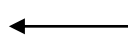


FATMA HACIOĞLU

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

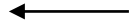
DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2021



Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**FENİLEFRİN HİDROKLORÜR, FENİRAMİN MALEAT,
ASKORBİK ASİT, PARASETAMOL'ÜN VE İLGİLİ
BİLEŞİKLERİNİN KROMATOĞRAFİK OLARAK YANYANA
ANALİZİ**

FATMA HACIOĞLU

**DANIŞMAN
PROF.DR.ARMAĞAN ÖNAL**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



İTHAF

Kızım, eşim ve aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yapılmasında desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof. Dr. Sıdıka Toker'e, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, motive eden, çalışmama içtenliğiyle her şekilde destek olan çok değerli tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Armağan Önal'a,

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalının tüm değerli öğretim üyelerine, çalışmalar süresince laboratuvar olanaklarından yararlandığım Abdi İbrahim İlaç Sanayi A.Ş'ye,

Her zaman her koşulda olduğu gibi yine desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan sevgili eşime ve canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XİV
ÖZET	XVİ
ABSTRACT.....	XVİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Soğuk Algınlığı ve Grip.....	3
2.1.1. Soğuk Algınlığı ve Grip Hastalığı	3
2.1.2. Soğuk Algınlığı ve Grip Tedavisi ve Tedavide Kullanılan İlaçlar	4
2.2. Askorbik Asit	7
2.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	7
2.2.2. Farmakolojisi	8
2.2.3. Safsızlıkları	9
2.3. Fenilefrin Hidroklorür.....	10
2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	10
2.3.2. Farmakolojisi	12
2.3.3. Safsızlıkları	13
2.4. Feniramin Maleat	13
2.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	13
2.4.2. Farmakolojisi	15
2.4.3. Safsızlıkları	16
2.5. Parasetamol	17
2.5.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	17
2.5.2. Farmakolojisi	18

2.5.3. Safsızlıkları	20
2.6. Analiz Yöntemleri.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler.....	38
3.2. Çözeltiler.....	39
3.2.1. Hareketli Fazlar.....	39
3.2.2. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini Analizi İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	39
3.2.3. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlıklarının Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler	40
3.2.4. Askorbik Asit Safsızlıkların Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	40
3.3. Aletler ve Diğer Gereçler	41
3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar	42
3.4.1. Hareketli Faz Seçimi.....	42
3.4.2. UPLC/HPLC Gradyent/İzokratik Programının Belirlenmesi	43
3.4.3. Kolon Seçimi	46
3.4.4. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi	47
3.4.5. Safsızlık Limitlerinin Belirlenmesi.....	47
3.5. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu	48
3.5.1. Seçicilik	48
3.5.2. Doğrusallık ve Aralık.....	53
3.5.3. Doğruluk ve Geri Kazanım.....	58
3.5.4. Kesinlik.....	61
3.5.5. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)	63
3.5.6. Çözelti Stabilitesi	64
3.5.7. Dayanıklılık	65
3.5.8. Düzeltme Faktörü (Respons Faktör).....	66
4. BULGULAR.....	67
4.1. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi İle İlgili Bulgular	67
4.1.1. Hareketli Faz Seçimi ile İlgili Bulgular	67
4.1.2. UPLC/HPLC Gradyent Programının Belirlenmesi ile İlgili Bulgular.....	67
4.1.3. Kolon Seçimi İle İlgili Bulgular	69
4.1.4. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi İle İlgili Bulgular	71

4.1.5. Safsızlık Limitlerinin Belirlenmesi İle İlgili Bulgular.....	71
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu İle İlgili Bulgular	71
4.2.1. Seçicilik	71
4.2.2. Doğrusallık ve Aralık.....	86
4.2.3. Doğruluk ve Geri Kazanım.....	100
4.2.4. Kesinlik.....	108
4.2.5. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)	122
4.2.6. Çözelti Stabilitesi.....	131
4.2.7. Dayanıklılık	139
4.2.8. Düzeltme Faktörü (Respons Faktör).....	146
5. TARTIŞMA	147
KAYNAKLAR	151
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	163
ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2-1 Etken madde ve safsızlıklara ait farmasötik preparatlarda yapılan HPLC/UPLC analizleri	22
Tablo 3-1: Hareketli faz belirleme çalışmalarında kullanılan hareketli faz çözücü sistemleri	42
Tablo 3-2 Deneme 1’de uygulanan gradient program	43
Tablo 3-3 Deneme 2’de uygulanan gradient program	44
Tablo 3-4 Deneme 3 de uygulanan gradient program	44
Tablo 3-5 Çalışmada kullanılan UPLC kolonlarının özellikleri	47
Tablo 3-6 Çalışmada kullanılan HPLC kolonlarının özellikleri	47
Tablo 3-7 Etken maddeler için doğrusalılık miktar tayini numuneleri hazırlama tablosu	54
Tablo 3-8 Etken maddeler için doğrusalılık safsızlık tayini numuneleri hazırlama tablosu	55
Tablo 3-9 Parasetamol safsızlıklar için doğrusalılık numuneleri hazırlama tablosu	55
Tablo 3-10 Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için doğrusalılık numuneleri hazırlama tablosu	56
Tablo 3-11 Feniramin maleat safsızlıkları için doğrusalılık numuneleri hazırlama tablosu	56
Tablo 3-12 Askorbik asit ve safsızlıkları için doğrusalılık numuneleri hazırlama tablosu	57
Tablo 3-13 Etken maddeler için doğruluk miktar tayini numuneleri hazırlama tablosu	58
Tablo 3-14 Parasetamol safsızlıklar için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu	59
Tablo 3-15 Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu	59
Tablo 3-16 Feniramin maleat safsızlıkları için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu	59
Tablo 3-17 Askorbik asit safsızlıkları için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu	60
Tablo 4-1 Hareketli faz sistemi	67
Tablo 4-2 Deneme 3 ile elde edilen ayırım faktörleri	68
Tablo 4-3 Deneme 5 ile elde edilen ayırım faktörleri	69
Tablo 4-4 Kullanılan UPLC kolonları ile elde edilen sistem uygunluk parametreleri	69
Tablo 4-5 Askorbik asit safsızlık tayini için kullanılan HPLC kolonları ile elde edilen sistem uygunluk parametreleri	70
Tablo 4-6 ICH Q3B (R2) kılavuzuna göre hesaplanan safsızlık limitleri	71
Tablo 4-7 Feniramin maleat, parasetamol, fenilefrin hidroklorür, askorbik asit miktar tayini ve feniramin maleat, parasetamol, fenilefrin hidroklorür safsızlık metodu seçicilik sonuçları	78
Tablo 4-8 Askorbik asit safsızlık tayini için seçicilik sonuçları	85
Tablo 4-9 Askorbik asit ve fenilefrin hidroklorür miktar tayini için doğrusalılık çalışması sonuçları	87
Tablo 4-10 Parasetamol ve feniramin maleat miktar tayini için doğrusalılık çalışması sonuçları	87
Tablo 4-11 Safsızlık tayini etken maddeleri için doğrusalılık değerleri	90
Tablo 4-12 Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için doğrusalılık değerleri	92
Tablo 4-13 Parasetamol safsızlıkları için doğrusalılık değerleri	94
Tablo 4-14 Feniramin maleat safsızlıkları için doğrusalılık değerleri	96

Tablo 4-15 Askorbik asit ve safsızlıkları için doğrusallık değerleri.....	98
Tablo 4-16 Askorbik asit için geri kazanım sonuçları.....	100
Tablo 4-17 Fenilefrin hidroklorür için geri kazanım sonuçları	101
Tablo 4-18 Feniramin maleat için geri kazanım sonuçları	101
Tablo 4-19 Parasetamol için geri kazanım sonuçları.....	102
Tablo 4-20 Parasetamol safsızlık K için doğruluk sonuçları.....	103
Tablo 4-21 Parasetamol safsızlık J için doğruluk sonuçları	103
Tablo 4-22 Parasetamol safsızlık F için doğruluk sonuçları.....	104
Tablo 4-23 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için doğruluk sonuçları.....	104
Tablo 4-24 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için doğruluk sonuçları.....	105
Tablo 4-25 Feniramin maleat safsızlık A için doğruluk sonuçları	105
Tablo 4-26 Feniramin maleat safsızlık B için doğruluk sonuçları.....	106
Tablo 4-27 Askorbik asit safsızlık C için doğruluk sonuçları	107
Tablo 4-28 Askorbik asit safsızlık D için doğruluk sonuçları	107
Tablo 4-29 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları.....	108
Tablo 4-30 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları	109
Tablo 4-31 Parasetamol standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları.....	109
Tablo 4-32 Feniramin maleat standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları	110
Tablo 4-33 Tekrarlanabilirlik miktar tayini sonuçları	110
Tablo 4-34 Ara kesinlik miktar tayini sonuçları	111
Tablo 4-35 Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik miktar tayini sonuçlarının karşılaştırılması	111
Tablo 4-36 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları.....	112
Tablo 4-37 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları	113
Tablo 4-38 Parasetamol standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları.....	113
Tablo 4-39 Feniramin maleat standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları	114
Tablo 4-40 Safsızlık numunesi tekrarlanabilirlik sonuçları.....	114
Tablo 4-41 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları	115
Tablo 4-42 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları	115
Tablo 4-43 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları.....	116
Tablo 4-44 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları	116
Tablo 4-45 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları ..	117
Tablo 4-46 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları.....	117
Tablo 4-47 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması	118
Tablo 4-48 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması	118
Tablo 4-49 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması	119
Tablo 4-50 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları.....	120
Tablo 4-51 Askorbik asit tekrarlanabilirlik numune sonuçları	120
Tablo 4-52 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları	121
Tablo 4-53 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları	121
Tablo 4-54 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması	122
Tablo 4-55 Parasetamol için LOD sonuçları	123
Tablo 4-56 Parasetamol için LOQ sonuçları	123
Tablo 4-57 Parasetamol safsızlık K için LOD sonuçları	123

Tablo 4-58 Parasetamol safsızlık K için LOQ Sonuçları	124
Tablo 4-59 Parasetamol safsızlık J için LOD sonuçları	124
Tablo 4-60 Parasetamol safsızlık J için LOQ sonuçları	124
Tablo 4-61 Parasetamol safsızlık F için LOD sonuçları	125
Tablo 4-62 Parasetamol safsızlık F için LOQ sonuçları	125
Tablo 4-63 Fenilefrin hidroklorür için LOD sonuçları	125
Tablo 4-64 Fenilefrin hidroklorür için LOQ sonuçları	126
Tablo 4-65 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için LOD sonuçları	126
Tablo 4-66 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için LOQ sonuçları	126
Tablo 4-67 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için LOD sonuçları	127
Tablo 4-68 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için LOQ sonuçları	127
Tablo 4-69 Feniramin maleat için LOD sonuçları	127
Tablo 4-70 Feniramin maleat için LOQ sonuçları	128
Tablo 4-71 Feniramin maleat safsızlık A için LOD sonuçları	128
Tablo 4-72 Feniramin maleat safsızlık A için LOQ sonuçları	128
Tablo 4-73 Feniramin maleat safsızlık B için LOD sonuçları	129
Tablo 4-74 Feniramin maleat safsızlık B için LOQ sonuçları	129
Tablo 4-75 Askorbik asit için LOD sonuçları	129
Tablo 4-76 Askorbik asit için LOQ sonuçları	130
Tablo 4-77 Askorbik asit safsızlık C için LOD sonuçları	130
Tablo 4-78 Askorbik asit safsızlık C için LOQ sonuçları	130
Tablo 4-79 Askorbik asit safsızlık D için LOD sonuçları	131
Tablo 4-80 Askorbik asit safsızlık D için LOQ sonuçları	131
Tablo 4-81 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)	132
Tablo 4-82 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)	132
Tablo 4-83 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	133
Tablo 4-84 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	133
Tablo 4-85 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)	134
Tablo 4-86 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)	134
Tablo 4-87 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)	135
Tablo 4-88 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)	135
Tablo 4-89 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	136
Tablo 4-90 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	136
Tablo 4-91 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)	137
Tablo 4-92 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)	137
Tablo 4-93 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde), ...	137
Tablo 4-94 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)	138
Tablo 4-95 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	138
Tablo 4-96 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)	138
Tablo 4-97 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 hafta bekletildikten sonra)	138
Tablo 4-98 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 hafta bekletildikten sonra)	139
Tablo 4-99 Askorbik asit dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması	139
Tablo 4-100 Fenilefrin hidroklorür dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması	140
Tablo 4-101 Parasetamol dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması	140
Tablo 4-102 Feniramin maleat dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması	141
Tablo 4-103 Askorbik asit standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması	142

Tablo 4-104 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması	142
Tablo 4-105 Parasetamol standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması	143
Tablo 4-106 Feniramin maleat standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması	143
Tablo 4-107 Dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik numune analiz sonuçları ile karşılaştırılması.....	144
Tablo 4-108 Dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması-standart çözeltisi	145
Tablo 4-109 Dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik numune analiz sonuçları ile karşılaştırılması.....	145
Tablo 4-110 Feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin hidroklorür safsızlık tayini RF ve RRT sonuçları	146
Tablo 4-111 Askorbik asit safsızlık tayini RF ve RRT sonuçları.....	146

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Askorbik asitin açık kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2-2 Askorbik asitin FTIR spektrumu.....	7
Şekil 2-3 Askorbik asitin 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu.....	8
Şekil 2-4 Askorbik asit safsızlık C kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2-5 Askorbik asit safsızlık D kimyasal yapısı	10
Şekil 2-6 Fenilefrin hidroklorür açık kimyasal yapısı	10
Şekil 2-7 Fenilefrin hidroklorürün FTIR spektrumu	11
Şekil 2-8 Fenilefrin hidroklorürün 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu.....	11
Şekil 2-9 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2-10 Fenilefrin hidroklorür Safsızlık E kimyasal yapısı	13
Şekil 2-11 Feniramin maleat açık kimyasal yapısı	14
Şekil 2-12 Feniramin maleat FTIR spektrumu	14
Şekil 2-13 Feniramin maleat 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu.....	15
Şekil 2-14 Feniramin maleat Safsızlık A kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2-15 Feniramin maleat Safsızlık B kimyasal yapısı	17
Şekil 2-16 Parasetamol açık kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2-17 Parasetamolün FTIR spektrumu.....	18
Şekil 2-18 Parasetamolün 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu.....	18
Şekil 2-19 Parasetamol safsızlık F kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2-20 Parasetamol safsızlık J kimyasal yapısı	21
Şekil 2-21 Parasetamol safsızlık K kimyasal yapısı	21
Şekil 4-1 Deneme 3 ile elde edilen HPLC kromatogramı	68
Şekil 4-2 Deneme 5 ile elde edilen HPLC kromatogramı	69
Şekil 4-3 Çözücüye ait kromatogram	72
Şekil 4-4 Plaseboya ait kromatogram	72
Şekil 4-5: Askorbik asit (100 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	72
Şekil 4-6: Fenilefrin hidroklorür (20 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram.....	73
Şekil 4-7: Parasetamol (1000 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	73
Şekil 4-8: Feniramin maleat (40 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	73
Şekil 4-9 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C çözeltisine ait kromatogram	74
Şekil 4-10 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E çözeltisine ait kromatogram	74
Şekil 4-11 Feniramin maleat safsızlık A çözeltisine ait kromatogram	74
Şekil 4-12 Feniramin maleat safsızlık B çözeltisine ait kromatogram	75
Şekil 4-13 Parasetamol safsızlık F çözeltisine ait kromatogram	75
Şekil 4-14 Parasetamol safsızlık J çözeltisine ait kromatogram.....	75
Şekil 4-15 Parasetamol safsızlık K çözeltisine ait kromatogram	76
Şekil 4-16 Askorbik asit safsızlık C çözeltisine ait kromatogram.....	76
Şekil 4-17 Askorbik asit safsızlık D çözeltisine ait kromatogram.....	76
Şekil 4-18: Standarta ait kromatogram	77
Şekil 4-19: Numuneye ait kromatogram.....	77
Şekil 4-20: Safsızlık eklenmiş numuneye ait kromatogramlar	78

Şekil 4-21: Çözücüye ait kromatogram	82
Şekil 4-22: Plaseboya ait kromatogram	82
Şekil 4-23: Askorbik asit (100 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	82
Şekil 4-24: Askorbik asit safsızlık D çözeltisine ait kromatogram	83
Şekil 4-25: Askorbik asit safsızlık C çözeltisine ait kromatogram.....	83
Şekil 4-26: Fenilefrin hidroklorür (20 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	83
Şekil 4-27: Parasetamol (1000 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	84
Şekil 4-28: Feniramin maleat (40 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram	84
Şekil 4-29: Standarta ait kromatogram	84
Şekil 4-30: Numuneye ait kromatogram.....	85
Şekil 4-31: Safsızlık eklenmiş numuneye ait kromatogram	85
Şekil 4-32: Askorbik asit doğrusallık grafiği.....	88
Şekil 4-33: Fenilefrin hidroklorür doğrusallık grafiği	88
Şekil 4-34: Parasetamol doğrusallık grafiği.....	89
Şekil 4-35: Feniramin maleat doğrusallık grafiği	89
Şekil 4-36: Fenilefrin hidroklorür doğrusallık grafiği	91
Şekil 4-37: Parasetamol doğrusallık grafiği.....	91
Şekil 4-38: Feniramin maleat doğrusallık grafiği	92
Şekil 4-39: Fenilefrin hidroklorür safsızlık C doğrusallık grafiği	93
Şekil 4-40: Fenilefrin hidroklorür safsızlık E doğrusallık grafiği	93
Şekil 4-41: Parasetamol safsızlık K doğrusallık grafiği	94
Şekil 4-42: Parasetamol safsızlık J doğrusallık grafiği.....	95
Şekil 4-43: Parasetamol safsızlık F doğrusallık grafiği	95
Şekil 4-44: Feniramin maleat safsızlık A doğrusallık grafiği.....	96
Şekil 4-45: Feniramin maleat safsızlık B doğrusallık grafiği	97
Şekil 4-46: Askorbik asit doğrusallık grafiği.....	98
Şekil 4-47: Askorbik asit safsızlık C doğrusallık grafiği.....	99
Şekil 4-48: Askorbik asit safsızlık D doğrusallık grafiği	99

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- C18: Oktadesil silika kolonu
- C8: Oktilsilan silika kolonu
- Cmax : Maksimum plazma konsantrasyon
- CRS : Kimyasal Referans Standartı
- ECD : Elektrokimyasal Dedektör
- EMA: Avrupa Tıbbi Ürünler Ajansı
- FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
- FLD: Floresans Dedektör
- FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
- HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
- ICH: Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
- LOD: Gözlenlenebilme sınırı
- LOQ: Tayin Sınırı
- N: Teorik Plaka Sayısı
- PDA: Diyod Sıralı Dedektör
- Ph.Eur: Avrupa Farmakopesi
- RRT: Relatif Alıkonma Zamanı
- Rs: Ayırım Faktörü
- RSD: Bağlı Standart Sapma
- RT: Alıkonma Zamanı
- SD: Standart Sapma
- $t_{1/2}$: Eliminasyon yarı ömrü
- Tf: Kuyruklanma (Simetri) Faktörü
- TFA : Trifloro asetik asit
- Tmax: Maksimum plazma konsantrasyonuna erişilen süre

UPLC: Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi

UV: Ultraviyole Dedektör



ÖZET

Hacıoğlu, F. (2021) Fenilefrin Hidroklorür, Feniramin Maleat, Askorbik Asit, Parasetamol'ün ve İlgili Bileşiklerinin Kromatografik Olarak Yanyana Analizi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya AD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu tez çalışmasında, fenilefrin hidroklorür, feniramin maleat, parasetamol, askorbik asit ve bu etken maddelerin safsızlıklarının toz saşe formundaki farmasötik preparatda yanyana tayini için Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC) kullanılarak miktar tayini ve safsızlık tayini metodu geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Geliştirilen ultra performanslı sıvı kromatografisi yöntemi ters fazlı C18 kolonda, UV detektör kullanılarak, metanol ile 10 mM potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisinin (pH:3,0) gradiyent programı ile 0,3 mL/dk akış hızında maddelerin ayrılması esasına dayanır. Dedeksiyon dalga boyu 270 nm olarak seçilmiştir. Askorbik asit safsızlıkları geliştirilen bu metod ile tespit edilemediği için bu maddelerin analizi için de ayrıca Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile miktar tayini ve safsızlık tayini metodu geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Geliştirilen bu metotta hareketli faz olarak metanol:10 mM potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisi (pH:3,0) (50:50, h:h) izokratik akışta 0,5 mL/dk akış hızında, 210 nm dalga boyu seçilerek uygulanmıştır.

Doğrusal aralıklar miktar tayini analizinde fenilefrin hidroklorür için 10-30 µg /mL, feniramin maleat için 20-60 µg /mL, parasetamol için 500-1500 µg /mL, askorbik asit için 50-150 µg/mL ve safsızlık analizi için sırasıyla 0,05-0,3 µg /mL, 0,08-0,6 µg /mL, 2,4-15,0 µg /mL, 0,16-1,5µg /mL konsantrasyonları aralığında bulunmuştur. Etken maddelerin yanı sıra fenilefrin hidroklorür safsızlık C ve E için 0,003-0,3 µg /mL ve 0,002-3,0 µg /mL, feniramin maleat safsızlık A ve B için 0,11-0,6 µg /mL ve 0,03-0,6 µg /mL, parasetamol safsızlık J,F ve K için 3,5-15,0 µg /mL, 0,9-15,0 µg /mL ve 1,7-15,0 µg /mL, askorbik asit safsızlık C ve D için 0,08-1,5 µg /mL ve 0,17-1,5 µg /mL dir. Gözlenebilme ve tayin sınırları ise fenilefrin hidroklorür için 0,008 ve 0,047 µg/mL, feniramin maleat için 0,014 ve 0,042 µg/mL, parasetamol için 0,012 ve 0,024 µg/mL, askorbik asit için 0,004 ve 0,013 µg/mL dir. Doğruluk çalışmaları miktar tayini analizi için % 50-150, safsızlık tayini analizleri için LOQ-% 150 konsantrasyonları arasında uygun bulunmuştur.

Geliştirilen yöntem kolay, hassas, hızlı, tekrarlanabilir olup etken madde ve safsızlıklarının yan yana farmasötik preparatlardaki analizlerinde güvenle kullanılabilir niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: *Fenilefrin hidroklorür, Feniramin maleat, Parasetamol, Askorbik asit, Safsızlık, UPLC.*

ABSTRACT

Hacıoğlu, F. (2021) Simultaneous Analysis of Phenylephrine Hydrochloride, Pheniramine Maleate, Ascorbic Acid, Paracetamol and Related Compounds by Chromatography. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Analytical Chemistry. Doctoral Thesis. Istanbul.

In this thesis, an Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) method was developed and validated to simultaneous determination of phenylephrine hydrochloride, pheniramine maleate, paracetamol, ascorbic acid, and their impurities in a powder sachet pharmaceutical preparation. Developed ultra performance liquid chromatography method is based on using of reversed phase C18 column. The mobile phase consist of methanol and 10 mM potassium dihydrogen phosphate buffer solution (pH:3.0) by applying a gradient program with UV detector with the flow rate of 0.3 mL/min. The detection wavelength was chosen as 270 nm. Since ascorbic acid impurities could not be detected with this developed method, a High Performance Liquid Chromatography (HPLC) assay and impurity determination method was developed and validated for the analysis of these substances. In this developed method, methanol:10 mM potassium dihydrogen phosphate buffer solution (pH:3.0) (50:50, h:h) isocratically as the mobile phase, at a flow rate of 0.5 mL/min, at a wavelength of 210 nm were applied.

The linear ranges are 10-30 µg /mL for phenylephrine hydrochloride, 20-60 µg /mL for pheniramine maleate, 500-1500 µg /mL for paracetamol, 50-150 µg /mL for ascorbic acid for assay analysis and 0,05-0,3 µg /mL, 0,08-0,6 µg /mL, 2,4-15,0 µg /mL, 0,16-1,5 µg /mL respectively for impurity analysis. The concentration ranges are for phenylephrine hydrochloride impurities C and E 0,003-0,3 µg /mL and 0,002-3,0 µg /mL, for impurities pheniramine maleate A and B 0,11-0,6 µg /mL and 0,03-0,6 µg /mL, for impurities paracetamol J, F, K, 3,5-15,0 µg /mL, 0,9-15,0 µg /mL and 1,7-15,0 µg /mL and for ascorbic acid impurities C and D 0,08-1,5 µg /mL and 0,17-1,5 µg /mL. The detection and quantification limits are 0,008 and 0,047 µg/mL for phenylephrine hydrochloride, 0,014 and 0,042 µg/mL for pheniramine maleate, 0,012 and 0,024 µg/mL for paracetamol, 0,004 and 0,013µg/mL for ascorbic acid. Accuracy studies were found to be between 50-150% for assay analysis and LOQ-150% concentrations for impurity analysis.

The developed method is easy, sensitive, fast, reproducible and can be used safely in simultaneous analysis of active substances and their impurities in pharmaceutical preparations.

Keywords: *Phenylephrine hydrochloride, Pheniramine maleate, Paracetamol, Ascorbic acid, Impurity, UPLC.*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Soğuk algınlığı ve grip (influenza) özellikle sonbahar ve kış aylarında dünya üzerinde en sık görülen hastalıkların başındadır. Soğuk algınlığı, “üst solunum yollarının burun, boğaz, gözler ve östaki borusunun önce sulu, ardından pürülan akıntıyla kendini belli eden ve birkaç virüsten (rinovirüs veya adenovirüs olarak) herhangi birinin neden olduğu, akut bir hastalık” olarak tanımlanmaktadır. Soğuk algınlığı tıpta “üst solunum yolu enfeksiyonu”, “akut nazofarenjit” veya “akut rinofarenjit” olarak adlandırdığımız hastalıktır (1) Soğuk algınlığına neden olan yüzlerce virüs vardır. En sık etken, rinovirüs olup bunu koronavirüs ve influenza virüsleri izlemektedir. İnsan parainfluenza virüsleri, insan solunum sinsityal virüsü (RSV), adenovirüsler, enterovirüsler ve metapnömovirüs daha seyrek olsa da yine soğuk algınlığına neden olan virüslerdir (2).Genellikle burun tıkanıklığı, burun akıntısı, öksürük, ateş soğuk algınlığına yakalanan hastalarda kendini ilk göteren belirtilerdir. Bütün insanlar hayatında birçok kez soğuk algınlığı geçirmiştir. (3).

Grip, soğuk algınlığı, nezle(rinit), boğaz ağrısı, ve tonsilit, anjin hastalıklarının tedavisi için ilk başvuru ilaç grupları antihistaminikler, topik dekonjestanlar, oral dekonjestanlar, antitussifler ve ekspektoranlardır Erişkinlerde dekonjestan, antihistaminik-dekonjestan karışımları semptomları azaltabilir. Nonsteroid anti inflamatuvar ilaçlar hiperinflamasyonu azaltarak şikayetleri ve ağrıyı azaltabilir. Tedavide kullanılan bir diğer ilaç gurubu olan analjezikler soğuk algınlığı semptomlarından kas-eklem ağrısı, baş ağrısı, kırgınlık gibi semptomları gidermek için tercih edilir (4). Askorbik asit ise suda çözünen vitaminlerinden en yaygın olan tür olup koruyucu ve tedavi edici bir ajan olarak soğuk algınlığında sıklıkla kullanılmıştır. Ancak günümüzde yapılmış olan çalışmalarda Düzenli olarak takviye amaçlı alınması durumlarında ise semptomlarda minimal bir azaltma sağlayabildiği bulunmuştur. (5)

Günlük yaşamda bu hastalıklar sanayide üretim azalmasına, eğitim, sağlık ve askeri hizmetlerin aksamasına, bağışıklık sistemini baskılayarak bakteriyel enfeksiyonlara, ve hatta bazen ölümlere neden olmasına, gereksiz antibiyotik kullanımına ve dirençli suşların oluşmasına, dolayısıyla ciddi maddi ve manevi kayıplara neden olduğu için önemlidir. Ayrıca komplikasyonları, hastane yatışı gerektirebilmesi ve ölüme neden olabilmesi açısından önemlidir. 50 yaş üzeri, diyabetikler, astım hastaları, kronik akciğer hastalığı olanlar, kalp-damar hastaları, kronik kan hastaları, kanser, organ nakli yapılanlar, bağışıklık sistemini

baskılayan ilaç kullananlar, huzurevi sakinleri gribe bağılı yaşamsal riski yüksek olan gruplardır (6).

Grip ve soğuk algınlığı kategorisi, reçetesiz ve reçeteli ilaçların büyük bir bölümünü temsil eder ve genellikle aynı anda birden fazla semptomu hedefleyen iki veya daha fazla ilaç etken maddesinin kombinasyonunu içeren geniş ve çeşitli farmasötik formülasyonları kapsar. En sık kullanılan formülasyonlar, dekonjestan, antihistaminik, analjezik, antitussive kombinasyonunu içerir ve farmasötik forma göre çok sayıda eksojenlere ek olarak koruyucular içerebilir. Bazı formülasyonlara hastalıktaki hücre yenilenmesini artırarak iyileşmeye katkı sağlamak amacıyla vitaminler de ilave edilebilir. Bu kombine ilaçların kalite kontrolü için kullanılan analitik yöntemler genellikle bir analizde bir bileşene ayrılabilir, bu gibi durumlarda analitik çalışma birkaç farklı yöntemi içerir ve zaman alıcıdır. Çok bileşenli grip ve soğuk algınlığı kombinasyonlarında en sık karşılaşılan bileşikler ve safsızlıkları için eş zamanlı kantitatif tayin için kullanılabilecek ve farklı dozaj formlarına uygulanabilecek ortak, güvenilir, hızlı ve verimli yöntemlerin olması kalite açısından fayda sağlamaktadır. Farmasötiklerdeki safsızlıkların incelenmesi, ilaç analizlerinde en önemli, ancak zaman alıcı ve zorlu analizler arasındadır. Otorite regülasyonlarını karşılamak ve ilaç formülasyonu geliştirme, kalite kontrol, depolama koşulları, ilaç ürününün stabilitesini elde etmek vb süreçleri karşılamak açısından günden güne daha çok önem kazanan safsızlıklar ilaç etken maddelerin ve farmasötik preparatların kalitesini etkileyebilir ve sonuçta hastanın güvenliğini etkileyebilir. (7)

Bu çalışmanın yapılma amacı ilk olarak soğuk algınlığı, grip ve virüs etkili salgın hastalıkların tedavisinde ana veya yardımcı ilaç olarak kullanılan, fenilefrin hidroklorür, feniramin maleat, parasetamol, askorbik asit etken maddelerini bir arada içeren farmasötik preparatlarda özellikle ilaç sanayinde etken maddelerin miktar tayini ve ilgili bileşiklerinin yanyana analizinin hızlı, güvenilir ve etkin şekilde yapılabilmesi oldukça önem taşıdığından buna uygun bir analiz metodu geliştirmektir.

Bu tez çalışmasında farmasötik formülasyonda dört etken madde içeren bu preparatın miktar tayini ve bu etken maddelere ait ilgili bileşiklerin yanyana tayini için, özellikle yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi veya spektroskopik yöntemlere nazaran daha hızlı sonuç verebilen, daha az organik çözücü ve kimyasal ajan kullanılmasına olanak vererek son dönemde önem verilen yeşil kimya alanına da katkısı olan ultra performanslı sıvı kromatografisi yöntemi ile analiz yöntemi geliştirilmesi ve valide edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Soğuk Algınlığı ve Grip

2.1.1. Soğuk Algınlığı ve Grip Hastalığı

Özellikle sonbahar ve kış aylarında en sık görülen hastalıkların başında olan soğuk algınlığı, “üst solunum yollarının burun, boğaz, gözler ve östaki borusunun önce sulu, ardından pürülan akıntıyla kendini belli eden ve birkaç virüsten (rinovirüs veya adenovirüs olarak) herhangi birinin neden olduğu, akut bir hastalık” olarak tanımlanmaktadır. Soğuk algınlığı tıpta “üst solunum yolu enfeksiyonu”, “akut nazofarenjit” veya “akut rinofarenjit” olarak adlandırdığımız hastalıktır. Soğuk algınlığı, çok uzun bir zamandır bizimledir. Kadim uygarlıkların tarihi kayıtlarında, örneğin Eski Mısırlılara ait bir hiyeroglifte soğuk algınlığından bahsedilmektedir. İ.Ö. 16 yüzyılda veya daha önce yazılmış olan ve dünyanın mevcudiyetini koruyan- ilk tıp kitabı sayılan Ebers papirüsünde “Soğuk Algınlığı” diye bir başlık vardır. Soğuk algınlığının İngilizce karşılığı olan “common cold”ün kökeni 16. yüzyıla kadar uzanmaktadır. Soğuk algınlığına neden olan yüzlerce virüs vardır. En sık etken, rinovirüstür (%30-50). Bunu koronavirüs (%10-15) ve influenza virüsleri (%5-15) izlemektedir. İnsan parainfluenza virüsleri, insan solunum sinsityal virüsü, adenovirüsler, enterovirüsler ve metapnömovirüs daha seyrek rastlanan soğuk algınlığı virüsleridir (1-2).

Soğuk algınlığı; genellikle burun tıkanıklığı, burun akıntısı, öksürük, ateş gibi belirtilerle kendini gösterir. Bütün insanlar hayatında birçok kez soğuk algınlığı geçirmiştir. Hastalık genellikle kendini sınırlar niteliktedir, çoğunlukla komplikasyona yol açmaz. Bununla beraber acil servis ve poliklinik başvurularının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Altı yaşından küçük çocuklar yılda altı-sekiz defa soğuk algınlığı geçirirken erişkinler ise iki-üç kere geçirmektedir (3). Yüksek prevalansı olan bu hastalık, erişkinlerde yarattığı semptomlar ve hasta olan çocuk ile ilgilendiği için de işe gidememe nedeni ile işgücü kaybına, ek olarak acil servis, poliklinik başvurularında artışa ve dolayısı ile maliyete sebep olmaktadır. Bunun yanında gereksiz antibiyotik kullanımına neden olduğu bilinmektedir (8-9)

Grip, influenza virüsünün neden olduğu ani olarak 39°C üzerinde ateş, şiddetli kas ve eklem ağrıları, halsizlik, bitkinlik, titreme, baş ağrısı ve kuru öksürük gibi belirtiler ile başlayan bir enfeksiyon hastalığıdır (10). İnfluenza virüsü, Orthomyxoviridae ailesindendir. Üç farklı antijenik tipi vardır: A, B ve C. A; insan, domuz, at, deniz memelileri ve kanatlılarda, B; sadece insanlarda, C; insan ve domuzlarda hastalık yapar. İnsanda salgınlara

neden olan tipi İnfluenza A ve B dir (11). Gripte kuluçka süresi 1-4 (ortalama 2) gündür. Bulaştırıcılık, semptomların başlamasından hemen önce başlar ve 5-10 gün sürer (immünsüpresifler ve küçük çocuklarda daha uzun). Bir-iki günlük kuluçka döneminden sonra tablonun birden bire ortaya çıkışı tipiktir. Hasta genellikle hastalığın başladığı saati ifade edebilir. Titremeyle yükselen ateş, frontal/retroorbital baş ağrısı, miyalji (en fazla ekstremitelerde ve sırtta), halsizlik, iştahsızlık, gözlerde yanma, fotofobi ve göz hareketleriyle ağrı, kuru öksürük en sık görülen semptomlardır. Başlangıçta hafif, hastalık ilerledikçe ağırlaşan kuru öksürük, öksürüğe bağlı göğüs ağrısı ve dispne ortaya çıkar. Komplikasyon gelişmediği takdirde klinik tablo 3-4 gün sürer. İnfluenza atak oranı erişkinlere göre çocuklarda daha fazladır. Salgınlarda erişkinlerin yaklaşık 10'da 1'i çocukların 3'te 1'i etkilenir. Yüksek ateş, servikal LAP, bulantı ve kusma çocuklardaki influenzanın en sık saptanan bulgularıdır (12-13).

Grip, sanayide üretim azalmasına, eğitim, sağlık, polis ve askeri hizmetlerin aksamasına, bağışıklık sistemini baskılayarak bakteriyel enfeksiyonların oluşmasına zemin hazırlamasına, predispoze faktörü olan kişilerde ölümlere neden olmasına, gereksiz antibiyotik kullanımına ve dirençli suşların oluşmasına, dolayısıyla ciddi maddi ve manevi kayıplara neden olduğu için önemlidir. Ayrıca komplikasyonları, hastane yatışı gerektirebilmesi ve ölüme neden olabilmesi açısından önemlidir. 50 yaş üzeri, diyabetikler, astım hastaları, kronik akciğer hastalığı olanlar, kalp-damar hastaları, kronik kan hastaları, kanser, organ nakli yapılanlar, bağışıklık sistemini baskılayan ilaç kullananlar, huzurevi sakinleri gribe bağlı yaşamsal riski yüksek olan gruplardır (4)

2.1.2. Soğuk Algınlığı ve Grip Tedavisi ve Tedavide Kullanılan İlaçlar

Grip ve nezle her ikisi de viral hastalık olup, keskin sınırlarla birbirinden tam olarak ayırmak zor olup farklı klinik tablolara sahiptirler. Bu nedenle ortak özellikleri viral nedenli olmaları nedeniyle aynı semptomatik tedavinin verilebilecek olmasıdır (13).

Kendini sınırlayan bir hastalık olduğundan hafif şiddetteki semptomlar söz konusu olduğunda hiçbir farmakolojik ajan kullanmaya gerek kalmayabilir (14). Soğuk algınlığı, nezle(rinit), boğaz ağrısı, grip(influenza) ve bademcik (tonsilit, anjin) hastalıklarının tedavisi için öncelikli olarak kullanılan ilaç grupları antihistaminikler, topik dekonjestanlar, oral dekonjestanlar, antitussifler ve ekspektoranlardır (15). Antihistaminikler monoterapi halinde soğuk algınlığı semptomunu azaltmaz. Boğaz ağrısını gargara ve boğaz pastili azaltabilirken, dört yaş altındaki çocuklara nezle ve grip ilacı verilmemelidir. Erişkinde dekonjestan, antihistaminik-dekonjestan karışımları semptomları azaltabilir. Nonsteroid anti inflamatuvar

ilaçlar hiperinflamasyonu azaltarak şikayetleri ve ağrıyı azaltabilir. Tedavi genellikle semptomatiktir. Sekonder bir bakteriyel enfeksiyon riski yoksa antibiyotik kullanımı gereksizdir. Hastaya yatak istirahati ve bol sıvı alımı gibi basit non-farmakolojik bir tedavi önerilebilir. Antihistaminik, dekonjestan ve antipiretik ilaçlar, antiseptik gargaralar ve Askorbik asit desteği hastaya sunulabilecek tedavi seçenekleri arasında yer alır (9).

Analjezikler non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar soğuk algınlığı semptomlarından kas-eklem ağrısı, baş ağrısı, kırgınlık gibi semptomları gidermekte etkilidirler. Ancak öksürük, burun akıntısı gibi diğer soğuk algınlığı semptomlarına etkileri konusunda zayıf kalırlar. Analjezikler içinde en yaygın kullanılanı parasetamoldür. Asetaminofen ya da yaygın olarak bilinen diğer adıyla parasetamol, paraaminofenol türevi analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Asetaminofen, aspirin gibi analjezik ve antipiretik etki gösterir. Asetaminofen 50 yaşın üzerindeki geriyatrik hastalarda ve grip hastalığında görülen ağrı ve sızılara karşı da ilk sıra ilaç olarak önerilmektedir (14).

Dekonjestanlar özellikle nazal semptomların giderilmesinde topikal ya da oral olarak kullanılırlar. Ancak semptomlardaki rahatlama tek başına olan kullanımlarında daha az ortaya çıkmaktadır. Antihistaminiklerle kombine edildiklerinde semptomlardaki rahatlama daha belirgindir. Topikal nazal ajanlarda 3 günün üstündeki kullanımlarda rebound rinit ortaya çıkabildiğinden dikkatli olunmalıdır. Dekonjestan amaçlı kullanılan ve bir amfetamin türevi olan fenilpropanolamin, mikst etkili adrenerjik agonist olan ve kendisinden metamfetamin üretilen psödoefedrin stimulan ilaç suistimaline açık olan preparatlardır. Bunların suistimalinin önlemesi için pek çok sağlık politikaları ve kararları oluşturulmuştur. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi kuruluşlar bu tür ilaçların satışını Amerika Birleşik Devletleri'nde kısıtlamıştır. Buna benzer sağlık politikası olarak da ülkemizde bu etken madde içeriklerine sahip ilaçların reçetesiz satışı yasaklanmıştır. Tüm bu sebeplerden ötürü fenilefrin, psödoefedrin ve fenilpropanolamin gibi dekonjestanların yerini almıştır. Fenilefrin direkt alfa1 reseptörleri üzerinden dekonjestan etkisini gösteren direkt etkili adrenerjik agonistlerdendir. İlaç suistimali konusunda daha güvenli bir ajan olması tercih edilme sebebi olabilir ancak dekonjestan etkinlik gücü açısından psödoefedrine göre daha zayıf etkiye sahiptir (15). Fenilefrin hidroklorür genellikle tek başına ya da diğer ilaçlarla kombine halde oral yoldan ve intranazal olarak nazal konjesyonun tedavisinde kullanılan sistemik bir dekonjestandır (16).

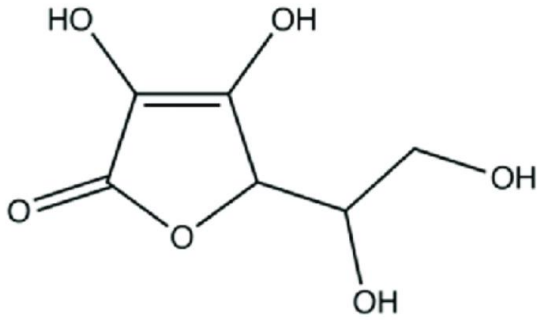
Antihistaminikler, özellikle saman nezlesi başta olmak üzere nazal alerjilerin tedavisinde önemli yer tutarlar. Burun akıntısı ve aksırmayı azaltmalarına rağmen, genellikle nazal konjesyonda daha az etkilidirler. Soğuk algınlığı tedavisinde kullanılan başlıca

antihistaminikler feniramin maleat, klorfenirman maleat, difenhidramin klorür ve doksilamin'dir. Antihistaminik ilaçların en yaygın görülen yan etkilerinden sedasyon, klorfeniramin maleat'ta diğer iki ilaca göre daha azdır. Antihistaminikler tek başlarına soğuk algınlığında kullanıldıklarında etkileri minimaldir. Hastalığın ilk 2 gününde nazal semptomlarda rahatlatma etkisi oluşmasına rağmen sonraki günlerde bu etkileri ortadan kalkmaktadır. Bu yönüyle değerlendirildiğinde tek başlarına kullanılmaları yerine kombine edilerek kullanılması ile ancak optimal etkinlik sağlanmaktadır. Ayrıca burun tıkanıklığı, hapşırma gibi semptomları azaltma gibi etkileri olsa da göz-ağız-burun kuruluğu ve sedasyon gibi istenmeyen etkileri antihistaminiklerin kullanımını sınırlandırmaktadır. Tek başına kullanmak yerine dekonjestanlarla kombine edilmeleri ve kombine edilirken de sedasyon vs gibi yan etkileri daha az olan 2. kuşak antihistaminiklerin seçilmesi daha uygun görünmektedir (15). Feniramin çoğunlukla oral yoldan kullanılan alkilamin türevi bir antihistaminiktir. Bazı ülkelerde parenteral yoldan kullanılan preparatları da vardır (16).

Askorbik asit veya C Vitamini limon sitrus türleri (limon, portakal gibi) ve yeşil biber meyve ve sebzelerde bulunan suda çözünür bir vitamindir. Vücuttaki dokuların sağlıklı durumlarının sürdürülmesi, özellikle doku onarımı ve kollajen yapımı için gerekli bir vitamindir (6). Askorbik asit; 1930 yılında izole edildiğinden bu yana solunum yolu enfeksiyonlarında sürekli kullanılan bir ajan olmuştur. Özellikle 1970'lerde Nobel ödüllü Linus Pauling'in yaptığı plasebo kontrollü çalışmalarda askorbik asitnin soğuk algınlığını önleyeceği ve azaltacağı sonucuna varması ile popüler olmuştur. Bundan sonra da pek çok çalışma yapılmış, askorbik asit yaygın olarak satılmış, koruyucu ve tedavi edici bir ajan olarak soğuk algınlığında da sıklıkla kullanılmıştır. Ancak günümüzde yapılmış olan çalışmalarda askorbik asitin soğuk algınlığındaki semptomların süre ve şiddetini azaltan etkileri olmadığı tespit edilmiştir. Düzenli olarak takviye amaçlı alınması durumlarında ise semptomlarda minimal bir azaltma sağlayabildiği bulunmuştur. C vitamin ile ilgili çalışmalarda 1-5 g/gün dozundaki askorbik asidin koruyucu, 15 g/gün'lük askorbik asidin ise tedavi edici olduğu saptanmıştır. Uzun süreli kullanımı ile ilgili yeterli çalışma yoktur. Diyare, idrar yollarında oksalat kristallerinin çökmesi, kemiklerden kalsiyum kaybı, hiperglisemi gibi yan etkileri olabilir (19).

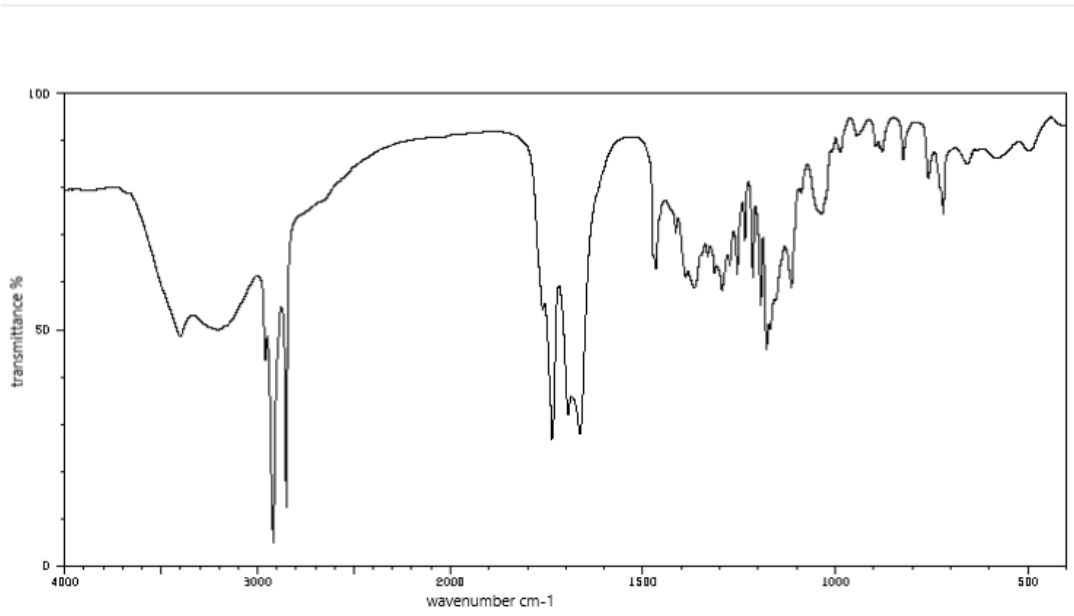
2.2. Askorbik Asit

2.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

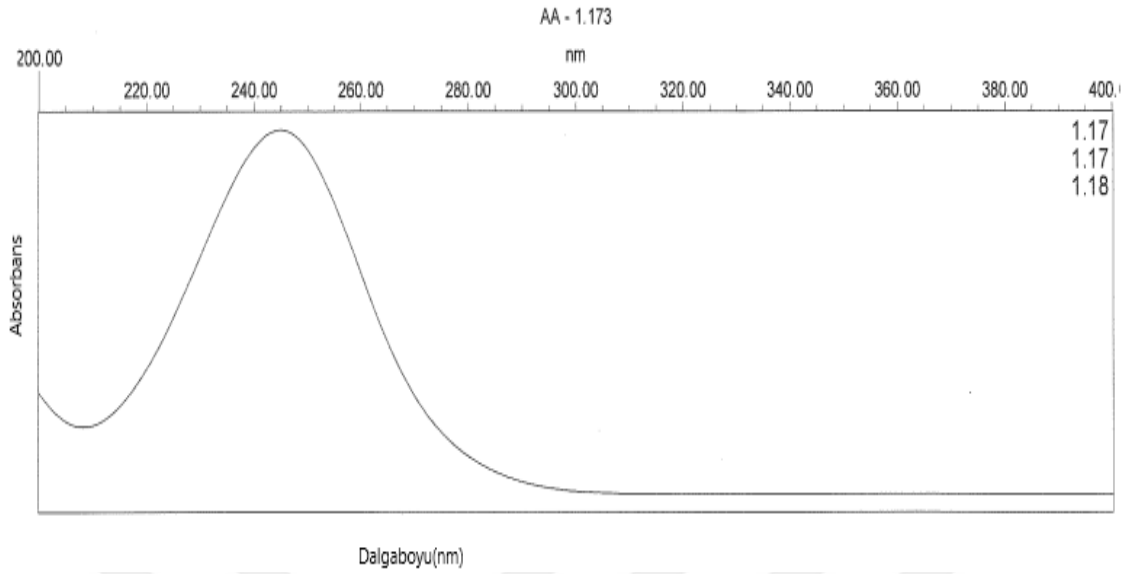


Şekil 2-1 Askorbik asitin açık kimyasal yapısı

Askorbik asit diğer bilinen adıyla C vitamini, kimyasal adı (5R)-[(1S)-1,2-Dihidroksietil]-3,4-dihidroksifuran-2(5H)-on ve kapalı formülü ise $C_6H_8O_6$ dir. Molekül ağırlığı 176,12 g/mol olan askorbik asit genel olarak beyaz veya beyazımsı kristal toz görünümünde organik bir bileşiktir. Şekil 2-1 de açık kimyasal yapısı görülmektedir. Suda serbestçe çözünür, etanolde (%96) kısmen çözünür. Erime noktası 190 °C dir (16). 25 °C de yoğunluğu 1.65 g/cm³ tür (17). 4,17 ve 11,57 olarak iki farklı pKa değeri bildirilmiştir (18). Askorbik asitin fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) spektrumu Şekil 2-2 de, UV spektrum ise Şekil 2-3 de görülmektedir.



Şekil 2-2 Askorbik asitin FTIR spektrumu



Şekil 2-3 Askorbik asitin 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu

2.2.2. Farmakolojisi

Askorbik asit sağlıklı bir bağışıklık sisteminin korunmasında önemli bir role sahiptir. Eksikliği bağışıklık yetmezliğine ve çoklu enfeksiyonlara neden olur. Bakteriyel enfeksiyonlar sırasında çeşitli vücut sıvılarında askorbik asit seviyesi düşer. Bu nedenle hepatit, HIV, influenza ve periodontal hastalıklar gibi birçok bulaşıcı hastalıkta yardımcı tedavi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (19).

Askorbik asit, nötrofiller, doğal öldürücü hücreler, makrofajlar ve lenfositler dahil olmak üzere çeşitli bağışıklık hücrelerinin fagositik özelliklerini ve aktivitesini geliştirir. Askorbik asit, lenfosit proliferasyonunu ve antikör üretimini artırır (20).

Askorbik asidin emilen ve emilmeyen formları, konjuge veya konjuge olmayan düzende atılabilir. Değişmemiş askorbik asit ve metabolitleri idrarla atılır. Bağırsak florasının varlığında yüksek dozda askorbik asit (emilmeyen kısım) kobay, sıçan ve tavşanlarda Askorbik asitnin ana boşaltım mekanizması olan karbondioksite oksitlenebilir (21).

Sağlıklı bireyler için Askorbik asit dozu yaşa ve cinsiyete göre farklılık gösterir. İnsan vücudundaki ortalama normal askorbik asit içeriği yaklaşık 1.5 gramdır. Günlük olarak vücudumuz bu havuzun genellikle %3-4'ünü (40-60 mg) tüketir. Bu havuzu dengeli tutmak için günlük oral alım 200-300 mg Askorbik asit olmalıdır. Günlük 5 meyve veya sebze alımı 200 mg Askorbik asit sağlayacak ve bu da 70 µM plazma düzeyine ulaşacaktır. Ayrıca

Askorbik asit alımının dokudan dokuya farklılık gösterdiği bulunmuştur. Hastaların sağlıklı bireylerden çok daha fazla askorbik asit dozunu tolere edebildiği keşfedilmiştir. Ameliyat sonrası, travma, sepsis ve yanıklar gibi akut inflamatuvar faz sırasında, Askorbik asitnin plazma seviyesi önemli ölçüde düşmüştür. Akut durumlarda hastalık durumlarını kompanse etmek ve fizyolojik fonksiyonları sürdürmek için oral olarak 3 mg veya parental olarak 100 mg önerilir(22).

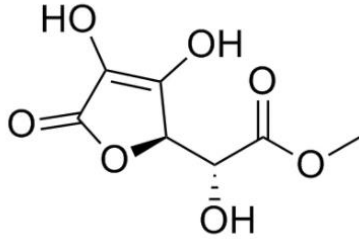
Askorbik asit, mukoza, dişeti dokuları, mide ve ince bağırsaktan emilimini kolaylaştıran suda çözünen bir vitamindir. Askorbik asit uygulamasının birkaç yolu bildirilmiştir. Optimal uygulama ve dozaj yoluna nasıl ulaşabileceğimizi açıklamak için, tedavi edilen doku durumunun ve doğasının sağlıklı ve farklı patolojik koşullarda doğru analizi şiddetle tavsiye edilir. Tüm uygulama yollarıyla, askorbik asitnin plazma düzeyi 24 saat içinde normal aralığına döner. Oral uygulama yolu, tablet, toz veya çözelti şeklinde mevcut olabilen en yaygın yoldur. Multivitamin takviyelerinde önemli bir elementtir. İntravenöz yol, ileri kanser tedavisinde ve ağır hastalıklarda tamamlayıcı tedavi olarak kullanılır. Bunun yanı sıra topikal,transdermal yöntemlere de başvurulabilir (22).

Askorbik asidin hidrofilik doğası, bukkal mukoza, mide ve ince bağırsak yoluyla emilimini kolaylaştırır. Emilimi esas olarak bukkal mukozadan pasif difüzyona bağlıdır. Askorbik asidin emilimi, aktif taşıma mekanizması ile ince bağırsaktan (distal bağırsak) gerçekleşir. Düşük dozların (15-30 mg) absorpsiyonu çok yüksek (%98'e kadar) iken, akut hastalıkta yaygın olarak uygulanan daha yüksek dozlarda (1000–1250 mg) askorbik asit absorpsiyonu (%50) azalır. Askorbik asit tüm vücut dokularında yaygın olarak bulunur. Adrenal bez, hipofiz bezi ve retinada düzeyi yüksektir. Böbreklerde ve kaslarda seviyesi düşer. Askorbik asit metabolitleri (oksalat tuzları) ve metabolize edilmemiş Askorbik asit böbrekler tarafından atılır. Askorbik asitnin az bir yüzdesi dışkı yoluyla atılır. İnsan kanında askorbik asit her zaman indirgenmiş formda (askorbik asit) bulunur. Normal plazma seviyesi, sigara içmeyen sağlıklı bireylerde diyet alımına göre 50 ile 100 μ M arasında değişmektedir . Plazma seviyesinin ve hücre içi seviyenin artırılması doza bağlı değildir. Hücre içi seviyesi plazma seviyesinden daha yüksektir. Böbreklerden idrar yoluyla yüksek atılımı nedeniyle alım miktarı 500 mg'a çıkarılsa bile plazma düzeyi normal aralığın üzerine çıkmaz(23)

2.2.3. Safsızlıkları

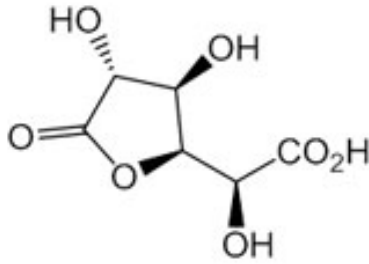
Safsızlık C: Avrupa Farmakopesinde yer almaktadır. L-Sorbosonik asit olarak da isimlendirilen safsızlık C nin kimyasal adı L-xylo-heks-2-ulosonik asit olarak farmakopede

tanımlanmıştır. Kapalı formülü $C_6H_{10}O_7$ dir. Molekül ağırlığı 194.1394 g/mol dür. Şekil 2-4 de kimyasal yapısı görülmektedir (16, 24).



Şekil 2-4 Askorbik asid safsızlık C kimyasal yapısı

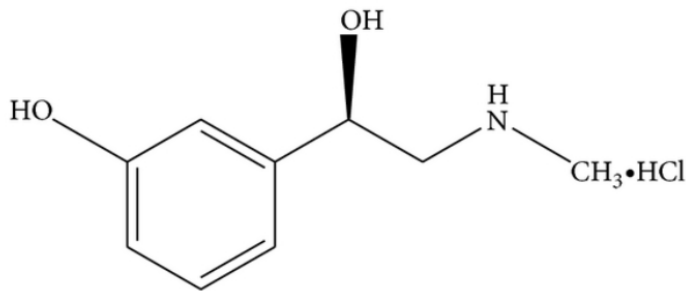
Safsızlık D: Avrupa Farmakopesinde yer almaktadır. Metil L-sorboseonat olarak da isimlendirilir. Kimyasal adı Metil L-xylo-heks-2-ulosonate olarak farmakopede tanımlanmıştır. Kapalı formülü $C_7H_{12}O_7$ dir. Molekül ağırlığı 208.2 g/mol dür. Şekil 2-5 de kimyasal yapısı görülmektedir (16, 24).



Şekil 2-5 Askorbik asid safsızlık D kimyasal yapısı

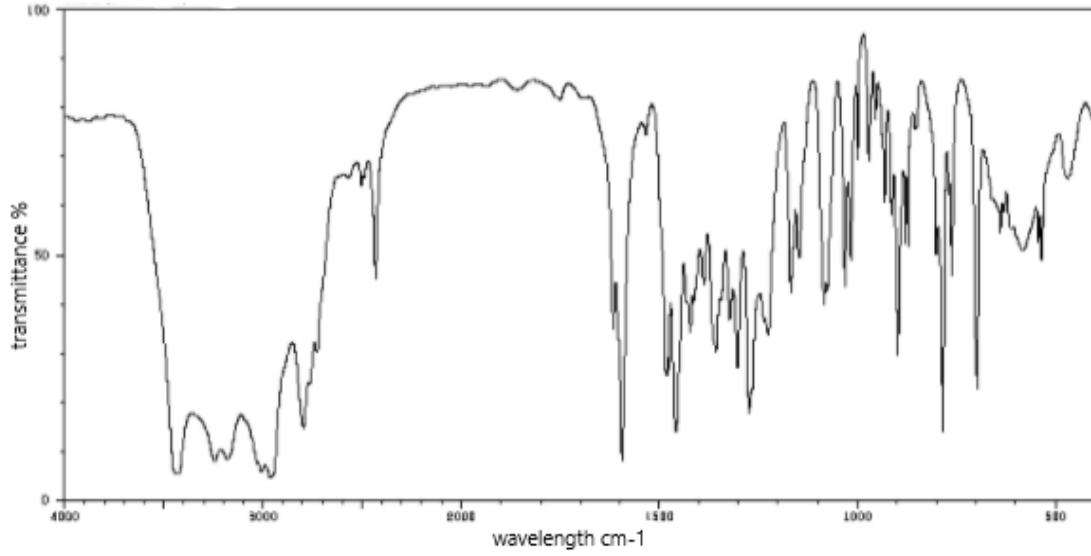
2.3. Fenilefrin Hidroklorür

2.3.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

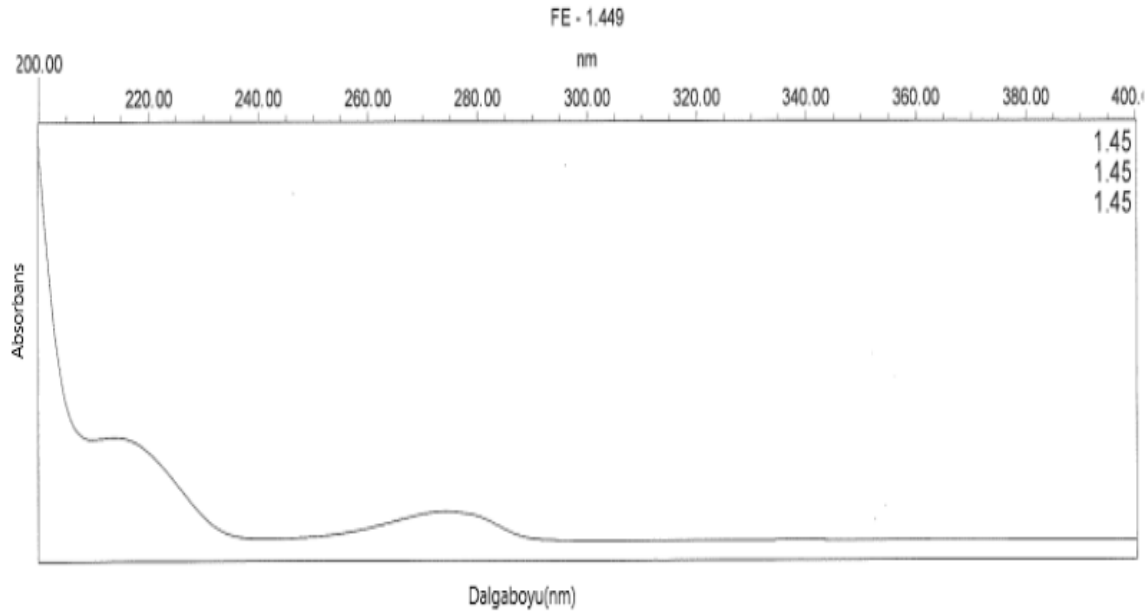


Şekil 2-6 Fenilefrin hidroklorür açık kimyasal yapısı

Fenilefrin hidroklorürün kimyasal adı (3-[(1R)-1-hidroksi-2(metilamino)etil]fenol;hidroklorid dir. Kapalı formülü ise $C_9H_{13}NO_2.HCl$, molekül ağırlığı 203.66 g/mol dür. Kokusuz beyaz veya beyaza yakın kristal toz yapıdadır. Şekil 2-6 da açık kimyasal yapısı görülmektedir. Suda ve etanolde serbestçe çözünür. Erime noktası 142.5 °C dir. pKa: 9.77, pKb: 9.22 olarak belirtilmiştir(17, 29). Fenilefrin hidroklorür FTIR spektrumu Şekil 2-7, UV spektrumu ise Şekil 2-8 de görülmektedir.



Şekil 2-7 Fenilefrin hidroklorürün FTIR spektrumu



Şekil 2-8 Fenilefrin hidroklorürün 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu

2.3.2. Farmakolojisi

Fenilefrin hidroklorür, soğuk algınlığı veya alerjik rinitin neden olduğu burun tıkanıklığının geçici olarak giderilmesi için endikedir. Bir vazokonstriktör olarak fenilefrin hem dolaylı hem de doğrudan sempatomimetik etkilere sahiptir. vazokonstriktör tesirinden dolayı mukozanın ve arteriollerin büzüşmesini sağlayarak aşırı akıntıyı önler. Kan akımının ve nazal konjestiyonun azalmasını sağlar, ferahlık hissi verir. Sonuç olarak nazal sekresyon azalır, sinüs sekresyonunun drenajı artar ve tıkanık olan östaki borusunun girişini açabilir. Rebound vazodilatasyon ve konjestiyon oluşabilmesine rağmen nazal ventilasyon ve hava alımı geçici olarak düzelir (25).

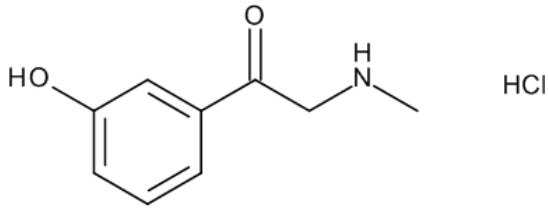
Amerika ve Avustralya'da, fenilefrin hidroklorürün yetişkin dozu her 4 saatte bir 10 mg, toplam günlük doz 60 mg'dır. Avrupa ve Rusya'da, fenilefrin hidroklorürün yetişkin dozu, 24 saatte 48 mg'ı geçmemek üzere her 6 saatte bir 12 mg'dır. Fenilefrinin 45 ila 75 dakika arasında hızla emildiğini ve hızla periferik dokulara dağılarak bifazik veya iki bölmeli bir farmakokinetik profil oluşturur. İntravenöz verilerden tahmin edilen merkezi dağılım hacmi 340 ± 174 L dir. Ek olarak, fenilefrinin, yaklaşık 2.5 saatlik kısa bir eliminasyon yarı ömrüne ($t_{1/2}$) ve bağırsak duvarındaki yüksek ilk geçiş metabolizması nedeniyle yaklaşık %38'lik nispeten düşük bir oral biyoyararlanıma sahip olduğu bulunmuştur (26).

Kütle spektrometresi ile sıvı kromatografi kullanılarak plazma numunelerinde doğrudan fenilefrinin test edildiği müteakip bir pilot çalışma ($n = 12$) maksimum konsantrasyonlara (C_{max}) daha önce, ortalama 36 dakika içinde ulaşıldığını ve $t_{1/2}$ 'nin yaklaşık olarak daha kısa olduğunu buldu. 0.5-2.2 saat, daha önce bildirilenden. Ek olarak, bireysel C_{max} değerleri 800 ila 3400 pg/mL arasında değiştiğinden, fenilefrin konsantrasyonlarının denekler arası değişkenliği yüksekti (27).

Fenilefrin için en yaygın uygulama yolları oral, topikal, intravenöz, intranazal, oftalmik ve rektaldir. Daha az yaygın olarak, fenilefrin periferik sinir blokajına ek olarak epidural boşlukta, intrakavernöz boşlukta, kas içinden ve deri altından uygulanmıştır. Dolaşımdaki fenilefrin hidroklorür esas olarak karaciğer ve bağırsakta monoamin oksidaz A, monoamin oksidaz B ve SULT1A3 tarafından metabolize edilir. Ana metabolit, aktif olmayan meta-hidroksimandelik asittir ve bunu sülfat konjugatları takip eder. Fenilefrin ayrıca fenilefrin glukuronide metabolize edilebilir. Fenilefrin dozunun %86'sı, %16'sı metabolize edilmemiş ilaç, %57'si inaktif meta-hidroksimandelik asit ve %8'i inaktif sülfat konjugatları olarak idrarda geri kazanılır. İntravenöz fenilefrin 5 dakikalık etkili bir yarı ömre ve 2.5 saatlik bir eliminasyon yarı ömrüne sahiptir (28).

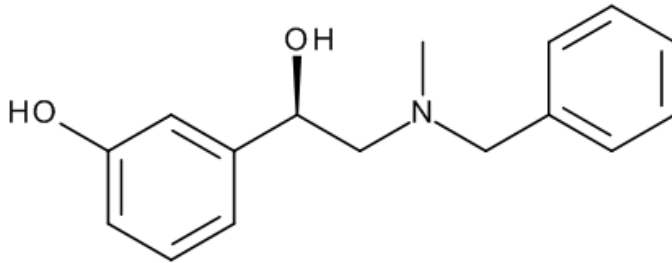
2.3.3. Safsızlıkları

Safsızlık C: Avrupa Farmakopesinde kimyasal adı (1-(3-Hidroksifenil)-2-(metilamino) etanon olan Safsızlık C'nin diğer kısa adı Fenilefron olarak belirtilmiştir. Kapalı formülü $C_9H_{11}NO_2.HCl$ dir. Molekül ağırlığı 201.65 g/mol dür. Şekil 2-9 de kimyasal yapısı görülmektedir (29, 30).



Şekil 2-9 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C kimyasal yapısı

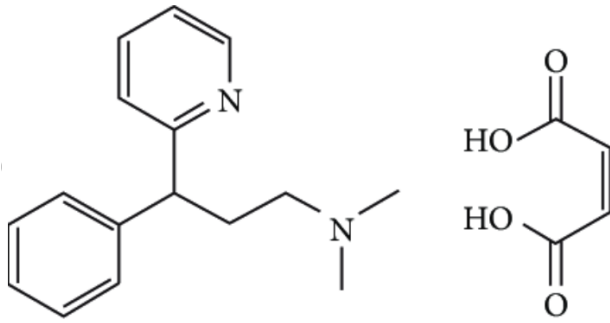
Safsızlık E: Avrupa Farmakopesinde yer almaktadır. Benzilfenilefron olarak da isimlendirilen Safsızlık E nin kimyasal adı 2-(Benzilmetilamino)-1-(3-hidroksifenil)etanon olarak farmakopede tanımlanmıştır. Kapalı formülü $C_{16}H_{19}NO_2$ dir. Molekül ağırlığı 257.33 g/mol dür. Şekil 2-10 de kimyasal yapısı görülmektedir (29, 30).



Şekil 2-10 Fenilefrin hidroklorür Safsızlık E kimyasal yapısı

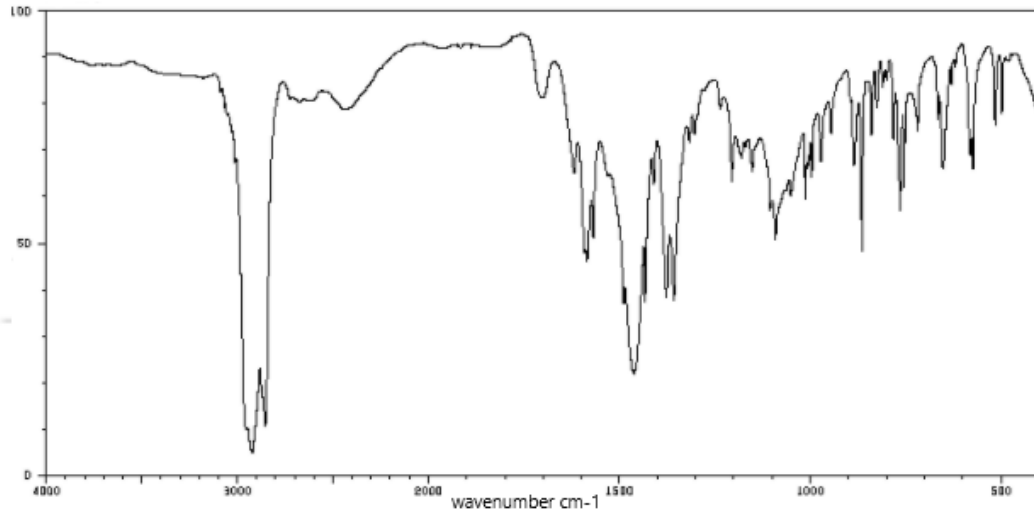
2.4. Feniramin Maleat

2.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

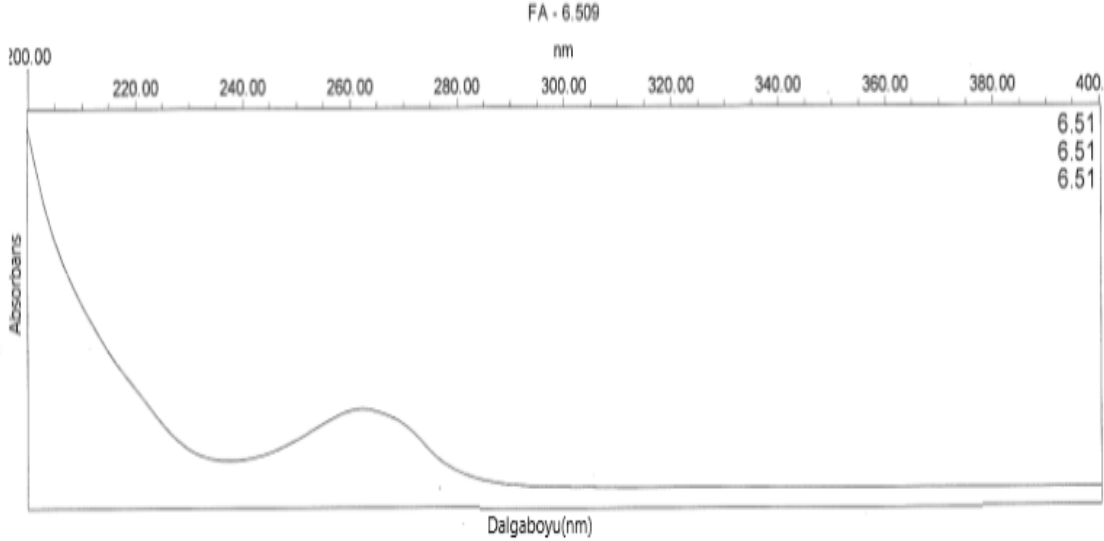


Şekil 2-11 Feniramin maleat açık kimyasal yapısı

Feniramin maleatın kimyasal adı (3RS)-N,N-Dimetil-3-fenil-3-(piridin-2-il)propan-1-amin(Z)-butenediot ve kapalı formülü ise C₂₀H₂₄N₂O₄ dür. Molekül ağırlığı 365,4 g/mol olan feniramin maleat genel olarak beyaz veya beyazımsı kristal toz görünümünde bir bileşiktir. Şekil 2-11 de açık kimyasal yapısı görülmektedir. Suda çok kolay çözünür, etanolde (%96), metanolde ve metilenkloridde serbestçe çözünür. Erime noktası 106-109 °C dir. pKa değeri 9,38 olarak bildirilmiştir (17, 30). Feniramin maleatın FTIR spektrumu Şekil 2-12, UV spektrumu ise Şekil 2-13 de görülmektedir.



Şekil 2-12 Feniramin maleat FTIR spektrumu



Şekil 2-13 Feniramin maleat 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu

2.4.2. Farmakolojisi

Bir alkilamin olan feniramin maleat, merkezi etkili H1 reseptör antagonistlerinin birinci nesline aittir. Alkilamin türevleri, daha fazla uyarımı ve daha az uyku hali üreten en güçlü antihistaminikler arasındadır. Histaminin kılcal geçirgenlik üzerindeki ve vasküler, bronşiyal ve diğer birçok düz kas tipi üzerindeki etkisini engeller. Alerjik durumlarda, kaşıntıda ve esas olarak taşıt tutması, mide bulantısı ve kusmayı önlemek için kullanılır. Bazı reçetesiz alerji, soğuk algınlığı ve grip ürünlerinde diğer ilaçlarla birlikte kullanılır. Günde maksimum 3 mg/kg dozu aşılmamalıdır. Feniramin, ödem, kaşıntı ve kızarıklığı azaltmak için uygun olmayan histamin salınımından kaynaklanan alerjik semptomlara karşı bir antagonist görevi görür. Aynı antihistaminik etki, merkezi sinir sisteminde de hareket ederek sedasyon oluşturur (31). Soğuk algınlığı tedavisinde kullanılan başlıca antihistaminiklerden feniramin maleat, klorfenirman maleat, difenhidramin klorür ve doksilamin olup, antihistaminik ilaçların en yaygın görülen yan etkilerinden sedasyon, klorfeniramin maleatta diğer iki ilaca göre daha azdır(15).

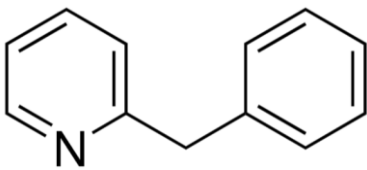
Feniramin, histamin H1 reseptörü için histamin ile rekabet eder ve bir kez bağlandığında ters agonist görevi görür. H1 reseptör aktivitesindeki azalma, kaşıntının azalmasının yanı sıra daha az kızarıklık ve ödem sağlayan vazodilatasyon ve kılcal sızıntının azalmasından sorumludur. Bu, histamin kaynaklı şişlik (şişme) ve parlama (vazodilatasyon) yanıtının baskılanmasında görülebilir. Feniraminin H4 reseptörlerine bağlanması ve ardından

gelen ters agonizm, iltihabı antagonize ederek kaşıntının azalmasına da katkıda bulunabilir (32,33).

Günlük alım dozu oral olarak yetişkinler için 25-150 mg aralığında 12 saatte bir, 1-3 yaş arası 20 kg ve altı çocuklar için kas içi yoldan 0.726 - 1.816 mg/kg ve oral olarak 0.75 mg/kg 8 saatte bir olarak alınabilir. Neonatal doz kas içi yol ile günlük (6 aydan büyükler için) 1.13 to 2.83 mg/kg dır. 30.5 mg feniramin uygulaması, Tmax (maksimum konsantrasyona ulaşılan süre) 1-2.5 ile 173-294 ng/L'lik bir Cmax ile sonuçlandı. Feniramin'in (Maleat) oral absorpsiyonu %60,5 ±9,5 olarak bulunmuştur. Dağılım hacmi 230 litre olarak bulunmuştur. ve metabolizması Hepatik olarak rapor edilmiştir. Feniramin maleat, gastrointestinal sistemden iyi emilir. Metabolizma ve renal atılım yoluyla elimine edilir. Renal atılım %33 - 43'tür ve plazma yarı ömrü 16 - 19 saattir. Feniramin'in %24.3'ü ana ilaç olarak idrarda bulunur. Feniramin doz aşımıyla ilgili vaka raporları, akut böbrek hasarı ile birlikte nadir görülen aritmiler, deri döküntüleri ve rabdomiyoliz olasılığından bahsetmektedir. Aktif kömürün verilmesi, büyük ölçüde odun kömürü tarafından emildiğinden feniramin emilimini etkili bir şekilde önler, bu nedenle, alımdan hemen sonra verilmesi halinde aşırı doz vakalarında bu yararlı olabilir (34).

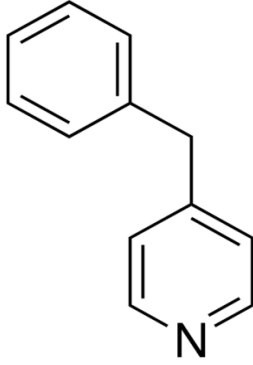
2.4.3. Safsızlıkları

Safsızlık A: Kimyasal adı 2-Benzilpiridin olan safsızlık A Avrupa Farmakopesinde tanımlanmıştır. Kapalı formülü $C_{12}H_{11}N$ dir. Molekül ağırlığı 169.23 g/mol dür. Şekil 2-14 de kimyasal yapısı görülmektedir (30).



Şekil 2-14 Feniramin maleat Safsızlık A kimyasal yapısı

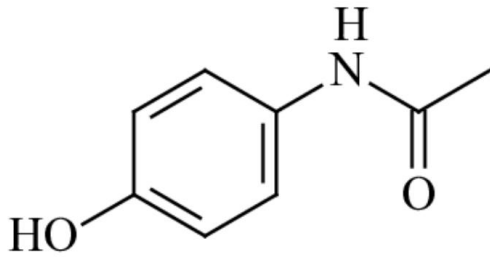
Safsızlık B: Avrupa Farmakopesinde tanımlanan Safsızlık B nin kimyasal adı 4-Benzilpiridin dir. Kapalı formülü $C_{12}H_{11}N$ dir. Molekül ağırlığı 169.23 g/mol dür. Şekil 2-15 de kimyasal yapısı görülmektedir (30).



Şekil 2-15 Feniramin maleat Safsızlık B kimyasal yapısı

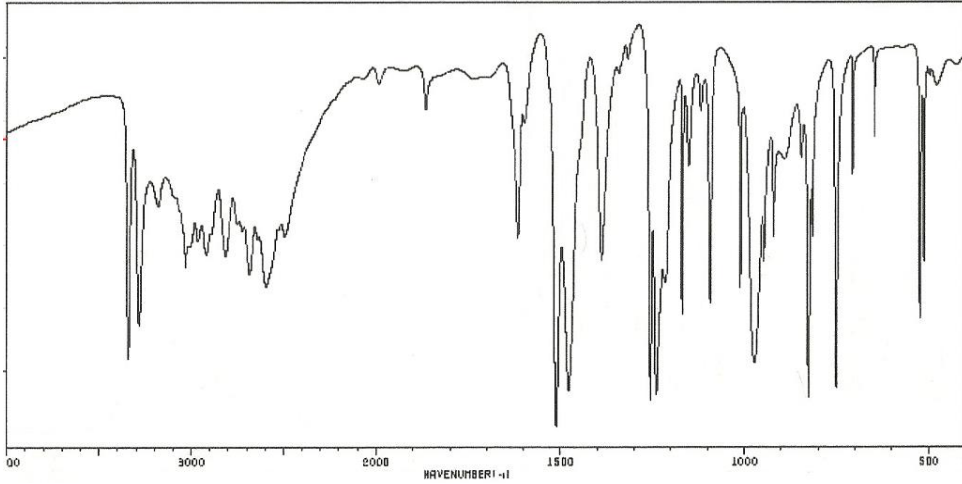
2.5. Parasetamol

2.5.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

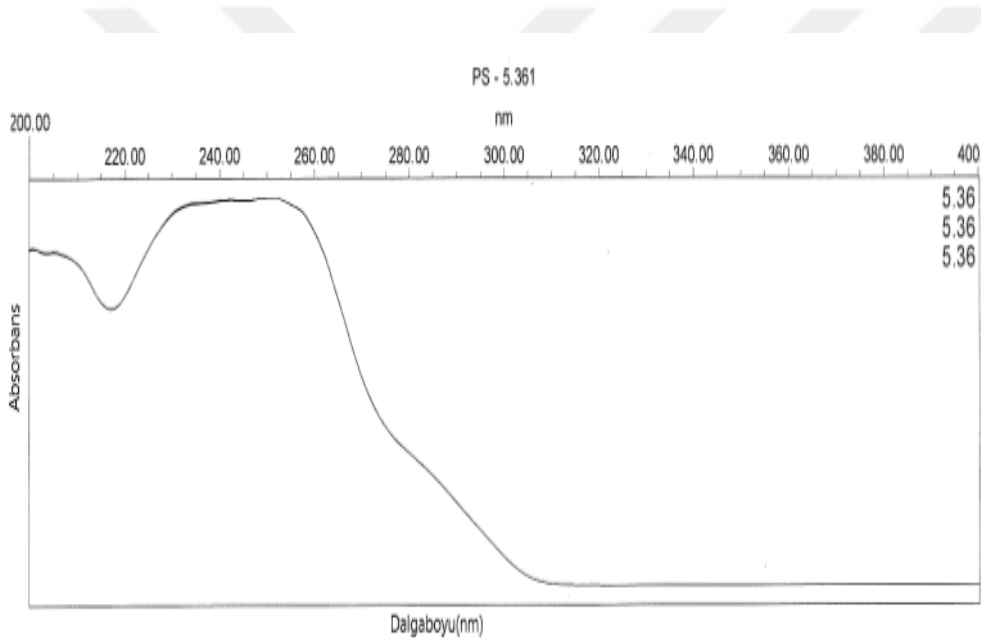


Şekil 2-16 Parasetamol açık kimyasal yapısı

Parasetamol diğer bilinen adıyla Asetaminofen in , UIPAC da adlandırılmış kimyasal açık adı N-(4-hidroksifenil)asetamid ve kapalı formülü ise $C_8H_9NO_2$ dir. Molekül ağırlığı 151,17 g/mol dür. Genel olarak beyaz veya beyazımsı kristal toz görünümünde organik bir bileşiktir. Şekil 2-16 de açık kimyasal yapısı görülmektedir. Suda az çözünür, etanolde (%96) serbestçe çözünür ve metilenkloridde çok az çözünür. Erime noktası 168-172 °C aralığındadır. 25 °C de yoğunluğu 1.263 g/cm³ . 9,38 olarak pKa değeri bildirilmiştir (17,35). Askorbik asitin FTIR spektrumu Şekil 2-17 de, UV spektrumu ise Şekil 2-18 de görülmektedir.



Şekil 2-17 Parasetamolün FTIR spektrumu



Şekil 2-18 Parasetamolün 10 µg/mL konsantrasyonda metanol çözeltisindeki UV-Vis spektrumu

2.5.2. Farmakolojisi

Parasetamol hafif bir analjezik ve ateş düşürücüdür ve migren, diş ağrısı, nevralji, soğuk algınlığı ve grip, boğaz ağrısı, sırt ağrısı, romatizmal ağrı ve dismenore gibi baş ağrısı gibi çoğu ağrılı ve ateşli durumların tedavisi için önerilir. Parasetamol, çoğu insan için güvenli olduğundan ve yan etkiler nadir olduğundan, ağrı için ilk tedavilerden biri olarak sıklıkla önerilir. Ateş düşürücü etkileri için de kullanılır. Bu ilaç ilk olarak 1951'de Amerika'da FDA tarafından onaylanmıştır ve şurup formu, normal tabletler, efervesan tabletler, enjeksiyon, fitil ve diğer formlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda mevcuttur.

Asetaminofen, reçetesiz satılan ilaçlar, alerji ilaçları, soğuk algınlığı ilaçları, uyku ilaçları, ağrı kesiciler ve diğer ürünlerde çok farklı kombinasyonlarda diğer ilaçlarla birlikte bulunur. Bu ilacın dozu ile ilgili kafa karışıklığı, farklı yaşlardaki çocuklar için farklı formüllerin, dozların ve dozaj talimatlarının bulunmasından kaynaklanabilir (36).

FDA e göre, asetaminofenin kesin etki mekanizması tam olarak oluşturulamamıştır. Buna rağmen, siklooksijenaz yollarını inhibe etme kabiliyeti nedeniyle genellikle steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar ile birlikte kategorize edilir. Sonunda ağrı semptomlarının hafifletilmesine yol açan merkezi eylemler uyguladığı düşünülmektedir. Diğer bir teori, asetaminofenin, prostaglandin sentezinde yer alan iki siklooksijenaz izoformunu, COX-1 ve COX-2'yi inhibe ederek ağrı eşiğini arttırmasıdır. Prostaglandinler, ağrı duyularının ortaya çıkmasından sorumludur (37).

Yetişkinler genellikle 4-6 saatte bir 500 mg veya 1000 mg alabilir, ancak 24 saat içinde 4 gr'dan fazla almamalıdır. 16 yaşın altındaki çocukların, yaşlarına veya kilolarına bağlı olarak daha düşük bir doz almaları gerekir. Özellikle 6 yaş altı için 5ml de 120 mg içeren şurup formundan en fazla 4 kez alınması, çocuk ve bebeklerin ay/yaşlarına göre özel dozajlamaya dikkat edilmesi önerilir (38).

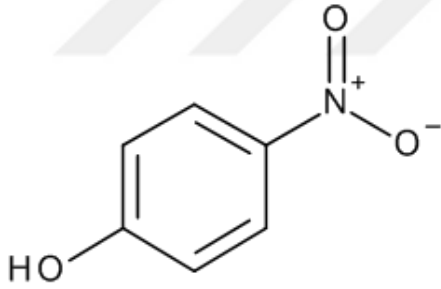
Oral uygulamayı takiben gastrointestinal sistemden hızla emilir, sistemik biyoyararlanımı doza bağımlıdır ve %70 ila %90 arasında değişir. Oral absorpsiyon hızı ağırlıklı olarak mide boşalma hızına bağlıdır, gıda, propantelin, petidin ve diamorfin tarafından geciktirilir ve metoklopramid ile artar. Asetaminofen alımdan 90 dakika sonra en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşır. Parasetamol ayrıca rektumdan iyi emilir. Asetaminofen fitil formunun rektal uygulamasından 3 saat sonra serbest asetaminofen doruk kan seviyelerine ulaşmaz ve doruk kan konsantrasyonu, eşdeğer bir oral dozun (10-20 mcg/mL) alınmasından sonra gözlenen konsantrasyonun yaklaşık %50'sidir. Dağılım hacmi yaklaşık 0.9L/kg'dır. İlacın %10 ila %20'si kırmızı kan hücrelerine bağlanır. Asetaminofen, yağ dışında çoğu vücut dokusunda yaygın olarak dağılmış gibi görünmektedir. Asetaminofen metabolitleri esas olarak idrarla atılır. %5'ten azı idrarla serbest (konjuge olmayan) asetaminofen olarak atılır ve uygulanan dozun en az %90'ı 24 saat içinde atılır. Parasetamol geniş ölçüde metabolize edilir (ağırlıklı olarak karaciğerde), başlıca metabolitleri sülfat ve glukuronid konjugatlarıdır. Yetişkinler için yarı ömür, 15 mg/kg intravenöz dozdan sonra 2,5 saattir. Aşırı dozdan sonra, yarı ömür, asetaminofeni ağır şekilde metabolize ettiği için karaciğerdeki hasarın ciddiyetine bağlı olarak 4 ila 8 saat arasında değişebilir. Terapötik

dozlarda verildiğinde asetaminofenin plazma proteinlerine bağlanması düşüktür (%10 ila %25 aralığında (39)).

10 g veya daha fazla parasetamol alan yetişkinlerde karaciğer hasarı mümkündür. Hastanın risk faktörleri varsa, 5 g veya daha fazla parasetamol yutulması karaciğer hasarına yol açabilir. Parasetamol doz aşımı belirtileri, ilk 24 saatte solukluk, bulantı, kusma, iştahsızlık ve karın ağrısıdır. Karaciğer hasarı, alımdan 12 ila 48 saat sonra ortaya çıkabilir. Glikoz metabolizması ve metabolik asidoz anormallikleri oluşabilir. Şiddetli zehirlenmelerde karaciğer yetmezliği ensefalopati, kanama, hipoglisemi, beyin ödemi, gastrointestinal kanama ve ölüme kadar ilerleyebilir. Şiddetli karaciğer hasarı olmasa bile bel ağrısı, hematüri ve proteinüri tarafından kuvvetle önerilen akut tübüler nekrozlu akut böbrek yetmezliği gelişebilir (40).

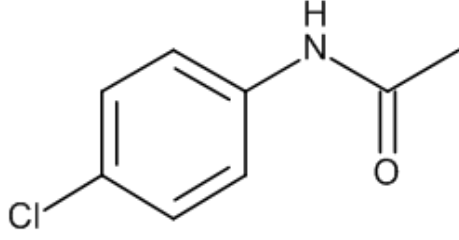
2.5.3. Safsızlıkları

Safsızlık F: Kimyasal adı 4-Nitrofenol olan Safsızlık F Avrupa Farmakopesinde tanımlanmıştır. Kapalı formülü $C_6H_5NO_3$ dir. Molekül ağırlığı 139.11 g/mol dür. Şekil 2-19 de kimyasal yapısı görülmektedir (30).



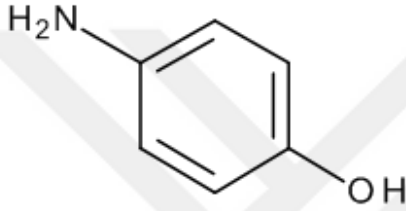
Şekil 2-19 Parasetamol safsızlık F kimyasal yapısı

Safsızlık J: Kimyasal adı N-(4-Klorofenil)asetamid (kloroasetanilid) olan safsızlık J Avrupa Farmakopesinde tanımlanmıştır. Kapalı formülü C_8H_8ClNO dir. Molekül ağırlığı 169.61 g/mol dür. Şekil 2-20 de kimyasal yapısı görülmektedir (30).



Şekil 2-20 Parasetamol safsızlık J kimyasal yapısı

Safsızlık K: Kimyasal adı 4-Aminofenol olan safsızlık K Avrupa Farmakopesinde tanımlanmıştır. Kapalı formülü C_6H_7NO dir. Molekül ağırlığı 109.13 g/mol dür. Şekil 2-21 de kimyasal yapısı görülmektedir (30).



Şekil 2-21 Parasetamol safsızlık K kimyasal yapısı

2.6. Analiz Yöntemleri

Literatürde askorbik asit, fenilefrin hidroklorür, feniramin maleat, parasetamol etken maddelerinin miktar ve safsızlık tayinlerinin UPLC ve HPLC yöntemler kullanılarak preparatlarda tek başına veya yan yana yapılan analizleri Tablo 2-1 de verilmiştir (7,41-101).

Tablo 2-1 Etken madde ve safsızlıklara ait farmasötik preparatlarda yapılan HPLC/UPLC analizleri

Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası
Parasetamol, Fenilefrin hidroklorür,Askorbik asit, Feniramin maleat,Kafein,İbuprofen, Propifenazon,Klorfenamin HCl, Dekstrometorfan hbr, Setilpiridinyum Cl; 4-aminofenol,4-nitrofenol,4-kloroasetanilid,Klorfenam in Safsızlık C,Efedrin Hidroklorür;	Tablet, Saşe, Şurup	HPLC-PDA	Hareketli Faz: etanol ve 25 mmol/L sodyum dihidrojenfosfat (2.5:97.5), pH 4.70 Dalgaboyu: 265 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) C18 (20 mm × 4,6 mm, 5 µm) koruyucu kolon Akış Hızı: 0,5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µL	0,1 µg/mL / 0,2 µg/mL 05 µg/mL /05 µg/mL	5 - 300 µg/mL 0.1 - 20 µg/mL	(7)
Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Feniramin maleat, Difenhidramin,Prometazin ,Asetil Salisilik Asit	Tablet	UPLC-UV	Hareketli Faz: 0,025 M amonyum asetat tamponu pH 4.0 ve metanol Dalgaboyu: 254 nm Kolon: C18 (2 mm × 100 mm, 1.7 µm) Akış Hızı: 0.50 ml/dk Enjeksiyon Hacmi: 2 µl	0,016- 0,054 µg/mL 0,34 – 1,14 µg/mL 0,020 – 0,068 µg/mL	0.1–1.0 mg/mL 0.008–0.8 mg/mL 0.012–0.12 mg/mL	(41)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik asit, Kafein	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: asetonitril ve fosfat tampon (pH 6,50) (10 : 90, v/v) Dalgaboyu: 210 nm, 235 nm Kolon: C18 (100 x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 ml/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	-	150–450 µg/mL , 25–75 µg/mL, 50–150 µg/mL	(42)
Askorbik asit, Parasetamol, Fenilefrin, Kafein, Pamabrom, Guaifenesin, Dekstrometorfan, Pirilamin, Klorfeniramin maleat, İbuprofen	Tablet, Kapsül	UPLC- PDA	Hareketli Faz: 3.0 mM 1-heptan sülfonik asit sodyum tuzu tamponu ile 0.012 M diamonyum hidrojen fosfat: Asetonitril (90:10) (h/h) Dalgaboyu: 290 ve 215 nm Kolon: C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	18.66 - 56.55 µg/mL, 62.13 - 188.29 µg/mL, 1.01 - 3.07 µg/mL	156–390 µg/mL 520–1300 µg/mL 10.4–26 µg/mL	(43)
Askorbik asit, Parasetamol, Fenilefrin, Levosetrisin Hidroklorür	Tablet	UPLC-UV	Hareketli Faz: fosfat tamponu pH 4.0±0.05, Asetonitril. Dalgaboyu: 220nm Kolon: C18 (25cm x 4.6mm, 5µm) Akış Hızı: 1.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 50µL	-	101-304µg/mL, 125-375µg/mL, 1.5-4.0µg/mL	(44)
Parasetamol, Fenilefrin, Klorfeniramin maleat, 4-aminofenol,4- nitrofenol,4- kloroasetanilid,	Toz saşe	HPLC-PDA	Hareketli Faz: Fosfat tampon 10 mM pH 3,0: Asetonitril 95:5 (v/v) Dalgaboyu: 215 nm Kolon: CN (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,5 mL Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	6.5 to 65 µg/mL 0.1 to 1 µg/mL	9.75–15.60 mg/mL 0.15–0.24 mg/mL 6.5–65.5 µg/mL 6.5–65.5 µg/mL 6.5–65.5 µg/mL	(45)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Fenilefrin, Dekstrometorfan, Klorfeniramin	Tablet	HPLC- UV	Hareketli Faz: metanol: su (litre başına 6,0 g amonyum asetat ve 10 ml triethy lamine içerir, pH ortofosforik asit ile 5,0'a ayarlanır), %95:5(v:v). Dalgaboyu: 227 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,2 mL Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	162,5–650 µg/mL 2,5–10 µg/mL	(46)
Parasetamol, Fenilefrin, Guaifenesin, Pirilamin maleat	Şurup	HPLC-PDA	Hareketli Faz: pH 3.5, %95 ve %80 fosfat tamponu Dalgaboyu: 250 ve 220 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 0,8 mL Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	0.32 - 1.07 µg/mL, 0.34 - 1.14 µg/mL	-	(47)
Fenilefrin, Feniramin maleat, Fenilpropanolamin, Efedrin, Psödoefedrin, Metoksifenamin, Karbinoksamin, Doksilamin, Klorfeniramin, Deksklorfeniramin, Deksbromfeniramin, Difenhidramin, Tripolidin, Azatadin Ve Feniltoloksamin	Tablet, Şaşe, Şurup	HPLC- UV	Hareketli Faz: 0,05 mol/L SDS–6 v/v pentanol veya 0,15 mol/L SDS–2% pH 7'de v/v pentanol Dalgaboyu: 260 nm Kolon: C8 (150x4,6 mm 5 µm) C18(120 .6 mm 5 µm) CN (125x4 mm 5 µm) Akış Hızı: 1.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20µl	LOD: 4–225 ng /ml	0.5–25 µg/mL	(48)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Fenilefrin, Dekstrometorfan, Doksilamin, Guaifenesin, Kafein Ve Aspirin	Kapsül, Şurup, Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: Saf su içinde %0.15 trifloroasetik asit: asetonitril-metanol karışımı (750:250 v/v) ve %0.02 trifloro asetik asit. Dalgaboyu: 280 nm Kolon: C18 (150x4,6 mm 5 µm) C8 (150x6 mm 5 µm) Ph (150 × 4.6 mm, 3 µ) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	0,07-0,20 µg/mL 0,22-0,680 µg/mL	20–120 µg/mL 25–150 µg/mL	(49)
Parasetamol, Fenilefrin, Setirizin Dihidroklörür, Kafein	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: 10 mM fosfat tamponu (pH 3.3) ve asetonitril Dalgaboyu: 230 nm Kolon: C18 (4.6 mm, 150 mm, 5 mm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	100–1000 mg/mL 5–100 mg/mL	(50)
Parasetamol, Fenilefrin, Guaifenesin, Klorfeniramin maleat, Bromheksin hidroklorür	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: metanol:asetonitril:10 mM fosfat tamponu (pH 3) 27.5:22.5:50 Dalgaboyu: 218 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	1,34-4,062 µg/mL 0,02-0,074 µg/mL	225-900 µg/mL 5-20 µg/mL	(51)
Parasetamol, Fenilefrin, Setirizin Dihidroklörür,	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: 10 mM fosfat tamponu (pH 3.3) ve asetonitril Dalgaboyu: nm Kolon: C18 (4.6 mm, 150 mm, 5 mm) Akış Hızı: mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	-	250–750 µg/mL 5–15 µg/mL	(52)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Askorbik asit, Parasetamol, Guaifenesin	Şurup, Toz saşe	HPLC- UV	Hareketli Faz: metanol ve 0.01 M sulu fosfat tampon çözeltisi. Hareketli fazın pH'ı 3.2, 6.2 ve 3.8'e ayarlandı. Dalgaboyu: 225 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	2,0-4,0 µg/mL 0,20-0,90 µg/mL	4–100 µg/mL 1–60 µg/mL	(53)
Parasetamol, Fenilefrin, Karbinoksamin	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: %60 metanol ve %40 potasyum monobazik fosfat sulu çözelti (62.46 mmol /L), 1 mL fosforik asit, 0.50 mL trietilamin ve 0.25 g sodyum lauril sülfat ile ilave edildi. Dalgaboyu: 220-300 nm Kolon: C18 column (5 µm, 300 mm, 3.9 mm) Akış Hızı: 1.0mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 50 µl	12.50 - 41.69 mg/mL 0.36 - 1.18 mg/mL	-	(54)
Fenilefrin, Parasetamol, Klorfeneramin, Dekstrometorfan	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: fosfat tamponu (20 Mm) pH 6.6: Asetonitril(70:30) Dalgaboyu: 225 nm Kolon: C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0.02 µg/ml 3.92 µg/ml	1.25-7.5 µg/ mL, 81.25- 487.5 µg/mL	(55)
Fenilefrin, Parasetamol, Klorfeniramin maleat, Kafein	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0,05 M dibazik fosfat tamponu :asetonitril 93:07 Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (250 mm×4mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0.41,- 0.51 µg/ml 38-49 µg/ml	4-6 µg/ml 400-600 µg/ml	(56)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Fenilefrin, Parasetamol, Klorfeniramin maleat,	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0,01M fosfat tamponu: asetonitril (70:30) Dalgaboyu: 230 nm Kolon: C8 (250 mm×4mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0,28-0,86 µg/ml 0,36-1,1 µg/ml	5- 60 µg/ml	(57)
Fenilefrin, Parasetamol, Klorfeniramin maleat, Kafein	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0,01M fosfat tamponu: metanol Dalgaboyu: 220 nm Kolon: C18 (250 mm×4mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	3,89-11,80 µg/mL 317,15-961,08 µg/mL	10–50 µg/mL, 500–2,500 µg/mL	(58)
Fenilefrin, Parasetamol, Oksolamin Sitrat ve Klorfeniramin Maleat	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0,02M fosfat tamponu: asetonitril (15:85) Dalgaboyu: 365 nm Kolon: CN (150x4.6 mm, 5 µ) Akış Hızı: 1,5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	-	0.0004-0.0024 µg/mL 0.02-0.12 µg/mL	(59)
Fenilefrin, Parasetamol, Klorfeniramin maleat, Kafein	Tablet	HPLC-PDA HPTLC	Hareketli Faz: 20 mM fosfat tamponu pH 3, asetonitril ve metanol Dalgaboyu: 215 nm Kolon: HC-C18 (2) 150 x 4.6 mm Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	1.54-5.14 µg/mL 10.62-35.41 µg/mL	10 – 30 µg/mL 250 – 750 µg/mL	(60)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Fenilefrin, Klorfeniramin maleat,	Kapsül, Şaşe	HPLC-UV	Hareketli Faz: 40 mM fosfat tamponu pH 6, asetonitril Dalgaboyu: 215-280 nm Kolon: C8 (250 mm×4mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	0.15376–0.46128 mg/mL 0.00304–0.00913 mg/mL	(61)
Askorbik asit	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: su (sülfürik asit ile pH 2.2'ye getirilmiş) : metanol (80:20) Dalgaboyu: 243 nm Kolon: C18 (250 mm×4mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0.42 ppm-1.40 ppm	5-90 ppm	(62)
Askorbik asit	Tablet	HPLC-EC	Hareketli Faz: 0.09% TFA: asetonitril, 3:97 (v/v) Dalgaboyu: 100 mV Kolon: C18A (150 × 2.0 mm, 3 µm) Akış Hızı: 0.13 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	LOD: 90 nM	0.5 – 20 mM	(63)
Askorbik asit	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: İyon çifti çözeltisi- asetonitril (98:2) Dalgaboyu: 275 nm Kolon: İyon çifti C18 (250x 4.0 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	LOQ = 10 µg/mL	➤ 200 µg/mL	(64)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Askorbik asit Biotin, Folik Asit, Nikotinamid, Pantotenat, Vitamin B1, Vitamin B6, Vitamin B12, Vitamin B2.	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: MeOH : 0.1 M Potasyumdihidrojenfosfat pH 7.0 Dalgaboyu: 265 nm Kolon: C18 (300 · 3.9 mm, 10 lm) Akış Hızı: 1,5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	LOD = 0.1 µg/mL	5.0–200.0 µg/mL	(65)
Askorbik asit, Vitamin B1, Vitamin B2, Vitamin B3, Vitamin B6,	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: Su (pH:2,0): Metanol (85:15) Dalgaboyu: 280 nm Kolon: LC-8-DB 250×4.6 mm, 5 mm Akış Hızı: 2 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	0.0025 - 0.01 µg/mL	-	(66)
Askorbik asit, Vitamin A,Vitamin D3, Vitamin E,Vitamin K1, Vitamin B1,Vitamin B2, Vitamin B3,Vitamin B5, Vitamin B9,Vitamin B12	Tablet	HPLC-PDA HPLC-FLD	Hareketli Faz: 0.01% TFA(pH = 4) / Metanol) Dalgaboyu: nm Kolon: C18 (150 × 4.6 mm, 3.0 µm) Akış Hızı: 0.7 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	515.6 - 561.8 ng/mL	10–500 ng/mL	(67)
Askorbik asit, Psödoefedrin hidroklorür, İbuprofen	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 30 mM sodyum dodesil sülfat, %8 1-propanol, 0.02 M fosforik asit içinde %0.3 tri-etilamin (pH 3) Dalgaboyu: 260 nm Kolon: C18-SN (150 mm x 4.6 mm,5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	1,0-1,4 µg/mL	1.5–18.0 µg/mL	(68)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Askorbik asit, Nikotinik Asit, Nikotinamid. Folik Asit, Siyankobalamin, Riboflavin, Retinol, A- Tokoferol, A-tokoferol Asetat	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: Metanol: 0,05 Mm Amonyum Asetat (5:95) Dalgaboyu: 270-290 nm Kolon: C18 250~4.0 mm. 5 µm, C18 220x4 6 mm. 5 µm Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	LOD: 2,5ng	0.5-20 ng/mL.	(69)
Askorbik asit, Rutin	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: Su: asetonitril (75:25, v/v), Dalgaboyu: 257 nm Kolon: C18 (4.6 × 250 mm, 10 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	LOD: 1.06 µg/mL	5.0–30.0 µg/mL	(70)
Fenilefrin hidroklorür, Dimetinden maleat, Benzalkonyum klorür	Nazal damla, Jel tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: potasyum dihidrojen fosfat tampon (0.025 M) / sodyum 1-bütan sülfonat (0.025 M) (pH 6.0) tampon / asetonitril Dalgaboyu: 271, 256 ,206 nm Kolon: CN (4.6 × 250 mm, 5 µm) Akış Hızı: mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	1,5 -5,0 µg/mL	10–400 µg/mL	(71)
Fenilefrin hidroklorür, Psödoefedrin hidroklorür, İbuprofen	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0.15 M sodyum dodesil sülfat, %15 n-propanol ve pH 4.0'a ayarlanmış %0.3 trietilamin Dalgaboyu: 233-218 nm Kolon: C18 (100 mm x 4.6 mm. 3 µm) Akış Hızı: 1.2 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0.07 µg/ml 0.22 µg/ml	0.5–20.0 µg/ml	(72)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Fenilefrin hidroklorür, Klorfeniramin, Fenilpropanolamin, Psödoefedrin	Tablet, Şurup, Toz saşe	HPLC-UV	Hareketli Faz: sodyum dodesil sülfat (SDS) ve pentanol misel hareketli faz Dalgaboyu: 260 nm Kolon: C18 (5 µm, 120 mm×4.6 mm) ve C18 (5 µm, 30 mm×4.0 mm) Akış Hızı: 1.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0.02 µg/ml	0.5–50 µg/ml	(73)
Fenilefrin hidroklorür, Klorfeniramin,	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: Asetonitril ve fosfat tamponu 55:45 (h/h) (pH 5,6 ± 0,02) Dalgaboyu: 255 nm Kolon: C18 (250 mm × 8 mm, 10 µm) Akış Hızı: 1.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0.15 µg/ml 0.32 µg/ml	10-70 µg/ml	(74)
Fenilefrin hidroklorür, Setirizin hidroklorür	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: Metanol : Asetonitril : Disodyum hidrojen fosfat (80:3:17,v/v) Dalgaboyu: 272 nm Kolon: C18 (220 mm × 4.6 mm, 10 µm) Akış Hızı: 2.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	1.58 µg/ml 4.80 µg/ml	10- 50 µg/ml	(75)
Fenilefrin hidroklorür, Benzonatat, Difenhidramin hidroklorür, Guaifenesin	Kapsül	HPLC-UV	Hareketli Faz: 5 mmol/L potasyum dihidrojen fosfat: trietilamin (99.8:0.2), pH 2.5 - asetonitril Dalgaboyu: 222 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 25 µl	0,02258 µg/ml 0,006923 µg/ml	2–100 µg/ml	(76)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Fenilefrin hidroklorür, Efedrin, Psödoefedrin, Sinefrin	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: Asetonitril, 35 mMol amonyum asetat tampon, pH:4,5 Dalgaboyu: 215 nm Kolon: HILIC (100 mm x 4.5 mm, 2.6 mm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	-	(77)
Fenilefrin hidroklorür, Ketorolak trometamin, Fenilefrin hidroklorür Safsızlık C, Fenilefrin hidroklorür Safsızlık E	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: asetat tamponu (pH 3.2; 10mM): MeOH: ACN: 32:23:45 Dalgaboyu: 275 nm Kolon: HILIC (150 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0.737 µg/ml 2.23 µg/ml	30-60 µg/ml	(78)
Fenilefrin hidroklorür, Difenhidramin Hidroklorür, Fenilefrin hidroklorür Safsızlık C, Fenilefrin hidroklorür Safsızlık E	Tablet	UPLC- UV	Hareketli Faz: 60 mM potassium perchlorate:acetonitrile (45:55) (v:v) Dalgaboyu: 210 nm Kolon: C8 (2.1 × 150 mm 1.7 µm) Akış Hızı: 0.3 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	0,01 % (Safsızlık C) 0,03 % (Safsızlık E)	-	(79)
Fenilefrin hidroklorür, Ebastin Ebastin Safsızlık A, Fenilefrin Safsızlık A	Tablet	UPLC- PDA	Hareketli Faz: %0,1 orto-fosforik asit : asetonitril (70:30, v/v) pH 3.5 Dalgaboyu: 270 nm Kolon: C18 (2.1 mm × 50 mm, 1.7µ) Akış Hızı: 0.5mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0,33 µg/mL 1,01 µg/mL	1–50 µg/mL	(80)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, P-Aminofenol, 4- Klorasetailid, Psödoefedrin Hidroklorür, Triprolidin Hidroklorür, Metil Paraben, Prorilparaben, Sodyum Benzoat P-Hidroksi Benzoik Asit, Triprolidin Z-İzomeri	Şurup	HPLC-UV	Hareketli Faz: pH 3.0'a ayarlanmış 28 mM sodyum dihidrojen fosfat -asetonitril (90:10) Dalgaboyu: 214 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0,01-0,03 µg/mL 0,003-0,01 µg/mL 0,003-0,01 µg/mL	0,1–15 µg/mL 0,01–10 µg/mL 0,01–10 µg/mL	(81)
Parasetamol , 4-nitrofenol, 4-kloroasetanilid, 4-aminofenol	Tablet	HPLC-PDA HPLC-FLD	Hareketli Faz: Fosfat tamponu (pH :4.88) ve metanol Dalgaboyu: 245/ 365 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.2 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	0,045-0,14 µg/mL 0,017 – 0,12 µg/mL 0,1-0,46 µg/mL	5.0–60 µg/mL 0.5–6 µg/mL 0.5–6 µg/mL 0.5–6 µg/mL	(82)
Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol, 4-klorasetanilid, Kodein ve safsızlıkları Pitofenon ve safsızlıkları	Supozituar	HPLC-PDA	Hareketli Faz: Sodyum 1-oktansülfonat çözeltisi(pH:2,5) ve asetonitril Dalgaboyu: 220 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	0.038 - 0.115 µg/mL 0.059 0.178 µg/mL	0.05–0.24 µg/mL 0.003–0.017 µg/mL	(83)
Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol, 4-klorasetanilid, Tramadol ve safsızlıkları	Tablet	UPLC-PDA	Hareketli Faz: Su içinde % 0.1 Perklorik asit ve asetonitril Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (100 mm x 2.1 mm,1.8 µ) Akış Hızı: 0.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 2 µl	0.002 %- 0.005 % 0.004 %- 0.008 %, 0.004 %- 0.009 %	0.016-2.349 0.027-4.010 0.028-4.247	(84)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol, 4-klorasetanilid, Klorzoksazon	Tablet, Kapsül	HPLC-UV	Hareketli Faz: su-metanol-buzlu asetik asit (60 + 40 + 2, v/v/v) Dalgaboyu: 272 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.2 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	31.25-125.00 µg/mL 39.06-156.25 µg/mL 65.16-260.63 µg/mL	15-600 µg/mL 0.5-20 µg/mL (0.625-25 µg/mL 1.0425-41.7 µg/mL	(85)
Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol, 4-klorasetanilid, Benzil Alkol, Benzaldehit, EDTA	Ampul	HPLC-UV	Hareketli Faz: metanol: asetonitril: tampon fosfat (10:20:70) Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	0,5-120 µg/mL	(86)
Parasetamol, Aseklofenak, Diklofenak, para-aminofenol	Tablet	UPLC/Q-TOF-MS	Hareketli Faz: Asetonitril-2 mM amonyum asetat (40:60) Dalgaboyu: nm Kolon: C18 (100.0 x 2.1 mm, 1.7 µm) Akış Hızı: 0.25 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	0,02-1 ng/mL	1-1000 ng/mL	(87)
Parasetamol, 4-aminofenol, Metokarbamol Guaifenesin	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0.05 M potasyum dihidrojen fosfat tamponu:asetonitril (72.5:27.5, pH:6) Dalgaboyu: 225 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0,30-0,5 µg/mL 0,1-1,2 µg/mL	3-20 µg/mL 0.6-8 µg/mL	(88)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, 4-aminofenol, Fenilefrin hidroklorür, klorfeniramin	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: potasyum dihidrojen fosfat tamponu (pH 2.5) ve asetonitril Dalgaboyu: 278 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.4 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	0.0576 µg/ ml	190-455 µg/ml 0.25-20 µg/ml 3-7 µg/ml	(89)
Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol,	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: 0,01 M potasyum dihidrojen fosfat tamponu (pH 3,0) ve asetonitril Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	0,145-0,197 µg/ml 0,05-0,08 µg/ml	50-500 µg/ml 0,2-20 µg/ml 0,2-20 µg/ml	(90)
Parasetamol, Klorfeniramin, Psödoefedrin Hidroklorür, Kafein, Dekstrometorfan Difenhidramin	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0.02 mol/L potasyum dihidrojen fosfat – asetonitril (96:4, pH 3.0) Dalgaboyu: 217 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 0,8 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	0.92- 2.60 g/ml	5.10–62.30 µg/ml	(91)
Parasetamol, Guaifenesin, Psödoefedrin, İbuprofen, Klorfeniramin Ve Dekstrometorfan	Şurup	HPLC-UV	Hareketli Faz: 93.6 mM SDS, 32.0 mM Brij35 ve 10.0 mM sodyum dihidrojen fosfat, pH 5.2 Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (5 µm, 150 × 4.6 mm) Akış Hızı: 1.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	3,3-9,9 µg/ml	10.0–700.0 µg/ml	(92)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Bromheksin, Klorfeniramin, Psödoefedrin	Şurup Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 10 mM trietilamin-fosforik asit tampon (pH 4.0) ve MeOH (35:65) Dalgaboyu: 215 nm Kolon: C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1,0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: µl	-	100.0–400.0 mg /L	(93)
Parasetamol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol, 4-klorasetanilid,	Supozituvar	HPLC-PDA	Hareketli Faz: 33 g SDS, 66 g butan-1-ol, 8 g n-oktan içinde 1 lt %0,05 TFA ve asetonitril Dalgaboyu: 220 nm Kolon: C18 (150 mm x 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 5 µl	0.0002 mg /ml 0.0007 mg /ml	0.004–0.02 mg /ml	(94)
Parasetamol, Lornoksikam	Tablet	UPLC-PDA	Hareketli Faz: asetonitril:30mM Amonyum asetat (40:50) Dalgaboyu: 260 nm Kolon: C18 (2.1x50mm, 1.7µm) Akış Hızı: 0.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10µL	85-259 ng/mL	0.5-150 µg/mL	(95)
Parasetamol, Kafein	Kapsül	UPLC-PDA	Hareketli Faz: %0,1 fosforoik asit ve %100 fosfat tampon ile Metanol: Asetonitril (50:50) Dalgaboyu: 275 nm Kolon: C18 (2.1x50mm, 1.7µm) Akış Hızı: 0.5 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 2 µl	-	325-2600 ppm	(96)
Farmasötik Preparatdaki Etken Maddeler	Örnek	Metod	Kromatografik Şartlar	Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı(LOQ)	Kalibrasyon aralığı	Kaynak Numarası

Parasetamol, Kafein, Domperidon, Ergotamin Tartarat, Propifenazon, Drotaverin Hcl	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: 0.02 mol/L tetrabutilamonyum bisülfat ve metanol (100:45) Dalgaboyu: 210 nm Kolon: C18 (150x 4.6 mm, and 5 mm) Akış Hızı: 2 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20 µl	-	20.00–400.00 µg/mL	(97)
Parasetamol, Aseklafenak, Klorzoksazon	Tablet	HPLC-UV	Hareketli Faz: asetonitril: tampon(pH:6,0) Dalgaboyu: 270 nm Kolon: C18, 250 x 4.6 mm, 5 µm Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	-	12.5–100.0 µg/mL	(98)
Parasetamol, Asetilsalisilik Asit, Kafein	Tablet	HPLC-PDA	Hareketli Faz: asidik su/metanol karışımı (60/40) Dalgaboyu: 270nm Kolon: C8 (5 µm, 150 x 4.6 mm) Akış Hızı: 1 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	-	2.5-20 µg/mL	(99)
Parasetamol, İbuprofen	Tablet, Süspansiyon	HPLC-UV	Hareketli Faz: 50 mM fosfat tamponu (pH 7.5) ve metanol Dalgaboyu: 220 nm Kolon: C18 (250 mm, 4.6 mm, 5 µm) Akış Hızı: 1.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 20.0 µl	0.08-0.26 mg/L	0.25 – 250 mg/L	(100)
Parasetamol, Famotidin, Diklofenak	Tablet, Ampul	HPLC-UV	Hareketli Faz: Metanol ve 0.01 M sodyum dihidrojen fosfat (80:20, v/v) pH 3.5 Dalgaboyu: 280 nm Kolon: C8 (250 mm × 4.6 mm, 5-µm) Akış Hızı: 1.0 mL/dk Enjeksiyon Hacmi: 10 µl	2,94- 8.93 µg/mL	10-300 µg/mL	(101)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve A.Ş. Esenyurt Ar-Ge merkezinde ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarında 2017-2020 yılları arasında yapılmıştır.

3.1. Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Fenilefrin hidroklorür (Divi's Laboratories Ltd, Hindistan)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık C (Divi's Laboratories Ltd, Hindistan)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık E (Divi's Laboratories Ltd, Hindistan)

Feniramin maleat safsızlık A CRS(Ph.Eur. Reference Standard, Strasbourg, France)

Feniramin maleat safsızlık B (Toronto Research Chemicals, Toronto, Canada)

Feniramin maleat (Supriya Lifescience Ltd Hindistan)

Parasetamol safsızlık J (Merck Chemicals GmbH,Darmstadt,Germany)

Parasetamol safsızlık K (Merck Chemicals GmbH,Darmstadt,Germany)

Parasetamol safsızlık F(LGC Standards Ltd, Teddington,Middlesex, United Kingdom)

Parasetamol (Atabay İlaç A.Ş., Türkiye)

Askorbik asit safsızlık C CRS(Ph.Eur. Reference Standard, Strasbourg, France)

Askorbik asit safsızlık D CRS(Ph.Eur. Reference Standard, Strasbourg, France)

Askorbik asit (Aland (Jiangsu) Nutraceutical Co.Ltd, Çin)

Benet Vitacid tek kullanımlık toz içeren saşe (Abdi İbrahim, Gürcistan)

Fluaway Hot tek kullanımlık toz içeren saşe (Abdi İbrahim, Kazakistan)

Asetonitril (HPLC saflıkta) (Merck Chemicals GmbH,Darmstadt,Germany)

Metanol (HPLC saflıkta) (Merck Chemicals GmbH,Darmstadt,Germany)

Yüksek saflıkta su (HPLC saflıkta)

Fosforik asit (Merck Chemicals GmbH,Darmstadt,Germany)

3.2. Çözeltiler

3.2.1. Hareketli Fazlar

Hareketli faz A: (pH 3.0 - 10 mM potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisi) 6,8 gr potasyum dihidrojen fosfat 1000 mL saf su eklenerek çözülür, pH 3.0 ± 0.05 e fosforik asit ile ayarlanır. 0.45 µm filtreden süzülerek degaze edilir.

Hareketli faz B: Metanol

Çözücü karışımı: pH 3,0 tampon çözeltisi:metanol (80:20) oranında karıştırılır.

3.2.2. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini Analizi İçin Hazırlanan Çözeltiler

Parasetamol stok standart çözelti hazırlığı: 25 mg Parasetamol standardı tartıldı. 5 mL lik balon jojeye aktarıldı. 2 mL metanol ile çözüldükten sonra geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. ($C_{\text{parasetamol}}: 5000 \mu\text{g/mL}$)

Fenilefrin hidroklorür stok standart çözelti hazırlığı: 10 mg fenilefrin hidroklorür standardı tartıldı. 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı. 20 mL metanol ilave edip çözdükten sonra hacmine hareketli faz A ile tamamlandı. ($C_{\text{fenilefrin hidroklorür}}: 100 \mu\text{g/mL}$).

Feniramin maleat stok standart çözelti hazırlığı: 10 mg feniramin maleat standardı tartıldı. 50 mL'lik balon jojeye aktarıldı. 20 mL metanol ilave edip çözdükten sonra hacmine hareketli faz A ile tamamlandı. ($C_{\text{feniramin maleat}}: 200 \mu\text{g/mL}$).

Askorbik asit stok standart çözelti hazırlığı: 10 mg Askorbik Asit standardı tartıldı. 20 mL'lik balon jojeye aktarıldı. 5 mL metanol ilave edip çözdükten sonra hacmine hareketli faz A ile tamamlandı. ($C_{\text{askorbik asit}}: 500 \mu\text{g/mL}$).

Dört etken maddeyi içeren miktar tayini standartı çözelti hazırlığı: Stok standart çözeltilerinin her birinden 1'er mL alınarak 5 mL lik balon jojeye aktarıldı. Geri kalan kısmı çözücü karışımı karışımı ile hacmine tamamlandı. ($C_{\text{parasetamol}}: 1000 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{Fenilefrin Hidroklorür}}: 20 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{feniramin maleat}}: 40 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{askorbik asit}}: 100 \mu\text{g/mL}$)

Miktar tayini numune çözeltisi hazırlığı: Bölüm 3.2.3 deki numune çözeltisinden 1 mL alınıp 5 mL lik balon jojeye aktarıldı, hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. ($C_{\text{parasetamol}}: 1000 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{fenilefrin hidroklorür}}: 20 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{feniramin maleat}}: 40 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{askorbik asit}}: 100 \mu\text{g/mL}$)

3.2.3. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlıklarının Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler

Dört etken maddeyi içeren safsızlık standartı çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.2. de hazırlanan dört etken maddeyi içeren miktar tayini standart çözeltisinden 1 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye aktarıldı. Geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. (C_{parasetamol}: 10 µg/mL, C_{fenilefrin hidroklorür}: 0,2 µg/mL, C_{feniramin maleat}: 0,4 µg/mL, C_{askorbik asit}: 1,0 µg/mL)

Safsızlık tayini numune çözeltisi hazırlığı: 2 adet saşe içeriği (1000 mg parasetamole, 20 mg fenilefrin hidroklorüre, 40 mg feniramin maleata, 100 mg askorbik asite eşdeğer) 200 mL'lik balon jojeye tartıldı, üzerine çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm' de 20 dakika çalkalandı. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. (C_{parasetamol}: 5000 µg/mL, C_{fenilefrin hidroklorür}: 100 µg/mL, C_{feniramin maleat}: 200 µg/mL, C_{askorbik asit}: 500 µg/mL)

Plasebo hazırlığı: Etken maddeleri içermeyen 2 adet saşe içeriğine denk gelen kısım 200 mL'lik balon jojeye tartıldı, üzerine 150 mL çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm' de 20 dakika çalkalandı. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi.

3.2.4. Askorbik Asit Safsızlıkların Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler

Standart çözelti hazırlığı: 10 mg Askorbik Asit standardı tartıldı. 10 mL'lik balon jojeye aktarıldı. 5 mL metanol ilave edip çözdükten sonra hacmine hareketli faz A ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 1 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine hareketli faz A çözeltisi ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 1 mL alınarak 100 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. (C_{askorbik asit}: 1,0 µg/mL).

Plasebo hazırlığı: Bölüm 3.2.3 deki gibi hazırlanır.

Numune Çözeltisi: Bölüm 3.2.3 deki gibi hazırlanır.

3.3. Aletler ve Diğer Gereçler

1. Waters Acquity UPLC H-Class System UV ve PDA dedektörlü (Milford, ABD)

- Yüksek basınçlı pompa 2695
- Soğutuculu Otomatik Örnekleyici 2695
- Kolon Fırını 186001791
- Dedektör UV/Visible 2487
- Dedektör PDA (Diyod Sıralı Dedektör) 2996
- Empower Yazılımı (Versiyon 2)
- Empower Yazılımı (Versiyon 3)
- Entegre Bilgisayar (İntel Pentium Core 2 işlemci, 2048 MB Ram)
- Yazılımlar:
 - MS Office XP Excel
 - MS Office XP Word

2. UPLC/HPLC Kolonları:

- Waters BEH C18 UPLC (100 mm x 2,1 mm iç çap, 1,7 μ m)(Milford, Massachusetts, ABD)
- Agilent Zorbax NH₂ (250 mm x 4,6 mm iç çap, 5 μ m) (Kaliforniya, ABD)

3. Elga Purelab Flex 2 Su Saflaştırma Sistemi (Saint-Maurice, Fransa)

4. Millipore numune süzme filtresi 0,45 μ m (Massachusetts, ABD)

5. Millipore hareketli faz süzme filtresi 0,45 μ m (Massachusetts, ABD)

6. Metrohm 780 pH metre (Herisau, İsviçre)

7. Karıştırıcılar:

- Heidolph Manyetik Karıştırıcı MR 3001 (Schwabach, Almanya)
- Thermomac Çalkalayıcı (DSL 500)

8. Analitik Teraziler

- Mettler Toledo AX204 Terazi (Goettingen, Almanya)

- Mettler Toledo UMX-2 Terazi (Goettingen, Almanya)
- 9. Eppendorf Otomatik Pipetler (Hamburg, Almanya)
- 10. Transonic 890 Ultrasonik Banyo
- 11. Waters Vida kapaklı HPLC Vialleri 2 mL (Massachusetts, ABD)
- 12. Cam Malzemeler:
 - Isolab Balonjoje (5, 10, 100, 200, 250 mL) (Wertheim, Almanya)
 - Isolab Mezür (50 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL) (Wertheim, Almanya)
 - Isolab Beher (200 mL, 500 mL, 1000 mL) (Wertheim, Almanya)

3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi ile İlgili Çalışmalar

3.4.1. Hareketli Faz Seçimi

Dört etken maddeye ait çözünürlük, polarite özellikleri ve literatürde etken maddelerin analizlerine ait metodlar incelenerek kromatografi çalışmalarında kullanılacak hareketli faz karışımları belirlendi. Bunun için çeşitli konsantrasyonlarda ve pH değerlerinde tampon çözeltiler ve organik çözücüler farklı yüzde oranlarda hazırlanarak kullanıldı. Dört etken madde için hem miktar tayini yönteminde hem de safsızlık yönteminde ortak kullanılabilinecek, pratik ve ekonomik olacak en uygun hareketli faz seçimini yapabilmek için Tablo 3-1 deki hareketli faz sistemleri denendi.

Tablo 3-1: Hareketli faz belirleme çalışmalarında kullanılan hareketli faz çözücü sistemleri

Çalışma	Hareketli faz A	Hareketli Faz B
1	1-Heptan Sülfonik Asit Sodyum Tuzu kullanılarak hazırlanan pH:2,5 tampon çözeltisi	Asetonitril
2	Potasyum dihidrojen fosfat pH:3.0 tampon çözeltisi	Asetonitril
3	Potasyum dihidrojen fosfat pH:3.0 tampon çözeltisi	Metanol

3.4.2. UPLC/HPLC Gradyent/İzokratik Programının Belirlenmesi

3.4.2.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini ve Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Metodu İçin Yapılan Denemeler:

Deneme 1:

Hareketli faz A: Potasyum dihidrojen fosfat pH:3.0 tampon çözeltisi

Hareketli faz B: Metanol

Akış Hızı: 0,5 mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 20 °C

Numune sıcaklığı: 10.0 °C

Enjeksiyon hacmi: 10.0 µL

Analiz süresi: 10 dk

Tablo 3-2’de gradiyent programı verilmiştir.

Tablo 3-2 Deneme 1’de uygulanan gradiyent program

Zaman (dakika)	% Hareketli Faz A	% Hareketli Faz B
	(h/h)	(h/h)
0.0	100	0
3.0	100	0
5.0	80	20
7.0	80	20
8.0	100	0
10.0	100	0

Deneme 2:

Akış hızı azaltılarak piklerin ayrımının daha iyi gerçekleşmesi hedeflendi. Tablo 3-3’de gradiyent programı verilmiştir.

Hareketli faz A: Potasyum dihidrojen fosfat pH:3.0 tampon çözeltisi

Hareketli faz B: Metanol

Akış Hızı: 0,2 mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 20 °C

Numune sıcaklığı: 10.0 °C

Enjeksiyon hacmi: 10.0 µL

Analiz süresi: 10 dk

Tablo 3-3 Deneme 2’de uygulanan gradiyent program

Zaman (dakika)	% Hareketli Faz A	% Hareketli Faz B
	(h/h)	(h/h)
0.0	100	0
3.0	100	0
5.0	80	20
7.0	80	20
8.0	100	0
10.0	100	0

Deneme 3:

Elüsyon süresinin kısaltılması hedeflendi. Daha iyi bir ayırım için farklı gradiyent oranları ve akış hızı denendi. Tablo 3-5’de gradiyent programı verilmiştir. Tablo 3-4’de gradiyent programı verilmiştir.

Hareketli faz A: Potasyum dihidrojen fosfat pH:3.0 tampon çözeltisi

Hareketli faz B: Metanol

Akış Hızı: 0,3 mL/dakika

Kolon fırın sıcaklığı: 20 °C

Numune sıcaklığı: 10.0 °C

Enjeksiyon hacmi: 10.0 µL

Analiz süresi: 9 dk

Tablo 3-4 Deneme 3 de uygulanan gradiyent program

Zaman (dakika)	% Hareketli Faz A	% Hareketli Faz B
	(h/h)	(h/h)
0.00	100	0
3.0	100	0
5.0	60	40
7.0	60	40
8.0	100	0
9.0	100	0

Deneme 1, 2 ve 3 sonucunda elde edilen veriler Bölüm 4.1.2’de verilmiştir.

3.4.2.2. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Metodu İçin Yapılan Denemeler:

Literatür çalışmaları incelenerek askorbik asit safsızlıklarının analizi için belirlenen kromatografik şartlar aşağıda verilmiştir.

Deneme 1:

Kolon	: Agilent Zorbax SB C18 (250 mm × 4,6 mm), 5,0 µm
Kolon sıcaklığı	: 45.0 °C
Numune sıcaklığı	: 4.0 °C
Akış hızı	: 1.0 mL/dak
Dalga boyu	: 210 nm
Enjeksiyon hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 10 dk
Hareketli faz	: pH 3,0 Tampon Çözeltisi: Asetonitril (75:25)

Deneme 2:

C18 kolon ile pik elde edilemediği için farklı kolon denendi.

Kolon	: Thermo Hypersil BDS C8 (250 mm × 4,6 mm), 5,0 µm
Kolon sıcaklığı	: 45.0 °C
Numune sıcaklığı	: 4.0 °C
Akış hızı	: 1.0 mL/dak
Dalga boyu	: 210 nm
Enjeksiyon hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 10 dk
Hareketli faz	: pH 3,0 Tampon Çözeltisi: Metanol (75:25)

Deneme 3:

C8 kolon ile pik elde edilemediği için farklı kolon denendi.

Kolon	: Agilent Zorbax NH ₂ (250 mm × 4,6 mm), 5,0 µm
Kolon sıcaklığı	: 45.0 °C
Numune sıcaklığı	: 4.0 °C
Akış hızı	: 1.0 mL/dak
Dalga boyu	: 210 nm
Enjeksiyon hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 10 dk
Hareketli faz	: pH 3,0 Tampon Çözeltisi: Metanol (60:40)

Deneme 4:

Piklerin daha iyi ayrımı için akış hızı azaltıldı, elüsyon süresi uzatıldı.

Kolon	: Agilent Zorbax NH ₂ (250 mm × 4,6 mm), 5,0 µm
Kolon sıcaklığı	: 45.0 °C
Numune sıcaklığı	: 4.0 °C
Akış hızı	: 0,5 mL/dak
Dalga boyu	: 210 nm
Enjeksiyon hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 12 dk
Hareketli faz	: pH 3,0 Tampon Çözeltisi: Metanol (50:50)

Deneme 5:

Hareketli faz B olarak metanol denendi. Elüsyon süresi uzatıldı.

Kolon	: Agilent Zorbax NH ₂ (250 mm × 4,6 mm), 5,0 µm
Kolon sıcaklığı	: 45.0 °C
Numune sıcaklığı	: 4.0 °C
Akış hızı	: 0.5 mL/dak
Dalga boyu	: 210 nm
Enjeksiyon hacmi	: 10.0 µL
Analiz süresi	: 15 dk
Hareketli faz	: pH 3,0 Tampon Çözeltisi: Metanol (50:50)

Deneme 1, 2, 3, 4 ve 5 sonucunda elde edilen veriler Bölüm 4.1.2’de verilmiştir.

3.4.3. Kolon Seçimi

Literatür çalışmaları incelenerek belirlenen kolonlar ile çalışmalar yapıldı. Çalışmada kullanılan kolonlar Tablo 3-5 de verildi. Yapılan denemelerde alan, kuyruklanma faktörü, teorik plaka sayısı gibi sistem uygunluk parametreleri belirlendi. Sonuçlar bölüm 4.1.3’de verilmiştir.

Tablo 3-5 Çalışmada kullanılan UPLC kolonlarının özellikleri

Kolon	Uzunluk (mm)	Çap (mm)	Por Ölçüsü (μ m)	İç yüzey alanı (m ² /g)	End- capping*	Karbon yükü oranı (%)
Waters BEH C18	50	2,1	1,7	185	Var	18
Waters BEH C18	100	2,1	1,7	185	Var	18
Waters Phenyl	50	2,1	1,7	185	Var	15
Waters Phenyl Hexyl	50	2,1	1,7	185	Var	14

* Kolonların daha simetrik pik vermesi için üreticinin yapmış olduğu kimyasal işlem.

Tablo 3-6 Çalışmada kullanılan HPLC kolonlarının özellikleri

Kolon	Uzunluk (mm)	Çap (mm)	Por Ölçüsü (μ m)	İç yüzey alanı (m ² /g)	End- capping*	Karbon yükü oranı (%)
Agilent Zorbax SB C18	250	4,6	5	180	Yok	10
Thermo Hypersil BDS C8	250	4,6	5	170	Var	7
Agilent Zorbax NH ₂	250	4,6	5	320	Var	20

* Kolonların daha simetrik pik vermesi için üreticinin yapmış olduğu kimyasal işlem.

3.4.4. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi

Etken maddelere ait molekül yapılarına dair bilgiler ve literatür taramaları göz önünde bulundurularak UV ve PDA detektörler denendi. PDA dedektörlerde etken maddelere ait belirli konsantrasyonlardaki çözeltilerin UV spektrumları alınarak dalga boyu taraması yapıldı ve maksimum absorbans veren dalga boyları belirlendi.

3.4.5. Safsızlık Limitlerinin Belirlenmesi

Bir farmasötik preparatta bulunması muhtemel olan, ilaç ürünün kalitesi, saklama koşulları gibi endüstriyel açıdan takip edilmesi gereken önemli alanların yanı sıra öncelikle insan sağlığını olumsuz etkileyebileceği düşünülen istenmeyen yabancı kirlilik olarak tanımlayabileceğimiz safsızlıkların farmasötik preparatın günlük alınabileceği maksimum doza göre en fazla bulunabileceği limitlerin belirlenmesinde EMA (Avrupa Tıbbi Ürünler Ajansı) tarafından yayınlanan ICH (Uluslararası Harmonizasyon Konferansı) Q3B (R2) (102)

rehberine göre çalışmada yer alan etken maddelere ait Avrupa Farmakopesi'nde (Ph.Eur) tanımlanmış olan safsızlık limitleri hesaplanmıştır. Ayrıntılı sonuçlar Bölüm 4.1.5 de yer almaktadır.

3.5. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

Yöntem geliştirme çalışmaları tamamlandıktan ve final analitik yönetime ulaşıldıktan sonra yöntem validasyonu güncel ICH Kılavuzu Q2 (R1)'ye göre yapıldı (103).

3.5.1. Seçicilik

Seçicilik, numune matrisinde bulunan diğer bileşenlerin varlığında ilgilenilen analitin doğru, spesifik ve ayrı olarak ölçülebilmesidir. (103).

3.5.1.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini Seçicilik Parametresi İçin Hazırlanan Çözeltiler:

Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi standart ve numune çözeltileri hazırlandı. Diğer seçicilik çözeltileri de aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlandı.

Parasetamol standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.3 de hazırlanan stok standart çözeltisi gibi hazırlandı. ($C_{\text{parasetamol}}: 1000 \mu\text{g/mL}$)

Fenilefrin hidroklorür stok standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi hazırlandı.

Fenilefrin hidroklorür standart çözelti hazırlığı: Fenilefrin hidroklorür stok standart çözeltisinden 1 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı, geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. 0.45 μm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. ($C_{\text{fenilefrin hidroklorür}}: 20 \mu\text{g/mL}$)

Feniramin maleat stok standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi hazırlandı.

Feniramin maleat standart çözelti hazırlığı: Feniramin maleat stok standart çözeltisinden 1 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı, geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. 0.45 μm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. ($C_{\text{feniramin maleat}}: 40 \mu\text{g/mL}$)

Askorbik asit stok standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi hazırlandı.

Askorbik asit standart çözelti hazırlığı: Askorbik Asit stok standart çözeltisinden 1 mL alınarak 10 mL balon jöjeye aktarıldı, geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzöldü ve sisteme enjekte edildi. (C askorbik asit: 100 µg/mL)

Parasetamol safsızlık K stok standart çözeltisi: 2.5 mg Parasetamol Safsızlık K Standardı 25 mL' lik balon jöjeye hassas olarak tartılır. Üzerine 20 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. (Cparasetamol safsızlık K: 100 µg/mL)

Parasetamol safsızlık K standart çözeltisi: Parasetamol Safsızlık K Stok Standart Çözetisinin 1 mL' si 50 mL' lik balon jöjeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzölür ve sisteme enjekte edilir.(Cparasetamol safsızlık K: 2 µg/mL)

Parasetamol safsızlık J stok standart çözeltisi: 2.5 mg Parasetamol Safsızlık J Standardı 25 mL' lik balon jöjeye hassas olarak tartılır. Üzerine 20 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. (Cparasetamol safsızlık J: 100 µg/mL)

Parasetamol safsızlık J standart çözeltisi: Parasetamol Safsızlık J Stok Standart Çözetisinin 1.0 mL' si 50 mL' lik balon jöjeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzölür ve sisteme enjekte edilir.(Cparasetamol safsızlık J: 2 µg/mL))

Parasetamol safsızlık F stok standart çözeltisi: 2.5 mg Parasetamol Safsızlık F Standardı 25 mL' lik balon jöjeye hassas olarak tartılır. Üzerine 20 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. (Cparasetamol safsızlık F: 100 µg/mL)

Parasetamol safsızlık F standart çözeltisi: Parasetamol Safsızlık F Stok Standart Çözetisinin 1 mL' si 50 mL' lik balon jöjeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzölür ve sisteme enjekte edilir. (Cparasetamol safsızlık F: 2 µg/mL)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık C stok standart çözeltisi: 2.0 mg Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C Standardı 20 mL' lik balon jöjeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jöjeye

aktarılarak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. ($C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık C}}: 10 \mu\text{g/mL}$)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık C standart çözeltisi: Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C Stok Standart Çözetisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 μm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. ($C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık C}}: 0,1 \mu\text{g/mL}$)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık E stok standart çözeltisi: 2.0 mg Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E Standardı 20 mL' lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL metanol ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jojeye aktarılarak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. ($C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık E}}: 10 \mu\text{g/mL}$)

Fenilefrin hidroklorür safsızlık E standart çözeltisi: Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E Stok Standart Çözetisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 μm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. ($C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık E}}: 0,1 \mu\text{g/mL}$)

Feniramin maleat safsızlık A stok standart çözeltisi: 2.0 mg Feniramin Maleat Safsızlık A Standardı 20 mL' lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jojeye aktarılarak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. ($C_{\text{feniramin maleat safsızlık A}}: 10 \mu\text{g/mL}$)

Feniramin maleat safsızlık A standart çözeltisi: Feniramin Maleat Safsızlık A Stok Standart Çözeltisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 μm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. ($C_{\text{feniramin maleat safsızlık A}}: 0,1 \mu\text{g/mL}$)

Feniramin maleat safsızlık B stok standart çözeltisi: 2.0 mg Feniramin Maleat Safsızlık B Standardı 20 mL' lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jojeye aktarılarak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. ($C_{\text{feniramin maleat safsızlık B}}: 10 \mu\text{g/mL}$)

Feniramin maleat safsızlık B standart çözeltisi: Feniramin Maleat Safsızlık B Stok Standart Çözeltisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile

tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. (C_{feniramin maleat safsızlık B}: 0,1 µg/mL)

Askorbik asit safsızlık C stok standart çözeltisi: 2.0 mg Askorbik Asit Safsızlık C Standardı 20 mL' lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jojeye aktararak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. (C_{askorbik asit safsızlık C}: 10 µg/mL)

Askorbik asit safsızlık C standart çözeltisi: Askorbik Asit Safsızlık C Stok Standart Çözeltisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. (C_{askorbik asit safsızlık C}: 1,0 µg/mL)

Askorbik asit safsızlık D stok standart çözeltisi: 2.0 mg Askorbik Asit Safsızlık D Standardı 20 mL' lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 10 mL çözücü karışımı ilave edilir, 5 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. Hazırlanan çözeltinin 1 mL' si 10 mL' lik balon jojeye aktararak hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. (C_{askorbik asit safsızlık D}: 10 µg/mL)

Askorbik asit safsızlık D standart çözeltisi: Askorbik Asit Safsızlık D Stok Standart Çözeltisinin 1 mL' si 100 mL' lik balon jojeye aktarılır. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir. (C_{askorbik asit safsızlık D}: 1,0 µg/mL)

Plasebo çözeltisi hazırlığı: Bölüm 3.2.3 deki gibi hazırlanır.

Safsızlık eklenmiş numune çözeltisi hazırlığı: 5 adet saşe içeriği (2500 mg Parasetamol' e, 50 mg Fenilefrin Hidroklorür' e, 100 mg Feniramin Maleat' a, 250 mg Askorbik Asit' e eşdeğer) 500 mL' lik balon jojeye tartıldı, üzerine 200 mL methanol ve 200 mL çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm' de 20 dakika çalkalandı. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. Hazırlanan çözeltiden 20 mL alınıp 100 mL'lik balon jojeye aktarılır. Üzerine Parasetamol safsızlık stok standartlarından 2.5'şer mL, Fenilefrin Hidroklorür safsızlık stok standartlarından 1'er mL, Feniramin Maleat safsızlık stok standartlarından 1.0'er mL ve Askorbik Asit safsızlık stok standartlarından 1.0'er mL eklenir. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanarak karıştırılır. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. (C_{parasetamol}: 1000 µg/mL, C_{fenilefrin hcl}: 20 µg/mL, C_{feniramin maleat}: 40 µg/mL, C_{askorbik asit}: 100 µg/mL, C_{parasetamol safsızlık K}: 2 µg/mL, C_{parasetamol safsızlık J}: 2

$\mu\text{g/mL}$, $C_{\text{parasetamol safsızlık F: } 2 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık C: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık E: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{feniramin maleat safsızlık A: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{feniramin maleat safsızlık B: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{askorbik asit safsızlık C: } 1,0 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{askorbik asit safsızlık D: } 1,0 \mu\text{g/mL}}$)

3.5.1.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayini Seçilik Parametresi İçin Hazırlanan Çözeltiler:

Bölüm 3.2.3’de anlatıldığı gibi standart, numune ve plasebo çözeltisi, Bölüm 3.5.1.1’de anlatıldığı gibi safsızlık stok çözeltileri hazırlanır. Diğer seçicilik çözeltileri de aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlanır.

Safsızlık eklenmiş numune çözeltisi hazırlığı: 2 adet saşe içeriği (1000 mg parasetamol’ e, 20 mg fenilefrin hidroklorüre, 40 mg feniramin maleat’ a, 100 mg askorbik asit’ e eşdeğer) 100 mL’ lik balon jojeye tartıldı, üzerine 30 mL metanol ve 30 mL çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm’ de 20 dakika çalkalandı. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. Hazırlanan çözeltiden 25 mL alınıp 50 mL’lik balon jojeye aktarılır. Üzerine parasetamol safsızlık stok standartlarından 2,5’ar ml, fenilefrin hidroklorür safsızlık stok standartlarından 1,0’er ml, feniramin maleat safsızlık stok standartlarından 1,0’er ml ve askorbik asit safsızlık stok standartlarından 1,0’er mL eklenir. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanarak karıştırılır. 0,45 μm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi.

($C_{\text{parasetamol: } 5000 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{fenilefrin hcl: } 100 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{feniramin maleat safsızlık: } 200 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{askorbik asit: } 500 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{parasetamol safsızlık K: } 2 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{parasetamol safsızlık J: } 2 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{parasetamol safsızlık F: } 2 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık C: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{fenilefrin hcl safsızlık E: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{feniramin maleat safsızlık A: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{feniramin maleat safsızlık B: } 0,1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{askorbik asit safsızlık C: } 1 \mu\text{g/mL}}$, $C_{\text{askorbik asit safsızlık D: } 1 \mu\text{g/mL}}$)

3.5.1.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Seçilik Parametresi İçin Hazırlanan Çözeltiler:

Bölüm 3.2.4’de anlatıldığı gibi standart, numune ve plasebo çözeltisi, Bölüm 3.5.1.1’de anlatıldığı gibi safsızlık stok çözeltileri hazırlandı. Diğer seçicilik çözeltileri de aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlandı.

Safsızlık eklenmiş numune çözeltisi hazırlığı: Bölüm 3.5.1.2 de anlatıldığı şekilde hazırlanır.

İşlem:

Hazırlanan tüm çözeltilerden sisteme enjeksiyon verilerek sistem uygunluk ve seçicilik parametleri değerlendirilir.

Kabul Kriteri:

-Standart ve numune çözeltisi kromatogramlarında etken madde piklerinin alıkonma zamanlarında (RT) herhangi bir girişim olmamalıdır.

-Standart ve numune çözeltisi kromatogramlarında etken madde pikleri için purity angle < purity threshold olmalıdır.

3.5.2. Doğrusallık ve Aralık

Bir analitik metodun doğrusallığı, numune çözeltisindeki analiz edilen maddenin konsantrasyonuna karşı elde edilen test sonucunun belirli bir aralık içinde doğrusal olması olarak açıklanır (103).

3.5.2.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini Metodu için Doğrusallık:

Lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için % 50 konsantrasyon ile % 150’u konsantrasyon arasında 6 farklı konsantrasyonda (% 50, %70, % 90, % 100, % 120, % 150) hazırlanan çözeltiilerden 6 şar ardışık enjeksiyon yapıldı, pik alanları ölçüldü. Elde edilen verilerle doğrusallık grafikleri elde dildi.

Stok standart çözeltisi: 200 mg parasetamol, 4 mg fenilefrin hidroklorür, 8 mg feniramin maleat ve 20 mg askorbik asit standardı 100 ml’ lik balon jojeye hassas olarak tartılır. Üzerine 25 mL çözücü karışımı ilave edilir, 10 dakika boyunca ultrasonik banyoda çalkalandı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlanır, karıştırılır. ($C_{\text{parasetamol}}$: 2000 $\mu\text{g/mL}$, $C_{\text{fenilefrin HCl}}$: 40 $\mu\text{g/mL}$, $C_{\text{feniramin maleat}}$: 80 $\mu\text{g/mL}$, $C_{\text{askorbik asit}}$: 200 $\mu\text{g/mL}$)

Stok standart çözeltisinden Tablo 3-7 de belirtilen oranlarda çözücü karışımı ile seyreltmeler yapılır. 0.45 μm PVDF filtre ile süzülür ve sisteme enjekte edilir.

Tablo 3-7 Etken maddeler için doğrusallık miktar tayini numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Parasetamol ($\mu\text{g /mL}$)	Fenilefrin Hidroklorür ($\mu\text{g /mL}$)	Feniramin Maleat ($\mu\text{g /mL}$)	Askorbik Asit
% 50	5,0/20	0,5	0,010	0,020	0,05
% 70	7,0/20	0,7	0,014	0,028	0,07
% 90	9,0/20	0,9	0,018	0,036	0,09
% 100	5,0/10	1,0	0,020	0,040	0,10
% 120	6,0/10	1,2	0,024	0,048	0,12
% 150	7,5/10	1,5	0,030	0,060	0,15

% 50 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 5 mL alınarak 20 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

% 70 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 7 mL alınarak 20 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

% 90 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 9 mL alınarak 20 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

% 100 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 5 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

% 120 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 6 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

% 150 standart çözeltisi: Stok standart çözeltisinden 7.5 mL alınarak 10 mL balon jojeye aktarıldı ve hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı.

3.5.2.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin HCl Safsızlık Tayini Metodu İçin Doğrusallık:

Lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için parasetamol, fenilefrin hidroklorür, feniramin maleat ve safsızlıkları LOQ seviyesinde konsantrasyon ile % 150 konsantrasyon arasında 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan safsızlık çözeltilerden 6 şar ardışık enjeksiyon yapıldı, pik alanları ölçülür. Elde edilen verilerle doğrusallık grafikleri elde dildi.

Stok standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.5.1.1’de anlatıldığı gibi safsızlık stok çözeltileri

hazırlanır. Her bir stok standart çözeltisinden 1'er mL alınarak 25 mL'lik balon jojeye aktarıldı. Geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. (C_{parasetamol}: 40 µg/mL, C_{fenilefrin hidroklorür}: 0,8 µg/mL, C_{feniramin maleat}:1,6 µg/mL, C_{parasetamol safsızlık K}: 40 µg/mL, C_{parasetamol safsızlık J}: 40 µg/mL, C_{parasetamol safsızlık F}: 0,04 µg/mL, C_{fenilefrin HCl safsızlık C}: 0,8 µg/mL, C_{fenilefrin HCl safsızlık E}: 0,8 µg/mL, C_{feniramin maleat safsızlık A}: 1,6 µg/mL, C_{feniramin maleat safsızlık B}: 1,6 µg/mL)

Stok standart çözeltisinden Tablo 3-8, Tablo 3-9, Tablo 3-10, Tablo 3-11, de belirtilen oranlarda çözücü karışımı ile seyreltmeler yapıldı. LOQ seviyesinde konsantrasyonlar için doğrusallık grafiğinden hesaplanan konsantrasyonlar için ayrıca seyreltmeler yapıldı.

Tablo 3-8 Etken maddeler için doğrusallık safsızlık tayini numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Parasetamol (µg /mL)	Fenilefrin Hidroklorür (µg /mL)	Feniramin Maleat (µg /mL)
LOQ*	6/100	2,4	0,05	0,08
30	7,5/100	3	0,06	0,12
50	2,5/20	5	0,10	0,20
80	4/20	8	0,16	0,32
100	5/20	10	0,20	0,40
150	15/20	15	0,30	0,60

Tablo 3-9 Parasetamol safsızlıklar için doğrusallık numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Parasetamol Safsızlık J (µg /mL)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Parasetamol Safsızlık K (µg /mL)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Parasetamol Safsızlık F (µg /mL)
LOQ	4,4/100	3,5	LOQ	2,6/20	1,7	LOQ	1,5	0,9
40	5/100	4,0	30	5/20	3,0	30	5/20	3,0
50	2,5/20	5	50	2,5/20	5	50	2,5/20	5
80	4/20	8	80	4/20	8	80	4/20	8
100	5/20	10	100	5/20	10	100	5/20	10
150	15/20	15	150	15/20	15	150	15/20	15

Tablo 3-10 Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için doğrusallık numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C (µg /mL)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E (µg /mL)
LOQ	7,5/200	0,02	LOQ	3,5/50	0,02
30	7,5/100	0,06	30	7,5/100	0,06
50	2,5/20	0,10	50	2,5/20	0,10
80	4/20	0,16	80	4/20	0,16
100	5/20	0,20	100	5/20	0,20
150	15/20	0,30	150	15/20	0,30

Tablo 3-11 Feniramin maleat safsızlıkları için doğrusallık numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	FeniraminMaleat Safsızlık A (µg /mL)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme oranı (mL/mL)	Feniramin Maleat Safsızlık B (µg /mL)
LOQ	2,8/20	0,11	LOQ	1/20	0,03
30	3/20	0,12	30	3/20	0,12
50	2,5/20	0,20	50	2,5/20	0,20
80	4/20	0,32	80	4/20	0,32
100	5/20	0,40	100	5/20	0,40
150	15/20	0,60	150	15/20	0,60

3.5.2.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Metodu İçin Doğrusallık:

Lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için Askorbik Asit ve Safsızlıkları LOQ seviyesinde konsantrasyon ile % 150 konsantrasyon arasında 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan safsızlık çözeltilerden 6 şar ardışık enjeksiyon yapıldı, pik alanları ölçüldü. Elde edilen verilerle doğrusallık grafikleri elde dildi.

Askorbik asit stok standart çözelti hazırlığı: Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı gibi hazırlandı

Askorbik asit safsızlık C stok standart çözelti hazırlığı: 5 mg Askorbik Asit Safsızlık C

standardı tartıldı. 5 mL’lik balon jojeye aktarıldı. 3 mL çözücü karışımı ilave edip çözdükten sonra hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı. ($C_{\text{askorbik asit safsızlık C}}: 1000 \mu\text{g/mL}$).

Askorbik asit safsızlık D stok standart çözelti hazırlığı: 5 mg Askorbik Asit Safsızlık D standardı tartıldı. 5 mL’lik balon jojeye aktarıldı. 3 mL çözücü karışımı ilave edip çözdükten sonra hacmine çözücü karışımı ile tamamlandı. ($C_{\text{askorbik asit safsızlık D}}: 1000 \mu\text{g/mL}$).

Stok standart çözelti hazırlığı: Her bir stok standart çözeltisinden 1’er mL alınarak 25 mL’lik balon jojeye aktarıldı. Geri kalan kısmı çözücü karışımı ile hacmine tamamlandı. ($C_{\text{askorbik asit}}: 4,0 \mu\text{g/mL}$, $C_{\text{askorbik asit safsızlık C}}: 4,0 \mu\text{g/mL}$; $C_{\text{askorbik asit safsızlık D}}: 4,0 \mu\text{g/mL}$).

Stok standart çözeltisinden Tablo 3-12 de belirtilen oranlarda çözücü karışımı ile seyreltmeler yapıldı. LOQ seviyesinde konsantrasyonlar için doğrusallık grafiğinden hesaplanan konsantrasyonlar için ayrıca seyreltmeler yapıldı.

Tablo 3-12 Askorbik asit ve safsızlıkları için doğrusallık numuneleri hazırlama tablosu

Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme (mL/mL)	Askorbik Asit ($\mu\text{g/mL}$)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme (mL/mL)	Askorbik Asit Safsızlık C ($\mu\text{g/mL}$)	Lineerite Seviyesi (%)	Seyreltme (mL/mL)	Askorbik Asit Safsızlık D ($\mu\text{g/mL}$)
LOQ	7,5/200	0,16	LOQ	1,3/20	0,08	LOQ	2,6/20	0,17
30	7,5/100	0,3	30	5/20	0,3	30	5/20	0,3
50	2,5/20	0,5	50	2,5/20	0,5	50	2,5/20	0,5
80	4/20	0,8	80	4/20	0,8	80	4/20	0,8
100	5/20	1,0	100	5/20	1,0	100	5/20	1,0
150	15/20	1,5	150	15/20	1,5	150	15/20	1,5

İşlem: Hazırlanan her konsantrasyon seviyesinden 2’şer enjeksiyon yapılarak pik alanları kaydedildi. En küçük kareler yöntemine göre $y = ax + b$ doğrusallık denklemleri elde edildi ve regresyon analizi yapıldı. Sonuçlar ve doğrusallık grafikleri Bölüm 4.2.2 de verilmiştir.

y : alan

a : eğim

b : kesme noktası (intercept)

x : konsantrasyon, $\mu\text{g/mL}$

Kabul Kriteri:

-Tüm pikler için korelasyon katsayısı (r) 0,99 dan az olmamalıdır.

3.5.3. Doğruluk ve Geri Kazanım

Analitik metodun doğruluğu, referans kabul edilen bir değerin, bulunan değere yakınlığıdır (59).

3.5.3.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini Metodu İçin

Bölüm 3.2.2’ de anlatıldığı şekilde standart çözeltisinden hazırlandı.

Numune çözeltisi hazırlığı (3’er adet hazırlanır): Herbir seviye için Tablo 3-13 de belirtilen miktarda hammadde ve plasebosu tartılıp 100 mL’ lik balon jojeye aktarıldı, 50 mL çözücü karışımı eklendi. Manyetik çalkalıyıcıda 300 rpm’de 20 dakika çalkalandı. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp karıştırıldı. Hazırlanan çözeltiden 5 mL alınıp 25 mL’ye çözücü karışımı ile seyreltilip, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi. (C Parasetamol: 1000 µg/mL, C Fenilefrin Hidroklorür: 20 µg/mL, C Feniramin Maleat: 40 µg/mL, C Askorbik Asit: 100 µg/mL)

Tablo 3-13 Etken maddeler için doğruluk miktar tayini numuneleri hazırlama tablosu

Hammadde	% 50’ lik Numune	% 100’ lük Numune	% 150’ lik Numune
Parasetamol, mg	250	500	750
Fenilefrin Hidroklorür, mg	5	10	15
Feniramin Maleat,mg	10	20	30
Askorbik Asit,mg	25	50	75
Plasebo tartımı, mg	4710	4420	4130

3.5.3.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayini Metodu İçin

Bölüm 3.2.3’ de anlatıldığı şekilde standart, ve plasebo çözeltileri hazırlandı. Bölüm 3.5.1.1’de anlatıldığı şekilde safsızlık stok çözeltileri hazırlandı. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlıklarının hepsi için; LOQ seviyesi, % 100 ve % 150 seviyeleri için plasebo çözeltisine Tablo 3-14, Tablo 3-15, Tablo 3-16 deki miktarlarda safsızlık stok çözeltilerinden ilave edilerek her bir seviye için 3’ er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlandı. Numuneden gelen safsızlıkları tespit edebilmek için safsızlık ilave edilmeden ayrıca 2 adet numune hazırlandı.

Geri kazanım numune çözeltilerinin hazırlanışı (% LOQ, % 100, % 150): Her bir geri kazanım çözeltisi seviyesi için bir saşe içeriğine denk gelecek kadar plasebo tozu 200 mL' lik balon jojeye tartıldı, üzerine 150 mL çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm' de 20 dakika çalkalandı. Üzerine aşağıda belirtilen hacimde safsızlık stok standart çözeltilerinden eklendi. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi.

Tablo 3-14 Parasetamol safsızlıklar için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu

	Parasetamol Safsızlık Stok				
	Çözeltilerinden Eklenenecek Miktarlar				
	% LOQ			% 100' lük numune	% 150' lik numune
	Safsızlık J	Safsızlık F	Safsızlık K		
Eklenenecek safsızlık stok çözeltileri (mL)	1,25	0,7	0,4	4,0	6,0

Tablo 3-15 Fenilefrin hidroklorür safsızlıklar için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu

	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Stok			
	Çözeltilerinden Eklenenecek Miktarlar			
	% LOQ		% 100' lük numune	% 150' lik numune
	Safsızlık C	Safsızlık E		
Eklenenecek safsızlık stok çözeltileri (mL)	0,3	0,2	2,0	3,0

Tablo 3-16 Feniramin maleat safsızlıklar için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu

	Feniramin Maleat Safsızlık			
	Stok Çözeltilerinden Eklenenecek Miktarlar			
	% LOQ		% 100' lük numune	% 150' lik numune
	Safsızlık A	Safsızlık B		
Eklenenecek safsızlık stok çözeltileri (mL)	0,5	0,1	2,0	3,0

3.5.3.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Metodu İçin

Bölüm 3.2.4’ de anlatıldığı şekilde standart, ve plasebo çözeltileri hazırlandı. Bölüm 3.5.1.1’de anlatıldığı şekilde safsızlık stok çözeltileri hazırlandı. Askorbik safsızlıklarının hepsi için; LOQ seviyesi, % 100 ve % 150 seviyeleri için plasebo çözeltisine Tablo.3-17 deki miktarlarda safsızlık stok çözeltilerinden ilave edilerek her bir seviye için 3’ er adet olmak üzere toplam 9 adet numune hazırlandı. Numuneden gelen safsızlıkları tespit edebilmek için safsızlık ilave edilmeden ayrıca 2 adet numune hazırlandı.

Geri kazanım numune çözeltilerinin hazırlanışı (% LOQ, % 100, % 150): Her bir geri kazanım çözeltisi seviyesi için bir saşe içeriğine denk gelecek kadar plasebo tozu 200 mL’ lik balon jojeye tartıldı, üzerine 150 mL çözücü karışımı eklendi, mekanik çalkalayıcıda 300 rpm’ de 20 dakika çalkalandı. Üzerine Tablo 3-17 deki hacimde safsızlık stok standart çözeltilerinden eklendi. Hacmine çözücü karışımı ile tamamlanıp, karıştırıldı. 0.45 µm PVDF filtre ile süzüldü ve sisteme enjekte edildi.

Tablo 3-17 Askorbik asit safsızlıklar için doğruluk numuneleri hazırlama tablosu

	Askorbik Asit Safsızlık			
	Stok Çözeltilerinden Eklenerek Miktarlar			
	% LOQ		% 100’ lük	% 150’ lik
	Safsızlık C	Safsızlık D	numune	numune
Eklenecek safsızlık stok çözeltileri (mL)	0,15	0,3	2,0	3,0

İşlem:

Standart çözeltisinden 6 adet enjeksiyon yapıldı ve ortalama alanlar elde edildi. 3’er tane hazırlanan her numune çözeltilerinden ikişer kez enjeksiyon yapıldı. % geri kazanımlar, sonuçlar arasındaki standart sapma(SD) ve bağıl standart sapma (% RSD) hesaplanarak kaydedildi. Geri kazanımlar Denklem 3-1’e göre hesaplandı.

$$\text{Geri Kazanım} = \frac{\text{Deneysel Konsantrasyon}}{\text{Teorik Konsantrasyon}} \times 100 \quad (\text{Denklem 3-1})$$

Kabul Kriteri

- Çalışılan her numunenin % geri kazanımı miktar tayini sonuçları için % 98.0 ile % 102.0 ve safsızlık tayini sonuçları için % 95.0 - % 105.0 arasında olmalıdır.
- % Geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) miktar tayini sonuçları için % 2.0’ den, safsızlık tayini sonuçları için % 4.0’ den büyük olmamalıdır.

Geri kazanım sonuçları Bölüm 4.2.3de verilmiştir.

3.5.4. Kesinlik

3.5.4.1. Sistem kesinliği

Kesinlik, analitik bir metodun homojen bir numunenin veya standart çözeltisinin tekrarlı enjeksiyonlarından elde edilen sonuçların arasındaki uyum derecesidir.

Bölüm 3.2 de tarif edildiği şekilde hazırlanan standart çözeltilerinden ardışık 6 enjeksiyon yapıldı. Elde edilen alanlar ile bağıl standart sapma değeri (% RSD), standart sapma (SD) ve pik performans parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4 de verilmiştir.

Kabul Kriteri:

Elde edilen sonuçlar arasında bağıl standart sapma değeri miktar tayini için %2,0 den, safsızlık tayini analizleri için % 4.0'den küçük olmalıdır.

3.5.4.2. Tekrarlanabilirlik

Metodun kesinliği, aynı numuneden alınan veya hazırlanan çok sayıdaki numuneden elde edilen aynı gün içindeki sonuçların birbirlerine olan yakınlığı olarak açıklanır (59).

Bölüm 3.2 de anlatıldığı şekilde miktar tayini için standart ve 6 adet numune, safsızlık tayinleri için plasebo, standart çözeltisi, numune çözeltisi, 6 adet safsızlık eklenmiş numune çözeltileri hazırlandı ve analiz edildi. Sonuçlar konsantrasyon ve % miktar tayini hesaplanarak verildi. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.4' de verilmiştir.

Hesaplama:

$$\% \text{ Parasetamol miktar tayini} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{10} \times P \times \frac{500}{T_N} \times \frac{25}{5} \times \frac{OSA}{E} \times 100$$

$$\% \text{ Fenilefrin hidroklorür miktar tayini} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{50} \times \frac{1}{10} \times P \times \frac{500}{T_N} \times \frac{25}{5} \times \frac{OSA}{E} \times 100$$

$$\% \text{ Feniramin maleat miktar tayini} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{50} \times \frac{1}{10} \times P \times \frac{500}{T_N} \times \frac{25}{5} \times \frac{OSA}{E} \times 100$$

$$\% \text{ Askorbik asit miktar tayini} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{10} \times \frac{1}{10} \times P \times \frac{500}{T_N} \times \frac{25}{5} \times \frac{OSA}{E} \times 100$$

- A_N** : Numune çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki etken madde pik alanı
A_{St} : Standart çözeltisinin 6 ardışık enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki etken madde pik alanı ortalaması
T_{St} : Standart çözeltisindeki etken madde tartımı, mg
T_N : Numune tartımı, mg
OSA : Ortalama saşe ağırlığı, mg
P : Standart potensi, as is
E : Saşe içerisindeki doz miktarı, mg

Parasetamol safsızlıkları için;

$$\% \text{ Safsızlık} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{10} \times \frac{1}{100} \times P \times \frac{200}{T_N} \times \frac{OSA}{E} \times 100 \times RF$$

Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için;

$$\% \text{ Safsızlık} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{100} \times P \times \frac{200}{T_N} \times \frac{OSA}{E} \times 100 \times RF$$

Feniramin Maleat safsızlıkları için;

$$\% \text{ Safsızlık} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{100} \times P \times \frac{200}{T_N} \times \frac{OSA}{E} \times 100 \times RF$$

Askorbik asit safsızlıkları için;

$$\% \text{ Safsızlık} = \frac{A_N}{A_{St}} \times \frac{T_{St}}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{100} \times P \times \frac{200}{T_N} \times \frac{OSA}{E} \times 100 \times RF$$

$$\% \text{ Toplam Safsızlık} = \Sigma \% \text{ Bilinen Safsızlıklar} + \Sigma \% \text{ Bilinmeyen Safsızlıklar}$$

- A_N** : Numune çözeltisinden elde edilen kromatogramdaki safsızlık pik alanı
A_{St} : Standart çözeltisinin 6 ardışık enjeksiyonundan elde edilen kromatogramlardaki etken madde pik alanı ortalaması
T_{St} : Standart çözeltisindeki etken madde tartımı, mg
T_N : Numune tartımı, mg
OSA : Ortalama saşe ağırlığı, mg
P : Standart potensi, as is
E : Saşe içerisindeki doz miktarı, mg (Parasetamol:500 mg, Fenilefrin HCl:10 mg, Feniramin Maleat:20 mg)
RF : Düzeltme Faktörü (Respons faktör) (Sadece bilinen safsızlıklar için kullanılır)

Kabul Kriteri:

Miktar tayini sonuçları arasında % RSD değeri % 2,0 den, safsızlık tayini sonuçları arasındaki % RSD değeri % 4,0 den küçük olmalıdır.

3.5.4.3. Ara kesinlik

Farklı günlerde ve farklı ekipmanlarla gibi rastgele değişimlerden kaynaklanan laboratuvar içi değişikliklerden elde edilen sonuçlar tek tek değişkenlerin varsa etkilerinin izlenebilmesi için gerçekleştirildiği çalışmadır.

Bölüm 3.2’de anlatıldığı şekilde standart, numune ve safsızlık eklenmiş numune çözeltileri hazırlandı ve farklı gün, farklı HPLC cihazında, farklı kolon kullanılarak analiz edildi. Çalışmalarında elde edilen sonuçlar ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması Bölüm 4.2.4. de verilmiştir.

Kabul Kriteri:

Elde edilen sonuçlar arasında bağıl standart sapma değeri miktar tayini analizi için %2,0 den, safsızlık tayini analizleri için % 4.0’dan küçük olmalıdır.

3.5.5. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Bir analitik yöntemin tayin sınırı (LOQ) maddenin kabul edilebilir doğruluk ve tekrarlanabilirlik ile tayin edilebileceği en düşük konsantrasyondur.

Bir yönteme ait gözlenebilme sınırı ise (LOD), yöntem ile gözlemlenebilen ancak kantitatif olarak tayin edilmesi şart olmayan en düşük konsantrasyondur.

LOQ ve LOD değerleri kalibrasyon doğrusunun eğimi ve y eksenini kestiği nokta üzerinden Denklem 3-2 ve 3-3 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Gözlenebilme Sınırı (LOD)} = \frac{3.3\sigma}{S} \quad (\text{Denklem 3-2})$$

$$\text{Tayin Sınırı (LOQ)} = \frac{10\sigma}{S} \quad (\text{Denklem 3-3})$$

σ : Kalibrasyon doğrusunun y kesişiminin standart sapması

m: Kalibrasyon doğrusunun eğimi

-LOQ seviyesi belirlendikten sonra bu seviyede hazırlanan standart çözeltiden ardışık 6 enjeksiyon yapılır. Alanlar kaydedilerek bağıl standart sapma hesaplanır.

-LOD seviyesi belirlendikten sonra bu seviyede hazırlanan standart çözeltiden ardışık 2 enjeksiyon yapılır. Alanlar kaydedilir.

Sonuçlar Bölüm 4.2.5 de verilmiştir.

Kabul Kriteri:

- LOQ değeri olarak belirlenmiş konsantrasyonlarda maddeleri içeren çözeltinin ardışık 6 enjeksiyonu ile elde edilen kromatogramlarda piklere ait alanlar arasındaki % RSD değeri 5,0 dan fazla olmamalıdır.

- LOD seviyesindeki pikler dedekte edilebilir olmalıdır.

3.5.6. Çözelti Stabilitesi

Numune ve standart çözeltilerinin belirlenen koşullarda ne kadar süre ile stabil kaldığının ve ne kadar süre kullanılabilir olduğunun ölçüldüğü çalışmalardır.

İşlem:

Bölüm 3.2’de tarif edildiği şekilde hazırlanan numune ve standart çözeltilerinden taze hazırlanıp başlangıçta, otomatik numune örnekleyicisinde ve oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek belirli zaman aralıklarında 3 er enjeksiyon yapılarak, +4 °C de 1 ay bekletildikten sonra 3 er enjeksiyon yapılarak elde edilen pik alanları kaydedilip denklem 3-4 e göre % Geri Kazanım hesaplandı.

$$\%Uyum = \frac{Pik Alanı T_1}{Pik Alanı T_0} \times 100 \text{ (Denklem 3-4)}$$

T₀ : Başlangıç pik alanı

T₁ : T₁’deki pik alanı

Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.6 da verilmiştir.

Kabul Kriteri:

Numune ve standart çözeltilerinin farklı zamanlarda ölçülen alan değerleri ile başlangıç zamanı karşılaştırıldığında fark miktar tayini analizi için %2’yi, safsızlık tayini analizleri için %5’i geçmemelidir.

3.5.7. Dayanıklılık

Analitik bir metodun sağlamlığı, yöntem parametrelerinde küçük, ancak kasıtlı değişkenliklerden etkilenmeden kalma kapasitesinin bir ölçüsüdür ve normal kullanım sırasında güvenilirliğinin bir göstergesidir. Metodun yapılan değişikliklere karşı dayanıklılığı test edilir.

3.5.7.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini ve Feniramin Maleat, Parasetamol, ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Metodu

Bölüm 3.2 de tarif edildiği şekilde hazırlanan standart ve numune çözeltisi, normal analiz koşulları yanında aşağıdaki verilen değiştirilmiş analiz koşullarında analiz edildi.

Uygulanacak değişiklikler aşağıdaki gibidir:

- Akış hızı : 0.2 ve 0.4 mL/dk
- Dalga boyu : 268 ve 272 nm
- Kolon Sıcaklığı : 15 °C ve 25 °C

3.5.7.2. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Metodu İçin

Bölüm 3.5.2’de tarif edildiği şekilde hazırlanan standart çözelti ve numune çözeltisi, normal analiz koşulları yanında aşağıdaki verilen değiştirilmiş analiz koşullarında analiz edildi.

- Akış hızı : 0.4 ve 0.6 mL/dk
- Dalga boyu : 208 ve 212 nm
- Kolon Sıcaklığı : 43 °C ve 47 °C

İşlem:

Elde edilen miktar tayini ve safsızlık tayini sonuçları tekrarlanabilirlik sonuçları ile, standart çözeltisi enjeksiyonlarından elde edilen pik performans parametreleri sistem kesinliği verileri ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.7’de verilmiştir.

Kabul Kriteri:

Değiştirilmiş her bir parametrenin analiz sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri miktar tayini için % 2.0'den, safsızlık tayini analizleri için % 4,0 den küçük, pik performans parametreleri de benzer olmalıdır.

3.5.8. Düzeltme Faktörü (Respons Faktör)

Düzeltme faktörü, safsızlık tayini analiz yöntemleri için safsızlık veya bozunma ürününün kromatogramındaki cevabının etken madde cinsinden miktarlandırılmasını sağlamak için gereklidir.

İşlem:

Düzeltme faktörü, etken madde ve bilinen safsızlıkların lineerlik parametresinin tayininde yapılan lineer regresyon analizi sonucu elde edilen eğrilerin eğimlerinin oranından elde edilir.

Hesaplamalar denklem 3-5 kullanılarak yapıldı.

$$RF = \frac{m_l}{m_s} \text{ (Denklem 3-5)}$$

RF : Düzeltme Faktörü (Respons Faktör)

m_s : Her bir safsızlık çözeltisinin regresyon eğrisinin eğimi

m_l : Her bir safsızlığa ait etken madde çözeltisinin regresyon eğrisinin eğimi

4. BULGULAR

4.1. Analiz Yönteminin Geliştirilmesi İle İlgili Bulgular

4.1.1. Hareketli Faz Seçimi ile İlgili Bulgular

Dört farklı etken madde ile gerçekleştirilen bir çalışma olması nedeni ile bu etken maddelerin farklı polaritelere sahip olması göz önünde bulundurularak etken maddelere ait ana piklerin ve safsızlık piklerinin birbirinden net olarak ayrılması ve makul bir analiz süresi elde edilmesi için hareketli faz sistemleri Bölüm 3.4.1 de belirtildiği şekilde denenmiştir.

Yapılan denemeler sonunda hem etken maddelerin hepsinin birlikte miktar tayini yönteminde hem de feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin hidroklorür safsızlıklarının yanyana tayininde ayrıca askorbik asit safsızlık tayini yönteminde ortak kullanılabilinecek, pratik ve ekonomik en uygun hareketli faz olarak Tablo 4-1’deki hareketli faz sistemine karar verildi.

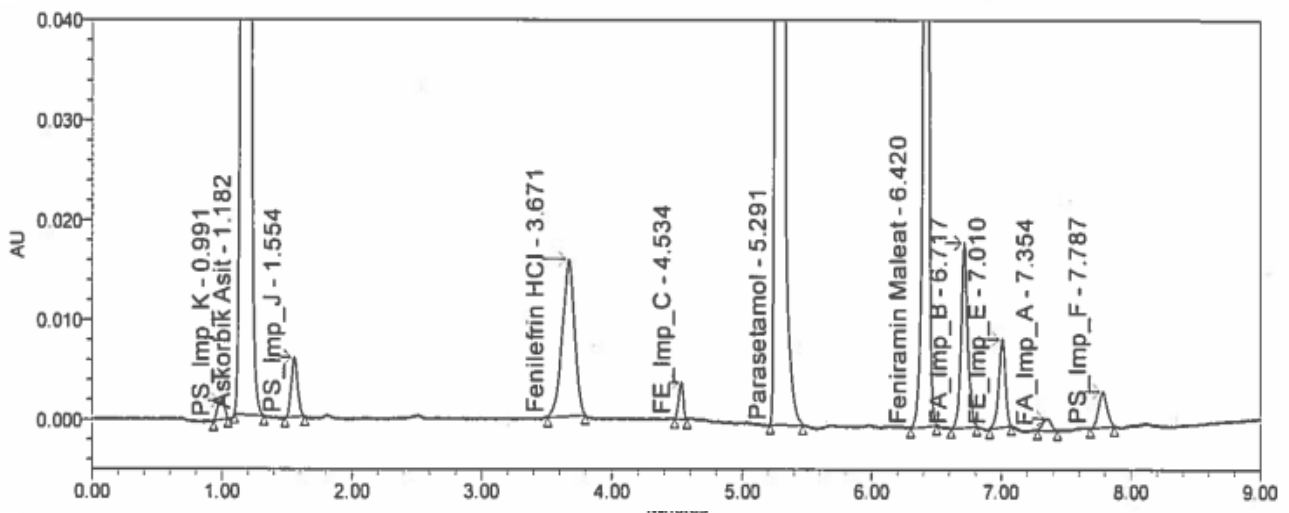
Tablo 4-1 Hareketli faz sistemi

Hareketli faz A	Hareketli Faz B
pH 3.0 - 10 mm potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisi	Metanol

4.1.2. UPLC/HPLC Gradyent Programının Belirlenmesi ile İlgili Bulgular

Etken maddelerin birlikte analiz edilebildiği miktar tayini ve feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin safsızlıklarının yanyana tayini için Bölüm 3.4.2.1’de yapılan denemeler sonucu deneme 3 gradyent programı en iyi ayrılmayı sağladığı için bu gradyent programının kullanılmasına karar verilmiştir.

Karar verilen gradyent programı ile elde edilen kromatogramlar Şekil 4-1 de, ilgili kromatogramdaki pikler arası R_s (ayırım faktörü) e ait elde edilen veriler de Tablo 4-2 de verilmiştir.



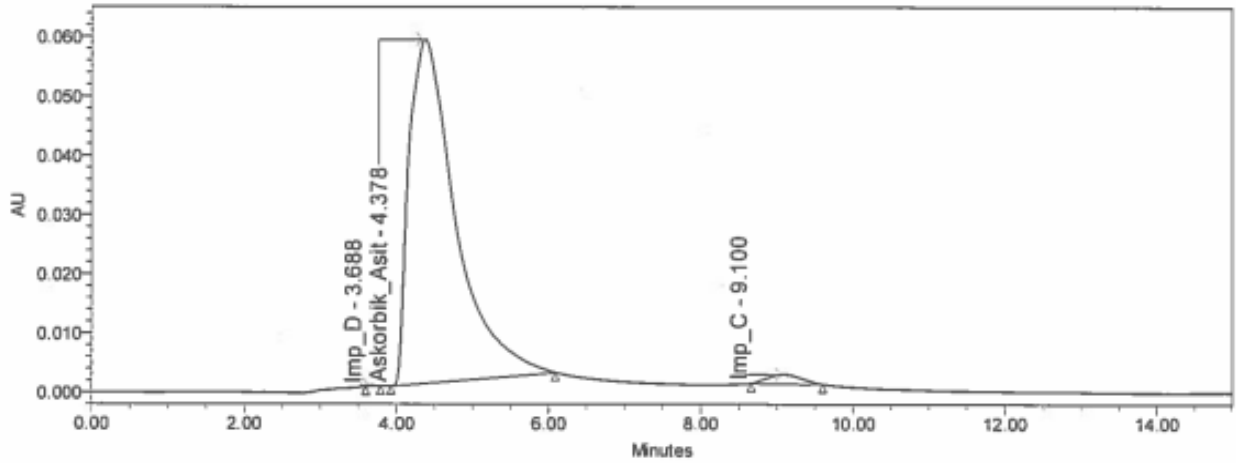
Şekil 4-1 Deneme 3 ile elde edilen HPLC kromatogramı

Tablo 4-2 Deneme 3 ile elde edilen ayırım faktörleri

Pik No	Pik adı	Ayrım Faktörü (Rs)
1	Parasetamol Safsızlık K	-
2	Askorbik Asit	3,6
3	Parasetamol Safsızlık J	3,3
4	Fenilefrin Hidroklorür	8,1
5	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	5,2
6	Parasetamol	4,8
7	Feniramin Maleat	3,9
8	Feniramin Maleat Safsızlık B	2,1
9	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E	2,0
10	Feniramin Maleat Safsızlık A	1,9
11	Parasetamol Safsızlık F	1,7

Askorbik Asit safsızlık C ve D Tablo 3-2, 3-3 ve 3-4 de yapılan denemeler sonucunda tayin edilememiştir. Bu nedenle askorbik asit safsızlık tayin metodu için başka bir metod arayışına geçilmiştir. Bölüm 3.2.4.3’de yapılan denemeler sonucu deneme 5 izokrotik olarak en iyi ayrılmayı sağladığı için bu programının kullanılmasına karar verilmiştir.

Karar verilen programı ile elde edilen kromatogram Şekil 4.2 de, ilgili kromatogramdaki pikler arası ayırım faktörüne ait elde edilen veriler de Tablo 4-3 de verilmiştir.



Şekil 4-2 Deneme 5 ile elde edilen HPLC kromatogramı

Tablo 4-3 Deneme 5 ile elde edilen ayırım faktörleri

Pik No	Pik adı	Ayırım Faktörü (Rs)
1	Askorbik Asit Safsızlık D	-
2	Askorbik Asit	2,1
3	Askorbik Asit Safsızlık	11,7

4.1.3. Kolon Seçimi İle İlgili Bulgular

Etken maddelerin birlikte analiz edilebildiği miktar tayini ve feniramin maleat, parasetamol, fenilefrin hidroklorür safsızlıklarının yanyana tayini için 4 farklı UPLC kolonu kullanılarak standart çözeltilerden enjeksiyonlar yapıldı. Yapılan enjeksiyonlara ait alan, kuyruklanma faktörü, teorik plaka sayısı gibi sistem uygunluk parametreler belirlendi. Sonuçlar Tablo 4-4 de verildi.

Tablo 4-4 Kullanılan UPLC kolonları ile elde edilen sistem uygunluk parametreleri

Kolon Çeşidi	Askorbik Asit			Fenilefrin Hidroklorür			Parasetamol			Feniramin Maleat		
	Alan	Tf*	N*	Alan	Tf	N	Alan	Tf	N	Alan	Tf	N
Waters BEH C18 50mm 2,1x1,7 µm	408042	1,2	7010	28362	1,2	15685	6016576	1,3	26879	129033	1,1	40365
Waters BEH C18 100mm 2,1x1,7 µm	396562	1,2	4520	24123	1,3	15036	5972659	1,2	24965	140265	1,1	38265
Waters Phenyl 50mm 2,1x1,7 µm	225640	1,5	1981	19625	1,3	8036	4856921	1,5	19235	75036	1,2	9875
Waters Phenyl Hexyl 50mm 2,1x1,7 µm	205871	1,4	3025	23046	1,2	6789	4268945	1,5	22861	64025	1,2	4589

Tf: kuyruklanma faktörü N: Teorik plaka sayısı

Standart çözeltiler verilerek yapılan enjeksiyonlardan elde edilen kromatogamlardaki etken madde piklerine ait sistem uygunluk parametreleri incelendi. Kuyruklanma faktörü 1,1 ve 1,5 değerleri arasında elde edildi. Teorik plaka sayısı olarak da en yüksek plaka sayısına sahip kolon Waters BEH C18 50 mm 2,1x1,7 µm kolonu olduğu için geliştirme çalışmaları sonucunda bu kolona karar verilmiştir.

Askorbik asit safsızlık C ve D, C8 ve C18 kolonlarda tespit edilememiştir. NH₂ kolon ile çalışmalara devam edilmiş ve standart çözelti enjeksiyonlarından elde edilen kromatogamlardaki piklere ait sistem uygunluk parametreleri incelenmiştir Tablo 4-5 de elde edilen verilere göre kuyruklanma faktörü 1,2 ve teorik plaka sayısı da 7869 olarak elde edildi. Kuyruklanma faktörü ve teorik plaka sayısı, pik şekli olarak en iyi sonuçların elde edildiği kolon Agilent Zorbax NH₂ 250mm 4,6mm x 5 µm kolonu olduğu için metod geliştirme çalışmaları sonucunda bu kolona karar verilmiştir.

Tablo 4-5 Askorbik asit safsızlık tayini için kullanılan HPLC kolonları ile elde edilen sistem uygunluk parametreleri

Kolon Çeşidi	Askorbik Asit		
	Alan	Tf*	N*
Agilent Zorbax NH ₂ 250mm 4,6mm x 5 µm	2589614	1,2	7869

Tf: kuyruklanma faktörü N: Teorik plaka sayısı

4.1.4. Dedektör ve Dalga Boyu Seçimi İle İlgili Bulgular

Etken maddelerin PDA dedektörde UV spektrum lar alınarak dalga boyu taraması yapıldı. Maksimum absorbands veren dalga boyları belirlendi. Tüm etken maddeleri birlikte analiz edebilmek için ortak bir dalga boyu olarak hem miktar tayini hem de safsızlık tayini için geliştirilen UPLC analizinde 270 nm dalga boyu ile çalışılmasına karar verildi.

Askorbik asit safsızlık tayini için de HPLC PDA detektörlü cihazda UV spektrum dalga boyu taraması yapılarak maksimum absorbands veren en uygun dalga boyu olarak 210 nm de çalışılmasına karar verildi.

4.1.5. Safsızlık Limitlerinin Belirlenmesi İle İlgili Bulgular

ICH Q3B (R2) (102) kılavuzu karar ağacına göre çalışmada kullanılan etken maddelerin farmasötik preparat olan toz şaşedeki doz miktarlarına göre maksimum günlük alım dozlarına göre hesaplanan bitmiş üründeki safsızlık limitleri Tablo 4-6 da verilmiştir. Çalışmada kullandığımız toz şaşe yetişkinler için günde en fazla 4 saatte bir olmak üzere 6 adet kullanılabilir.

Tablo 4-6 ICH Q3B (R2) kılavuzuna göre hesaplanan safsızlık limitleri

Etken Madde	Günlük maksimum alınabilececek doz miktarı(mg)	Bilinen Safsızlık Limiti (%)	Bilinmeyen Safsızlık Limiti (%)
Fenilefrin Hidroklorür	60	0,3	0,2
Feniramin Maleat	120	0,2	0,2
Parasetamol	3000	0,15	0,10
Askorbik Asit	300	0,2	0,2

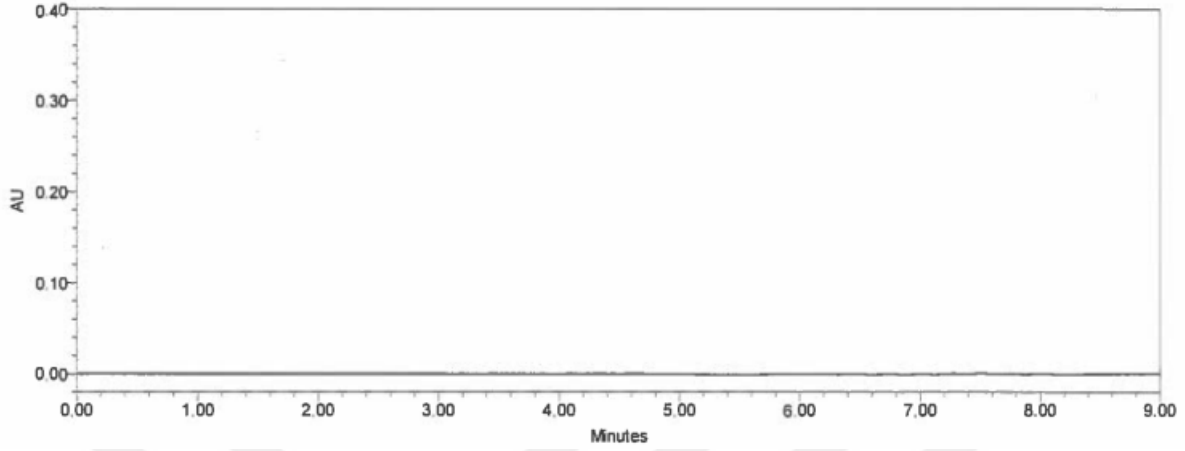
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu İle İlgili Bulgular

4.2.1. Seçicilik

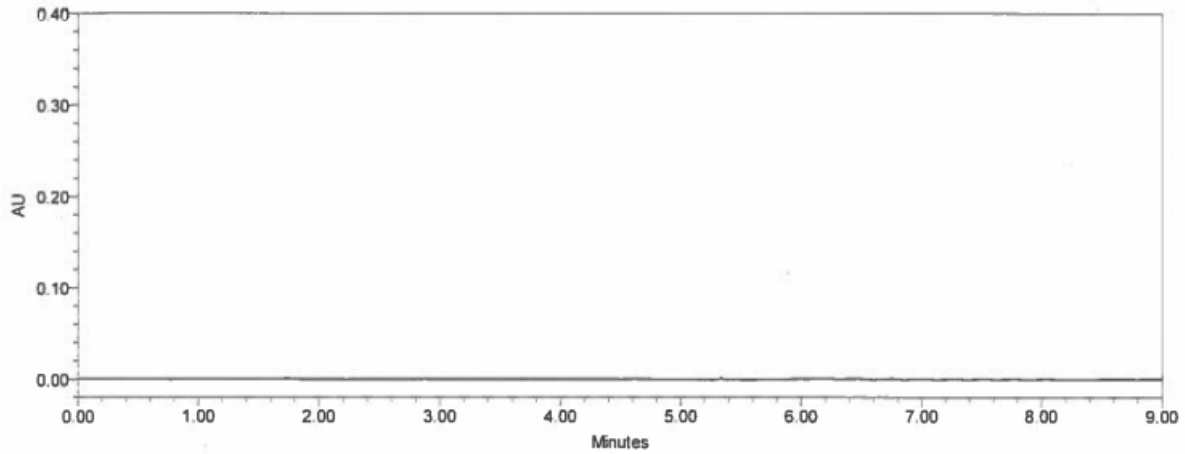
4.2.1.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini ve Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Metodu Seçilik Parametresine Ait Bulgular

Yöntemin seçiciliğinin tayini amacıyla yapılan analizler sonucunda ilgilenilen piklerin alıkonma zamanlarında herhangi bir girişim olmadığı saptandı. Çözeltilere ait kromatogramlar

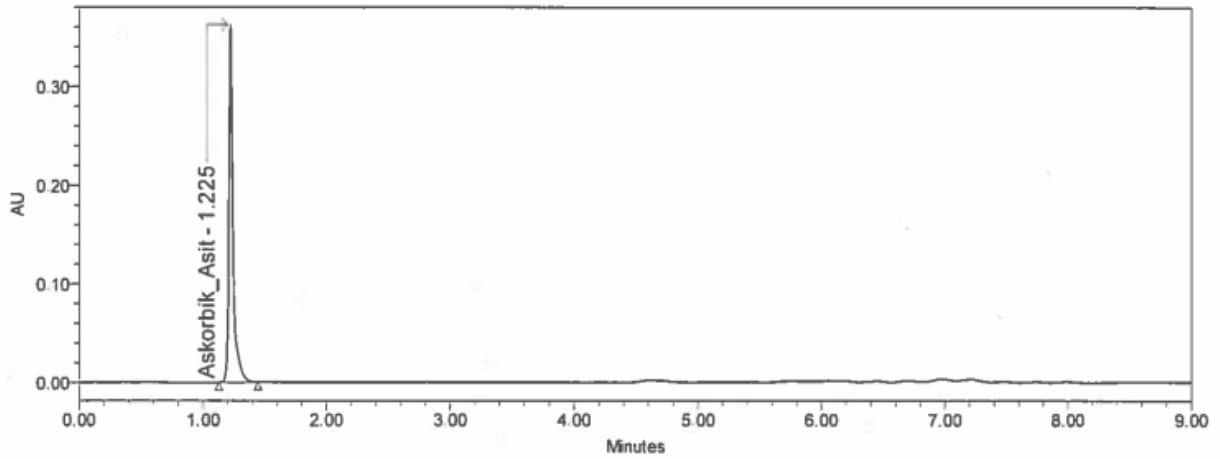
Şekil 4-3 ile 4-22 arasında verilmiştir. Standart ve numune çözeltisi kromatogramlarında etken madde pikleri için $\text{purity angle} < \text{purity threshold}$ koşulu sağlanmıştır Enjeksiyonlardan elde edilen ait kromatogramlara ait seçicilik parametreleri Tablo 4-7 de verilmiştir.



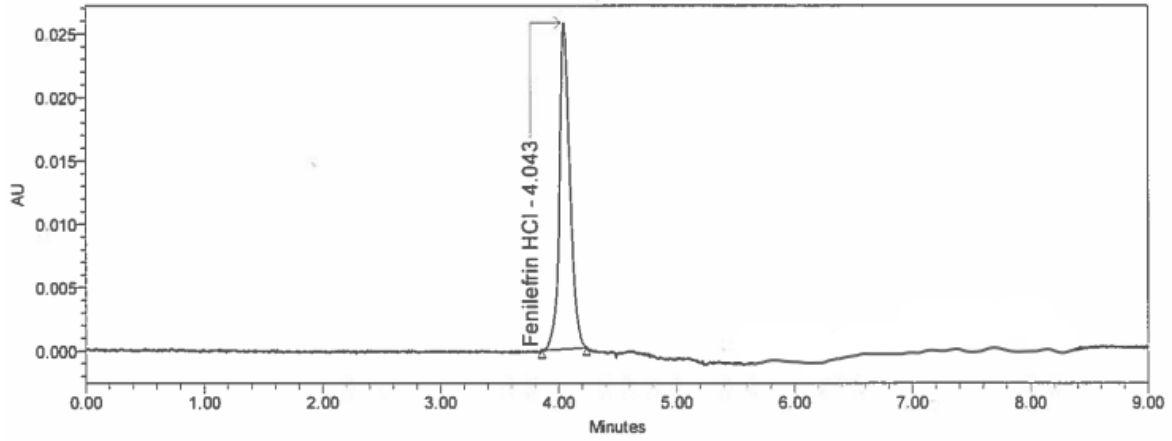
Şekil 4-3 Çözücüye ait kromatogram



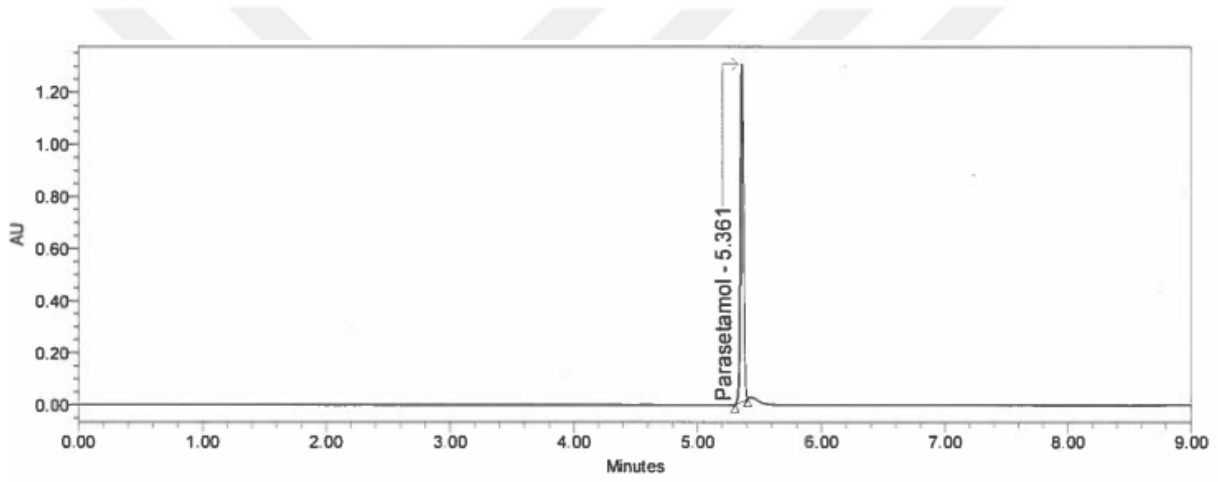
Şekil 4-4 Plaseboya ait kromatogram



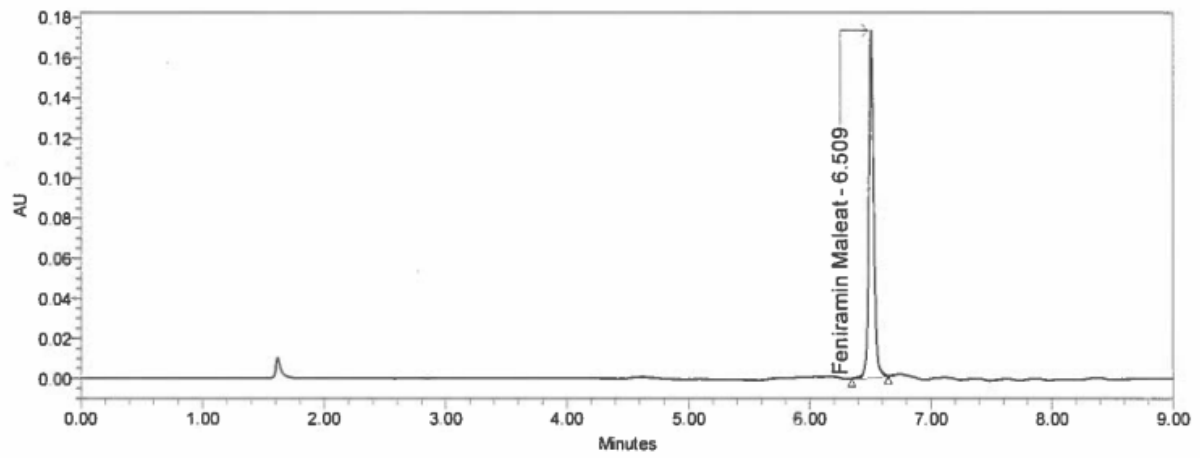
Şekil 4-5: Askorbik asit (100 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



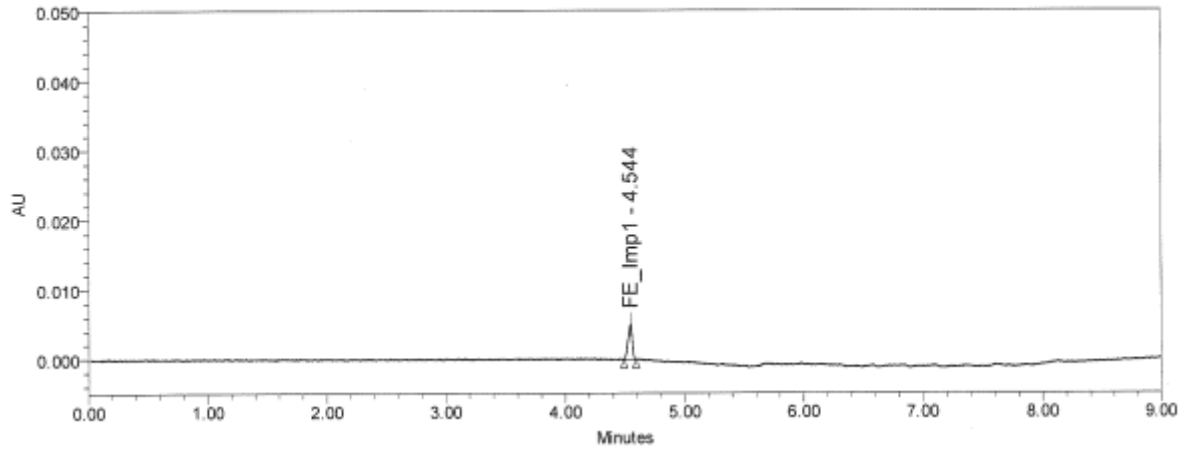
Şekil 4-6: Fenilefrin hidroklorür (20 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



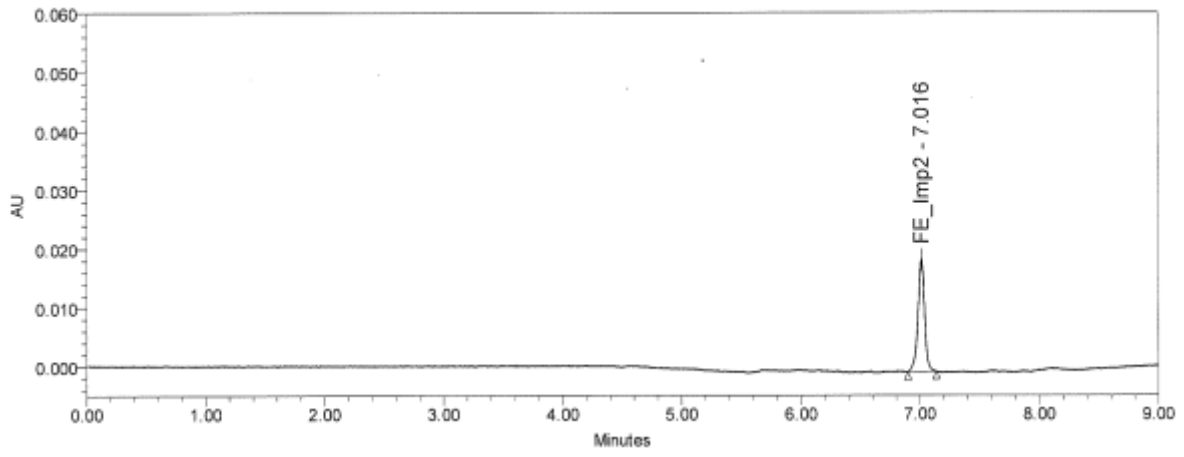
Şekil 4-7: Parasetamol (1000 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



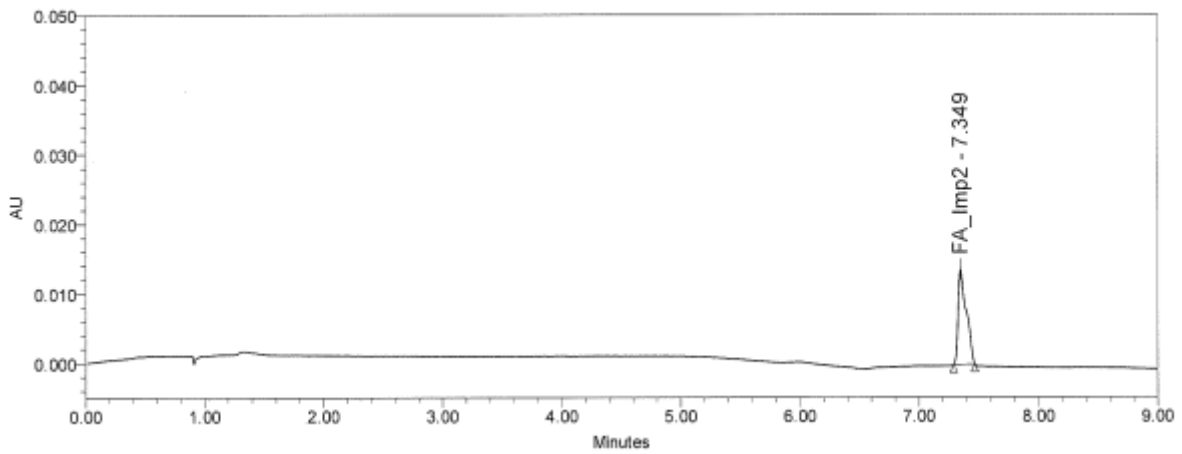
Şekil 4-8: Feniramin maleat (40 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



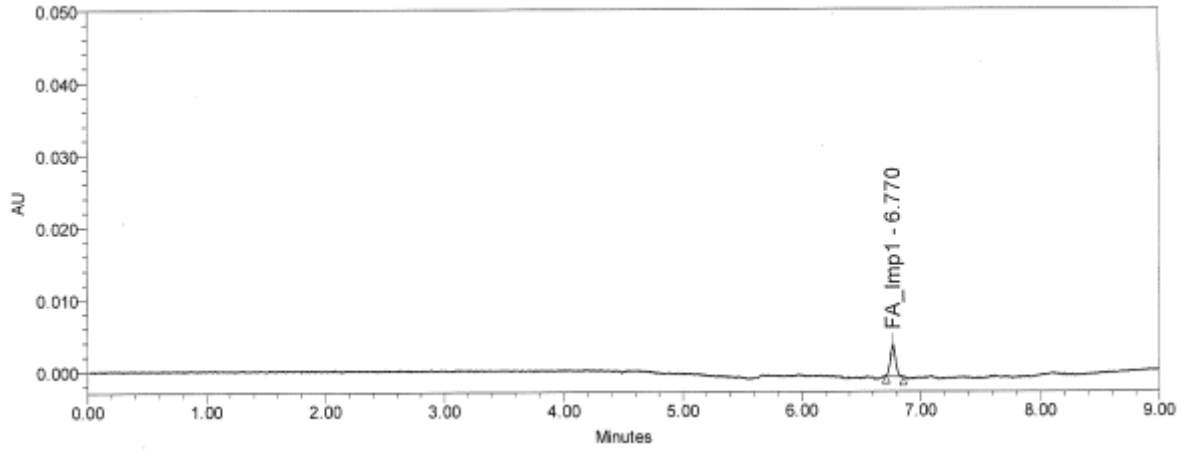
Şekil 4-9 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C çözeltisine ait kromatogram



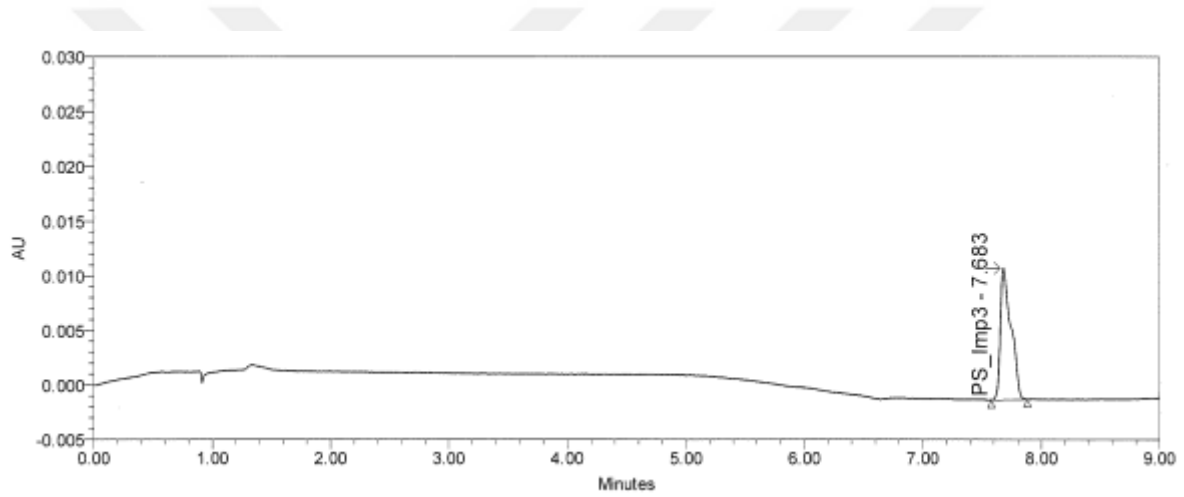
Şekil 4-10 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E çözeltisine ait kromatogram



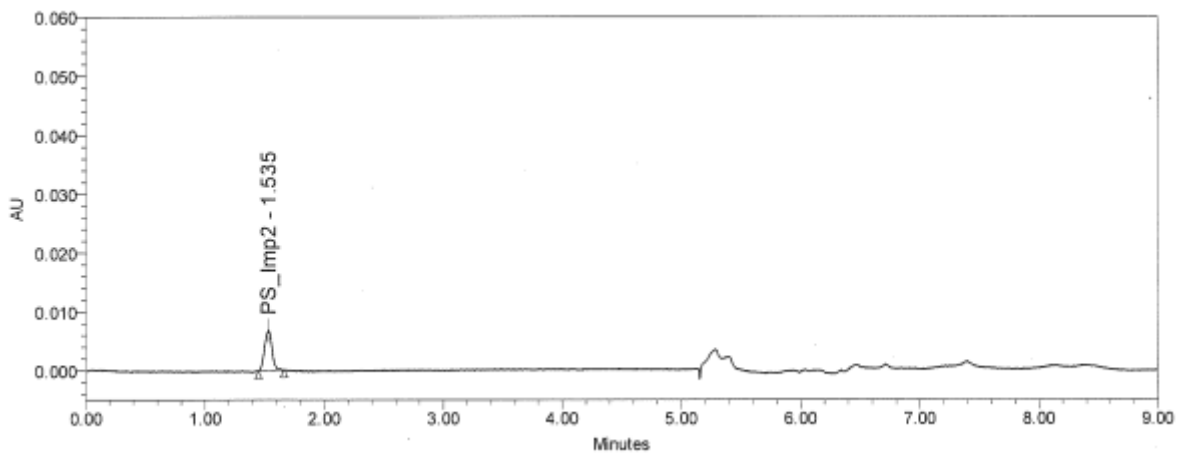
Şekil 4-11 Feniramin maleat safsızlık A çözeltisine ait kromatogram



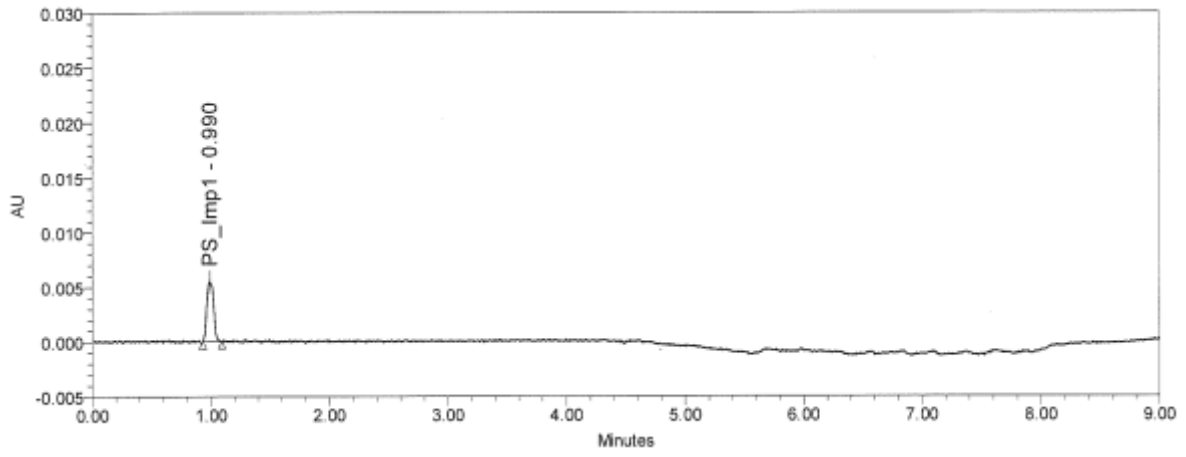
Şekil 4-12 Feniramin maleat safsızlık B çözeltisine ait kromatogram



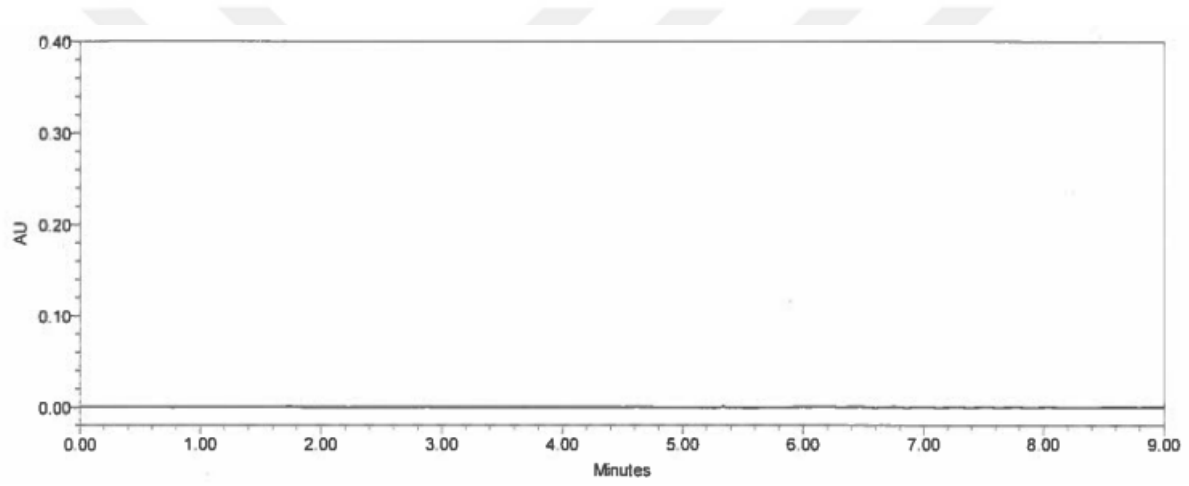
Şekil 4-13 Parasetamol safsızlık F çözeltisine ait kromatogram



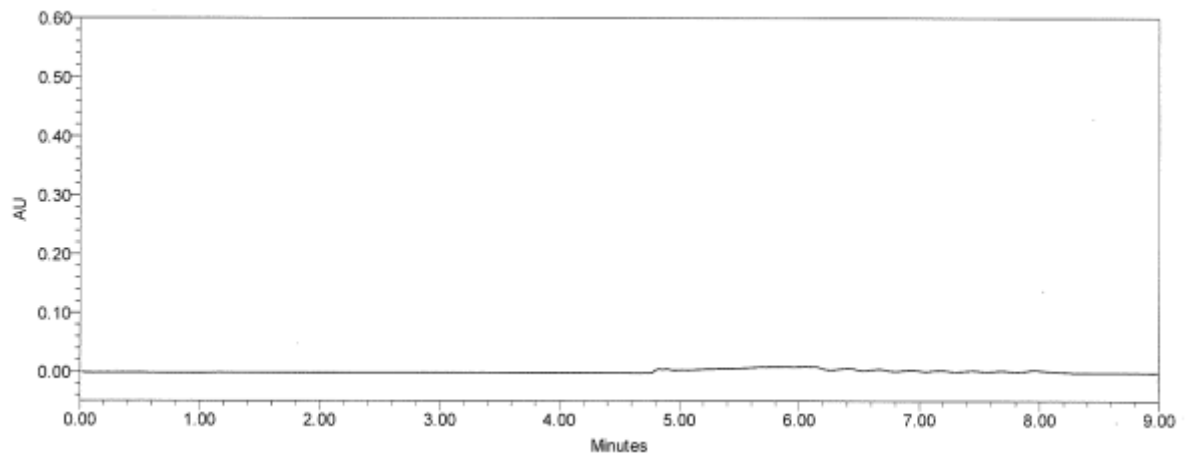
Şekil 4-14 Parasetamol safsızlık J çözeltisine ait kromatogram



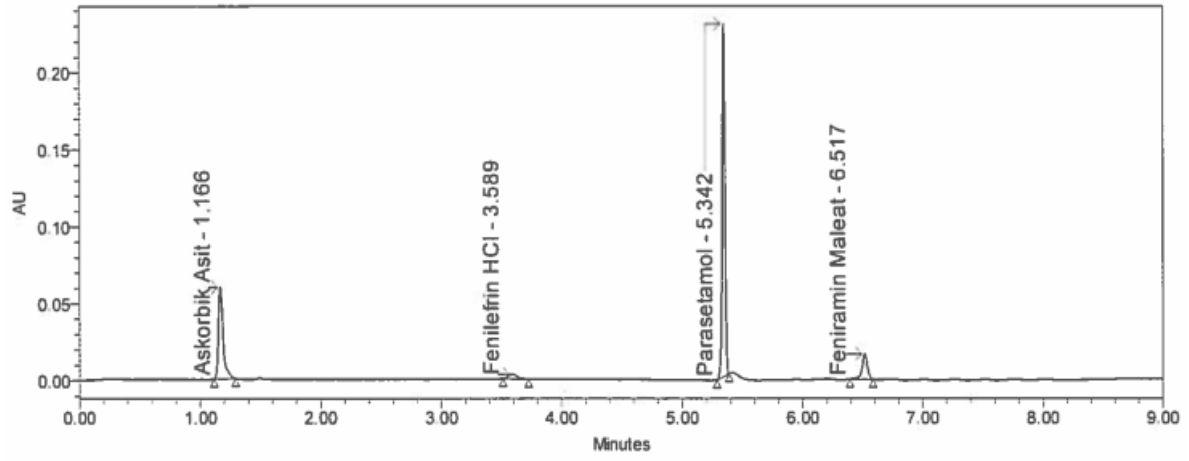
Şekil 4-15 Parasetamol safsızlık K çözeltisine ait kromatogram



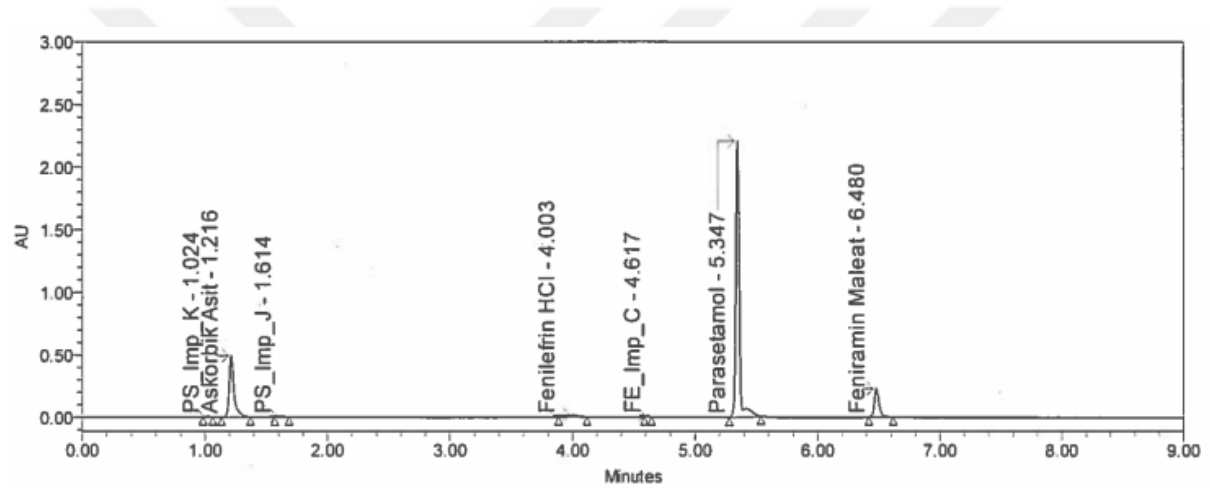
Şekil 4-16 Askorbik asit safsızlık C çözeltisine ait kromatogram



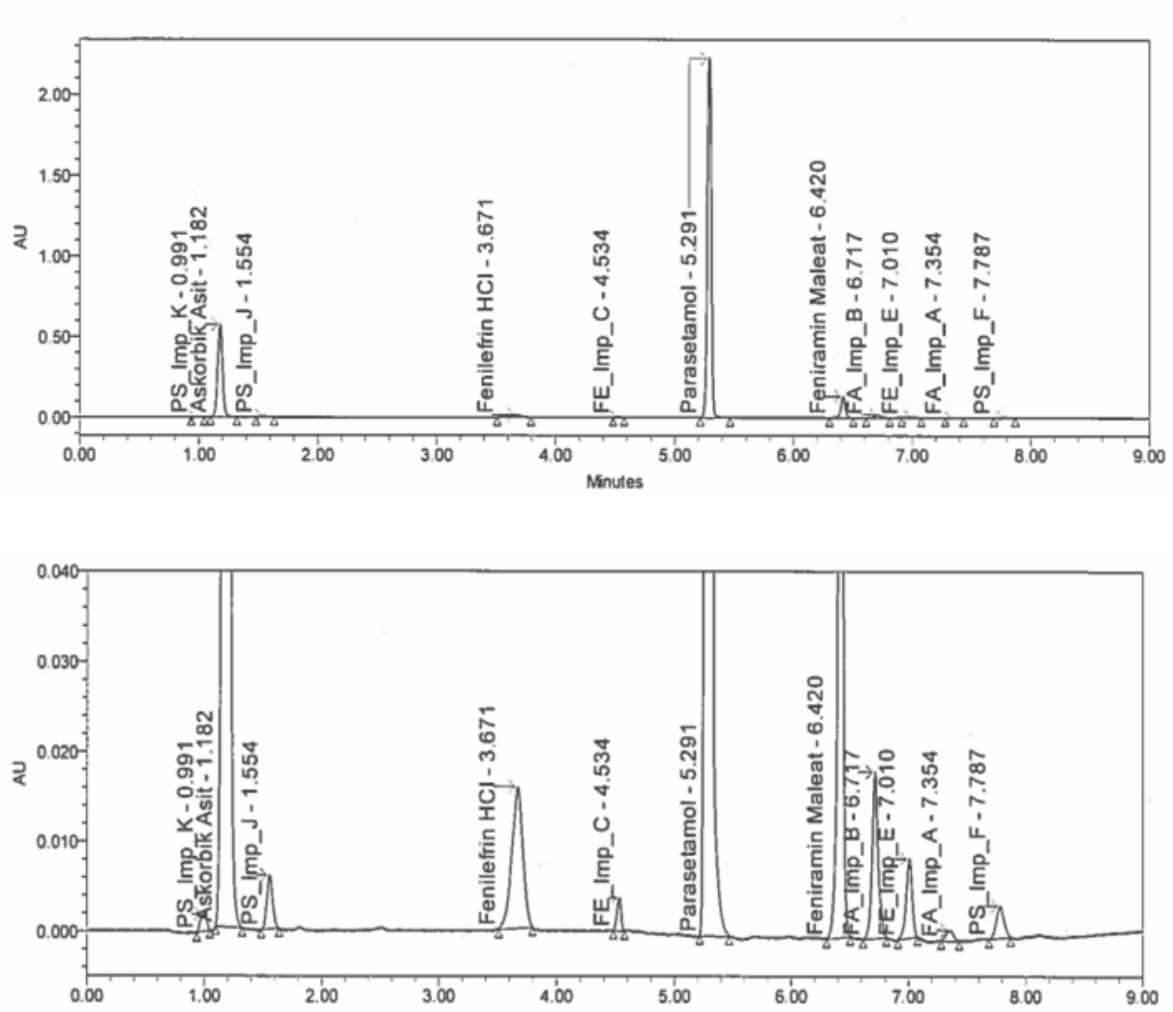
Şekil 4-17 Askorbik asit safsızlık D çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4-18: Standarta ait kromatogram



Şekil 4-19: Numuneye ait kromatogram



Şekil 4-20: Safsızlık eklenmiş numuneye ait kromatogramlar

Tablo 4-7 Feniramin maleat, parasetamol, fenilefrin hidroklorür, askorbik asit miktar tayini ve feniramin maleat, parasetamol, fenilefrin hidroklorür safsızlık metodu seçicilik sonuçları

	Alınma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayrım Faktörü (Rs)
Standart çözeltisi							
Askorbik Asit	1,166	168027	0,256	20,365	1,2	5698	-
Fenilefrin Hidroklorür	3,589	22378	0,569	2,658	1,3	5469	15,8
Parasetamol	5,342	361475	0,879	0,987	1,1	23691	18,5
Feniramin Maleat	6,517	49588	3,689	1256	1,1	8965	9,8

	Altkonma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayırım Faktörü (Rs)
Numune Çözeltisi							
Parasetamol Safsızlık K	1,024	314316	0,891	0,989	1,3	2658	-
Askorbik Asit	1,216	1356820	0,569	0,687	1,3	89647	2,3
Parasetamol Safsızlık J	1,614	425662	1,589	1,897	1,3	35789	3,7
Fenilefrin Hidroklorür	4,003	92593	2,789	5,789	1,2	6987	15,7
Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	4,617	802	0,258	4,458	1,3	2569	6,7
Parasetamol	5,347	2206377	0,987	1,452	0,9	7895	8,1
Feniramin Maleat	6,480	603069	3,258	3,983	1,2	9872	12,9
Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E	TE	-	-	-	-	-	-
Feniramin Maleat Safsızlık B	TE	-	-	-	-	-	-
Feniramin Maleat Safsızlık A	TE	-	-	-	-	-	-
Parasetamol Safsızlık F	TE	-	-	-	-	-	-
Askorbik Asit Safsızlık C	TE	-	-	-	-	-	-
Askorbik Asit Safsızlık D	TE	-	-	-	-	-	-
Tek Tek Verilen Standart Çözeltileri							
Askorbik Asit	1,225	847281	2,789	3,125	1,3	9161	-
Fenilefrin Hidroklorür	4,043	158819	0,125	0,289	1,1	11143	-
Parasetamol	5,361	2086992	3,725	3,892	1,0	25641	-

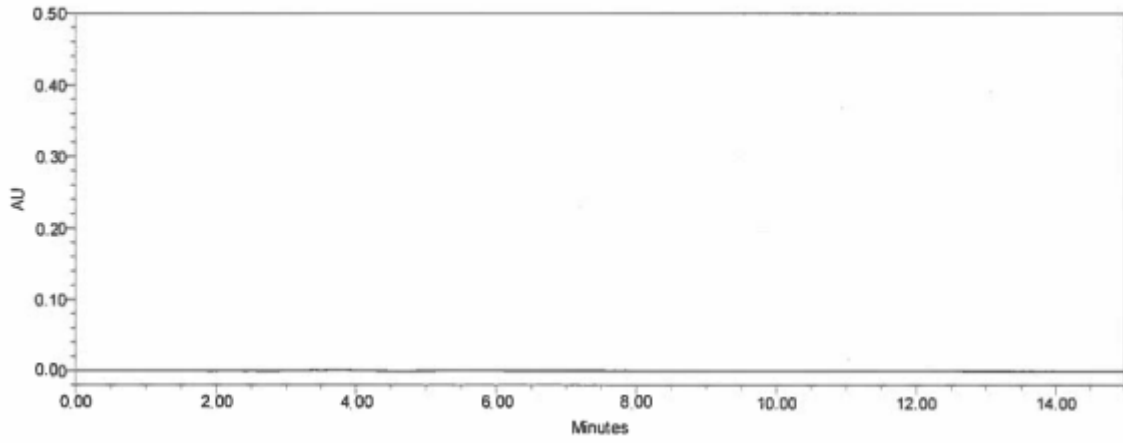
	Ablıkonma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayırım Faktörü (Rs)
Feniramin Maleat	6,509	461470	0,812	2,589	1,1	16228	-
Parasetamol Safsızlık K	0.990	22025	0,265	10,488	1,2	35987	-
Parasetamol Safsızlık J	1,535	29534	0,598	8,781	1,1	24785	-
Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	4,544	12370	1,125	11,459	1,3	8967	-
Feniramin Maleat Safsızlık B	6,770	13138	3,874	21,743	0,9	21478	-
Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E	7,016	74875	0,896	1,987	0,9	18965	-
Feniramin Maleat Safsızlık A	7,349	65510	2,125	5,872	1,0	17852	-
Parasetamol Safsızlık F	7,683	73297	1,589	15,471	1,2	6598	-
Askorbik Asit Safsızlık C	TE	-	-	-	-	-	-
Askorbik Asit Safsızlık D	TE	-	-	-	-	-	-
Safsızlık Eklenmiş Numune							
Parasetamol Safsızlık K	0,991	3035	0,236	0,362	1,1	5127	-
Askorbik Asit	1,182	574400	0,268	7,236	1,0	9045	2,1
Parasetamol Safsızlık J	1,554	8985	0,757	11,247	1,0	21721	3,2
Fenilefrin Hidroklorür	3,671	25718	0,394	5,236	1,1	33884	11,7
Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	4,534	5689	0,236	0,362	1,1	5127	8,3

	Alıkonma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayrım Faktörü (Rs)
Parasetamol	5,291	2228344	0,879	0,999	1,1	2698	6,1
Feniramin Maleat	6,420	161471	0,789	1,789	1,2	18793	11,3
Feniramin Maleat	6,717	21531	0,426	10,168	1,0	6879	3,8
Safsızlık B							
Fenilefrin Hidroklorür	7,010	10119	1,158	14,782	0,9	5678	4,1
Safsızlık E							
Feniramin Maleat	7,354	2192	2,036	19,785	0,9	24789	3,1
Safsızlık A							
Parasetamol Safsızlık F	7,787	4577	0,456	6,782	1,3	324697	2,9
Askorbik Asit Safsızlık C	TE	-	-	-	-	-	-
Askorbik Asit Safsızlık D	TE	-	-	-	-	-	-

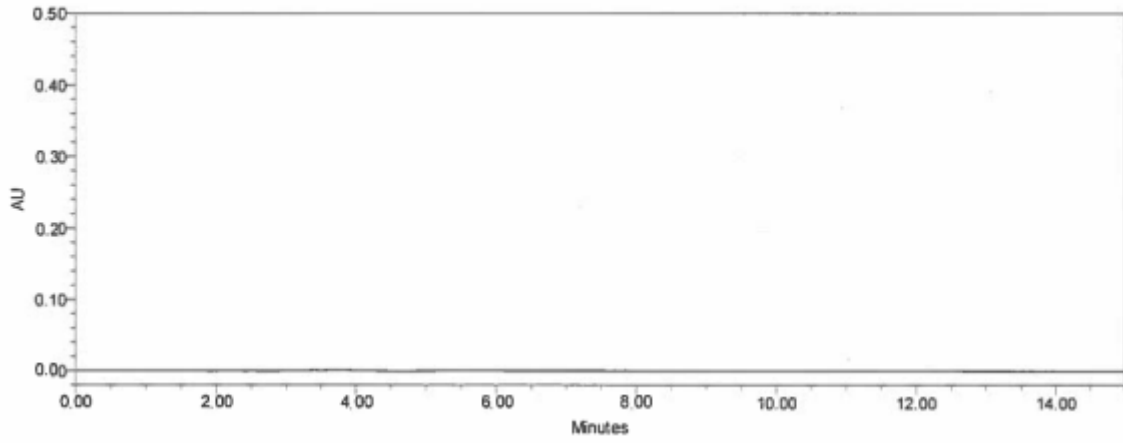
T.E.: Tespit Edilmedi

4.2.1.2. Askorbik Asit Safsızlık Tayini Seçilik Parametresine Ait Bulgular

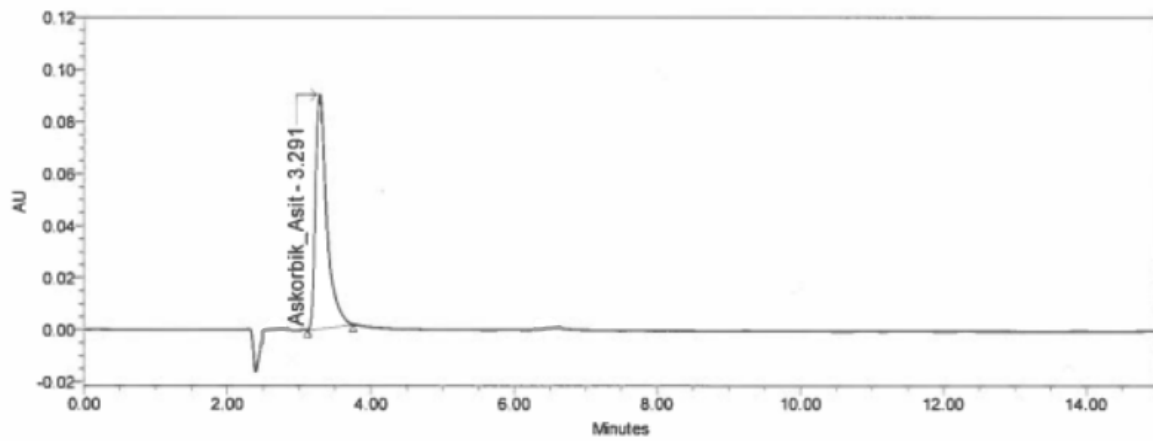
Yöntemin seçiciliğinin tayini amacıyla yapılan analizler sonucunda ilgilenilen piklerin alıkonma zamanlarında herhangi bir girişim olmadığı saptandı. Çözeltilere ait kromatogramlar Şekil 4-23 ile 4-33 arasında verilmiştir. Standart, numune ve safsızlık eklenmiş numune çözeltilesindeki çözeltisi kromatogramlarında etken madde pikleri için purity angle < purity threshold şartı sağlanmıştır. Enjeksiyonlardan elde edilen ait kromatogramlara ait seçicilik parametreleri Tablo 4-8 de verilmiştir



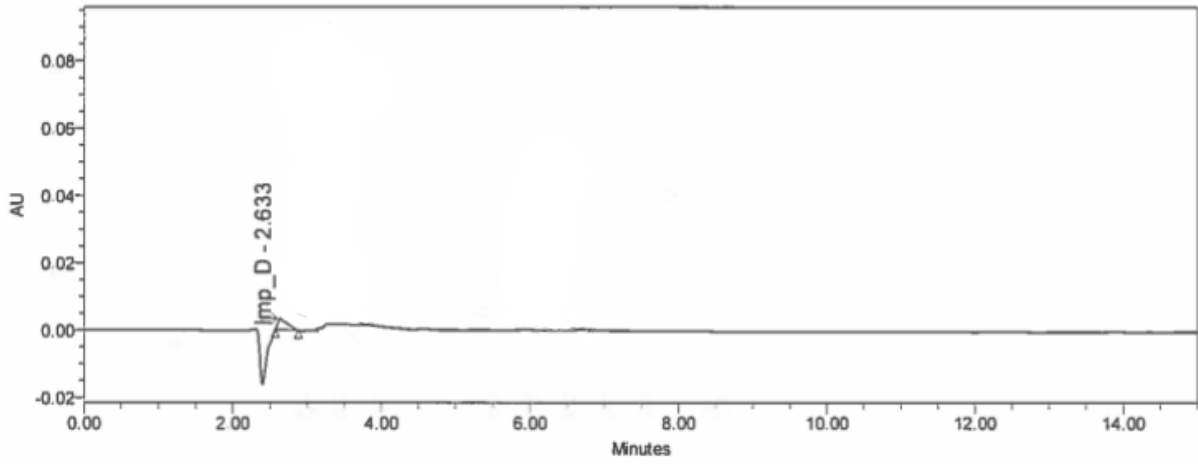
Şekil 4-21: Çözücüye ait kromatogram



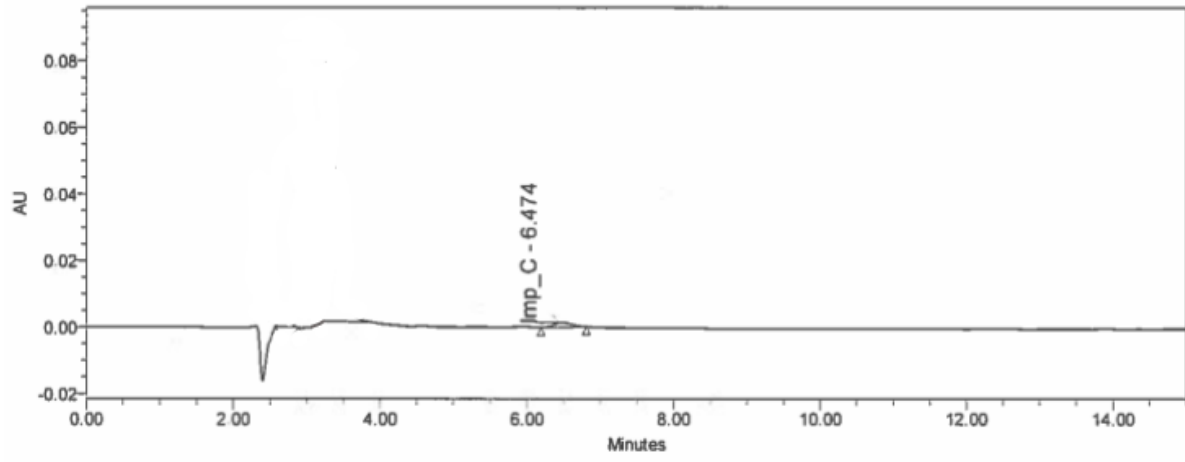
Şekil 4-22: Plaseboya ait kromatogram



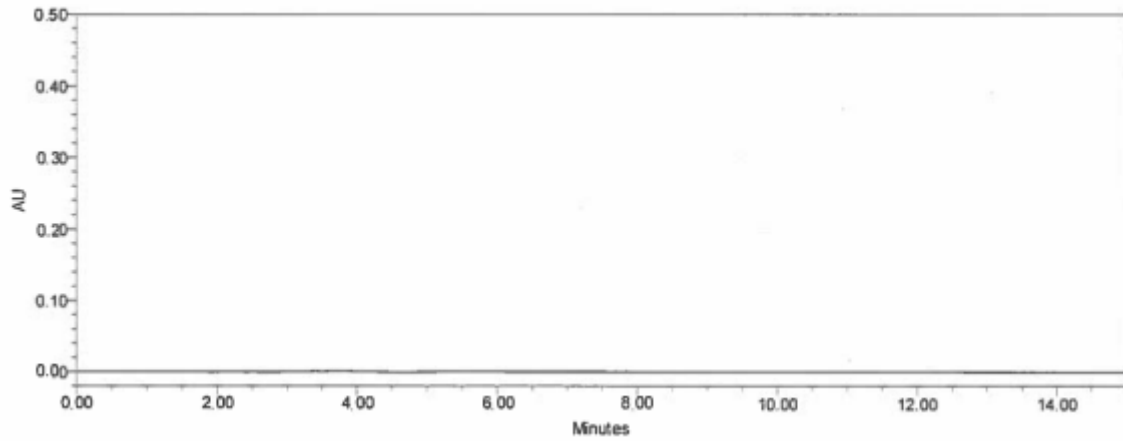
Şekil 4-23: Askorbik asit (100 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



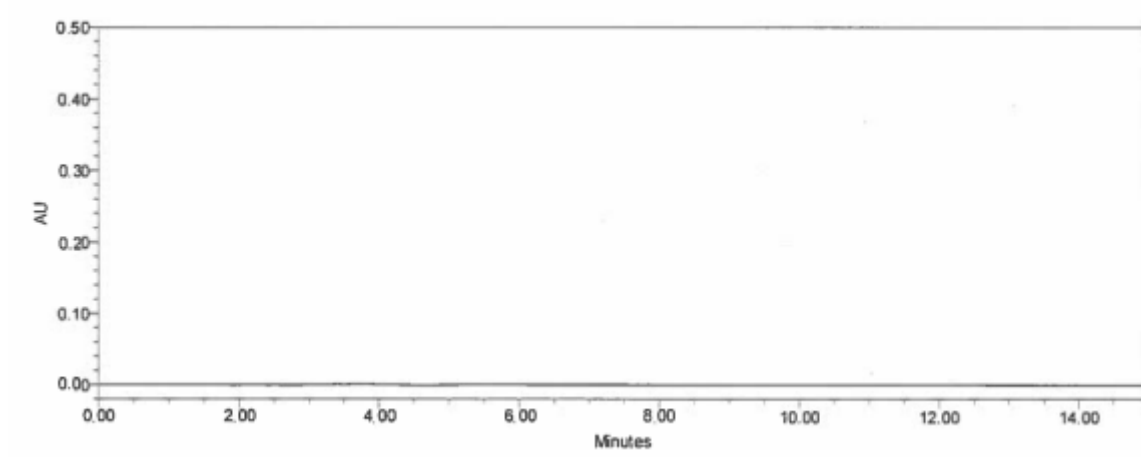
Şekil 4-24: Askorbik asit safsızlık D çözeltisine ait kromatogram



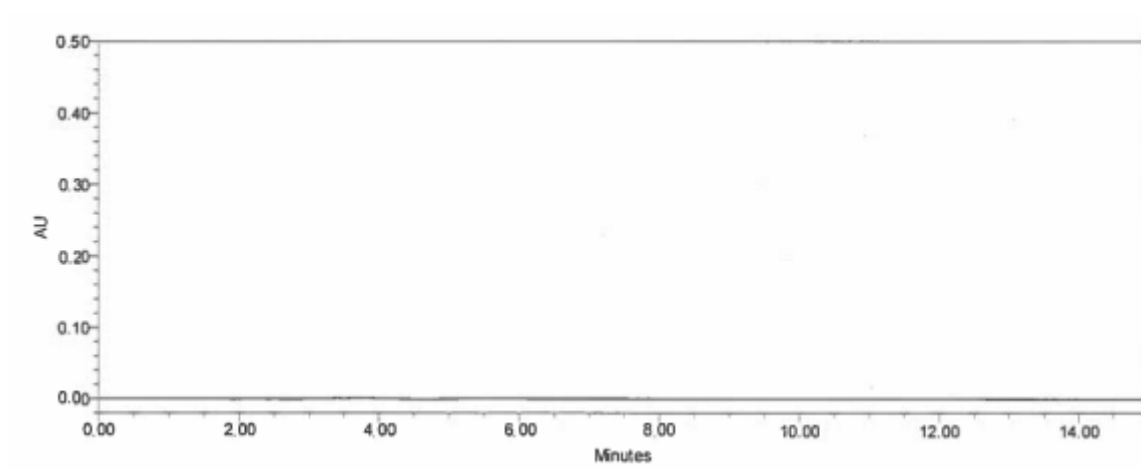
Şekil 4-25: Askorbik asit safsızlık C çözeltisine ait kromatogram



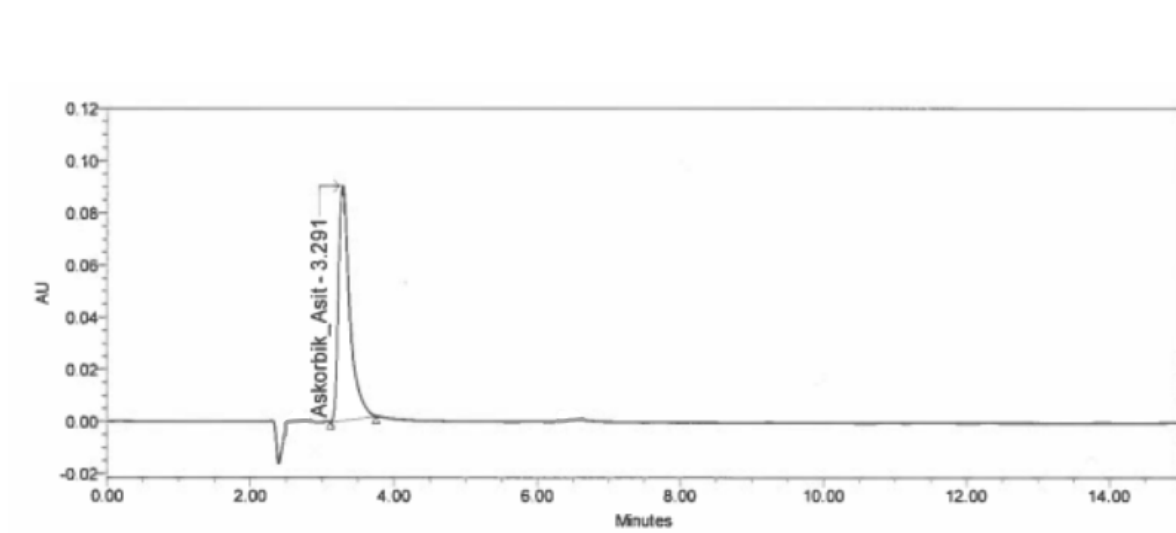
Şekil 4-26: Fenilefrin hidroklorür (20 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



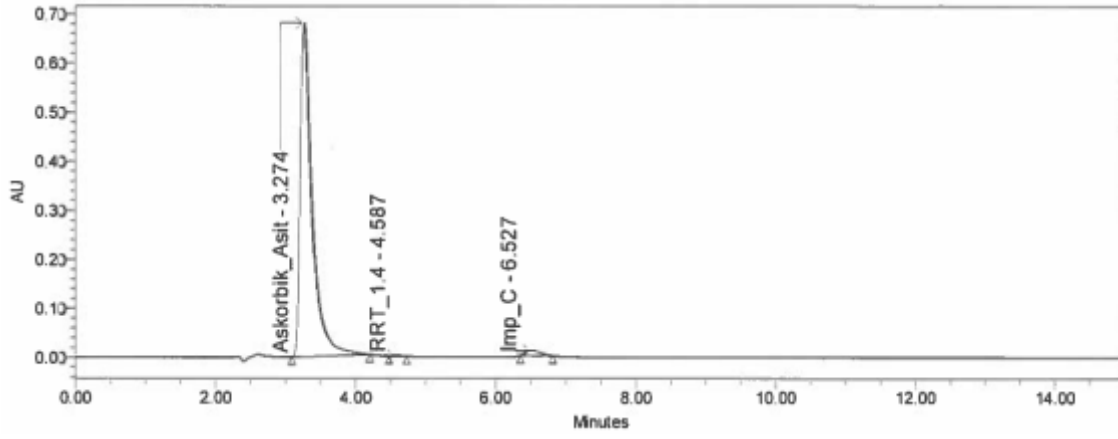
Şekil 4-27: Parasetamol (1000 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



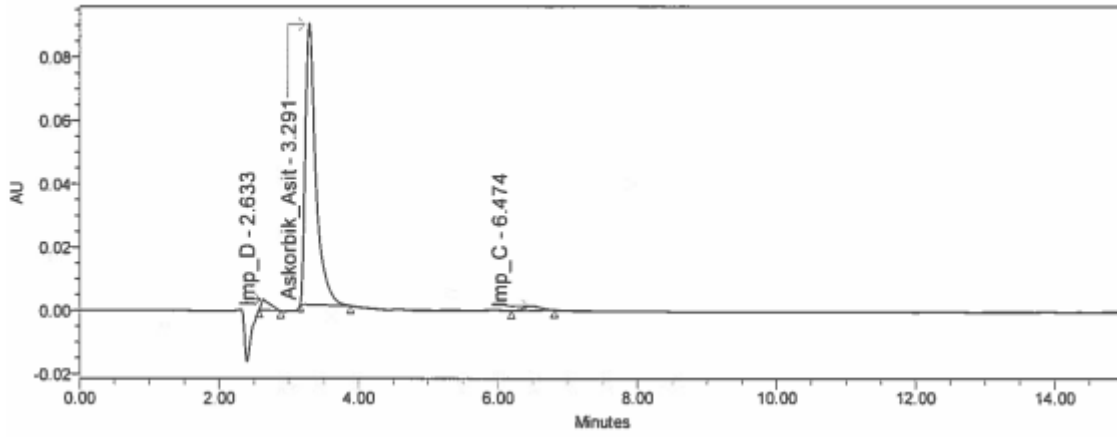
Şekil 4-28: Feniramin maleat (40 µg/mL) çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4-29: Standarta ait kromatogram



Şekil 4-30: Numuneye ait kromatogram



Şekil 4-31: Safsızlık eklenmiş numuneye ait kromatogram

Tablo 4-8 Askorbik asit safsızlık tayini için seçicilik sonuçları

	Alıkonma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayırım Faktörü (Rs)
Standart çözeltisi							
Askorbik Asit	3,291	952996	1,785	12,759	1,3	6974	-
Numune Çözeltisi							
Askorbik Asit	3,274	856378	0,891	0,989	1,3	2658	-
RRT_1,4	4,587	861	0,587	5,789	10,9	6589	3,9
Askorbik Asit Safsızlık C	6,527	43589	0,789	9,785	1,3	12567	6,7

	Alıkonma Zamanı (RT)	Pik Alanı	Purity Angle	Purity Threshold	Simetri Faktörü (Tf)	Teorik Plaka Sayısı(N)	Ayırım Faktörü (Rs)
Askorbik Asit Safsızlık D	TE	-	-	-	-	-	-
Tek Tek Verilen Standart Çözeltileri							
Askorbik Asit	3,291	847281	2,789	3,125	1,3	9161	-
Fenilefrin Hidroklörür	TE	-	-	-	-	-	-
Parasetamol	TE	-	-	-	-	-	-
Feniramin Maleat	TE	-	-	-	-	-	-
Askorbik Asit Safsızlık C	6,464	36589	0,236	0,356	1,1	9589	-
Askorbik Asit Safsızlık D	2,633	25698	1,025	3,258	0,9	23689	-
Safsızlık Eklenmiş Numune							
Askorbik Asit Safsızlık D	2,833	17035	0,123	0,269	1,0	14537	-
Askorbik Asit	3,291	774400	0,589	9,238	1,0	27485	3,5
Askorbik Asit Safsızlık C	6,527	25985	0,456	21,215	1,3	32568	7,4

T.E.: Tespit Edilmedi

4.2.2. Doğrusallık ve Aralık

4.2.2.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklörür, Askorbik Asit Miktar Tayini İçin Bulgular

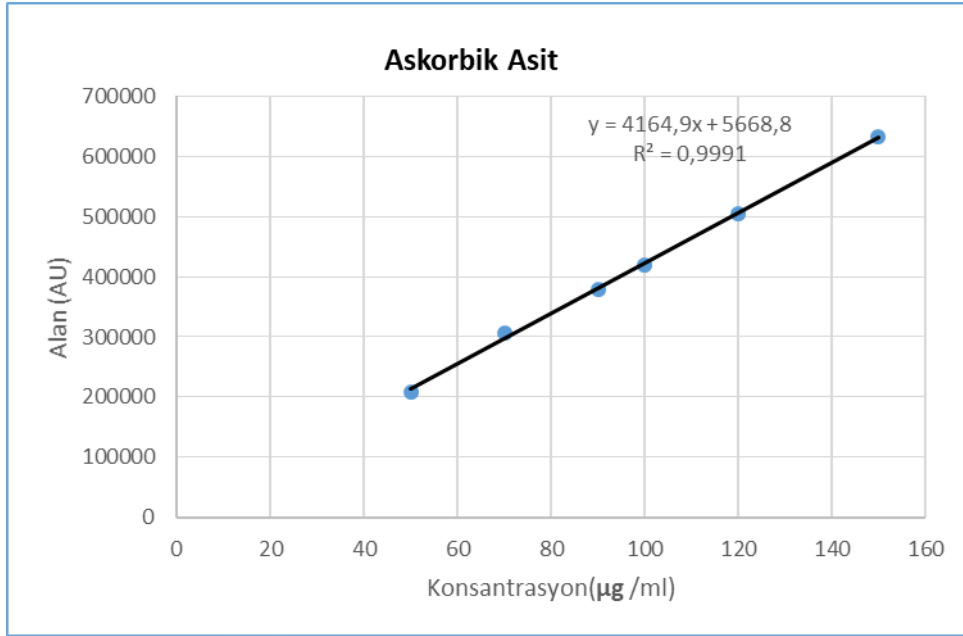
Miktar tayini yönteminde lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için Bölüm 3.5.2.1’ de belirtilen çözeltiler hazırlandı ve 6 farklı konsantrasyon seviyesinden 6 şar enjeksiyon yapıp, ortalama alanlar belirlenerek en küçük kareler yöntemine göre doğrusallık denklemleri elde edildi. Elde edilen doğrusallık grafikleri 4-34 ile 4-37 arasında, sonuçlar Tablo 4-9 ile 4-13 arasında verilmiştir.

Tablo 4-9 Askorbik asit ve fenilefrin hidroklorür miktar tayini için doğrusallık çalışması sonuçları

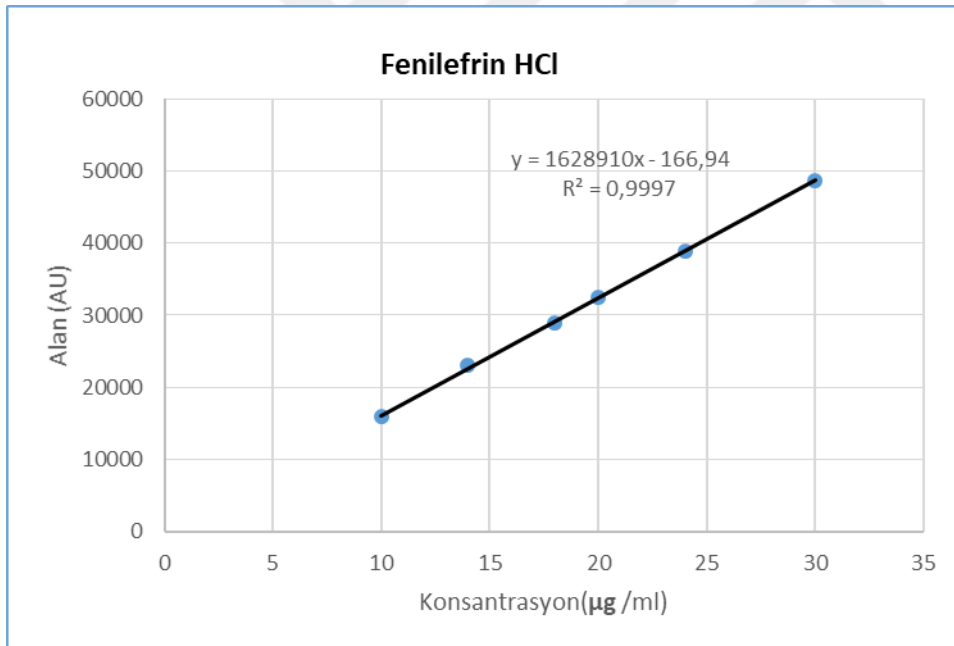
Seviye (%)	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
% 50	50	209365	1493	0,71	10	15897	168	1,07
% 70	70	305598	1801	0,59	14	25986	199	0,98
% 90	90	379256	1872	0,49	18	28993	181	0,65
% 100	100	420256	2138	0,51	20	32506	155	0,82
% 120	120	503896	1236	0,66	24	38912	147	0,76
% 150	150	631256	1645	0,59	30	48658	149	0,83
Eğim		4164,9				1628910		
y-kesim noktası		5668,8				-166,4		
R		0,999				0,998		
R ²		0,999				0,999		

Tablo 4-10 Parasetamol ve feniramin maleat miktar tayini için doğrusallık çalışması sonuçları

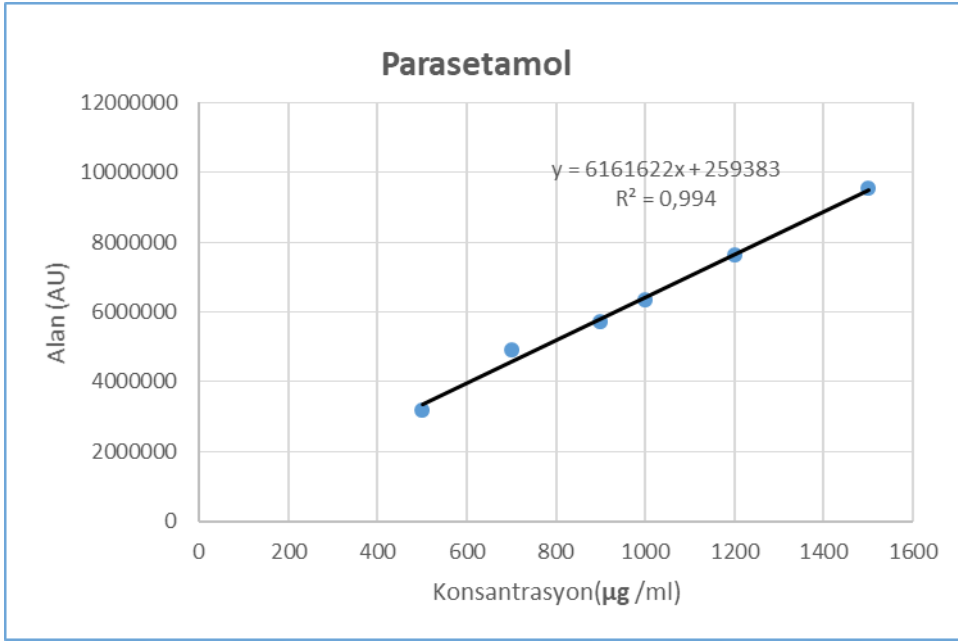
Seviye (%)	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
% 50	500	3174569	45846	1,45	20	66015	745	1,12
% 70	700	5080123	57896	1,21	28	95872	1247	0,95
% 90	900	5716895	68795	0,89	36	114056	987	0,83
% 100	1000	6352687	120091	1,90	40	125896	2022	1,62
% 120	1200	7621569	102456	0,92	48	152423	1578	1,21
% 150	1500	9527869	89647	1,27	60	189023	1178	1,03
Eğim		4164,9				1628910		
y-kesim noktası		5668,8				-166,4		
R		0,999				0,998		
R ²		0,999				0,999		



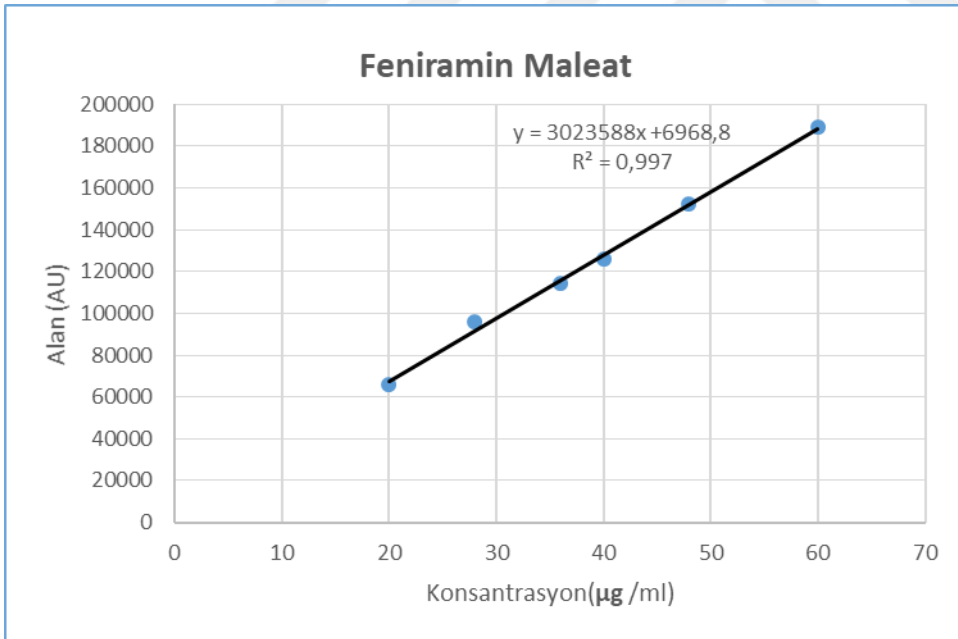
Şekil 4-32: Askorbik asit doğrusallık grafiği



Şekil 4-33: Fenilefrin hidroklorür doğrusallık grafiği



Şekil 4-34: Parasetamol doğrusallık grafiği



Şekil 4-35: Feniramin maleat doğrusallık grafiği

Doğrusallık çalışması sonucunda elde edilen verilerden ve gerçekleştirilen regrasyon analizinden doğrusallık denklemi eğimi, y-kesim noktası, korelasyon katsayısı (R), korelasyon katsayısının karesi (R^2) hesaplatılmıştır. Konsantrasyon ve alanlar arasındaki

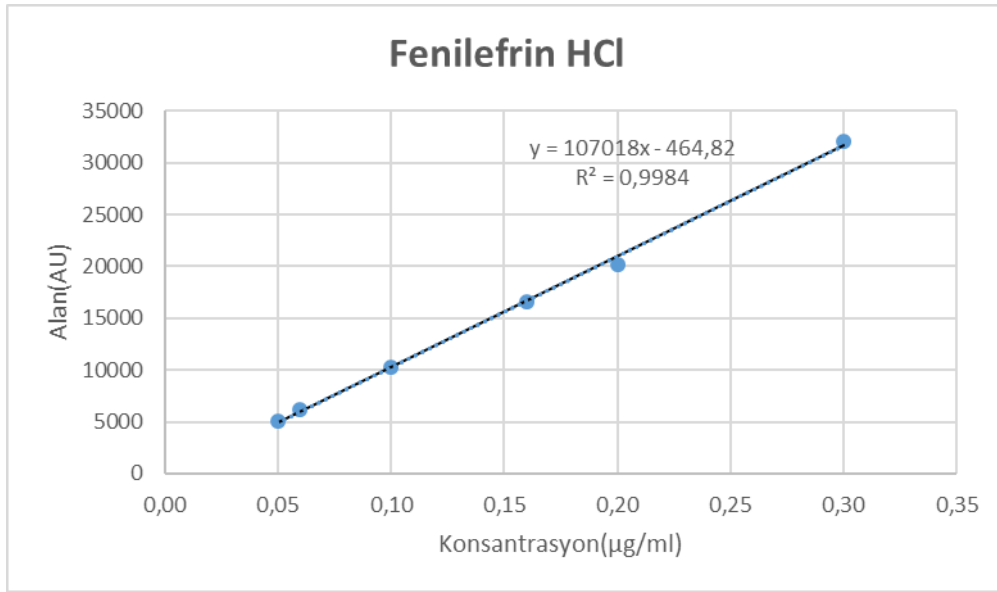
korelasyon katsayısı 0.99'dan büyüktür. Askorbik asit için 50-150 µg/mL konsantrasyonları aralığında, fenilefrin Hidroklorür için 10-30 µg /mL konsantrasyonları konsantrasyonları aralığında, parasetamol için 500-1500 µg /mL konsantrasyonları aralığında, feniramin maleat için 20-60 µg /mL dedektör yanıtı ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Metodun doğrusallığı kanıtlanmıştır.

4.2.2.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayini İçin Bulgular

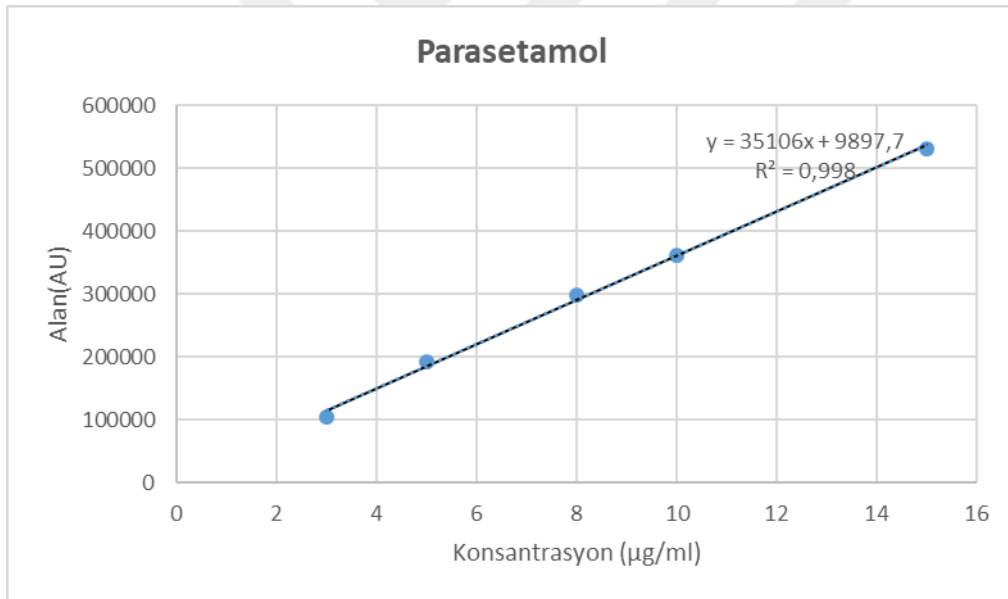
Yöntemin lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için Bölüm 3.6.2.2 de belirtilen çözeltiler hazırlandı ve 6 farklı konsantrasyon seviyesinden 6 şar enjeksiyon yapıp, ortalama alanlar belirlenerek en küçük kareler yöntemine göre doğrusallık denklemleri elde edildi, Elde edilen doğrusallık grafikleri 4-38 ile 4-47 arasında, sonuçlar Tablo 4-10 da verilmiştir.

Tablo 4-11 Safsızlık tayini etken maddeleri için doğrusallık değerleri

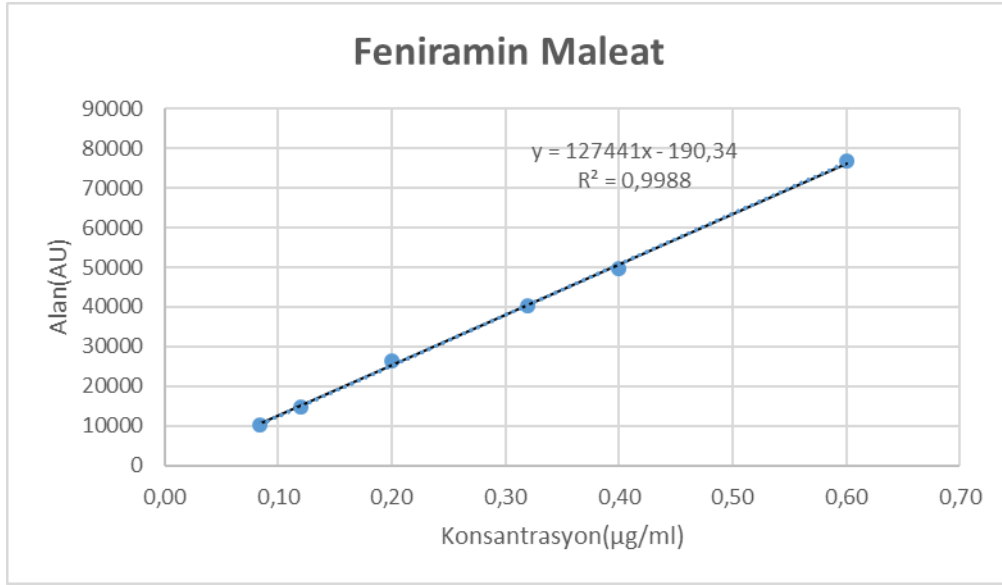
Seviye (%)	Fenilefrin Hidroklorür				Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
LOQ	0,05	5045	896	0,93	2,4	86619	524	1,83	0,08	10382	189	1,81
30	0,06	6123	2789	0,88	3	105214	879	1,86	0,12	14902	247	0,76
50	0,10	10257	435	0,61	5	192013	1078	1,23	0,20	26547	578	0,84
80	0,16	16587	1896	0,87	8	298102	2019	0,73	0,32	40251	1047	1,02
100	0,20	20201	1478	1,56	10	361475	873	0,86	0,40	49588	1190	1,40
150	0,30	32104	832	1,25	15	532012	681	1,45	0,60	76897	864	0,99
Eğim		107018				35106				127441		
y-kesim noktası		-464,82				9897,7				-190,34		
R		0,999				0,998				0,999		
R²		0,998				0,997				0,998		



Şekil 4-36: Fenilefrin hidroklorür doğrusallık grafiği



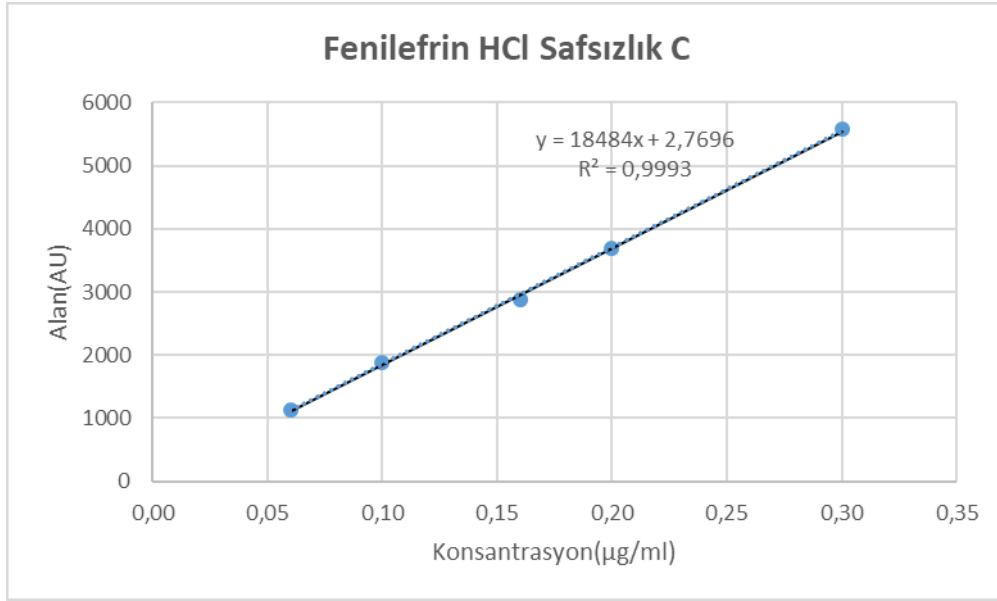
Şekil 4-37: Parasetamol doğrusallık grafiği



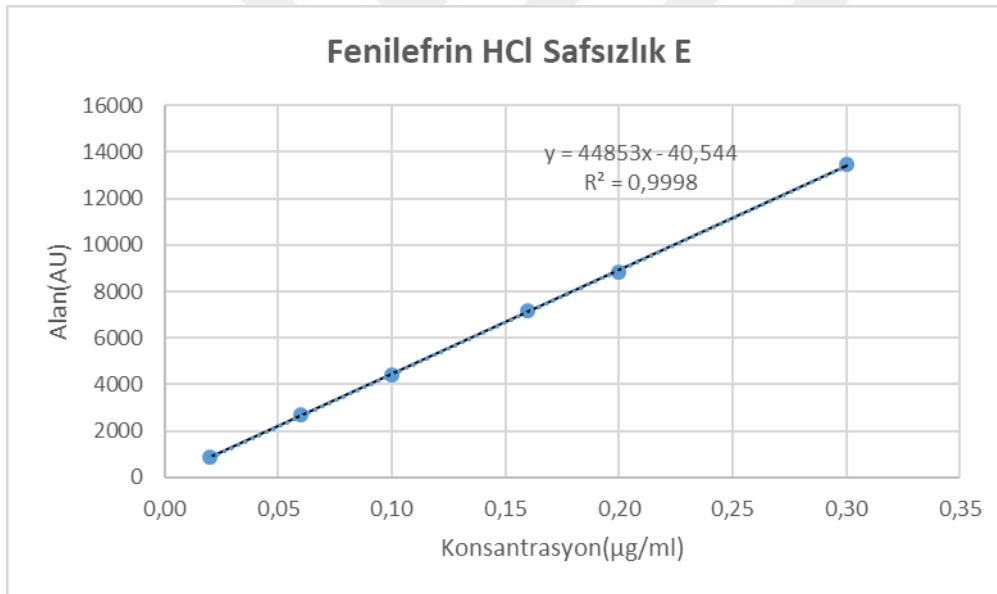
Şekil 4-38: Feniramin maleat doğrusallık grafiği

Tablo 4-12 Fenilefrin hidroklorür safsızlıkları için doğrusallık değerleri

Seviye (%)	Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C				Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
LOQ	0,03	578	465	1,03	0,02	889	1254	1,85
30	0,06	1125	897	0,58	0,06	2685	1035	1,65
50	0,10	1892	3578	0,62	0,10	4405	861	0,69
80	0,16	2887	2145	0,73	0,16	7148	436	0,49
100	0,20	3689	1686	1,16	0,20	8819	179	0,72
150	0,30	5578	573	1,58	0,30	13487	268	1,28
Eğim		18484				44853		
y-kesim noktası		2,7696				-40,544		
R		0,999				0,999		
R²		0,999				0,999		



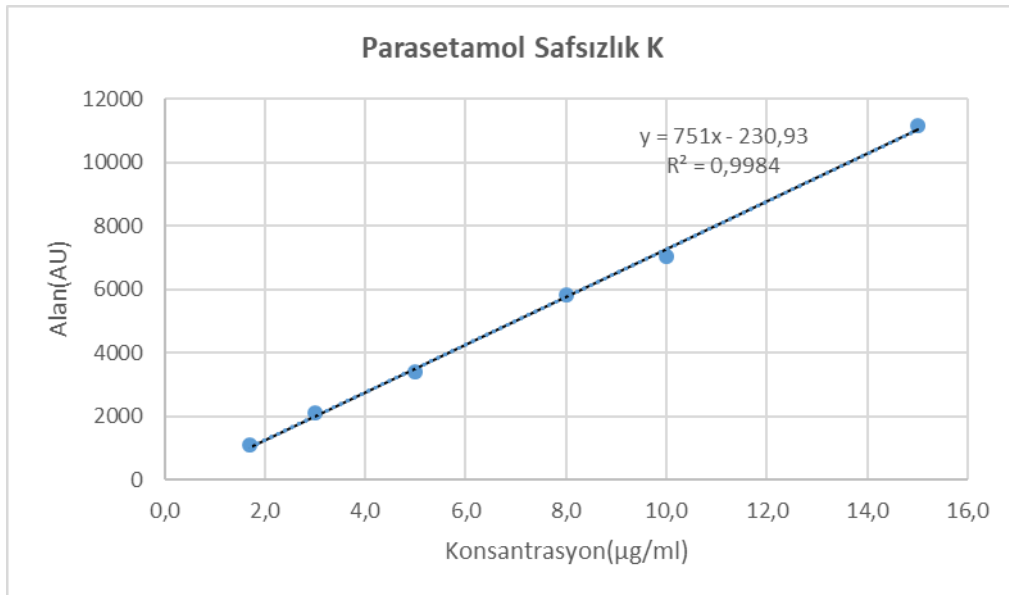
Şekil 4-39: Fenilefrin hidroklorür safsızlık C doğrusallık grafiği



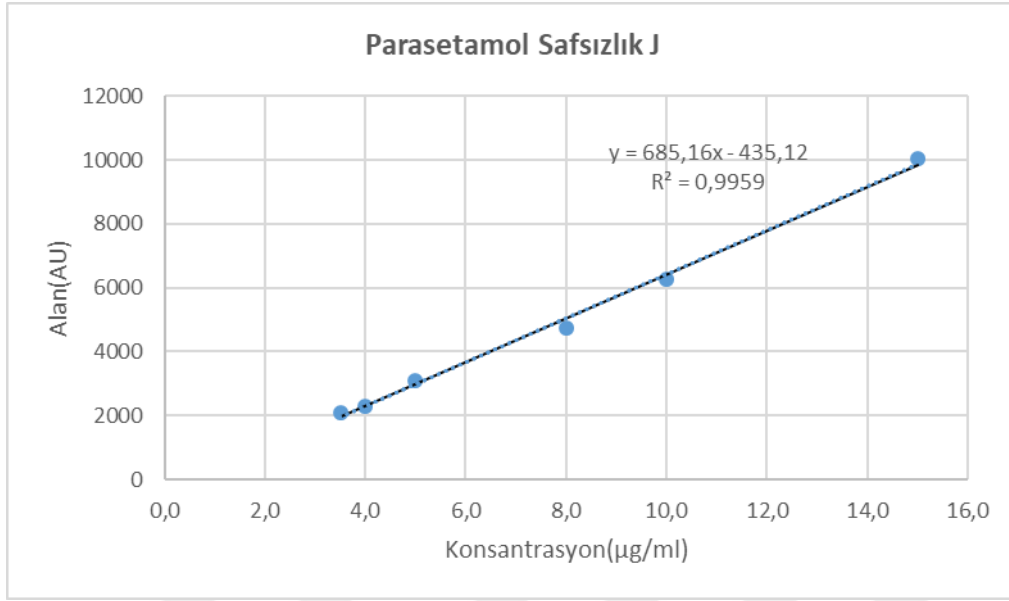
Şekil 4-40: Fenilefrin hidroklorür safsızlık E doğrusallık grafiği

Tablo 4-13 Parasetamol safsızlıkları için doğrusallık değerleri

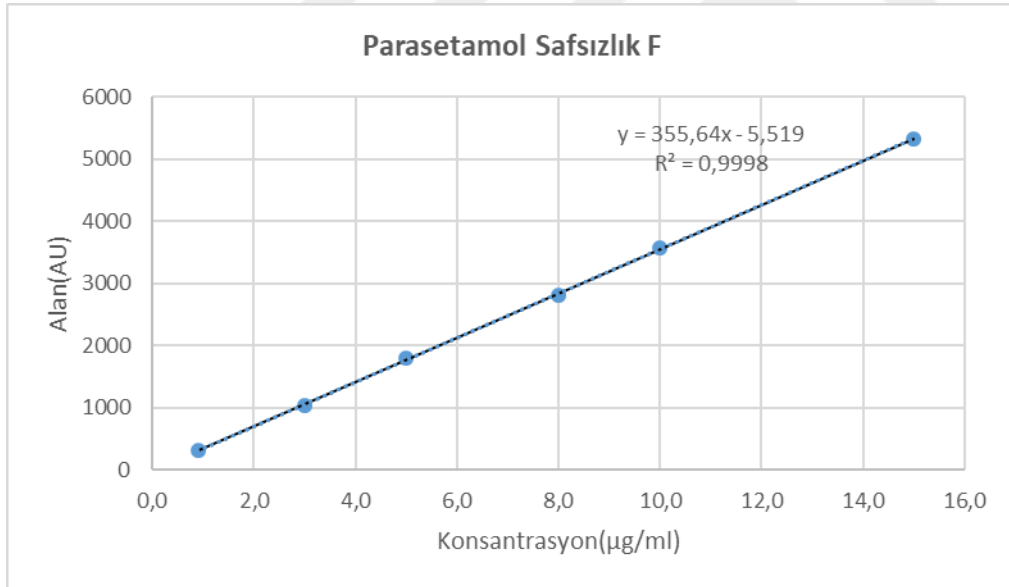
Parasetamol Safsızlık K					Parasetamol Safsızlık F					Parasetamol Safsızlık J				
Seviye (%)	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Seviye (%)	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	
LOQ	1,7	1115	589	0,97	0,9	315	845	1,67	LOQ	3,5	2103	2379	1,86	
30	3,0	2106	459	0,83	3,0	1046	1245	1,28	40	4,0	2312	1247	1,67	
50	5,0	3412	1278	0,65	5,0	1803	963	0,89	50	5,0	3112	263	0,65	
80	8,0	5836	1672	1,09	8,0	2803	4653	0,87	80	8,0	4725	1278	0,82	
100	10,0	7035	867	1,98	10,0	3577	2786	0,67	100	10,0	6287	983	0,49	
150	15,0	11278	2476	1,56	15,0	5324	831	1,23	150	15,0	10025	1678	0,78	
Eğim		751				355,64					685,16			
y- kesim noktası		-230,93				-5,519					-435,12			
R		0,998				0,999					0,998			
R²		0,997				0,999					0,996			



Şekil 4-41: Parasetamol safsızlık K doğrusallık grafiği



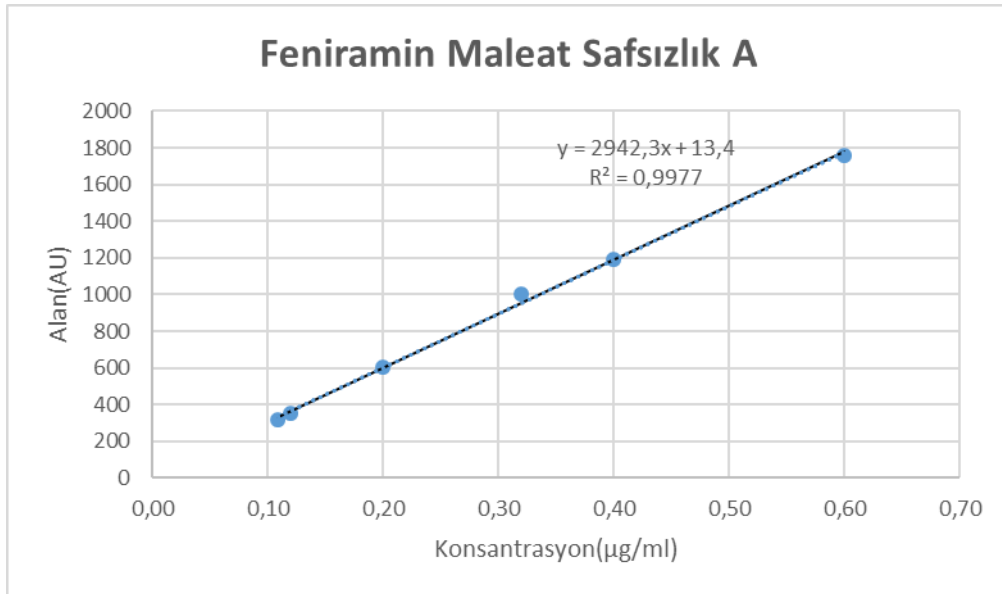
Şekil 4-42: Parasetamol safsızlık J doğrusallık grafiği



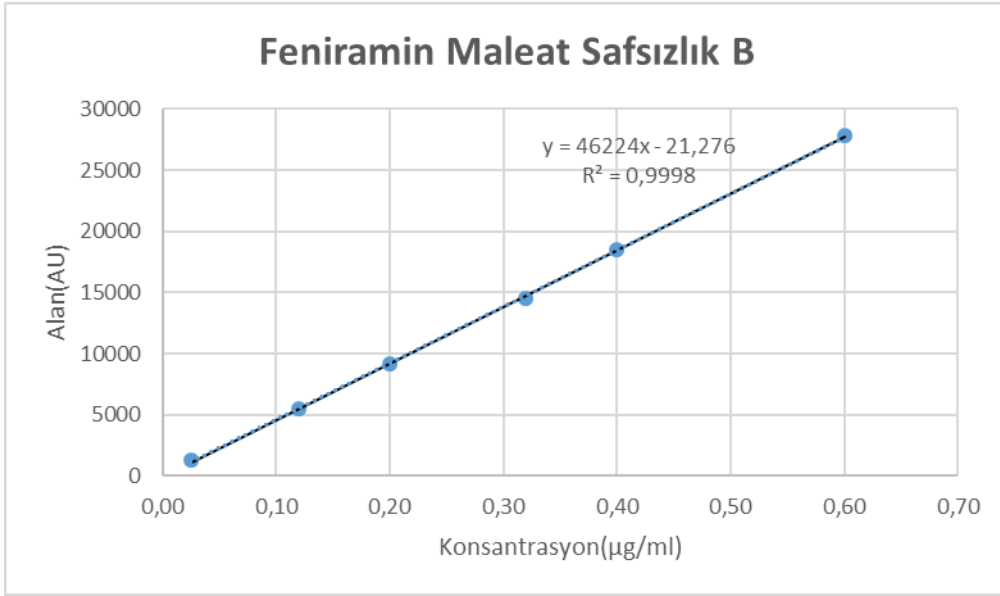
Şekil 4-43: Parasetamol safsızlık F doğrusallık grafiği

Tablo 4-14 Feniramin maleat safsızlıkları için doğrusallık değerleri

Seviye (%)	Feniramin Maleat Safsızlık A				Feniramin Maleat Safsızlık B			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
LOQ	0,11	318	1567	0,93	0,03	1287	2578	1,76
30	0,12	351	893	0,57	0,12	5512	1279	1,23
50	0,20	605	726	0,86	0,20	9145	687	1,17
80	0,32	1005	2165	1,81	0,32	14567	756	0,76
100	0,40	1192	3128	1,97	0,40	18531	1273	0,48
150	0,60	1756	672	0,93	0,60	27803	2478	0,64
Eğim		2942,3				46224		
y-kesim noktası		13,4				-21,276		
R		0,999				0,999		
R²		0,998				0,999		



Şekil 4-44: Feniramin maleat safsızlık A doğrusallık grafiği



Şekil 4-45: Feniramin maleat safsızlık B doğrusallık grafiği

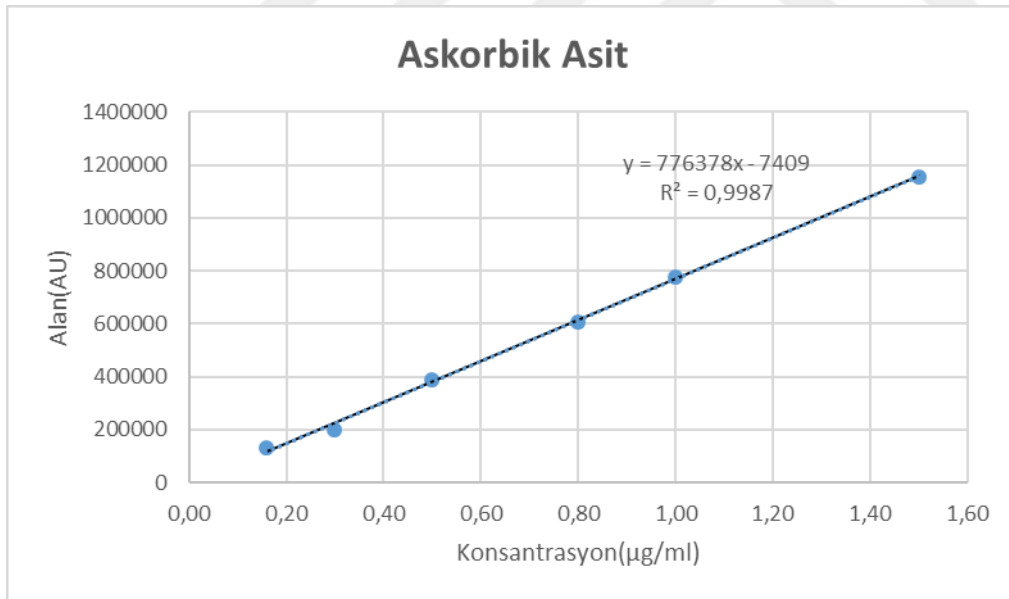
Sonuç olarak oğrusallık çalışması sonucunda elde edilen verilerden ve gerçekleştirilen regrasyon analizinden doğrusallık denklemleri eğimi, y-kesim noktası, korelasyon katsayısı (R), korelasyon katsayısının karesi (R^2) hesaplatılmıştır. Konsantrasyon ve alanlar arasındaki korelasyon katsayısı 0,99'dan büyüktür. Fenilefrin Hidroklorür için 0,029-0,3 µg/mL konsantrasyonları aralığında, Parasetamol için 10,0-15,0 µg/mL konsantrasyonları aralığında, Feniramin Maleat için 0,04-0,6 µg/mL konsantrasyonları aralığında, Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C için 0,007-0,3, Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E için 0,025-3,0, Parasetamol Safsızlık K için 1,0-15,0 µg/mL, Parasetamol Safsızlık J için 0,8-15,0 µg/mL, Parasetamol Safsızlık F için 1,4-15,0 µg/mL, Feniramin Maleat Safsızlık A için 0,02-0,6 µg/mL, Feniramin Maleat Safsızlık B için 0,01-0,6 µg/mL, dedektör yanıtı ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Metodun doğrusallığı kanıtlanmıştır.

4.2.2.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayini İçin Bulgular

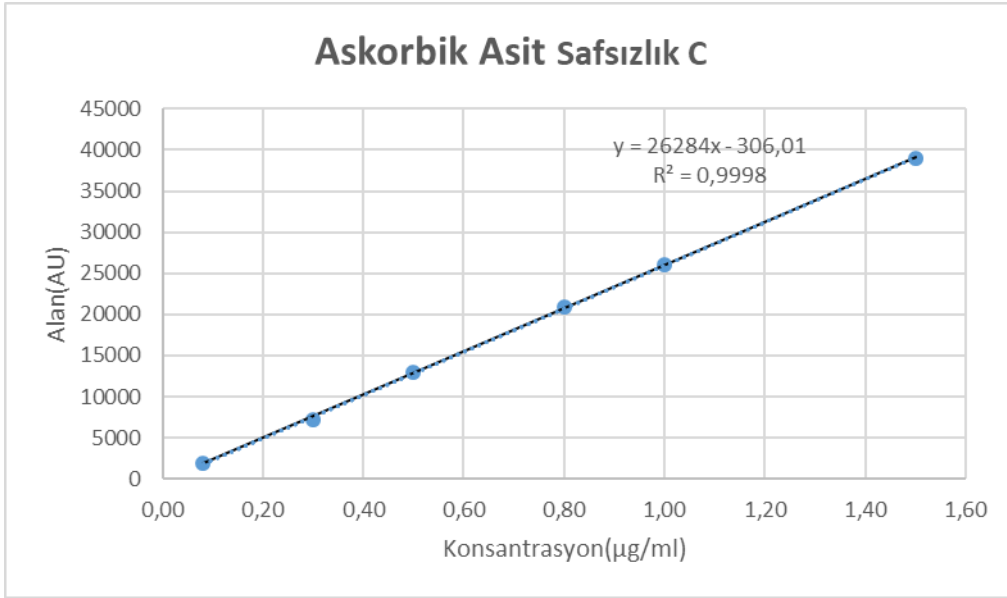
Yöntemin lineer cevap ilişkisini kanıtlamak için Bölüm 3.6.2.3'de belirtilen çözeltiler hazırlandı ve 6 farklı konsantrasyon seviyesinden 6 şar enjeksiyon yapıp, ortalama alanlar belirlenerek en küçük kareler yöntemine göre doğrusallık denklemleri elde edildi, Elde edilen doğrusallık grafikleri 4-48 ile 4-50 arasında, sonuçlar Tablo 4-14 de verilmiştir.

Tablo 4-15 Askorbik asit ve safsızlıkları için doğrusallık değerleri

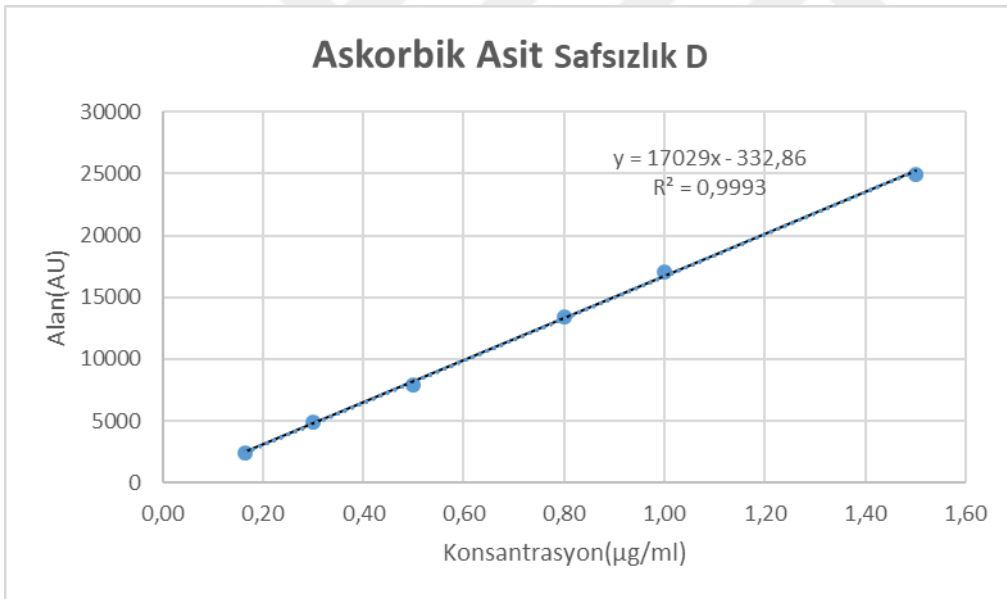
Seviye (%)	Askorbik Asit				Askorbik Asit Safsızlık C				Askorbik Asit Safsızlık D			
	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD	Konsant. (µg /mL)	Ortalama Alan	SD	% RSD
LOQ	0,16	132587	678	1,11	0,08	1956	597	1,12	0,17	2354	756	0,73
30	0,3	201587	1278	0,68	0,3	7251	1247	0,56	0,3	4897	1235	0,82
50	0,5	388035	679	0,57	0,5	12912	1139	0,78	0,5	7945	1789	1,86
80	0,8	608744	1579	0,93	0,8	20911	1098	0,98	0,8	13412	982	1,17
100	1,0	774400	1357	1,18	1,0	25985	782	1,87	1,0	17035	2017	0,49
150	1,5	1156789	2146	1,23	1,5	39047	439	1,101	1,5	24987	1397	0,76
Eğim		776378				26284				17029		
y-kesim noktası		-7409				-306,01				332,86		
R		0,999				0,999				0,999		
R ²		0,999				0,999				0,999		



Şekil 4-46: Askorbik asit doğrusallık grafiği



Şekil 4-47: Askorbik asit safsızlık C doğrusallık grafiği



Şekil 4-48: Askorbik asit safsızlık D doğrusallık grafiği

Doğrusallık çalışması sonucunda elde edilen verilerden ve gerçekleştirilen regresyon analizinden doğrusallık denklemi eğimi, y-kesim noktası, korelasyon katsayısı (R), korelasyon katsayısının karesi (R^2) hesaplatılmıştır. Konsantrasyon ve alanlar arasındaki korelasyon katsayısı 0,99'dan büyüktür. Askorbik asit için 0,16-1,5 µg/mL konsantrasyonları aralığında, Askorbik asit safsızlık C için 0,08-1,5 µg/mL konsantrasyonları aralığında, Askorbik asit safsızlık D için 0,17-1,5 konsantrasyonları aralığında dedektör yanıtı ile

konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Metodun doğrusallığı kanıtlanmıştır.

4.2.3. Doğruluk ve Geri Kazanım

4.2.3.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Bölüm 3.5.3.1’de belirtildiği üzere standart çözeltiden 6 enjeksiyon yapılarak elde edilen alanların ortalaması hesaplandı. %50, %100 ve %150 seviyelerinde hazırlanmış 3’er numune hazırlanarak, ikiye enjeksiyon yapıldı. Standart konsantrasyonu ve ortalama alanları kullanılarak numunelerdeki deneysel miktarlar hesaplandı karşılaştırıldı. % geri kazanımlar, sonuçlar arasındaki standart sapma(SD) ve bağıl standart sapma (RSD) hesaplanarak kaydedildi. Teorik konsantrasyon ve deneysel konsantrasyon değerleri kullanılarak geri kazanımlar Denklem 3-1’e göre hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4-15 ile Tablo 4-18 arasında verilmiştir.

Tablo 4-16 Askorbik asit için geri kazanım sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Deneysel Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% 50	50	49	98,0	99,7	2,0	2,0
	50	50	100,0			
	50	51	102,0			
	50	51	102,0			
	50	49	98,0			
	50	49	98,0			
% 100	100	102	102,0	99,8	1,5	1,5
	100	101	101,0			
	100	98	98,0			
	100	99	99,0			
	100	99	99,0			
	100	100	100,0			
% 150	150	147	98,0	99,1	1,1	1,1
	150	150	100,0			
	150	151	100,7			
	150	148	98,7			
	150	149	99,3			
	150	147	98,0			
Genel Ortalama				99,1	1,5	1,5

Tablo 4-17 Fenilefrin hidroklorür için geri kazanım sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneyisel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% 50	10	9,8	98,0	99,2	1,2	1,2
	10	9,9	99,0			
	10	10,1	101,0			
	10	9,8	98,0			
	10	10	100,0			
	10	9,9	99,0			
% 100	20	20,1	100,5	98,9	1,0	1,0
	20	19,6	98,0			
	20	19,8	99,0			
	20	19,7	98,5			
	20	19,9	99,5			
	20	19,6	98,0			
% 150	30	29,6	98,7	99,2	0,7	0,7
	30	30,1	100,3			
	30	29,7	99,0			
	30	29,5	98,3			
	30	29,7	99,0			
	30	29,9	99,7			
Genel Ortalama				99,1	1,0	1,0

Tablo 4-18 Feniramin maleat için geri kazanım sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneyisel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% 50	20	19,9	99,5	99,6	0,7	0,7
	20	20,06	100,3			
	20	19,8	99,0			
	20	20,01	100,1			
	20	20,04	100,2			
	20	19,7	98,5			
% 100	40	39,5	98,8	98,9	0,8	0,8
	40	39,2	98,0			
	40	39,4	98,5			
	40	40,06	100,2			
	40	39,4	98,5			
	40	39,9	99,8			
% 150	60	59,87	99,8	99,3	0,5	0,5
	60	59,75	99,6			
	60	59,71	99,5			
	60	59,62	99,4			
	60	59,31	98,9			
	60	59,07	98,5			
Genel Ortalama				99,3	0,74	0,75

Tablo 4-19 Parasetamol için geri kazanım sonuçları

Çözeltili Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneysel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% 50	500	499	99,8	99,3	1,1	1,1
	500	492	98,4			
	500	490	98,0			
	500	501	100,2			
	500	503	100,6			
% 100	500	493	98,6	99,0	0,7	0,7
	1000	994	99,4			
	1000	985	98,5			
	1000	981	98,1			
	1000	993	99,3			
% 150	1000	1001	100,1	99,1	0,8	0,8
	1000	986	98,6			
	1500	1487	99,1			
	1500	1475	98,3			
	1500	1496	99,7			
	1500	1471	98,1	99,1	0,8	0,8
	1500	1504	100,3			
	1500	1482	98,8			
Genel Ortalama				99,1	0,83	0,84

Doğruluk parametresi için çalışılan her numunenin % geri kazanımı % 98.0 ile % 102.0 arasındadır. % Geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 2.0 den küçüktür. Metodun doğruluğu kanıtlanmıştır.

4.2.3.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık İçin Elde Edilen Bulgular

Bölüm 3.6.3.2’de belirtildiği üzere LOQ , %100 ve %150 seviyelerinde hazırlanmış 3’er safsızlık eklenmiş numune hazırlanarak, ikişer enjeksiyon yapıldı. % geri kazanımlar, SD ve RSD hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4-19 ile 4-25 arasında verilmiştir.

Tablo 4-20 Parasetamol safsızlık K için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneysel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	1	0,978	97,8	97,7	1,3	1,3
	1	0,954	95,4			
	1	0,977	97,7			
	1	0,994	99,4			
	1	0,976	97,6			
% 100	1	0,981	98,1	98,1	2,2	2,3
	2	1,899	95,0			
	2	1,995	99,8			
	2	2,018	100,9			
	2	1,978	98,9			
% 150	2	1,954	97,7	96,7	1,6	1,7
	2	1,926	96,3			
	3	2,912	97,1			
	3	2,875	95,8			
	3	2,907	96,9			
	3	2,989	99,6	95,1		
	3	2,854	95,1			
	3	2,873	95,8	97,6	1,64	1,65
Genel Ortalama				97,6	1,64	1,65

Tablo 4-21 Parasetamol safsızlık J için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneysel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	1	0,981	98,1	97,7	1,3	1,3
	1	0,983	98,3			
	1	0,991	99,1			
	1	0,99	99,0			
	1	1,012	101,2			
% 100	1	1,008	100,8	98,1	2,2	2,3
	2	1,997	99,9			
	2	1,907	95,4			
	2	2,061	103,1			
	2	2,098	104,9			
% 150	2	1,952	97,6	96,7	1,6	1,7
	2	1,907	95,4			
	3	2,874	95,8			
	3	2,85	95,0			
	3	2,945	98,2			
	3	2,912	97,1	100,2		
	3	3,006	100,2			
	3	3,118	103,9	98,8	2,9	2,9
Genel Ortalama				98,8	2,9	2,9

Tablo 4-22 Parasetamol safsızlık F için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneyisel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	1	0,956	95,6	97,9	2,3	2,4
	1	0,978	97,8			
	1	1,004	100,4			
	1	1,011	101,1			
	1	0,962	96,2			
	1	0,964	96,4			
% 100	2	2,007	100,4	98,2	3,3	3,4
	2	2,078	103,9			
	2	1,912	95,6			
	2	1,953	97,7			
	2	1,924	96,2			
	2	1,911	95,6			
% 150	3	3,007	100,2	97,7	2,5	2,5
	3	3,045	101,5			
	3	2,888	96,3			
	3	2,879	96,0			
	3	2,901	96,7			
	3	2,871	95,7			
Genel Ortalama				98,3	2,69	2,73

Tablo 4-23 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneyisel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,05	0,049	98,2	98,1	3,1	3,2
	0,05	0,048	96,0			
	0,05	0,048	95,0			
	0,05	0,048	95,8			
	0,05	0,051	102,4			
	0,05	0,051	101,4			
% 100	0,10	0,095	95,0	98,2	2,8	2,8
	0,10	0,097	97,0			
	0,10	0,098	98,0			
	0,10	0,096	96,0			
	0,10	0,101	101,0			
	0,10	0,102	102,0			
% 150	0,15	0,151	100,7	98,9	2,4	2,4
	0,15	0,154	102,7			
	0,15	0,148	98,7			
	0,15	0,146	97,3			
	0,15	0,144	96,0			
	0,15	0,147	98,0			
Genel Ortalama				98,7	2,81	2,85

Tablo 4-24 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Deneyisel Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,05	0,048	96,0	97,7	2,9	3,0
	0,05	0,047	94,0			
	0,05	0,050	100,6			
	0,05	0,051	101,4			
	0,05	0,048	96,0			
	0,05	0,049	98,0			
% 100	0,10	0,098	97,8	96,8	1,4	1,5
	0,10	0,095	95,0			
	0,10	0,096	96,0			
	0,10	0,099	99,0			
	0,10	0,096	96,0			
	0,10	0,097	97,0			
% 150	0,15	0,151	100,6	98,4	1,4	1,4
	0,15	0,148	98,7			
	0,15	0,146	97,3			
	0,15	0,147	98,0			
	0,15	0,145	96,7			
	0,15	0,149	99,3			
Genel Ortalama				97,6	2,2	2,2

Tablo 4-25 Feniramin maleat safsızlık A için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Deneyisel Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,05	0,049	98,0	97,8	2,5	2,6
	0,05	0,047	94,0			
	0,05	0,050	100,6			
	0,05	0,050	100,2			
	0,05	0,048	96,0			
	0,05	0,049	98,0			
% 100	0,10	0,098	97,8	98,0	2,9	3,0
	0,10	0,096	96,1			
	0,10	0,096	95,7			
	0,10	0,095	95,2			
	0,10	0,102	102,0			
	0,10	0,101	101,0			
% 150	0,15	0,144	96,0	97,9	1,2	1,2
	0,15	0,148	98,7			
	0,15	0,146	97,3			
	0,15	0,146	97,3			
	0,15	0,148	98,7			
	0,15	0,149	99,3			
Genel Ortalama				97,8	2,35	2,41

Tablo 4-26 Feniramin maleat safsızlık B için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Deneyisel Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,05	0,049	98,2	96,9	2,0	2,0
	0,05	0,048	96,0			
	0,05	0,048	95,0			
	0,05	0,048	95,8			
	0,05	0,048	96,0			
	0,05	0,050	100,2			
% 100	0,10	0,096	96,0	96,8	2,6	2,7
	0,10	0,095	95,0			
	0,10	0,097	97,0			
	0,10	0,096	96,0			
	0,10	0,102	102,0			
	0,10	0,095	95,0			
% 150	0,15	0,151	100,7	98,8	2,6	2,7
	0,15	0,154	102,7			
	0,15	0,146	97,3			
	0,15	0,143	95,3			
	0,15	0,149	99,3			
	0,15	0,146	97,3			
Genel Ortalama				97,5	2,6	2,7

Doğruluk parametresi için çalışılan her numunenin % geri kazanımı % 95.0 - % 105.0 arasındadır. % Geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 4.0' dan küçüktür. Metodun doğruluğu kanıtlanmıştır.

4.2.3.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Bölüm 3.6.3.3'de belirtildiği üzere LOQ , %100 ve %150 seviyelerinde hazırlanmış 3'er numune hazırlanarak, ikişer enjeksiyon yapıldı. % geri kazanımlar, sonuçlar arasındaki standart sapma(SD) ve bağıl standart sapma (RSD) hesaplanarak kaydedildi. Sonuçlar Tablo 4-20 de verilmiştir.

Tablo 4-27 Askorbik asit safsızlık C için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneysel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,5	0,497	99,4	97,6	1,6	1,6
	0,5	0,491	98,2			
	0,5	0,489	97,8			
	0,5	0,475	95,0			
	0,5	0,482	96,4			
	0,5	0,493	98,6			
% 100	1	0,978	97,8	97,5	1,4	1,4
	1	0,954	95,4			
	1	0,977	97,7			
	1	0,993	99,3			
	1	0,982	98,2			
	1	0,965	96,5			
% 150	1,5	1,488	99,2	97,2	1,8	1,8
	1,5	1,465	97,7			
	1,5	1,443	96,2			
	1,5	1,438	95,9			
	1,5	1,487	99,1			
	1,5	1,425	95,0			
Genel Ortalama				97,6	1,38	1,42

Tablo 4-28 Askorbik asit safsızlık D için doğruluk sonuçları

Çözelti Seviyesi	Teorik Kons. (µg/mL)	Deneysel Kons. (µg /mL)	% Geri Kazanım	Ortalama %Geri Kazanım	SD	% RSD
% LOQ	0,5	0,477	95,4	96,5	1,2	1,2
	0,5	0,485	97,0			
	0,5	0,493	98,6			
	0,5	0,479	95,8			
	0,5	0,481	96,2			
	0,5	0,479	95,8			
% 100	1	0,956	95,6	98,1	1,9	2,0
	1	0,978	97,8			
	1	1,004	100,4			
	1	1,002	100,2			
	1	0,981	98,1			
	1	0,964	96,4			
% 150	1,5	1,456	97,1	98,4	2,0	2,0
	1,5	1,429	95,3			
	1,5	1,467	97,8			
	1,5	1,497	99,8			
	1,5	1,501	100,1			
	1,5	1,503	100,2			
Genel Ortalama				97,2	1,6	1,7

Doğruluk parametresi için çalışılan her numunenin % geri kazanımı % 95.0 - % 105.0 arasındadır. % Geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 4.0' dan küçüktür. Metodun doğruluğu kanıtlanmıştır.

4.2.4. Kesinlik

4.2.4.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Bölüm 3.5.4'de tarif edildiği şekilde miktar tayini analizi için yapılan sistem kesinliği, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen alanlar ile bağıl standart sapma değeri (% RSD), standart sapma (SD) ve pik performans parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-21 ile 4-27 arasında verilmiştir.

Tablo 4-29 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayrım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,2	5136	-	1,173	405042
2	1,2	5269	-	1,178	403789
3	1,2	5478	-	1,173	401789
4	1,2	5367	-	1,176	404612
5	1,2	5312	-	1,174	405987
6	1,2	5478	-	1,173	404137
Ort.	1,2	5340	-	1,175	404226
		SD		0,002	1418,01
		% RSD		0,18	0,35

Tablo 4-30 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,3	13154	-	1,173	29756
2	1,2	9178	-	1,178	36578
3	1,2	8145	-	1,173	32145
4	1,3	14785	-	1,176	26578
5	1,1	11235	-	1,174	23015
6	1,2	10234	-	1,173	30214
Ort.	1,2	11122	-	1,175	29714,3
		SD		0,002	
		% RSD		0,161	

Tablo 4-31 Parasetamol standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1.3	21911	13,3	2,493	6001611
2	1.3	22156	13,1	2,487	5997814
3	1.2	21875	13,0	2,498	5876314
4	1.3	20158	12,9	2,486	6012315
5	1.2	24783	13,7	2,492	6124679
6	1.3	27815	13,9	2,493	5987463
Ort.	1.3	23116	13,3	2,492	6000032
		SD		0,004	78942,109
		% RSD		0,177	1,316

Tablo 4-32 Feniramin maleat standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,1	34763	8,1	4,554	129337
2	1,3	35789	8,3	4,588	127897
3	1,2	33147	8,4	4,478	126147
4	1,1	32478	8,5	4,514	127896
5	1,2	31578	8,1	4,516	125789
6	1,1	30785	8,4	4,499	127856
Ort.	1,2	33090	8,3	4,525	127487
SD				0,040	1309,416
% RSD				0,878	1,027

Standart çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen alanlar arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) değeri % 2,0 ‘den küçüktür. Sistem kesinliği kanıtlanmıştır.

Tablo 4-33 Tekrarlanabilirlik miktar tayini sonuçları

Numune No	Parasetamol (µg/mL)	% Miktar Tayini	Fenilefrin HCl (µg/mL)	% Miktar Tayini	Feniramin Maleat (µg/mL)	% Miktar Tayini	Askorbik Asit (µg/mL)	% Miktar Tayini
1	971	97,1	21	105,0	38	95,0	97	97,0
2	992	99,2	19	95,0	41	102,5	101	101,0
3	1004	100,4	18	90,0	39	97,5	96	96,0
4	982	98,2	17	85,0	37	92,5	94	94,0
5	989	98,9	20	100,0	39	97,5	102	102,0
6	1008	100,8	21	105,0	40	100,0	98	98,0
ORT.	991	99,1	19	96,7	39	97,5	98	98,0
SD	13,74	1,37	1,63	8,16	1,41	3,54	3,03	3,03
% RSD	0,01	0,01	0,08	0,08	0,04	0,04	0,03	0,03

Tablo 4-34 Ara kesinlik miktar tayini sonuçları

Numune No	Parasetamol (µg/mL)	% Miktar Tayini	Fenilefrin HCl (µg/mL)	% Miktar Tayini	Feniramin Maleat (µg/mL)	% Miktar Tayini	Askorbik Asit (µg/mL)	% Miktar Tayini
1	1011	101,1	22	110,0	37	92,5	96	96,0
2	1008	100,8	17	85,0	40	100,0	104	104,0
3	999	99,9	20	100,0	41	102,5	101	101,0
4	995	99,5	21	105,0	36	90,0	94	94,0
5	987	98,7	19	95,0	38	95,0	100	100,0
6	973	97,3	21	105,0	37	92,5	97	97,0
ORT.	996	99,6	20	100,0	38	95,4	99	98,7
SD	14,05	1,41	1,79	8,94	1,94	4,85	3,67	3,67
% RSD	0,01	0,01	0,09	0,09	0,05	0,05	0,04	0,04

Tablo 4-35 Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik miktar tayini sonuçlarının karşılaştırılması

Numune No	Parasetamol (µg/mL)	% Miktar Tayini	Fenilefrin HCl (µg/mL)	% Miktar Tayini	Feniramin Maleat (µg/mL)	% Miktar Tayini	Askorbik Asit (µg/mL)	% Miktar Tayini
Tekrarlanabilirlik	971	97,1	21	105,0	38	95,0	97	97,0
	992	99,2	19	95,0	41	102,5	101	101,0
	1004	100,4	18	90,0	39	97,5	96	96,0
	982	98,2	17	85,0	37	92,5	94	94,0
	989	98,9	20	100,0	39	97,5	102	102,0
	1008	100,8	21	105,0	40	100,0	98	98,0
Ara Kesinlik	1011	101,1	22	110,0	37	92,5	96	96,0
	1008	100,8	17	85,0	40	100,0	104	104,0
	999	99,9	20	100,0	41	102,5	101	101,0
	995	99,5	21	105,0	36	90,0	94	94,0
	987	98,7	19	95,0	38	95,0	100	100,0
	973	97,3	21	105,0	37	92,5	97	97,0
ORT.	993	99,3	20	98,3	39	96,5	98	98,3
SD	12,88	1,29	1,60	7,99	1,61	4,01	3,09	3,09
% RSD	0,01	0,01	0,08	0,08	0,04	0,04	0,03	0,03

6 numuneden elde edilen miktar tayini sonuçları arasındaki “standart standart sapma (% RSD) % 2.0’ dan küçüktür. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik analizlerine ait 12 numuneden elde edilen miktar tayini sonuçları arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 2.0’ dan küçüktür. Metodun tekrar uygulanabilirliği kanıtlanmıştır.

4.2.4.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Bölüm 3.6.4’de tarif edildiği şekilde safsızlık tayini analizi için yapılan sistem kesinliği, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen alanlar ile bağıl standart sapma değeri (% RSD), standart sapma (SD) ve pik performans parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-28 ile 4-41 arasında verilmiştir.

Tablo 4-36 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayrım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,1	5698	-	1,166	168027
2	1,2	5123	-	1,171	166247
3	1,1	5478	-	1,173	170123
4	1,2	5789	-	1,161	170536
5	1,3	5312	-	1,168	169783
6	1,2	5367	-	1,170	166789
ORT.	1,2	5461	-	1,168	168584
	SD			0,004	1822,65
	% RSD			0,36	1,08

Tablo 4-37 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,3	5469	15,8	3,589	15378
2	1,1	5512	15,0	3,578	15698
3	1,1	5897	15,9	3,534	15783
4	1,2	5012	16,5	3,512	15123
5	1,2	5987	15,7	3,601	15378
6	1,2	5078	15,0	3,602	15198
ORT.	1,2	5493	15,7	3,569	15426
	SD			0,04	264,51
	% RSD			1,05	1,71

Tablo 4-38 Parasetamol standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,1	23691	18,5	5,342	360789
2	1,2	22458	18,1	5,338	361782
3	1,3	21589	18,0	5,340	362578
4	1,1	22589	19,1	5,351	360789
5	1,1	25678	17,8	5,345	359785
6	1,0	24563	18,0	5,349	358796
ORT.	1,1	23428	18,3	5,344	353253
	SD			0,01	1353,43
	% RSD			0,10	0,38

Tablo 4-39 Feniramin maleat standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,1	8879	9,4	6,478	51024
2	1,0	8523	9,1	6,501	51038
3	1,0	8752	9,0	6,489	49891
4	1,1	8678	9,8	6,473	49217
5	1,2	8657	9,2	6,499	50789
6	1,0	8549	9,7	6,497	51873
ORT.	1,1	8673	9,4	6,490	50639
	SD			0,01	941,73
	% RSD			0,18	1,86

Standart çözeltisinin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen alanlar arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) değeri % 4,0 ‘den küçüktür. Sistem kesinliği kanıtlanmıştır.

Tablo 4-40 Safsızlık numunesi tekrarlanabilirlik sonuçları

Numune No	% Parasetamol Safsızlık K	% Parasetamol Safsızlık J	%Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	% Toplam Safsızlık
1	0,003	0,001	0,009	0,013
2	0,004	0,004	0,008	0,016
3	0,001	0,005	0,008	0,014
4	0,002	0,001	0,006	0,009
5	0,001	0,002	0,007	0,010
6	0,002	0,005	0,009	0,016
ORT.	0,002	0,003	0,008	0,013
SD	0,001	0,002	0,001	0,003
% RSD	0,54	0,63	0,15	0,23

Tablo 4-41 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları

Numune No	% Parasetamol Safsızlık K	% Parasetamol Safsızlık J	% Parasetamol Safsızlık F
1	0,150	0,141	0,156
2	0,143	0,147	0,134
3	0,147	0,159	0,152
4	0,139	0,143	0,147
5	0,142	0,152	0,146
6	0,158	0,136	0,150
ORT.	0,147	0,146	0,148
SD	0,01	0,01	0,01
% RSD	0,05	0,06	0,05

Tablo 4-42 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları

Numune No	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E
1	0,357	0,388
2	0,394	0,314
3	0,387	0,335
4	0,312	0,327
5	0,325	0,322
6	0,310	0,328
ORT.	0,348	0,336
SD	0,04	0,03
% RSD	0,11	0,08

Tablo 4-43 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları

Numune No	% Feniramin Maleat	% Feniramin Maleat
	Safsızlık A	Safsızlık B
1	0,258	0,213
2	0,211	0,207
3	0,231	0,271
4	0,207	0,262
5	0,283	0,206
6	0,219	0,201
ORT.	0,235	0,227
SD	0,03	0,03
% RSD	0,13	0,14

Tablo 4-44 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları

Numune No	% Parasetamol Safsızlık K	% Parasetamol Safsızlık J	% Parasetamol Safsızlık F
1	0,144	0,155	0,157
2	0,142	0,151	0,152
3	0,158	0,137	0,138
4	0,159	0,139	0,146
5	0,150	0,148	0,143
6	0,139	0,144	0,155
ORT.	0,149	0,146	0,149
SD	0,01	0,01	0,01
% RSD	0,06	0,05	0,05

Tablo 4-45 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları

Numune No	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E
1	0,301	0,314
2	0,309	0,333
3	0,346	0,318
4	0,317	0,322
5	0,354	0,350
6	0,321	0,307
ORT.	0,325	0,324
SD	0,02	0,02
% RSD	0,06	0,05

Tablo 4-46 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları

Numune No	% Feniramin Maleat Safsızlık A	% Feniramin Maleat Safsızlık B
1	0,207	0,234
2	0,195	0,217
3	0,187	0,222
4	0,199	0,245
5	0,214	0,205
6	0,203	0,219
ORT.	0,201	0,224
SD	0,01	0,01
% RSD	0,05	0,06

Tablo 4-47 Parasetamol safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması

Numune No	% Parasetamol Safsızlık K	% Parasetamol Safsızlık J	% Parasetamol Safsızlık F
Tekrarlanabilirlik	0,150	0,141	0,156
	0,143	0,147	0,134
	0,147	0,159	0,152
	0,139	0,143	0,147
	0,142	0,152	0,146
	0,158	0,136	0,150
Ara Kesinlik	0,144	0,155	0,157
	0,142	0,151	0,152
	0,158	0,137	0,138
	0,159	0,139	0,146
	0,150	0,148	0,143
	0,139	0,144	0,155
ORT.	0,148	0,146	0,148
SD	0,01	0,01	0,01
% RSD	0,05	0,05	0,05

Tablo 4-48 Fenilefrin hidroklorür safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması

Numune No	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık E
Tekrarlanabilirlik	0,357	0,388
	0,394	0,314
	0,387	0,335
	0,312	0,327
	0,325	0,322
	0,310	0,328
Ara Kesinlik	0,301	0,314
	0,309	0,333
	0,346	0,318
	0,317	0,322
	0,354	0,350
	0,321	0,307
ORT.	0,336	0,330
SD	0,03	0,02
% RSD	0,09	0,07

Tablo 4-49 Feniramin maleat safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması

Numune No	% Feniramin maleat Safsızlık A	% Feniramin maleat Safsızlık B
Tekrarlanabilirlik	0,258	0,213
	0,211	0,207
	0,231	0,271
	0,207	0,262
	0,283	0,206
	0,219	0,201
Ara Kesinlik	0,207	0,234
	0,195	0,217
	0,187	0,222
	0,199	0,245
	0,214	0,205
	0,203	0,219
ORT.	0,218	0,225
SD	0,03	0,02
% RSD	0,13	0,10

6 adet safsızlık eklenmiş numunenin analiz sonuçları arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) ve tekrarlanabilirlik ile ara kesinlik analizlerinden elde edilen 12 adet numunenin % Safsızlık sonuçları arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 4.0' den küçüktür. Metodun tekrar uygulanabilirliği kanıtlanmıştır.

4.2.4.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayinine Ait Bulgular

Bölüm 3.6.4'de tarif edildiği şekilde safsızlık tayini analizi için yapılan sistem kesinliği, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen alanlar ile bağıl standart sapma değeri (% RSD), standart sapma (SD) ve pik performans parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-42 ile 4-41 arasında verilmiştir.

Tablo 4-50 Askorbik asit standart çözeltisi sistem kesinliği sonuçları

Enjeksiyon No	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Ayırım Faktörü	Alıkonma Zamanı (dk.)	Pik Alanı
1	1,3	6875	-	3,285	950123
2	1,2	6723	-	3,295	953158
3	1,1	6589	-	3,287	957856
4	1,0	6307	-	3,288	953156
5	1,3	7083	-	3,302	959871
6	1,2	6678	-	3,315	954125
ORT.	1,183	6709	-	3,295	954715
			SD	0,012	3542,30
			% RSD	0,35	0,37

Tablo 4-51 Askorbik asit tekrarlanabilirlik numune sonuçları

Numune No	Safsızlık RRT 1,4	Askorbik Asit Safsızlık C	% Toplam Safsızlık
1	0,001	0,002	0,003
2	0,001	0,003	0,004
3	0,001	0,002	0,003
4	0,002	0,001	0,003
5	0,002	0,002	0,004
6	0,001	0,003	0,004
ORT.	0,001	0,002	0,004
SD	0,0005	0,0008	0,0005
% RSD	0,39	0,35	0,16

Tablo 4-52 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik sonuçları

Numune No	% Askorbik Asit	% Askorbik Asit
	Safsızlık C	Safsızlık D
1	0,217	0,243
2	0,211	0,206
3	0,245	0,241
4	0,231	0,262
5	0,244	0,211
6	0,219	0,201
ORT.	0,228	0,227
SD	0,01	0,02
% RSD	0,06	0,11

Tablo 4-53 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune ara kesinlik sonuçları

Numune No	% Askorbik Asit	% Askorbik Asit
	Safsızlık C	Safsızlık D
1	0,209	0,206
2	0,247	0,212
3	0,226	0,222
4	0,199	0,245
5	0,214	0,251
6	0,213	0,216
ORT.	0,218	0,225
SD	0,02	0,02
% RSD	0,08	0,08

Tablo 4-54 Askorbik asit safsızlık eklenmiş numune tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçlarının karşılaştırılması

Numune No	% Askorbik Asit Safsızlık C	% Askorbik Asit Safsızlık D
Tekrarlanabilirlik	0,217	0,243
	0,211	0,206
	0,245	0,241
	0,231	0,262
	0,244	0,211
	0,219	0,201
Ara Kesinlik	0,209	0,206
	0,247	0,212
	0,226	0,222
	0,199	0,245
	0,214	0,251
	0,213	0,216
ORT.	0,223	0,226
SD	0,02	0,02
% RSD	0,07	0,09

6 adet safsızlık eklenmiş numunenin analiz sonuçları arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) ve tekrarlanabilirlik ile ara kesinlik analizlerinden elde edilen 12 adet numunenin % Safsızlık sonuçları arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 4.0' den küçüktür. Metodun tekrar uygulanabilirliği kanıtlanmıştır.

4.2.5. Tayin Sınırı (LOQ) ve Gözlenebilme Sınırı (LOD)

Doğrusallık parametresi için hazırlanan kalibrasyon eğrisinden Bölüm 3.5.5'de anlatıldığı gibi LOD ve LOQ değerleri hesaplandı. LOQ seviyesi belirlendikten sonra bu seviyede ardışık 6 enjeksiyon, LOD seviyesi belirlendikten sonra bu seviyede ardışık 2 enjeksiyon yapıldı Alanlar kaydedilerek bağıl standart sapma hesaplandı. yapıldı. Sonuçlar, Tablo 4-47 ile Tablo 4-72 arasında verilmiştir.

Tablo 4-55 Parasetamol için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,8	0,012	31201
LOD-2			31025
	ORT.		31113
	SD		124,5
	% RSD		0,4

Tablo 4-56 Parasetamol için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1	2,4	0,024	86134
LOQ-2			86123
LOQ-3			85904
LOQ-4			86199
LOQ-5			86254
LOQ-6			85865
	ORT.		86046
	SD		163,7
	% RSD		0,2

Tablo 4-57 Parasetamol safsızlık K için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,6	0,0009	402
LOD-2			411
	ORT.		407
	SD		6,4
	% RSD		1,6

Tablo 4-58 Parasetamol safsızlık K için LOQ Sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			1130
LOQ-2			1108
LOQ-3	1,7	0,025	1087
LOQ-4			1099
LOQ-5			1147
LOQ-6			1124
	ORT.		1116
	SD		22,0
	% RSD		2,0

Tablo 4-59 Parasetamol safsızlık J için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	1,16	0,02	945
LOD-2			923
	ORT.		934
	SD		15,6
	% RSD		1,7

Tablo 4-60 Parasetamol safsızlık J için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			2103
LOQ-2			2158
LOQ-3	3,49	0,05	2178
LOQ-4			2089
LOQ-5			2092
LOQ-6			2113
	ORT.		2122
	SD		37,0
	% RSD		1,7

Tablo 4-61 Parasetamol safsızlık F için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,3	0,004	196
LOD-2			201
	ORT.		199
	SD		3,5
	% RSD		1,8

Tablo 4-62 Parasetamol safsızlık F için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1	0,9	0,013	385
LOQ-2			379
LOQ-3			391
LOQ-4			387
LOQ-5			381
LOQ-6			371
	ORT.		382
	SD		7,0
	% RSD		1,8

Tablo 4-63 Fenilefrin hidroklorür için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,015	0,008	2214
LOD-2			2156
	ORT.		2185
	SD		41,0
	% RSD		1,9

Tablo 4-64 Fenilefrin hidroklorür için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			5009
LOQ-2			5312
LOQ-3	0,046	0,047	5098
LOQ-4			5154
LOQ-5			5201
LOQ-6			5165
	ORT.		5157
	SD		101,4
	% RSD		2,0

Tablo 4-65 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,009	0,014	212
LOD-2			206
	ORT.		209
	SD		4,2
	% RSD		2,0

Tablo 4-66 Fenilefrin hidroklorür safsızlık C için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			538
LOQ-2			542
LOQ-3	0,028	0,042	526
LOQ-4			512
LOQ-5			527
LOQ-6			531
	ORT.		529
	SD		10,5
	% RSD		2,0

Tablo 4-67 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,006	0,009	365
LOD-2			356
	ORT.		361
	SD		6,4
	% RSD		1,8

Tablo 4-68 Fenilefrin hidroklorür safsızlık E için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1	0,018	0,027	890
LOQ-2			912
LOQ-3			931
LOQ-4			894
LOQ-5			905
LOQ-6			926
	ORT.		910
	SD		16,6
	% RSD		1,8

Tablo 4-69 Feniramin maleat için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,028	0,014	421
LOD-2			409
	ORT.		415
	SD		8,5
	% RSD		2,0

Tablo 4-70 Feniramin maleat için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			10812
LOQ-2			10298
LOQ-3	0,084	0,042	10385
LOQ-4			10648
LOQ-5			10412
LOQ-6			10587
	ORT.		10524
	SD		192,5
	% RSD		1,8

Tablo 4-71 Feniramin maleat safsızlık A için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,036	0,018	250
LOD-2			245
	ORT.		248
	SD		3,5
	% RSD		1,4

Tablo 4-72 Feniramin maleat safsızlık A için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			299
LOQ-2			305
LOQ-3	0,084	0,053	308
LOQ-4			297
LOQ-5			295
LOQ-6			308
	ORT.		302
	SD		5,7
	% RSD		1,9

Tablo 4-73 Feniramin maleat safsızlık B için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,008	0,004	250
LOD-2			245
	ORT.		248
	SD		3,5
	% RSD		1,4

Tablo 4-74 Feniramin maleat safsızlık B için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1	0,025	0,013	299
LOQ-2			305
LOQ-3			308
LOQ-4			297
LOQ-5			295
LOQ-6			308
	ORT.		302
	SD		5,7
	% RSD		1,9

Tablo 4-75 Askorbik asit için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,05	0,004	40123
LOD-2			41184
	ORT.		40654
	SD		750,2
	% RSD		1,8

Tablo 4-76 Askorbik asit için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			132578
LOQ-2			129875
LOQ-3			128746
LOQ-4	0,16	0,013	135789
LOQ-5			131547
LOQ-6			129784
	ORT.		131387
	SD		2555,5
	% RSD		1,9

Tablo 4-77 Askorbik asit safsızlık C için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1			491
LOD-2	0,027	0,005	503
	ORT.		497
	SD		8,5
	% RSD		1,7

Tablo 4-78 Askorbik asit safsızlık C için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1			2018
LOQ-2			1975
LOQ-3			2056
LOQ-4	0,081	0,016	1956
LOQ-5			1988
LOQ-6			2045
	ORT.		2006
	SD		39,87
	% RSD		0,02

Tablo 4-79 Askorbik asit safsızlık D için LOD sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg /ml)	LOD (%)	Pik Alanı
LOD-1	0,054	0,011	985
LOD-2			959
	ORT.		972
	SD		18,4
	% RSD		1,9

Tablo 4-80 Askorbik asit safsızlık D için LOQ sonuçları

Çözelti Adı	Konsantrasyon (µg/ml)	LOQ (%)	Pik Alanı
LOQ-1	0,165	0,033	2546
LOQ-2			2497
LOQ-3			2579
LOQ-4			2562
LOQ-5			2489
LOQ-6			2511
	ORT.		2535
	SD		42,3
	% RSD		1,7

4.2.6. Çözelti Stabilitesi

Bölüm 3.5.6 da tarif edildiği şekilde miktar tayini ve safsızlık analizleri için numune ve standart çözeltilerinden (n=2) 3 er enjeksiyon yapılarak çözelti stabilitesi çalışmaları gerçekleştirildi. Elde edilen pik alanları kaydedilip ilgili denklem 3-4 e göre % Geri Kazanım hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-73 ile Tablo 4-90 arasında yer almaktadır.

4.2.6.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Tablo 4-81 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	410259	2341	0,57	-	29988	2798	0,53	-
4.Saat	408256	2789	0,42	99,5	29976	3102	1,01	100,0
8.Saat	406123	1278	0,67	99,0	29789	3013	1,12	99,3
12.Saat	405989	3247	0,86	99,0	29645	2178	0,73	98,9
18.Saat	405387	2018	0,59	98,8	29654	1247	0,56	98,9
24.Saat	403564	986	0,56	98,4	29412	1235	0,85	98,1
30.Saat	402156	4789	1,12	98,0	29447	1239	0,89	98,2

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6012456	934	0,98	-	130478	2013	0,56	-
4.Saat	6015462	1279	0,56	100,0	130256	1987	0,76	99,8
8.Saat	5997814	2478	1,97	99,8	131337	1035	0,87	100,7
12.Saat	5975611	3017	1,28	99,4	129817	986	0,98	99,5
18.Saat	5984560	2789	1,09	99,5	128928	865	1,37	98,8
24.Saat	5927826	3471	1,18	98,6	127889	1023	1,96	98,0
30.Saat	5898641	678	1,12	98,1	127856	3012	1,65	98,0

Tablo 4-82 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	425042	1667	0,39	-	35012	2354	1,013	-
4.Saat	423084	967	0,98	99,5	35100	1224	0,86	100,3
8.Saat	421789	1235	0,42	99,2	34968	1297	0,75	99,9
12.Saat	421612	1786	0,75	99,2	34925	1278	0,56	99,8
18.Saat	422987	2014	1,12	99,5	34651	2079	0,39	99,0
24.Saat	420137	1697	1,53	98,8	34456	973	1,17	98,4

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6358456	34236	1,18	-	132712	15762	0,39	-
4.Saat	6325462	12157	0,76	99,5	131578	6975	0,79	99,1
8.Saat	6320154	1367	0,67	99,4	131589	2579	0,29	99,2
12.Saat	6301256	20117	0,49	99,1	131012	5678	1,12	98,7
18.Saat	6271547	1287	0,83	98,6	130987	12367	0,78	98,7
24.Saat	6267896	19624	0,97	98,6	130687	11798	0,17	98,5

Tablo 4-83 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	402569	896	0,93	-	31025	215	0,39	-
4.Saat	402165	2789	0,88	99,9	31078	678	0,89	100,2
8.Saat	401256	435	0,61	99,7	30785	516	0,56	99,2
12.Saat	400013	1896	0,87	99,4	30687	1234	0,47	98,9
18.Saat	399874	1478	1,56	99,3	30678	2015	0,67	98,9
24.Saat	395416	832	1,25	98,2	30524	1237	1,15	98,4
Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6104562	32651	0,39	-	129456	741	0,57	-
4.Saat	6102367	30247	0,58	100,0	129401	569	0,68	100,0
8.Saat	6097854	32140	0,67	99,9	129045	1245	0,49	99,7
12.Saat	6086123	12873	0,97	99,7	128437	1123	0,39	99,2
18.Saat	6051234	8987	0,12	99,1	128012	5478	0,73	98,9
24.Saat	6024568	6987	1,11	98,7	127687	4578	1,09	98,6

Tablo 4-84 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	420156	3795	0,91	-	33712	1238	0,23	-
4.Saat	419560	2037	0,46	99,9	33356	2103	0,98	98,9
8.Saat	418756	983	0,37	99,7	33145	976	0,67	98,3
12.Saat	411987	671	0,23	98,1	33025	547	0,67	98,0
Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6257893	12879	0,59	-	134789	981	0,71	-
4.Saat	6225461	16789	0,92	99,5	134326	3217	0,65	99,7
8.Saat	6201647	5697	1,02	99,1	133456	1235	0,93	99,0
12.Saat	6178931	6789	0,61	98,7	132567	671	1,23	98,4

Tablo 4-85 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	402569	1235	0,23	-	31025	6542	0,53	-
+4 °C' de 1 ay	400123	3254	0,39	99,4	30874	1236	0,61	99,5

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6104562	12365	0,63	-	129456	5678	0,39	-
+4 °C' de 1 ay	6107893	11035	0,56	100,1	126963	6579	0,69	98,1

Tablo 4-86 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	420156	2365	0,61	-	33712	961	0,46	-
+4 °C' de 1 ay	420123	964	0,67	100,0	33174	654	0,37	98,4

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	6257893	10365	0,83	-	134789	2017	0,64	-
+4 °C' de 1 ay	6157893	18763	0,49	98,4	132963	1236	0,87	98,6

Numune ve standart çözeltilerinin farklı zamanlarda ölçülen alan değerleri ile başlangıç zamanı karşılaştırıldığında aradaki fark %2'yi geçmemiştir. Belirtilen şartlarda ve zaman aralıklarında standart ve numune çözeltilerinin stabilitesini koruduğu kanıtlanmıştır.

4.2.6.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayinine Ait Bulgular

Tablo 4-87 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	168027	5623	0,96	-	15378	2315	0,39	-
4.Saat	166872	3256	0,63	99,3	15302	1236	0,67	99,5
8.Saat	166123	2031	0,61	98,9	15287	1579	0,67	99,4
12.Saat	166007	10234	0,65	98,8	15264	657	0,27	99,3
18.Saat	165526	963	0,27	98,5	15178	1367	0,49	98,7
24.Saat	165127	6543	0,37	98,3	15156	1678	0,79	98,6
30.Saat	164952	987	0,37	98,2	15097	697	1,12	98,2

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	361475	6798	0,67	-	49588	3478	0,12	-
4.Saat	360147	12547	0,34	99,6	49123	564	0,87	99,1
8.Saat	360478	2368	0,47	99,7	49006	637	0,34	98,8
12.Saat	358745	6978	0,67	99,2	48756	687	0,46	98,3
18.Saat	358478	9864	0,94	99,2	48712	1235	0,45	98,2
24.Saat	357148	10357	0,37	98,8	48699	963	0,34	98,2
30.Saat	357198	3647	1,03	98,8	48601	753	1,07	98,0

Tablo 4-88 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)

Zaman	Parasetamol Safsızlık K				Parasetamol Safsızlık J				Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	10235	2315	0,32	-	31568	3265	0,39	-	24569	3254	0,96	-
4.Saat	10211	657	0,67	99,8	31444	6542	0,84	99,6	24554	654	0,64	99,9
8.Saat	10156	2478	0,46	99,2	31421	2564	0,73	99,5	24512	357	0,37	99,8
12.Saat	10120	678	0,67	98,9	31300	1307	0,67	99,2	24413	1265	0,65	99,4
18.Saat	10088	364	0,69	98,6	31354	365	0,61	99,3	24355	2645	0,43	99,1

Tablo 4-89 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	168027	2354	0,32	-	15378	368	1,35	-
4.Saat	167412	6321	0,64	99,6	15302	541	1,61	99,5
8.Saat	167123	687	0,97	99,5	15345	679	0,67	99,8
12.Saat	167021	987	0,61	99,4	15208	1032	0,69	98,9
18.Saat	166589	1234	0,37	99,1	15247	783	0,79	99,1
24.Saat	165213	1678	0,61	98,3	15203	1671	1,08	98,9
30.Saat	166102	674	1,01	98,9	15196	2037	0,63	98,8

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	361475	3254	0,67	-	49588	2324	0,31	-
4.Saat	361473	6879	0,69	100,0	49425	2279	0,29	99,7
8.Saat	361221	4697	1,07	99,9	49227	3571	0,64	99,3
12.Saat	359874	10321	1,23	99,6	48123	365	0,19	97,0
18.Saat	359126	1032	0,52	99,4	48012	789	1,02	96,8
24.Saat	357891	561	0,63	99,0	48007	1687	0,83	96,8
30.Saat	353641	267	0,49	97,8	47215	3249	0,71	95,2

Tablo 4-90 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	Parasetamol Safsızlık K				Parasetamol Safsızlık J				Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	10235	123	0,96	-	31568	3214	0,32	-	24569	2135	1,32	-
4.Saat	10123	354	0,67	98,9	31245	2135	0,39	99,0	23456	962	0,69	95,5
8.Saat	10003	1265	1,02	97,7	30875	672	0,49	97,8	23547	654	1,12	95,8
12.Saat	9871	654	1,16	96,4	30912	315	0,76	97,9	23329	1278	1,09	95,0

Tablo 4-91 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)

Zaman	Askorbik Asit				Fenilefrin Hidroklorür			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	168027	231	0,39	-	15378	2354	0,78	-
+4 °C' de 1 ay	163154	658	0,68	97,1	14687	654	1,07	95,5

Zaman	Parasetamol				Feniramin Maleat			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	361475	2365	0,78	-	49588	3265	0,39	-
+4 °C' de 1 ay	355123	5612	0,43	98,2	47892	671	0,76	96,6

Tablo 4-92 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 ay bekletildikten sonra)

Zaman	Parasetamol Safsızlık K				Parasetamol Safsızlık J				Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	10235	2365	0,37	-	31568	2313	0,68	-	24569	6542	0,37	-
+4 °C' de 1 ay	9874	786	0,65	96,5	31056	1023	1,12	98,4	23578	4125	0,97	96,0

Numune ve standart çözeltilerinin farklı zamanlarda ölçülen alan değerleri ile başlangıç zamanı karşılaştırıldığında aradaki fark % 5'i geçmemiştir. Belirtilen şartlarda ve zaman aralıklarında standart ve numune çözeltilerinin stabilitesini koruduğu kanıtlanmıştır.

4.2.6.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayinine Ait Bulgular

Tablo 4-93 Standart çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde),

Zaman	Askorbik Asit			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	952996	12364	0,97	
4.Saat	934412	32541	0,65	98,0
8.Saat	913456	29786	0,67	95,9
12.Saat	905789	15647	1,27	95,0

Tablo 4-94 Numune çözelti stabilitesi (otomatik numune örnekleyicisinde)

Zaman	% Askorbik Asit Safsızlık RRT_1,4				% Askorbik Asit Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	9561	235	0,48	-	23589	3254	0,74	-
+4 °C' de 1 ay	9197	1203	0,61	96,2	22410	1278	0,68	95,0

Tablo 4-95 Standart çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	Askorbik Asit			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	952996	36479	0,61	
4.Saat	912354	12365	0,92	95,7

Tablo 4-96 Numune çözelti stabilitesi (oda sıcaklığında karanlıkta)

Zaman	% Askorbik Asit Safsızlık RRT_1,4				% Askorbik Asit Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	9561	1235	0,49	-	23589	2031	1,06	-
+4 °C' de 1 ay	9098	641	0,67	95,2	22403	339	0,97	95,0

Tablo 4-97 Standart çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 hafta bekletildikten sonra)

Zaman	Askorbik Asit			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	952996	2365	0,19	
4.Saat	918247	5678	0,37	96,4

Tablo 4-98 Numune çözelti stabilitesi (+4 °C' de 1 hafta bekletildikten sonra)

Zaman	% Askorbik Asit Safsızlık RRT_1,4				% Askorbik Asit Safsızlık C			
	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım	Ortalama Pik Alanı	SD	% RSD	% Geri Kazanım
Başlangıç	9561	2134	0,67	-	23589	6578	1,18	-
+4 °C' de 1 ay	9123	964	0,99	95,4	22399	789	0,93	95,0

Numune ve standart çözeltilerinin farklı zamanlarda ölçülen alan değerleri ile başlangıç zamanı karşılaştırıldığında aradaki fark % 5'i geçmemiştir. Belirtilen şartlarda ve zaman aralıklarında standart ve numune çözeltilerinin stabilitesini koruduğu kanıtlanmıştır.

4.2.7. Dayanıklılık

4.2.7.1. Feniramin Maleat, Parasetamol, Fenilefrin Hidroklorür, Askorbik Asit Miktar Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Analiz şartları değiştirilerek analizler yapıldı ve metodun analiz şartlarına karşı dayanıklılığı test edildi. Sonuçlar Tablo 4-91 ile Tablo 4-94 arasında verilmiştir.

Tablo 4-99 Askorbik asit dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması

Analiz Şartları	Miktar Tayini Analiz Sonucu (µg/mL)	Alıkonma Zamanı (dk)	Teorik Plaka Sayısı	Simetri Faktörü
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	98	1,173	5136	1,2
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	96	0,896	4562	1,3
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	99	2,025	5896	1,2
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	94	1,165	4685	1,3
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	102	1,178	4879	1,1
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	95	1,176	5023	1,2
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	101	1,179	4985	1,2
Ort.	98			
SD	3,02			
% RSD	0,03			

Tablo 4-100 Fenilefrin hidroklorür dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması

Analiz Şartları	Miktar Tayini Analiz Sonucu (µg/mL)	Alıkonma Zamanı (dk)	Teorik Plaka Sayısı	Simetri Faktörü
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	19	1,450	13154	1,0
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	20	1,105	12285	1,1
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	17	1,756	13569	1,2
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	18	1,698	12587	1,2
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	17	1,569	12368	1,0
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	22	1,456	13589	1,1
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	21	1,698	11989	1,0
Ort.	19			
SD	1,95			
% RSD	0,10			

Tablo 4-101 Parasetamol dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik sonuçları karşılaştırılması

Analiz Şartları	Miktar Tayini Analiz Sonucu (µg/mL)	Alıkonma Zamanı (dk)	Teorik Plaka Sayısı	Simetri Faktörü
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	991	2,493	21911	1,3
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	993	2,111	20698	1,1
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	1002	2,698	21658	1,3
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	1001	2,569	21568	1,1
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	987	2,489	20569	1,1
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	986	2,578	19856	1,2
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	1005	2,135	18965	1,3
Ort.	995			
SD	7,64			
% RSD	0,01			

Tablo 4-102 Feniramin maleat dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	Miktar Tayini Analiz Sonucu (µg/mL)	Alıkonma Zamanı (dk)	Teorik Plaka Sayısı	Simetri Faktörü
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	39	4,554	34763	1,1
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	40	3,896	31586	1,0
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	38	4,987	32589	1,2
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	37	4,689	33588	1,3
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	39	4,568	30158	1,1
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	41	4,578	40521	1,1
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	37	4,698	37486	1,0
Ort.	39			
SD	1,50			
% RSD	0,04			

Analiz şartlarındaki değişiklikler sonucu elde edilen miktar tayini sonuçları ile tekrarlanabilirlik miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri %2,0 den küçüktür. Etken madde pik performans parametreleri sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Belirtilen bütün şartlarda metodun dayanıklılığı kanıtlanmıştır.

4.2.7.2. Feniramin Maleat, Parasetamol ve Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık Tayini İçin Elde Edilen Bulgular

Analiz şartları değiştirilerek analizler yapıldı ve metodun analiz şartlarına karşı dayanıklılığı test edildi. Sonuçlar Tablo 4-95 ile Tablo 4-99 arasında verilmiştir.

Tablo 4-103 Askorbik asit standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	Alıkonma Zamanı (dk)	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Pik Alanı
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	1,168	1,2	5461	168584
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	0,975	1,2	5123	170356
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	1,563	1,2	4975	172456
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	1,165	1,2	4023	161245
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	1,170	1,2	5789	165123
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	1,169	1,2	6012	167845
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	1,167	1,2	4560	168745
Ort.				167628
SD				3977
% RSD				0,02

Tablo 4-104 Fenilefrin hidroklorür standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	Alıkonma Zamanı (dk)	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Pik Alanı
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	3,569	1,2	5493	15426
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	3,125	1,2	5236	16578
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	3,987	1,2	5128	16782
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	3,678	1,2	5987	15782
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	3,645	1,2	6845	16012
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	3,589	1,2	5023	15023
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	3,615	1,2	5178	16789
Ort.				16161
SD				695
% RSD				0,04

Tablo 4-105 Parasetamol standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	Alıkonma Zamanı (dk)	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Pik Alanı
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	5,344	1,1	23428	353253
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	4,975	1,1	21546	345601
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	5,712	1,1	22135	348795
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	5,301	1,1	20156	346512
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	5,297	1,1	25641	358792
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	5,401	1,1	24587	359785
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	5,412	1,1	19456	361256
Ort.				353457
SD				7225
% RSD				0,02

Tablo 4-106 Feniramin maleat standart çözeltisi için dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	Alıkonma Zamanı (dk)	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Pik Alanı
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	6,490	1,1	8673	50639
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	6,012	1,2	8974	51657
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	7,012	1,2	8265	52647
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	6,578	1,2	8123	53012
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	6,661	1,2	8453	48521
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	6,412	1,2	7931	45216
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	6,489	1,2	7689	47412
Ort.				49744
SD				3169
% RSD				0,06

Tablo 4-107 Dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik numune analiz sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	% Parasetamol Safsızlık K	% Parasetamol Safsızlık J	% Fenilefrin Hidroklorür Safsızlık C	Toplam Safsızlık
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	0,0092	0,0145	0,0204	0,0441
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	0,0097	0,0147	0,0194	0,0438
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	0,0093	0,0139	0,0207	0,0439
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	0,0095	0,0154	0,0219	0,0468
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	0,0088	0,0143	0,0208	0,0439
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	0,0091	0,0141	0,0199	0,0431
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	0,0089	0,0153	0,0211	0,0453
Ort.	0,009	0,015	0,021	0,044
SD	0,000	0,001	0,001	0,001
% RSD	3,46	3,93	3,94	2,79

Analiz şartlarındaki değişiklikler sonucu elde edilen safsızlık tayini sonuçları ile tekrarlanabilirlik safsızlık tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri % 4,0 den küçüktür. Etken madde pik performans parametreleri sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Belirtilen bütün şartlarda metodun dayanıklılığı kanıtlanmıştır.

4.2.7.3. Askorbik Asit Safsızlık Tayinine Ait Bulgular

Analiz şartları değiştirilerek analizler yapıldı ve metodun analiz şartlarına karşı dayanıklılığı test edildi. Sonuçlar Tablo 4-100 ve Tablo 4-101 de verilmiştir.

Tablo 4-108 Dayanıklılık sonuçları ve tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılması- standart çözeltisi

Analiz Şartları	Alıkonma Zamanı (dk)	Simetri Faktörü	Teorik Plaka Sayısı	Pik Alanı
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	3,295	1,2	6709	954715
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	2,775	1,2	6023	940123
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	3,987	1,2	7896	938745
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	3,387	1,2	6214	950123
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	3,489	1,1	6782	967852
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	3,674	1,2	6017	978521
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	3,567	1,2	5578	987452
Ort.				960469
SD				20501
% RSD				0,02

Tablo 4-109 Dayanıklılık ve tekrarlanabilirlik numune analiz sonuçları ile karşılaştırılması

Analiz Şartları	% Safsızlık RRT 1,4	% Askorbik Asit Safsızlık C	Toplam Safsızlık
Normal şartlar (0,3 mL/dk / 20 C / 270 nm) (Tekrarlanabilirlik)	0,0235	0,0511	0,0746
Yüksek akış (0,2 mL/dk.)	0,0219	0,0527	0,0746
Düşük akış (0,4 mL/dk.)	0,0229	0,0537	0,0766
Yüksek kolon fırını sıcaklığı (15 C)	0,0231	0,0551	0,0782
Düşük kolon fırını sıcaklığı (25 C)	0,0245	0,0527	0,0772
Farklı Dalga Boyu (265 nm)	0,0228	0,0568	0,0796
Farklı Dalga Boyu (275 nm)	0,0231	0,0553	0,0784
Ort.	0,023	0,054	0,077
SD	0,001	0,002	0,002
% RSD	3,39	3,60	2,48

Analiz şartlarındaki değişiklikler sonucu elde edilen safsızlık tayini sonuçları ile tekrarlanabilirlik safsızlık tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri % 4,0 den

küçüktür. Etken madde pik performans parametreleri sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Belirtilen bütün şartlarda metodun dayanıklılığı kanıtlanmıştır.

4.2.8. Düzeltme Faktörü (Respons Faktör)

Düzeltme faktörü, etken madde ve bilinen safsızlıkların lineerlik parametresinin tayininde yapılan lineer regresyon analizi sonucu elde edilen eğrilerin eğimlerinin oranından elde edildi.

Tablo 4-110 Feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin hidroklorür safsızlık tayini RF ve RRT sonuçları

Pik Adı	Bağıl Alıkonma Zamanı (RRT)	Eğim	Düzeltme Faktörü (RF)
Parasetamol safsızlık K	0,19	751	0,02
Askorbik asit	1,00	776378	-
Parasetamol safsızlık J	0,29	685,16	0,02
Fenilefrin hidroklorür	1,00	107018	-
Fenilefrin hidroklorür safsızlık C	1,24	18484	0,17
Parasetamol	1,00	35423	-
Feniramin maleat	1,00	127208	-
Feniramin maleat safsızlık B	1,05	46224	0,36
Fenilefrin hidroklorür safsızlık E	1,91	44853	0,42
Feniramin maleat safsızlık A	1,15	2942,3	0,02
Parasetamol safsızlık F	1,47	355,64	0,01

Tablo 4-111 Askorbik asit safsızlık tayini RF ve RRT sonuçları

Pik Adı	Relatif Alıkonma Zamanı (RRT)	Eğim	Düzeltme Faktörü (RF)
Askorbik asit safsızlık D	0,86	17029	0,02
Askorbik asit	1,00	776378	-
Askorbik asit safsızlık C	1,98	26284	0,03

5. TARTIŞMA

Soğuk algınlığı, üst solunum sistemi mukozasının akut enfeksiyonundan oluşan, esas olarak rinovirüs ve koronavirüsün neden olduğu viral bir hastalıktır. Soğuk algınlığı normalde zararsızdır ve genellikle bir iki hafta içinde kaybolur. Semptomatik tedavi, burun tıkanıklığını hafifleten, mukoza zarlarını kurutan ve hem sıcaklığı hem de ağrıyı azaltan ilaçların reçete edilmesine dayanır. Bu, ilaç kombinasyonu yoluyla elde edilir, çünkü hiçbir tek ilaç tüm bu etkilere sahip olamaz. Halihazırda mevcut olan bazı ilaçlar genelde ikili, üçlü farmasötik ürünü birleştirirse de daha etkin bir tedavi yöntemi uygulamak için dört ilaç gurubundan oluşan ürünler de yer almaktadır (54). Bu tür çoklu ilaç formülasyonundaki bileşenlerin değişken doz miktarı, rutin analiz sürecini zorlaştırmaktadır. Çoğu durumda, parasetamol konsantrasyonu önemli ölçüde diğer etken maddelerden daha yüksektir. Farklı polariteye sahip etken maddelerin varlığı ve konsantrasyondaki eşitsizlik, analitik bir zorluk teşkil eder.(46)

Konunun diğer bir boyutu olarak bu ilaç kombinasyonları toplum sağlığı alanında soğuk algınlığı ve grip için tıp doktorları tarafından sıkça reçete edilen, hastalar tarafından başvuru alan ilaç grupları olduğu için ilaç endüstrisinde üretim payı fazladır. Üretilen her bir seri ilaç için yapılan rutin kalite kontrol analizleri laboratuvarlarda iş yükünü artıran bir yöndür. Bu nedenle çoklu etken madde içeren ilaçların miktar tayini ve bu etken maddelere ait safsızlıkların kantitatif analizi yüksek iş gücüne ihtiyaç duyulmasına, uzun zaman almasına, çok fazla kimyasal ajan kullanılmasına neden olmaktadır. Bu olumsuz etkileri azaltmak için özellikle daha pratik, hızlı ve ekonomik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan toz saşe dört etken maddeyi tek bir farmasötik preparatta birleştirerek hastalık sürecindeki ilaç alım süreçlerini kolaylaştırmak, hızlı pratik bir şekilde hastalığın seyrini olumlu yöne çevirmek için tercih edilen kombine bir ilaçtır. Literatür çalışmalarına bakıldığında bu dört etken maddeyi ve etken maddelere ait safsızlıkları bir arada analiz edilebilecek bir yöntemle rastlanmamıştır. Bu amaçla tüm bileşenleri bir arada hızlı şekilde analiz edebilmek için özellikle UPLC cihazı seçilerek kısa analiz süresine sahip, daha az kimyasal çözücü kullanarak da son yıllarda çevreci bir yaklaşım olarak trend haline gelen yeşil kimyaya uygun bir yöntem geliştirilip, valide edilmesi hedeflenmiştir.

Öncelikle analiz yöntemi geliştirme çalışmaları gerçekleştirmek için etken madde ve safsızlıklarına ait fiziksel ve kimyasal özellikler gözden geçirilmiştir. Maddelere ait

çözünürlük, polarite özellikleri ve literatürde etken maddelerin analizlerine ait metodlar incelenerek kromatografi çalışmalarında kullanılacak hareketli faz karışımları belirlenmiştir. Bunun için çeşitli konsantrasyonlarda ve pH değerlerinde tampon çözeltiler ile organik çözücüler farklı yüzde oranlarda hazırlanarak denenmiştir. Yapılan denemeler sonunda UPLC yöntem ile hem miktar tayini yönteminde hem de feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin hidroklorür safsızlıklarının yanyana tayininde pratik ve ekonomik en uygun hareketli faz olarak 10 mM potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisi (pH 3,0) ile metanol farklı oranlarda gradiyent programları denenerek kullanılmıştır. Etken madde ve hareketli faz için en verimli sistem uygunluk sonuçlarını veren Waters BEH C18 50 mm 2,1mm x 1,7 µm kolonu etken maddelerin birlikte miktar tayini yönteminde ve feniramin maleat, parasetamol ve fenilefrin hidroklorür safsızlıklarının yanyana tayininde kullanılmıştır. Etken maddelerin PDA dedektörde UV spektrumları alınarak yapılan dalga boyu taramalarına göre tüm etken maddeleri birlikte detekte edebilecek dalga boyu olarak UPLC cihaz ile yapılacak çalışmalarda 270 nm dalga boyu ile çalışılmasına karar verilmiştir. Bu kromatografik şartlara ek olarak akış hızı 0,3 mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL olarak belirlenerek enjeksiyon süresi 9 dk olarak analiz gerçekleştirilmiştir.

Askorbik asit safsızlık tayini için C8, C18 gibi yaygın kullanılan kolonlar uygun olmadığı için HPLC cihazında ayrıca geliştirilen metod için kuyruklanma faktörü, teorik plaka sayısı, pik şekli olarak en iyi sonuçların elde edildiği Agilent Zorbax NH₂ 250mm 4,6 mm x 5 µm kolonu kullanılmıştır. Hareketli faz 10 mM potasyum dihidrojen fosfat tampon çözeltisi (pH 3,0) ile metanol 50:50 oranında izokratik akış ile kullanılmıştır. Dalga boyu 210 nm, akış hızı 0,5 mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL, enjeksiyon süresi 15 dk olarak belirlenmiştir.

İlgili ICH Q3B (R2) (102) kılavuzuna göre kullanılan toz saşe ürün içerisindeki etken maddelerin maksimum günlük alım dozu göz önünde bulundurularak safsızlık limitleri belirlenmiştir. Askorbik asit ve feniramin maleat için bilinen ve bilinmeyen safsızlık limitleri ICH kılavuzuna göre % 0.2 olarak belirlenmiştir. Parasetamol için bilinmeyen safsızlıklara ait limit % 0,10 iken, bilinen safsızlıkları için % 0,15 dir. Fenilefrin hidroklorür için bilinmeyen safsızlık limiti % 0,20, bilinen ise % 0,30 dur.

Her iki yöntem için de optimum koşullar belirlenerek geliştirme aşaması tamamlanan metodlara ICH kılavuzuna göre belirlenen parametreler uygulanarak validasyonları tamamlanmıştır. Seçicilik parametresinin gerçekleştirilmesi için etken maddeler, etken

maddelere ait safsızlıklar ayrı ayrı sisteme verilerek belirlenen analiz süresindeki elüsyon zamanları incelenmiş, birlikte sisteme enjekte edilerek tüm seçicilik parametreleri gözlemlenmiş, dört etken madde ve onbir safsızlık maddesi için yöntemlerin seçici olduğu gözlemlenmiştir.

Doğrusal aralıklar miktar tayini analizinde fenilefrin hidroklorür için 10-30 µg /mL, feniramin maleat için 20-60 µg /mL, parasetamol için 500-1500 µg /mL askorbik asit için 50-150 µg/mL ve safsızlık analizi için sırasıyla 0,05-0,3 µg /mL, 0,08-0,6 µg /mL, 2,4-15,0 µg /mL, 0,16-1,5µg /mL konsantrasyonları aralığında bulunmuştur. Etken maddelerin yanı sıra fenilefrin hidroklorür safsızlık C ve E için 0,003-0,3 µg /mL ve 0,002-3,0 µg /mL, feniramin maleat safsızlık A ve B için 0,11-0,6 µg /mL ve 0,03-0,6 µg /mL, parasetamol safsızlık J,F ve K için 3,5-15,0 µg /mL, 0,9-15,0 µg /mL ve 1,7-15,0 µg /mL, askorbik asit safsızlık C ve D için 0,08-1,5 µg /mL ve 0,17-1,5 µg /mL dir. Doğrusallık çalışması sonucunda elde edilen verilerden ve gerçekleştirilen regresyon analizinden doğrusallık denklemi eğimi, y-kesim noktası, korelasyon katsayısı (R), korelasyon katsayısının karesi (R²) hesaplatılmıştır. Tüm maddeler için sistemden alınan alan sonuçları ile konsantrasyonlar arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür.

Analitik metodun doğruluğu için çalışılan her numunenin % geri kazanımı miktar tayini sonuçları için; % 98.0 ile % 102.0 arasında olup, % geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (% RSD) % 2.0' den küçük bulunmuştur. Safsızlık tayini sonuçları için de geri kazanımlar % 95.0 ile % 105.0 arasında, bağıl standart sapma (% RSD) % 4.0 den küçük bulunmuştur.

Keskinlik parametresi için; standart çözeltilerin ardışık 6 enjeksiyonundan elde edilen alanlar arasındaki % RSD değeri % 2,0 den, safsızlık tayini % 4.0 den küçük bulunarak sistem kesinliği uygun olarak bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik için ise 6 numuneden elde edilen miktar tayini sonuçları arasındaki RSD nin % 2,0 den küçük, safsızlık tayini sonuçları arasındaki RSD nin de % 4,0 den küçük olduğu gözlenlenmiştir. Farklı günler ve ekipmanlarda gerçekleştirilen numune çözeltileri ile yapılan ara kesinlik sonuçları aynı gün içerisinde yapılan tekrarlanabilirlik sonuçları ile karşılaştırılmış ve yine aynı RSD limitlerini sağladığı görülmüştür.

Ölçü eğrisi grafikleri kullanılarak gözlenlenebilme ve tayin değerleri hesaplanmış, validasyonu tamamlamak için belirlenen konsantrasyonlarda tekrarlı enjeksiyonlar yapılmıştır. Sırasıyla gözlenlenebilme ve tayin değerleri etken madde ve safsızlıkları için şu şekilde elde edilmiştir; Parasetamol; 0,012 ve 0,024 µg /mL, Parasetamol Safsızlık K; 0,0009

ve 0,0025 µg /mL, Parasetamol Safsızlık J; 0,02 ve 0,04 µg /mL, Parasetamol Safsızlık F; 0,004 ve 0,013 µg /mL, fenilefrin hidroklorür; 0,008 ve 0,047 µg /mL, fenilefrin hidroklorür safsızlık C; 0,014 ve 0,042 µg /mL fenilefrin hidroklorür safsızlık E; 0,009 ve 0,027 µg /mL, feniramin maleat; 0,014 ve 0,042 µg /mL feniramin maleat safsızlık A; 0,018 ve 0,053 µg /mL feniramin maleat safsızlık B 0,004 ve 0,013 µg /mL, askorbik asit; 0,004 ve 0,013 µg /mL askorbik asit safsızlık C; 0,005 ve 0,016 µg /mL askorbik asit safsızlık D; 0,011 ve 0,033 µg /mL dir.

Numune ve standart çözeltilerinin farklı koşullarda stabil kalabileceği süreleri belirlemek için yapılan çözelti stabilitesi çalışmalarında miktar tayini sonuçları için başlangıç zamanı ile karşılaştırıldığında aradaki fark % 2 yi, safsızlık analizlerinde başlangıç zamanı ile karşılaştırıldığında % 5 i geçmemiştir. Belirtilen şartlarda ve zaman aralıklarında standart ve numune çözeltilerinin stabilitesini koruduğu kanıtlanmıştır. Dayanıklılık parametresi için; yöntem parametrelerinde küçük değişkenlikler yapılarak, değişikliklere karşı dayanıklılığı test edilmiştir. Analiz şartlarındaki değişiklikler sonucu elde edilen miktar tayini sonuçları ile tekrarlanabilirlik miktar tayini sonuçları arasında bağıl standart sapma değeri % 2,0 den küçük, safsızlık analizlerinde safsızlık sonuçları arasında ise % 4,0 den küçük olduğu görülmüştür.

Safsızlık tayini analiz yöntemleri için safsızlık veya bozunma ürününün kromatogramındaki cevabının etken madde cinsinden miktarlandırılmasını sağlayarak sonuçların daha hassas hesaplanmasını sağlamak amacıyla respons faktörü çalışması yapılmıştır. Respons faktörü, etken madde ve bilinen safsızlıkların lineerlik parametresinin tayininde yapılan lineer regresyon analizi sonucu elde edilen eğrilerin eğimlerinin oranından elde edilmiştir.

Özet olarak bu tez çalışmasında geliştirilip valide edilen yöntem ile farmasötik preparatlarda etken maddeler ve safsızlıkları için yanyana analizi sağlayan seçici, hızlı, pratik, tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği yüksek, daha az kimyasal reaktif ve çözücü kullanılarak yeşil kimyaya da uyumlu olan yeni bir UPLC yöntemi geliştirilmiştir. Etken madde miktar tayinleri yanı sıra safsızlıklarının analiz ediliyor olması, klasik kromatografi yöntemlerine göre kısa sürede analizi sağlaması, basit, erişebilir maddeler ve ekipmanlar kullanılması yöntemin öne çıkan olumlu yanlarıdır. Bu nedenle geliştirilen bu metod ilaç endüstrisinde de rutin analizlerde kolaylıkla ve başarı ile uygulanabilecektir.

KAYNAKLAR

- 1) Atzl I, Helms R. A short history of the common cold. In: Eccles R, Weber O, eds. *Common Cold. Basel/Switzerland: Birkhäuser Verlag*. 2009 ;1-21.
- 2) Öncel S. Soğuk Algınlığı Ve Klinik Yaklaşımlar. *KOU Sag Bil Derg*. 2018, C.4, S.1, s.27-31
- 3) Allan GM, Arroll B. Prevention and treatment of the common cold: making sense of the evidence. *CMAJ* 2014, **18**;186(3):190-199. 3.
- 4) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: influenza activity in United States and worldwide 2012;**61**:785-9.
- 5) Kim SY, Chang YJ, Cho HM, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 6.
- 6) Muratdağı G, Oturak G, Ekerbiçer H. Soğuk Algınlığının Tedavisi ve Korunmasına Güncel Bir Bakış. A Contemporary View in the Treatment and Protection of the Common Cold . *Sakarya Tıp Dergisi / Sakarya Med J* 2020, **10**(Özel Sayı):51-56
- 7) Zafirova M, Acevska J , Ugrinova L. Development and optimization of a generic HPLC method for the simultaneous determination of common ingredients in multi component cough and cold oral drug products using chemometrics. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, **63** (1) 49 - 65 (2017)
- 8) Thompson M, Vodicka TA, Blair PS, Buckley DI, Heneghan C, Hay AD; TARGET Programme Team. Duration of symptoms of respiratory tract infections in children: systematic review. *BMJ*. 2013, **11**;347:f7027.
- 9) Köroğlu F.T, Soğuk Algınlığı Ve Akupunktur. *Ankara Akupunktur ve Tamamlayıcı Tıp Dergisi*. 2018, **6** (1): 19-22.
- 10) Pappas DE, Hendley JO, Hayden FG, Winther B. Symptom Profile of Common Colds in School-Aged Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;**27**:8-11.
- 11) Hu W, Chen A, Miao Y, Xia S, Ling Z, Xu K and et al. Fully human broadly neutralizing monoclonal antibodies against influenza A viruses generated from

the memory B cells of a 2009 pandemic H1N1 influenza vaccine recipient. *Virology* 2012;**1**:S0042-6822

- 12) Carter RW, Sanford JC. A new look at an old virus: patterns of mutation accumulation in the human H1N1 influenza virus since 1918. *Theor Biol Med Model* 2012;**9**(1):42.
- 13) Başal Y, Günel C. Grip mi Nezle mi ? Is It a Flu or Cold ? *Smyrna Tıp Dergisi*. 2014, S54-57
- 14) Tan T, Little P, Stokes T, Guideline Development Group. Antibiotic prescribing for self limiting respiratory tract infections in primary care: summary of NICE guidance. *BMJ* 2008; 337:a437.
- 15) Abacıoğlu N, *Eczacı Odası Yayınları Dergisi*, 1991; Özel Sayı; 15-37
- 16) Rx Media Pharma Interaktif İlaç Bilgi Kaynağı 2019. 2019 19.0.88th ed., Prof.Dr. Levent Üstünes, 2019
- 17) Ascorbic Acid monograph/ *European Pharmacopoeia* 9.0, 01/2017:0253, S1760-1763
- 18) Compound/ PubChem /*National Library of Medicine* Erişim: 19.11.2021 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>
- 19) W. D. Kumler, T. C. Daniels, Titration Curves and Dissociation Constants of l-Ascorbic Acid (Vitamin C) and Diethyl Dihydroxymaleate. *J. Am. Chem. Soc.* 1935, **57**, 10, 1929–1930
- 20) Kalokerinos A, Dettman I, Meakin M. Endotoxin and vitamin C part 1-Sepsis, endotoxin and vitamin C. *Journal of Australasian College Nutritional and Environmental Medicine*. 2005;**24**(1):17-21
- 21) Sorice A, Guerriero E, Capone F, Colonna G, Castello G, Costantini S. Ascorbic acid: Its role in immune system and chronic inflammation diseases. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2014;**14**:444-452
- 22) Aguirre R, May J. Inflammation in the vascular bed: Importance of vitamin C. *Pharmacology and Therapeutics Journal*. 2008;**119**(1):96-103
- 23) Yussif N.M. (December 5th 2018). Vitamin C - an Update on Current Uses and Functions. *IntechOpen*. DOI: 10.5772/intechopen.81783. Erişim: 19.11.2021 <https://www.intechopen.com/chapters/64659>

- 24) Brennan LA, Morris GM, Wasson GR, Hannigan BM, Barnett YA. The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H₂O₂-induced DNA damage in human lymphocytes. *British Journal of Nutrition*. 2000;**84**:195-202
- 25) Ph. Eur. Reference Standards: Orders & Catalogue. Erişim: 19.11.2021
<https://www.edqm.eu/en/ph-eur-reference-standards-orders-catalogue>
- 26) Empey, D.W., Medder, K.T. Nasal Decongestants. *Drugs* **21**, 438–443.
- 27) Gelotte, C.K., Zimmerman, B.A. Pharmacokinetics, Safety, and Cardiovascular Tolerability of Phenylephrine HCl 10, 20, and 30 mg After a Single Oral Administration in Healthy Volunteers. *Clin Drug Investig* **35**, 547–558 (2015)
- 28) Ptacek P, Macek JK. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of phenylephrine in human plasma and its application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B*. 2007;**858**:263–8.
- 29) Kanfer I, Dowse R, Vuma V: Pharmacokinetics of oral decongestants. *Pharmacotherapy*. 1993 Nov-Dec;**13**(6 Pt 2):116S-128S; discussion 143S-146S.
- 30) Phenylephrine HCl monograph/ *European Pharmacopoeia* 9.0, 01/2008:0632, S3322-3323
- 31) Pheniramine maleate monograph/ *European Pharmacopoeia* 9.0, 01/2017:1357, S3306-3307
- 32) Raghu M. S, Kanakapura B, Ramesh P. J, Abdulrahman, S. A. M. Development and validation of a uv-spectrophotometric method for the determination of pheniramine maleate and its stability studies. *Journal of Applied Spectroscopy* 2012 10.1007/s10812-012-9574-6 79(1)
- 33) Schulze FR, Buschauer A, Schunack W: Combined histamine H₁/H₂ receptor antagonists: part I. Pharmacological hybrids with pheniramine- and roxatidine-like substructures. *Eur J Pharm Sci*. 1998 Jul;**6**(3):177-86.
- 34) Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC. eds (2018). Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics (13th ed.). McGraw-Hill Education. (ISBN:978-1-25-958473-2)

- 35) Boehm JJ, Brown TC, Oppenheim RC: Reduction of pheniramine toxicity using activated charcoal. *Clin Toxicol.* 1978;**12**(5):523-30. doi: 10.3109/15563657809150026.
- 36) Paracetamol monograph/ *European Pharmacopoeia* 9.0, 01/2017:0049, S3267-3268
- 37) Ennis ZN, Dideriksen D, Vaegter HB, Handberg G, Pottegard A: Acetaminophen for Chronic Pain: A Systematic Review on Efficacy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2016 Mar;**118**(3):184-9
- 38) Ricciotti E, FitzGerald GA: Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 May;**31**(5):986-1000.
- 39) FDA consumer health information: Acetaminophen
- 40) Forrest JA, Clements JA, Prescott LF: Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clin Pharmacokinet.* 1982 Mar-Apr;**7**(2):93-107
- 41) Deconinck E, Sacré S P.Y, Baudewyns P, Courselle J. A fast ultra high pressure liquid chromatographic method for qualification and quantification of pharmaceutical combination preparations containing paracetamol, acetyl salicylic acid and/or antihistaminics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* Volume **56**, Issue 2, 10 September 2011, Pages 200-209
- 42) Koblova P, Sklennarova H, Brabcova I, Solich P. Development and validation of a rapid HPLC method for the determination of ascorbic acid, phenylephrine, paracetamol and caffeine using a monolithic column. *Anal. Methods*, 2012, **4**, 1588
- 43) Hassani S.A.M. Simultaneous Determination of Active Ingredients in Multicomponent Common Over the Counter Tablets in the Presence of Parabens and 4-Aminophenol by HPLC. *Chromatographia* (2020) **83**:791–805
- 44) Sridevi. S, Vijayakumar. R, C. N. Nalini. Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Ascorbic acid, Phenylephrine HCl, Paracetamol and Levocetirizine HCl using RP-HPLC. *Research J. Pharm. and Tech.* 2020; **13**(4):1911-1916.

- 45) Olmo B, Garcia A., Marín A., Barbas C. New approaches with two cyano columns to the separation of acetaminophen, phenylephrine, chlorpheniramine and related compounds. *Journal of Chromatography B*, **817** (2005) 159–165
- 46) Heydari R. A New HPLC Method for the Simultaneous Determination of Acetaminophen, Phenylephrine, Dextromethorphan and Chlorpheniramine in Pharmaceutical Formulations. *Analytical Letters*, 2008 **41**: 965–976.
- 47) Dinc Zor S., Aksu Donmez Ozlem., Asci, B., Yarkadas G., A Novel RP-HPLC Method for the Simultaneous Analysis of Some Active Ingredients in Cough–Cold Syrup Formulation. *Current Pharmaceutical Analysis*, Volume **13**, Number 3, 2017, pp. 304-313(10)
- 48) Mayte Gil-Agustí M., Capella-Peiró E., Monferrer-Pons L. Chromatographic analysis of phenethylamine–antihistamine combinations using C8, C18 or cyano columns and micellar sodium dodecyl sulfate–pentanol mixtures. *Analyst*, 2001, **126**, 457–464
- 49) Dongala T, Kumar Katari N, Kumar Palakurthi A, Jonnalagadda S.B. Development and validation of a generic RP-HPLC PDA method for the simultaneous separation and quantification of active ingredients in cold and cough medicines. *Biomedical Chromatography*. 2019;**33**:e4641.
- 50) Dewani A.P., Dabhade S.M., Bakal R.L., Gadewar C.K., Chandewar A.V., Patra S. Development and validation of a novel RP-HPLC method for simultaneous determination of paracetamol, phenylephrine hydrochloride, caffeine, cetirizine and nimesulide in tablet formulation. *Arabian Journal of Chemistry*(2015) **8**,591-598.
- 51) Bhamre P.R, Rajput S.J., Development of HPLC and chemometric assisted spectrophotometric methods for the simultaneous determination of five active ingredients in cough and cold tablets and their application to dissolution study. *Int J Pharm Pharm Sci*, Vol **8**, Issue 1, 33-40
- 52) Dewani A. P., Shelke P. G., Bakal R. L., Jaybhaye S. S, Chandewar A. V., Patra S. Gradient HPLC-DAD Determination of Paracetamol, Phenylephrine Hydrochloride, Cetirizine in Tablet Formulation. *Drug Res (Stuttg)* 2014; **64**(5): 251-256

- 53) Korany M.A., Fahmy O.T, Mahgoub H., Maher H.M. High performance liquid chromatographic determination of some guaiphenesin-containing cough-cold preparations. *Journal of Advanced Research* April 2011, Volume 2, Issue 2, Pages 121-130
- 54) Bastos e Marcone C. A., de Oliveira A. L., Quantitative determination of acetaminophen, phenylephrine and carbinoxamine in tablets by high-performance liquid chromatography. *Quim. Nova*, 2009 Vol. 32, No. 7, 1951-1955,
- 55) Kumar M. S., Shanmugapandiyan P. RP-HPLC-PDA method for the simultaneous determination of Phenylephrine, Chlorpheniramine, Paracetamol and Dextromethorphan in bulk and marketed formulation. *Journal of Pharmacy Research* 2017, 11(2), 306-312
- 56) Redasani V.K., Gorle A.P., Badhan R.A., Jain P.S., Surana S.J. Simultaneous determination of chlorpheniramine maleate, phenylephrine hydrochloride, paracetamol and caffeine in pharmaceutical preparation by RP-HPLC. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly* (2013) 19 (1) 57–65
- 57) Renu S. Simultaneous Determination of Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol and Phenylephrine Hydrochloride in Tablet Dosage Form by High Performance Liquid Chromatography. *Int. J. Drug Dev. & Res.*, January-March 2013, 5(1): 258- 263.
- 58) Bachute M.T., Shanbhag S.V., Turwale S.L. Simultaneous determination of four active pharmaceuticals in tablet dosage form by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* October 2019; 18 (10): 2161-2166
- 59) Pirol O., Sukuroglu M., Ozden T. Simultaneous Determination of Paracetamol, Phenylephrine Hydrochloride, Oxolamine Citrate and Chlorpheniramine Maleate by HPLC in Pharmaceutical Dosage Forms. *E-Journal of Chemistry* 2011, 8(3), 1275-1279
- 60) Ragab M.A.A., El Yazbi F.A., Hassan E.M., Khamis E.F., Hamdy M.M.A. Stability Studies of Over the Counter Quaternary Mixture Containing Phenylephrine Hydrochloride, Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol and

Caffeine Using Different Chromatographic Methods. *Analytical Chemistry Letters*, (2018) **8:3**, 331-347,

- 61) Marin A., Garcia E., Garcia A., Barbas C. Validation of a HPLC quantification of acetaminophen, phenylephrine and chlorpheniramine in pharmaceutical formulations: capsules and sachets. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **29** (2002) 701–714
- 62) Ahmida M. H.S. Determination of Ascorbic Acid in Vitamin C (Tablets) by High-Performance Liquid Chromatography. *Asian Journal of Chemistry* (2009), Vol. **21**, 6463-6467
- 63) Gazdik Z., Zitka O., Petrlova J., Adam V., Zehnalek J., Horna A., Reznicek V., Beklova M., Kizek R. Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) Using High Performance Liquid Chromatography Coupled with Electrochemical Detection. *Sensors* 2008, **8**, 7097-7112
- 64) Muller L.D., Improved extraction methods for avoiding the interference of copper in the LC determination of ascorbic acid in multivitamin-mineral tablets *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2001) **25** 985.
- 65) Li H.B., Chen F. Simultaneous determination of nine water-soluble vitamins in pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography with diode array detection *J. Sep. Sci* (2001) **24** 271
- 66) Ivanovic D., Popovic A., Radulovic D., Medenica M. Reversed-phase ion-pair HPLC determination of some water-soluble vitamins in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (1999) **18** 999–1004
- 67) Kucukkolbasi S., Bilber O., Ayyildiz H.F., Kara H. Simultaneous and accurate determination of water- and fat-soluble vitamins in multivitamin tablets by using an RP-HPLC method. *Quim. Nova*, 2013 Vol. **36**, No. 7, 1044-1051,
- 68) Wahba M. E. K. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Pseudoephedrine Hydrochloride and Ibuprofen in their Combined Tablets Using Micellar Liquid Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2015 **38**: 54–61
- 69) Papadoyannis I. N., Tsioni G. K., Samanidou V. F. Simultaneous Determination of Nine Water and Fat Soluble Vitamins After SPE Separation

and RP-HPLC Analysis in Pharmaceutical Preparations and Biological Fluids. *J. Liq. Chrom. & El. Technol.*, (1997) **20**(**19**), 3203-3231

- 70) Attia T. Z. Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid mixture in their pure forms and combined dosage form. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. (2016) **169** 82–86
- 71) Abdelhamid A.G., El-Kafrawy D.S., Abdel-Khalek M.M., Belal T.S. Analytical investigation of ternary mixture of phenylephrine hydrochloride, dimetindene maleate and benzalkonium chloride using validated stability indicating HPLC-DAD method. *Drug development and industrial pharmacy* 2020, VOL. **46**, NO. 8, 1278–1288
- 72) Abu El-Enin M.A., Salem Y.A., El-Ashry S.M., Hammouda M.E.A. Applying eco-friendly micellar liquid chromatography for the simultaneous determination of two ternary mixtures utilized for cold treatment using monolithic column. *J Chin Chem Soc*. 2021; **68**:1686–1696.
- 73) Gil-Agusti M., Monferrer-Pons L., Garcia-Alvarez-Coque M.C., Esteve-Romero J. Determination of active ingredients in cough–cold preparations by micellar liquid chromatography. *Talanta* (2001) **54** 621–630
- 74) Maithani M., Raturi R., Gautam V., Kumar D., Kumar Chaudhary A., Gaurav A., Singh R. Development and validation of a RP-HPLC method for the determination of chlorpheniramine maleate and phenylephrine in pharmaceutical dosage form. *Pharmacie Globale (IJCP)* 2010 Vol. **01**, 5 (05)
- 75) Bobade T.S., Danao K.R., Game M., Hiradeve S.M. Development and Validation of New Analytical Methods for Simultaneous Estimation of Cetrizine Hydrochloride and Phenylephrine Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Form. *Research Chronicle in health sciences* 2015, **1**(1), 80-92
- 76) Kishk S.M., Salama I., Mostafa S., El-Sadek M. Stability-indicating chromatographic method for the determination of benzonatate, diphenhydramine, guaifenesin, and phenylephrine. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2014. **37**:726–747,
- 77) Jovanovic M., Rakic T., Ivanovic D., Jancic–Stojanovic B. Optimization of the separation of ephedrine, pseudoephedrine, phenylephrine, and synephrine by hydrophilic interaction liquid chromatography employing experimental

design methodology. *Instrumentation Science and Technology*, 2015 **43**:156–169.

- 78) Tandel A., Shah P., Rajput S., simultaneous estimation of phenylephrine hydrochloride and ketorolac tromethamine using UV spectrophotometric and HPLC methods. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2017;7(01)
- 79) Kirkpatrick D., Fain M., Yang J., Santos L., Anthony C. UHPLC assay and impurity methods for diphenhydramine and phenylephrine hydrochloride oral solution. *Sep Sci plus* 2020;**3**:4–11.
- 80) Abd El-Rahman M.K., Fawaz E., Abdel-Moety E.Z., Abou Al-Alamein A.M. UPLC-PDA: A greener miniaturized tool for the analysis and purity assessment of ebastine and phenylephrine hydrochloride. *Microchemical Journal* December 2020, Volume **159**, 105400
- 81) El-Gindy A., Abdel-Salam Attia K., Nassar M.W., Seada H.H.A., Al-Shabrawi Shoeib M. HPLC method for determination of paracetamol, pseudoephedrine, triprolidine, methylparaben, propylparaben, sodium benzoate, and their related substances in pharmaceutical syrup. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2013, **36**:1251–1263
- 82) Calinescu O., Badea I.A., Vladescu L., Meltzer V., Pincu E. HPLC Separation of Acetaminophen and its Impurities Using A Mixed-mode Reversed-Phase/Cation Exchange Stationary Phase. *Journal of Chromatographic Science* 2012;**50**:335–342
- 83) Vojta J., Hanzlíka P., Jedlicka J., Coufal P. Separation and determination of impurities in paracetamol, codeine and pitophenone in the presence of fentanyl in combined suppository dosage form. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2015, **102**, 85-92
- 84) Murali Krishna M.V.V.N. , Rao S.V., Venugopal N.V.S., Mantena B.P.V. Simultaneous Determination of Acetaminophen and Tramadol Impurities in combination product of Acetaminophen and Tramadol Tablets by UPLC with Trifunctional Octadecyl Column. *Analytical Chemistry Letters*, **5**:5, 306-318,
- 85) Ali M.S., Rafiuddin S., Ghorri M., Kahtri A.R. Simultaneous Determination of Paracetamol, Chlorzoxazone, and Related Impurities 4-Aminophenol, 4-

Chloroacetanilide, and p-Chlorophenol in Pharmaceutical Preparations by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Aoac International*. 2007, **90**, 1.

- 86) Khosroshahi A.M., Aflaki F., Saemiyan N. Simultaneous determination of paracetamol, 4-Aminophenol, 4-Chloroacetanilid, Benzyl alcohol, Benzaldehyde and EDTA by HPLC method in paracetamol injection ampoule. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences* 2016;**4(1)**, 61-69
- 87) Khan H., Ali M., Ahmad S., Ahmad N. Validated UPLC/Q-TOF-MS method for simultaneous determination of aceclofenac, paracetamol, and their degradation products in tablets. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2012, **35:1**, 109-128,
- 88) Abdelaleem E.A., Abdelwahab N.S. Validated stability indicating RP-HPLC method for determination of paracetamol, methocarbamol and their related substances. *Anal. Methods*, 2013, **5**, 541
- 89) Dung P.T., Hai K.X. Simultaneous determination of paracetamol, phenylephrine, chlorpheniramine and related compound 4-aminophenol in multi-components pharmaceuticals by high performance liquid chromatography. *J Pharm Sci* 2016; **43** (1), 37-44
- 90) Rao R.N., Narasaraju A. Rapid separation and determination of process-related substances of paracetamol using reversed-phase HPLC with photo diode array as a detector. *Anal Sci*. 2006 Feb;**22(2)**:287-92.
- 91) Duana X., Liua X., Dongb Y., Zhangb J., Heb S., Uhagazeb D.S., Yangb F., A micellar HPLC method for simultaneous determination of six active ingredients in cold compound preparations. *Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2019, **42**, 485–493
- 92) Ibrahim A.E., Elmaaty A.A., El-Sayed H.M. Determination of six drugs used for treatment of common cold by micellar liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2021) **413**:5051–5065
- 93) Silvana E., Vignaduzzo, Kaufman T. S. Development and validation of a HPLC method for the simultaneous determination of bromhexine, chlorpheniramine, paracetamol, and pseudoephedrine in their combined cold

medicine formulations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2013, **36:20**, 2829-2843.

- 94) McEvoy E., Donegan S., Power J., Altria K. Optimisation and validation of a rapid and efficient microemulsion liquid chromatographic (MELC) method for the determination of paracetamol (acetaminophen) content in a suppository formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2007) **44** 137–143.
- 95) Srinivasu T., Rao B.N., Annapurna M.M., Chandrashekhar T.G. RP-UPLC method for combinational assay of lornoxicam and paracetamol in combined tablet dosage form. *IJPSR*, 2012; **3(4)**: 1149-1154
- 96) Jena B.R., Babu¹ S.M., Pradhan D.P., Swain S. UPLC Analytical Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Paracetamol and Caffeine Capsules Dosages Form. *Jena et al., Pharm Regul Aff* 2017, **6**:1
- 97) Issa Y.M., Hassouna M.E.M., Zayed A.G. simultaneous determination of paracetamol, caffeine, domperidone, ergotamine tartrate, propyphenazone, and drotaverine hcl by high performance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2012, **35:15**, 2148-2161
- 98) Shaikh K.A., Devkhile A.B. Simultaneous Determination of Aceclofenac, Paracetamol, and Chlorzoxazone by RP-HPLC in Pharmaceutical Dosage Form. *Journal of Chromatographic Science*, 2008, Vol. **46**, 649-652
- 99) Acheampong A., Addai-Arhin S., Apau J., Gyasi W.O. Development and Validation of a RP-HPLC Method with PDA Detection for the Simultaneous Estimation of Acetylsalicylic Acid, Paracetamol and Caffeine in Fixed Dose Combination Tablets. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 2015, Vol. **1**, No. 4, 211-217
- 100) Borahan T., Unutkan T., Şahin A., Bakırdere S. A rapid and sensitive reversed phase-HPLC method for simultaneous determination of ibuprofen and paracetamol in drug samples and their behaviors in simulated gastric conditions. *J Sep Sci* 2019;**42**:678–683
- 101) Walash M.I., Ibrahim F., El Abass S.A. Development and Validation of HPLC Method for Simultaneous Estimation of Famotidine, Paracetamol and

Diclofenac in their Raw Materials and Pharmaceutical Formulation.
TACL,2017, 7 (3) 421 – 437

102) ICH Topic Q3B (R2) Impurities in New Drug Products, June 2006. Erişim:
11.12.2021

https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-3-b-r2-impurities-new-drug-products-step-5_en.pdf

103) ICH Q2 (R1), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.
2005 Kasım, Erişim: 11.12.2021

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

FENİLEFRİN HİDROKLORÜR, FENİRAMİN MALEAT, ASKORBİK ASİT, PARASETAMOL'ÜN VE İLGİLİ BİLEŞİKLERİNİN KROMATOGRFİK OLARAK "YANYANA ANALİZİ"

ORJİNALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%7

İNTERNET KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%1

2

www.smyrnatipdergisi.com

İnternet Kaynağı

%1

3

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%1

4

dergipark.org.tr

İnternet Kaynağı

<%1

5

worldwidescience.org

İnternet Kaynağı

<%1

6

acikarsiv.ankara.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

7

www.docstoc.com

İnternet Kaynağı

<%1

8

abakus.inonu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

dspace.gazi.edu.tr