94
8	15	15,82	105,46	390	369,31	94,69
9	17	17,33	101,94	390	370,62	95,03
ortalama%R	101.06			99.05		
RMSD	0,42			13,91		
% REP	2,8			3,86		

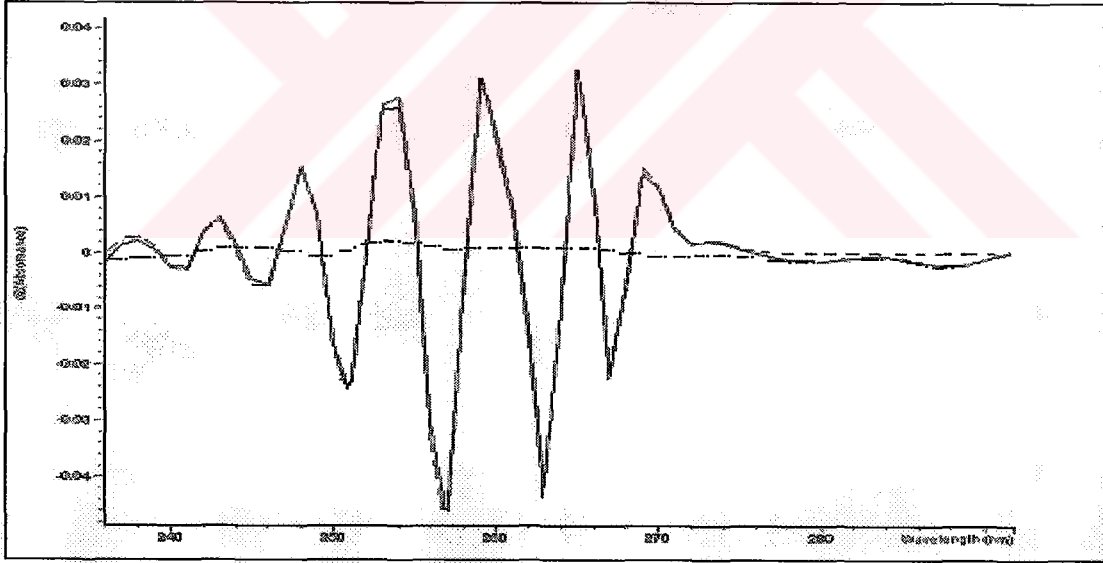
## 4.2.2 Türev Spektrofotometrik Yöntem

### 4.2.2.1 Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması ve Uygun Koşulların Belirlenmesi

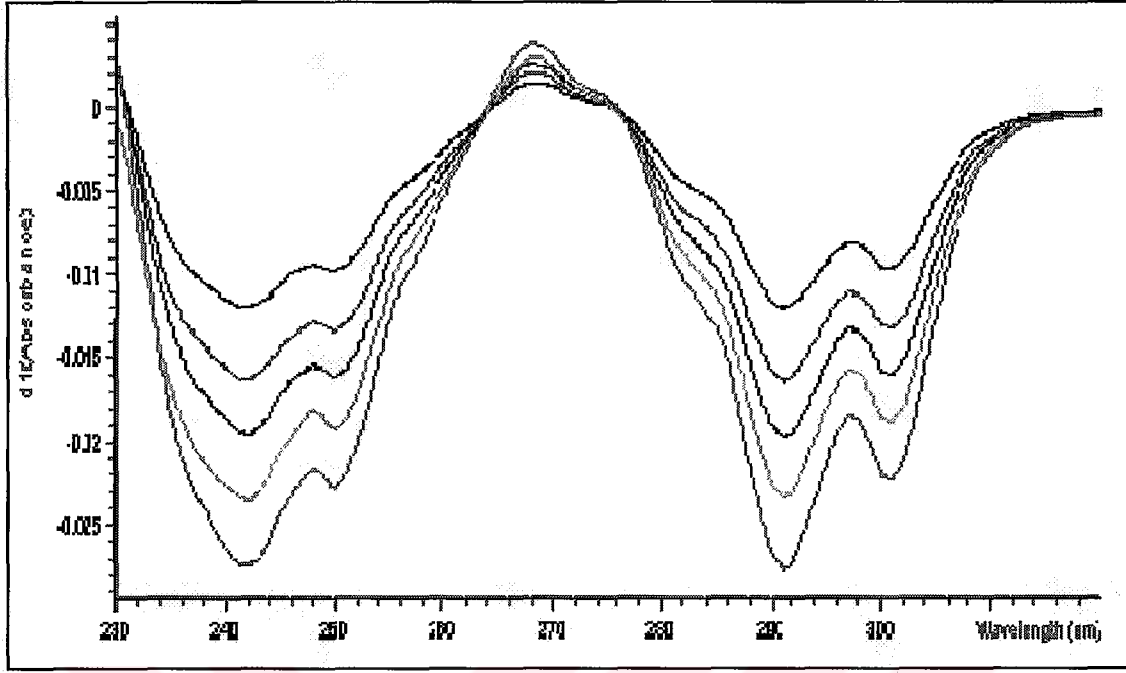
Tripolidin HCl ve psödoefedrin HCl'nin türev spektrofotometrik analizinde daha önce bu maddelerle türev spektrofotometresi ile yapılmış çalışmalardan yararlanıldı (Davidson ve Mkoji, 1977; Davidson ve Elsheikh, 1982; Jones vd., 1985; Murtha vd., 1987). PLS yöntemiyle aynı çözücü şartlarında jel içindeki oranlar göz önünde tutularak  $15 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda tripolidin HCl ve  $360 \mu\text{g mL}^{-1}$  konsantrasyonunda psödoefedrin HCl'nin 1. ve 2. türev spektrumları çekildi. 1. türev spektrumu incelendiğinde psödoefedrin HCl'nin spektrumunun sıfır olduğu 291 nm tripolidin HCl için, 2. türev spektrumu incelendiğinde tripolidin HCl'nin absorpsiyonunun etkili olmadığı 257-259 nm arasındaki pik uzunluğunun (pik-pik tekniği) psödoefedrin HCl'nin analizi için uygun olduğu görülmüştür (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12). Buna göre türev spektrofotometrik yöntemle tripolidin HCl ve psödoefedrin HCl 'ye ait ölçü eğrileri tripolidin HCl için  $9 - 21 \mu\text{g mL}^{-1}$ , psödoefedrin HCl için  $240 - 480 \mu\text{g mL}^{-1}$  olacak şekilde Bölüm 3.3.2.2.2'deki gibi hazırlandı. Elde edilen absorbans değerleri ve ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12'de, absorpsiyon spektrumları Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Bu ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri "Actifed - tablet " içinde tripolidin HCl ve psödoefedrin HCl tayininde kullanılmıştır.



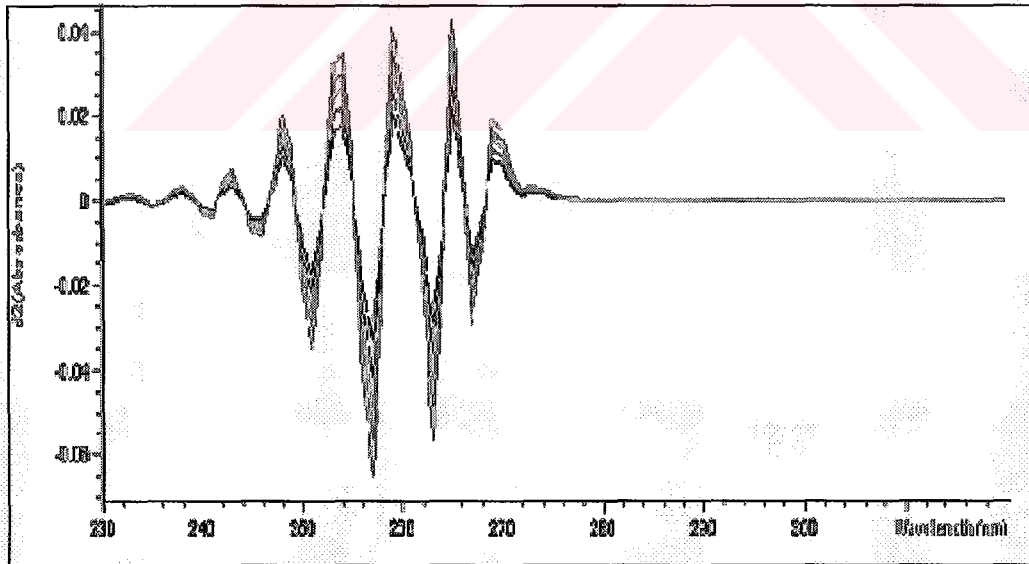
Şekil 4.9 Triprolidin HCl ( $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (---) ve psödoefedrin HCl ( $360 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (-·-) ve karışımın (15:360) (—) sudaki 1. türev absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.10 Triprolidin HCl ( $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (---) ve Psödoefedrin HCl ( $360 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (-·-) ve karışımın (15:360) (—) sudaki 2. türev absorpsiyon spektrumları



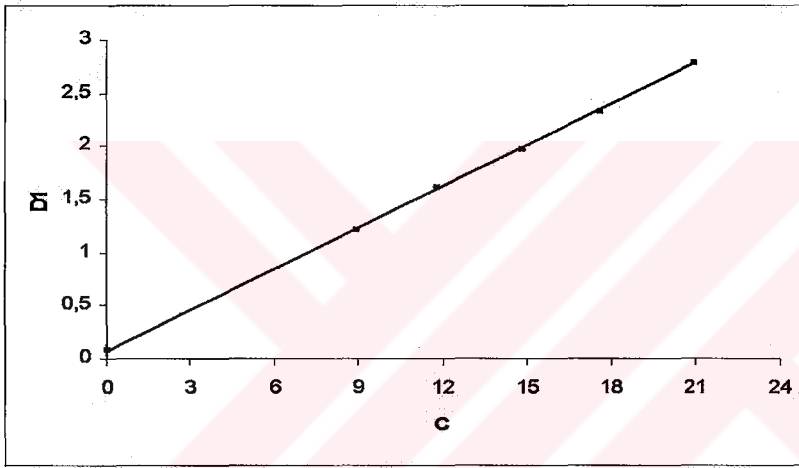
Şekil 4.11 Triprolidin HCl 'nin (9, 12, 15,18,21  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ) sudaki 1.türev absorpsiyon spektrumları



Şekil 4.12 Psödoefedrin HCl'nin (240, 300, 360,420, 480  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) sudaki 2.türev absorpsiyon spektrumları

Çizelge 4.11 Triprolidin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

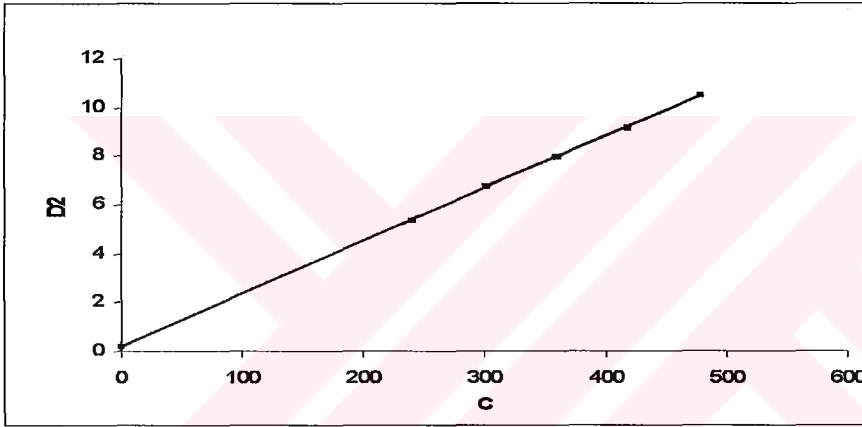
C (µg mL <sup>-1</sup> )	9	12	15	18	21
<sup>1</sup> D <sub>291</sub>	1,2101	1,6472	1,9787	2,3390	2,7730
${}^1D_{291} = 0,0804 + 0,12726 C \quad r = 9988$					



Şekil 4.13 Triprolidin HCl 'ye ait ölçü eğrisi

Çizelge 4.12 Psödoefedrin HCl'nin türev spektrofotometrik yöntem ile analizi için hazırlanan ölçü eğrisinin absorbans değerleri ve regresyon analizi

C ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	240	300	360	420	480
$^2D_{257-259}$	5,372	6,688	7,944	9,071	10,593
$^2D_{257-259} = 0,1966 + 0,021475C \quad r = 0,9990$					



Şekil 4.14 Psödoefedrin HCl'ye ait ölçü eğrisi

#### 4.2.2.2 Yöntemin Farklı Konsantrasyonlardaki Karışımlara Uygulanması

Yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl'nin ölçü eğrileri sınırlarında [ (9-21  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) ve (240-480 $\mu\text{g mL}^{-1}$  )] farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımları Bölüm 3.3.2.2.3'te anlatıldığı gibi çalışıldı. Bulunan sonuçlara ait geri kazanım (%R) ve bağıl tahmin hatası (%REP) değerleri çizelge 4.13 'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.13 Triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl'in farklı kombinasyonları içeren sentetik karışımların analizi

Karışımlar	TRP ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )			PSE ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
	Katılan	Bulunan	%R	Katılan	Bulunan	%R
1	9	8,71	96,78	240	242,35	100,97
2	12	11,67	97,25	300	299,25	99,75
3	15	14,73	98,20	360	362,11	100,58
4	18	17,74	98,55	420	423,95	100,94
5	21	20,61	98,14	480	491,98	102,49
6	9	9,26	102,89	240	234,62	97,75
7	21	20,57	97,95	480	478,62	99,71
ortalama%R	98,53			100,31		
RMSD	0,31			5,35		
% REP	2,02			1,48		

#### 4.2.2.3 Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Tablet örneğindeki triprolidin HCl ve psödoefedrin HCl miktarları Bölüm 3.3.2.2.4 'de anlatıldığı gibi çalışılarak türev spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Elde edilen sonuçlar ve PLS ile karşılaştırılması Çizelge 4.14 'te verilmiştir

Çizelge 4.14 "Actifed-tablet " (1 tablette 2.5 mg triprolidin HCL ve 60 mg psödoefedrin HCl içeren ) örneklerinin analizi

İstatistik Parametreler	TRP (2.5 mg)		PSE (60 mg)	
	PLS	Türev	PLS	Türev
1	2.48	2.36	60.28	59.39
2	2.48	2.47	59.56	58,12
3	2.49	2.41	59.84	59.61
4	2.48	2.51	59.14	59.14
5	2.54	2.38	61.35	59.58
$\bar{x}$	2.49	2,42	60.03	59,17
S	0.026	0,063	0.84	0,61
%s	1,04	2,59	1.40	1,03
%R	99,6	97,2	100,05	98,61
$\bar{x} \pm t.s/\sqrt{n}$	2,46 -2,52	2,35 - 2,51	58,98 – 61,07	58,41 –59,93
t testi	1,97 < 2,31		1,85 < 2,31	
F testi	5,87 < 6,39		1,89 < 6,39	
n=n=5	$t_8^{0.05}$ tablo =2,31		$F_{4,4}^{0.05}$ tablo = 6,39	



## TARTIŞMA

Günümüzde, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi ve diğer spektrofotometrik ve elektroanalitik yöntemler, çoklu ilaç karışımlarının etken madde analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak preparat içinde çok farklı oranlarda bulunan ve spektrumları girişim yapan maddelerin bilinen spektrofotometrik yöntemlerle tayini mümkün olmamaktadır. Son zamanlarda araştırmacılar, hem çeşitli ekstraksiyon işlemler olmaksızın bu tür analiz zorluklarını ortadan kaldıran hem de pahalı alet ve çözücü sistemleri gerektirmeyen yeni metodlar geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Sözü edilen amaçlar doğrultusunda çokluk kalibrasyon yöntemlerinden kısmi en küçük kareler kalibrasyonu ( PLS ) bilinen spektrofotometrik ve kromatografik tekniklere karşı ucuzluğu ve pratikliği ile iyi bir alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada, çeşitli analiz güçlüklerine sahip ilaç karışımları araştırıldı ve lidokain HCl - klorheksidin HCl ve triprolidin HCl - psödoefedrin HCl içeren preparatlara PLS yöntemi uygulandı.

Klorheksidin HCl ve lidokain HCl'nin bir arada analizi için farmakopede herhangi bir yöntem yer almamıştır. Her iki maddenin spektrumlarının üst üste çakışması ve preparat içindeki oranlarının farklı olması, bilinen spektrofotometrik yöntemlerle tayininde güçlük oluşturmaktadır. Bu tür analiz zorluklarına karşı PLS ve türev spektrofotometrik yöntem geliştirildi. Öncelikle uygun çözücü belirlemek amacıyla maddenin su, metanol, asidik ve bazik ortamda çözünürlükleri incelendi ve spektrumları çekildi. Ancak klorheksidin hidroklorürün sudaki çözünürlüğünün az olması, metanolde kararlı bir spektrum vermemesi ve jel preparatlarından bu maddelerin tam olarak alınamamasından dolayı klorheksidin hidroklorür ayininde daha önce kullanılan çözücü sistemleri incelendi. Klorheksidin hidroklorür için, metanol:formik asit (30:20) ve metanol: su: formik asit (16:3:1) gibi çözücü sistemlerinin kullanıldığı görüldü. ( Izumoto vd., 1996; Okamoto vd., 2001 ) Bu çözücü sistemleri sırasıyla denendi. Metanol:formik asit (30: 20) çözücü sisteminde, jel preparatlarının çözünmesinde kararlı pikler elde edilemedi. Buna karşın metanol:su:formik asit (16:3:1) ekstraksiyon çözeltisinde, klorheksidin hidroklorür, lidokain hidroklorür ve jel preparatlarının çözünürlüğünün iyi olması ve alınan spektrumlarda kararlı pikler elde edilmesi nedeniyle bu çözücü sisteminin kullanılmasına karar verildi. Kalibrasyon seti oluşturulması için çözelti karışımlarının hazırlanmasında preparat içindeki miktarlar

(%0,05 : %2 ) ve uygun absorpsiyon koşulları göz önünde tutuldu ve seviyeler klorheksidin hidroklorür için 5,6,7  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , lidokain hidroklorür için 220, 240, 260  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak belirlendi. Jel örnekleri hiçbir ön ayırma ve ekstraksiyon işlemine tabi tutulmaksızın, metanol:su:formik asit (16:3:1) çözeltisinde hazırlandı ve absorpsiyon ölçümleri kalibrasyon çözeltileriyle aynı şartlarda yapıldı. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla 5,6,7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  klorheksidin hidroklorürün, 220, 240, 260  $\mu\text{g mL}^{-1}$  lidokain hidroklorürün farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımlar analiz edildi. Sentetik karışımlarla yapılan analizlere ait sonuçlarda klorheksidin hidroklorür için geri kazanım (%R) 99,39 , bağıl tahmin hatası (%REP) 3,3, lidokain hidroklorür için geri kazanım (%R) 100,75 , bağıl tahmin hatası (%REP) 1,52 olarak bulundu.

Klorheksidin hidroklorür - lidokain hidroklorür analizinde ikinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrisi geliştirildi. Bu yöntemde de çözücü sistemi olarak metanol:su:formik asit (16:3:1) çözücü sistemi kullanıldı. 1. ve 2. türev spektrumları alındı. 1. türev spektrumu incelendiğinde 285, 286, 263.4 ve 290 nm'de klorheksidin hidroklorürün, lidokain hidroklorür yanında, 2.türev spektrumu incelendiğinde ise 263 nm'de pik-sıfır, 270-272 nm ve 272-276 nm'de pik-pik toplamlarından lidokain hidroklorürün klorheksidin hidroklorür yanında tayin edilebileceği düşünüldü. En uygun noktayı saptamak amacıyla farklı konsantrasyonlarda klorheksidin hidroklorür, lidokain hidroklorür karışımları ve jel örnekleri hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında analizleri yapıldı. Standart sapma ve geri kazanım sonuçlarından klorheksidin hidroklorür tayini için 290 nm'nin, lidokain hidroklorür tayini için 272-276 nm'deki pik uzunluğunu en uygun nokta olduğuna karar verildi. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla, klorheksidin hidroklorür ve lidokain hidroklorürün ölçü eğrileri sınırlarında [(5-9  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) ve (160-480  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )] farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımlar analiz edildi. Sentetik karışımlarla yapılan analizlere ait sonuçlarda klorheksidin hidroklorür için geri kazanım (%R) 102,17 , bağıl tahmin hatası (%REP) 3,85, lidokain hidroklorür için geri kazanım (%R) 106,00 , bağıl tahmin hatası (%REP) 5,96 ve olarak bulundu.

İki yöntemle elde edilen sonuçlar %95 güvenilirlik düzeyinde karşılaştırıldı ve ortalamalar ve tekrarlanabilirlikler açısından anlamlı fark olmadığı görüldü. Ancak türev spektrofotometrik yöntemin spesifik dalga boyu seçimi gerektirmesi, her spektrum çekildiğin-

de aletsel şartlara göre belirlenen dalga boyunun kayma olasılığı ve bu işlemlerin zaman alıcı olması nedeniyle, PLS uygulamasının yüksek absorpsiyon girişimine rağmen pratik bir analiz yöntemi olduğu düşünüldü ve kontrol laboratuvarlarındaki rutin analizler için rahatlıkla kullanılabilceği sonucuna varıldı.

Triprolidin hidroklorür ve psödoefedrin hidroklorürün birlikte tayinine yönelik kaynak araştırmasında bir spektrofotometrik yöntem (Dinçer ve Onur, 1998) ve iki sıvı kromatografik yöntem (Bachman., 1980; USP XXII, 1990) rastlanmıştır. Spektrofotometrik yöntemde, triprolidin hidroklorür ve psödoefedrin hidroklorürü 1. türev spektrumundan sırasıyla 291 ve 264 nm'de, ikili karışımın orijinal spektrumundan 278,1 ve 256.8 nm'de tayin etmişlerdir. 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, her iki maddenin ve tablet örneklerinin çok iyi çözünmesi ve iki maddenin spektrumlarının birbirinden farklı olması nedeniyle en uygun çözü olarak belirlendi. Kalibrasyon modeli oluşturulurken tablet içindeki miktarlar göz önünde tutuldu (2.5:60) ve uygun seviyeler triprolidin hidroklorür için 13,15,17  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ve psödoefedrin hidroklorür için 330,360,390  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak belirlendi. Tablet örnekleri hiçbir ön ayırma yapmaksızın, 15 mL suda çözüldü ve absorpsiyon ölçümleri kalibrasyon çözeltileriyle aynı şartlarda yapıldı. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu test amacıyla 13, 15, 17  $\mu\text{g mL}^{-1}$  triprolidin hidroklorürün, 330, 360, 390  $\mu\text{g mL}^{-1}$  psödoefedrin hidroklorürün farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımlar analiz edildi. Sentetik karışımlarla yapılan analizlere ait sonuçlarda triprolidin hidroklorür için geri kazanım (%R) 101,6 , bağıl tahmin hatası (%REP) 2,8 ve psödoefedrin hidroklorür için geri kazanım (%R) 99,05 , bağıl tahmin hatası (%REP) 3,86 olarak bulundu.

Bu ikili karışımın analizinde ikinci bir yöntem olarak türev spektrofotometrisi kullanıldı. Yöntemin uygulanmasında daha önce yapılmış çalışmalardan yararlanıldı (Davidson ve Elshaikh 1982; Dinç ve Onur 1998). Buna göre PLS yöntemiyle aynı şartlarda hazırlanmış tablet örneklerinin 1. türev spektrumu kullanılarak 291 nm'de triprolidin hidroklorür, 2. türev spektrumu kullanılarak 257-259 nm'de psödoefedrin hidroklorürün analizi yapıldı. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu test amacıyla, triprolidin hidroklorür ve psödoefedrin hidroklorürün ölçü eğrileri sınırlarında [(9-21  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ) ve (240-480  $\mu\text{g mL}^{-1}$  )] farklı kombinasyonlarını içeren sentetik karışımlar analiz edildi. Sentetik karışımlarla yapılan

analizlere ait sonuçlarda triprolidin hidroklorür için geri kazanım (%R) 98,53 , bağıl tahmin hatası (%REP) 2,06 ve psödoefedrin hidroklorür için geri kazanım (%R) 100,31, bağıl tahmin hatası (%REP) 1.48 olarak bulundu.

İki yöntemle elde edilen sonuçlar %95 güvenilirlik düzeyinde karşılaştırıldı ve ortalamalar ve tekrarlanabilirlikler açısından anlamlı fark olmadığı görüldü. Ancak yukarıda belirtildiği gibi türev spektrofotometrik yöntemin getirdiği bazı zorluklara ve pahalı diğer kromatografik tekniklere karşı, PLS yönteminin rutin analizlerde kullanılabilir uygun bir yöntem olduğu söylenebilir.

**KAYNAKLAR**

- 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.
- 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., (1998), "Simultaneous Determination of Theobromine and Caffeine in Cocoa by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", *Anal. Lett.*, 31(59):859.
- Aksu, Ö., (2004), "Çoklu İlaç Karışımlarının Kısmi En Küçük Kareler Spektrofotometrik Kalibrasyon Yöntemiyle Tayini", Doktora Tezi.
- Altria, 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.
- Aman, T., Ahmad, A., Aslam, N., Kashmiri, M.A., (2002), "Spectrophotometric determination of triprolidine hydrochloride by m-dinitrobenzene in pharmaceutical preparations", *Anal. Lett.*, 35(4):733-746.
- 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., Romeropalanco, 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.
- Baniceru, M., Croitoru, O., Popescu, S.M., (2004), "Determination of some local anesthetics in human serum by gas chromatography with solid- phase extraction", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 35:593-598.

- 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. Planer Chromatogr.-Modern TLC*, 1381):16-19.
- Bauer, M., Degude, C., Mailhe L., (1984), "Simultaneous Determination of Chlorhexidine, Tetracine and Their Degradation Products by Ion-Pair Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 315:457-464.
- Boeris, M., Luco, J.M. ve Olsina, R.A., (2000), "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Phenobarbital, Phenytoin and Mewthylphenobarbital in Pharmaceutica Preparations by Using Partial Least-Squares and Principial Component Regression Multivariate Calibration", *J. Pharm.Biomed. Anal.*, 24:259-271.
- Bora, O., (1996), "Bazı Antihipertansif İlaç Karışımlarının Türev Spektrofotometrik Yöntemle Analizi", Yüksek Lisans Tezi.
- Bozdoğan, A., Acar A., Kunt, G., (1992), "Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine in Tablet Preparations by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", *Talanta*, 39:979.
- Bozdoğan, A., Acar A., Kunt, G. ve Çağlar, H., (1994), "Simultaneous Determination of Paracetamol, Metamizol Sodium and Caffeine in Tblet Preparations by Partial Least-Squares Spectrophotometric Calibration", *Pharmazie*, 49:457.
- Brougham, R.L., Cheng, H., Pittman, A.K., (1986), "Sensitive High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Chlorhexidine in Human Serum and Urine", 383:365-373.
- Calatayud, J.M., Falcó, C.P., (1986), "Spectrophotometric Determination of Chlorhexidine with Bromocresol Green by Flow-Injection and Manual Methods, *Anal. Chim. Acta*", 189:323-328.
- Calatayud, J.M., Mateo, J.V.G.,(1989), "FIA Determination of Chlorhexidine by Means of The Precipitation with Cu (II) " *J. Pharm. Biomed. Anal.*,7(12):1441-1445.
- 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.
- 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, 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., 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., (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.

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

Cox, K.S., Hamner, T., Bartges, J., (2004), " Monoethylglycinexylidide and lidocaine determination in porcine microsomal preparations", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 37 (4):801-804.

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-Jong, G.J., Koster, E.H.M., (2000), "Solid-phase micro-extraction in bioanalysis, exemplified by lidocaine determination " ,*Chromatographia* 52:12-13.

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 Dextrometorphan by HPLC", *Chromatographia*, 43(9-10):496-500.

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 Resolutions Veterinary Formulations Containing Oxfendazole by Multivariate Calibration- Prediction Techniques" J.Pharm. Biomed. Anal., 28:779-788.

Dijiba, K.Y., Zhang, A., Niemczyk M.T., (2005) "Determinations of ephedrine in mixtures of ephedrine and pseudoephedrine using diffuse reflectance infrared spectroscopy" , International J. Pharm., 289:39-49.

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

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.

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.

Gaffney, H.M., Cooke, M., (1983), " Improved Method for the Detrmination of Chlorhexidine in Urine", J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. App., 306:303-313.

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.

Gil-Agusti, M., Torreslapasio, J.R., Garcialvarezcoque, M.C. ve Esteveromero, J., (2000), "Comparison of the Performance Butanol and Pentanol as Modifiers in the Miceller 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 Miceller 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.

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.

Herbert, R.V., Middleton, R.J., Tomaszewska, E., Fox, K.L., (2003), "Methodology for Quantifying Residues of Chlorhexidine in Raw Dairy Milk", *J. Agric. Food Chem.*, 51:567-570.

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.

Huston, E.C., Wainwright, P., Cooke, M., (1982), "High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Chlorhexidine", *J. Chromatogr. A*, 237(3):457-4.

Imaz, C., Carreras, D., Navages, R., Rodriguez, A., Mayner, J. ve Cortes, R., (1993), "Determination of Ephedrine 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.

Izumoto, S., Machida, Y., Nishi, H., Nakamura, K., Nakai, H., Sato, T., (1996), "Chromatography of Crotonol and its Application to the Determination of Active Ingredients in Ointments", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 15:1457-1466.

Jacobsen, E., Glyseth, B., (1975), "Polarographic Determination of Chlorhexidine in Pharmaceutical Preparations", *Talanta*, 22(12):1001-1004.

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.

Kanjanawattana, S., Mangkornkarn, C., Wilairat, P., Vongsavan, N., (2001), "Determination of liocaine in dental pulp by high- performance liquid chromatography", *J.Endodontics*, 27(1):31-35.

Kayaalp, O., (2000), *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe- Taş yayınları.

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.

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.

Lam, F.Y.W., Chan, C.N.D., Rodrigez, Y.S., Lintakoon, H.J., Lam, T.H., (1993), "Sensitive High Performance Liquid Chromatographic Assay for the Determination of Chlorhexidine in Saliva", *J. Chromatogr.: Biomed. App.*, 612(1):166-171.

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.

Lebelle, M.J., Savard, C., Dawson, B.A., Black, D.B., Katyal, L.K., Zrcek, 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.

Ljiljiana, Z., Kustrin, A.S., Vasiljevic, M., Nemcova,I.,(1996), "Comparasion of high-performance and thin layer chromatographic methods for the assay of lidocaine", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 14(8-10):1229-1232.

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.

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 Cetrizine in Pharmaceutical Formulations", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 25(3-4):663-667.

Malenovic, A., Medenica, M., Ivanovic, D., Jancic, B., Markovic, S., (2005) "Development and validation of RP-HPLC method for cetrimonium bromide and lidocaine determination", *II. Farmaco*, 60(2):157-161.

Mansilla, A., Valenzuela, M.I., Martos, N.R., Diaz, A.M., Navalon, A., Paya, L.F. ve Valley, L.F., (2000), "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Salicylic Acid, Codeine and Pyridoxine in Pharmaceutical Preparations Using Partial- Least Squares Multivariate Calibration", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 23:837-844.

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.

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

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.

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.

Mirbel, L., Brazier, J.L., Comet, F., (1983), "Gas- Liquid Chromatographic Determination of Chlorhexidine in Pharmaceutical Formulations", *J. Chromatogr. A*, 268:321-328.

Munoz de la Pena, A., Salinas, F. ve Canada, F., (2001), "Comperative 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.

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.

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

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

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.

Okamoto, H., Uetake, A., Tamaya, R., Nakajima, T., Sagara, K., Ito, Y., (2001) "Simultaneous Determination of Ingredients in an Ointment by Hydrophobic Interaction Electrokinetic Chromatography", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 929:133-141.

Okamoto, H., Nakajima, T., Ito, Y., Aketo, T., Shimada, K., Yamato, S., (2004) "Simultaneous determination of ingredients in a cold medicine by cyclodextrin- modified microemulsion electrokinetic chromatography", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 37:517-528.

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.

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.

Palabıyık, M.İ., Dinç, E. Onur, F., (2003), "Simultaneous spectrophotometric determination on pseudoephedrine hydrochloride and ibuprofen in a pharmaceutical preparation using spectra derivative spectrophotometry and multivariate calibration techniques", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 34:473-483.

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.

Pesonen, T., Holmalhti, J., Pohjola, J., (1995), "Determination of Chlorhexidine in Saliva Using High-Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 665(1):222-225.

Piwowska, J., Kuczyńska, J., Pachecka, J., (2004), "Liquid chromatographic method for the determination of lidocaine and monoethylglycine xylidide in human serum containing various concentrations of bilirubin for the assessment of liver function", *J. Chromatogr. B*, 805:1-5.

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.

Ruiz, P.T., Lozano, M.C., Sanz, A., Sánchez, A., (1999), "Flow-Injection Extraction-Spectrophotometric Method for the Determination of Chlorhexidine in Pharmaceutical Preparations", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21:709-714.

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.

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.

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.

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.

Taguchi, J., Ohtsuki, S., Kusu, F., (2003), "Voltammetric determination of weak bases based on oxidation of  $\alpha$ -tocopherol in an unbuffered solution", *J. Electroanalytical Chem.*, 557:91-97.

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.

Thompson, H.C. ve Holder, C.L., "Trace Analysis of the Antihistamines Methapyrilene 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.

Vert, T.F., Pedros, V.F., Calatayud, J.M., Martinez, P.V., (1983), "Polarographic Determination of Proguanil and Chlorhexidine", *Talanta* 30(12):977-979.

Wang, L.H., Tsai, S.J., (2001), "Voltammetric Behavior of Chlorhexidine at a Film Mercury Electrodes and Its Determination in Cosmetics and Oral Hygiene Products", *Anal. Chim. Acta*, 441:107-116.

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.

Wieberg, K., Hagman, A., Jacobsson, S.P., (2002), "Rapid determination of lidocaine solutions with non-column chromatographic diode array UV spectroscopy and multivariate calibration", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 30:1575-1586

Wieberg, K., Andersson, M., Hagman, A., Jacobsson, S.P., (2003), "Use of control sample for estimation of prediction error in multivariate determination of lidocaine solutions with non-column chromatographic diode array UV spectroscopy", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 33:859-869.

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.

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.

Xu, X.H. ve Stewart, J.T., (2000), "HPLC 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 Lidocaine Hydrochloride, Chlorhexidine Gluconate and Triamcinolone Acetonide in Suspension by Reversed Phase HPLC", *J. Liq. Chromatogr. & Related Technologies*, 22(13):2071-2091.

Youngvises, N., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., (2003), "Simultaneous micellar LC determination of lidocaine and tolperisone", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 31:629-638.

Zareh, K.M., Mirzaei, S., (2004), "Spectrophotometric resolution of ternary mixtures of pseudoephedrine hydrochloride, dextromethorphan hydrobromide, and sodium benzoate in syrups using wavelength selection by net analyte signals calculated with hybrid linear analysis", *Anal. Chim. Acta*, 526:83-94.

**ÖZGEÇMİŞ**

Doğum tarihi	16.09.1980	
Doğum yeri	Sakarya	
Lise	1991 - 1998	Sakarya Anadolu Lisesi
Lisans	1999 - 2003	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen - Edebiyat Fak. Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	2003 - 2005	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü, Analitik Kimya Anabilim Dalı

**Staj yaptığı yerler**

2001	Mustafa Nevzat İlaç Fabrikası, İstanbul, Türkiye
2002	Deva İlaç Fabrikası, İstanbul, Türkiye