

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR
VE KLORFENİRAMİN MALEATIN YPSK YÖNTEMİ İLE EŞZAMANLI
MİKTAR TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ecz. Ozan PİROL

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Tuncel ÖZDEN

ANKARA
EKİM – 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR
VE KLORFENİRAMİN MALEATIN YPSK YÖNTEMİ İLE EŞZAMANLI
MİKTAR TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ecz. Ozan PİROL

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Tuncel ÖZDEN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 022009-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
EKİM – 2009**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 01/10/2009

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi**

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
....Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SOĞUK ALGINLIĞI	3
2.1.1. Soğuk Algınlığının Kaynağı ve Tedavisi	3
2.1.2. Soğuk Algınlığının Tedavisindeki Amaç	4
2.1.3. Antiviral Tedavi	4
2.1.4. Semptomatik Tedavi	5
2.1.5. Destekleyici ve Alternatif Tedavi	5
2.2. SOĞUK ALGINLIĞI İLAÇLARI	5
2.2.1. Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar	5
2.2.2. Antitüssif İlaçlar	6
2.2.3. α_1 -Adrenerjik Reseptör Agonistleri (Dekonjestanlar)	7
2.2.4. Antihistaminik İlaçlar	8
2.3. PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR VE KLORFENİRAMİN MALEAT İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	9
2.3.1.1. Parasetamolün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	9
2.3.1.2. Parasetamolün Elde edilişi	9
2.3.1.3. Parasetamolün Farmakolojisi	10
2.3.1.4. Parasetamolün Farmakokinetiği	12
2.3.1.5. Parasetamolün Klinik Kullanımı	13

2.3.1.6. Parasetamolün Türkiye'deki Müstahzarları	15
2.3.2.1. Oksolamin Sitratin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	19
2.3.2.2. Oksolamin Sitratin Elde Edilişi	20
2.3.2.3. Oksolamin Sitratin Farmakolojisi	20
2.3.2.4. Oksolamin Sitratin Farmakokinetiği	21
2.3.2.5. Oksolamin Sitratin Klinik Kullanımı	21
2.3.2.6. Oksolamin Sitratin Türkiye'deki Müstahzarları	21
2.3.3.1. Fenilefrin Hidroklorürün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	22
2.3.3.2. Fenilefrin Hidroklorürün Elde Edilişi	22
2.3.3.3. Fenilefrin Hidroklorürün Farmakolojisi	23
2.3.3.4. Fenilefrin Hidroklorürün Farmakokinetiği	23
2.3.3.5. Fenilefrin Hidroklorürün Klinik Kullanımı	24
2.3.3.6. Fenilefrin Hidroklorürün Türkiye'deki Müstahzarları	24
2.3.4.1. Klorfeniramin Maleatın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	25
2.3.4.2. Klorfeniramin Maleatın Elde Edilişi	26
2.3.4.3. Klorfeniramin Maleatın Farmakolojisi	26
2.3.4.4. Klorfeniramin Maleatın Farmakokinetiği	27
2.3.4.5. Klorfeniramin Maleatın Klinik Kullanımı	27
2.3.4.6. Klorfeniramin Maleatın Türkiye'deki Müstahzarları	28

2.4. PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR VE KLORFENİRAMİN MALEATIN MİKTAR TAYİNLERİ İLE İLGİLİ BİLİMSEL ÇALIŞMALAR 30

2.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Yapılan Çalışmalar	30
2.4.2. Spektrofotometri ile Yapılan Çalışmalar	33
2.4.3. Kapiller Elektroforez ile Yapılan Çalışmalar	34
2.4.4. Gaz Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar	35
2.4.5. Sıvı Kromatografisi-Ardışık Kütle Spektrometresi (LC/MS)	35

2.5. UYGULANAN YÖNTEMLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	
(KROMATOĞRAFI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER)	37
2.5.1. Adsorpsiyon Kromatografisi	39
2.5.2. Dağılma Kromatografisi	40
2.5.3. İyon Değiştirme Kromatografisi	41
2.5.4. İyon Çifti Kromatografisi	42
2.5.5. Moleküler Eleme Kromatografisi	43
2.5.6. Ters Faz Kromatografisi	44
2.5.7. Normal Faz Kromatografisi	45
 2.6. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ	 47
2.6.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Sistemi	49
2.6.1.1. Hareketli Faz Haznesi	49
2.6.1.2. Bağlantı Ekipmanları ve Hareketli Faz Uygulama Sistemi	50
2.6.1.3. Pompa	50
2.6.1.3.1. Pompaların Akış Hızlarına Göre Sınıflandırılması	51
2.6.1.3.2. Pompaların Üretim Malzemelerine Göre Sınıflandırılması	52
2.6.1.3.3. Pompaların Akış İletim Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	53
2.6.1.4. Otomatik Örnekleyici	55
2.6.1.5. Kolon	56
2.6.1.6. Dedektör	58
2.6.1.6.1. Ultraviolet-Görünür Bölge (UV-GB) Dedektörü	59
2.6.1.6.2. Fotodiyot Dizisi Dedektörü (PDA)	61
2.6.1.6.3. Refraktif İndeks Dedektörü	61
2.6.1.6.4. Floresans Dedektörler	62
2.6.1.6.5. Elektrokimyasal Dedektörler	63
2.6.1.7. Kayıt Cihazı	64
2.6.2. YPSK Yöntemindeki Temel Parametreler	64
2.6.2.1. Alıkonma zamanı (t_R)	65

2.6.2.2. Kapasite faktörü (k')	66
2.6.2.3. Seçicilik faktörü (α)	66
2.6.2.4. Kolon etkinliği (N)	67
2.6.2.5. Ayırıcılık (Rezolüsyon) (R)	68
2.6.2.6. Pik Simetri Oranı (PSO)	68
3. MATERYAL VE YÖNTEM	70
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR VE EKİPMANLAR	70
3.1.1. Enstrumental Kısım	70
3.1.2. Kolon	70
3.1.3. Diğer Ekipmanlar	70
3.2. KULLANILAN KİMYASALLAR	71
3.3. ANALİZDE KULLANILAN MADDELERİN ANALİZ SERTİFİKALARI	72
3.4. KROMATOĞRAFİK ŞARTLAR	78
3.5. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	78
3.5.1. Hareketli Faz Çözeltisi	78
3.5.2. Tampon Çözeltisi	78
3.5.3. Standart Çözeltiler	79
3.5.3.1. Standart Parasetamol Çözeltisi	79
3.5.3.2. Standart Oksolamin Sitrat Çözeltisi	79
3.5.3.3. Standart Fenilefrin Hidroklorür Çözeltisi	79
3.5.3.4. Standart Klorfeniramin Maleat Çözeltisi	79
3.5.4. Numune Çözeltisi	80
3.6. YPSK YÖNTEMİ	80
3.6.1. Sistemin Hazırlanması	80

4.	BULGULAR	81
4.1.	YPSK YÖNTEMİNDE HAREKETLİ FAZ SİSTEMİNE KARAR VERİLMESİ	81
4.2.	DENEYİN YAPILIŞI	81
4.3.	KALİBRASYON EĞRİLERİNİN OLUŞTURULMASI VE STANDARTLARIN KROMATOGRAMI	83
4.3.1.	Parasetamolün Kalibrasyon Eğrisi	83
4.3.2.	Oksolamin Sitratin Kalibrasyon Eğrisi	85
4.3.3.	Fenilefrin Hidroklorürün Kalibrasyon Eğrisi	86
4.3.4.	Klorfeniramin Maleatın Kalibrasyon Eğrisi	87
4.4.	VALİDASYON PARAMETRELERİ	88
4.4.1.	Kesinlik (tekrarlanabilirlik) çalışması	88
4.4.2.	Seçicilik	89
4.4.3.	Doğruluk - Geri kazanım	89
4.5.	GELİŞTİRİLEN YPSK YÖNTEMİ İLE FARMASÖTİK MÜSTAHZARLARDA PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR ve KLORFENİRAMİN MALEATIN EŞZAMANLI MİKTAR TAYİNİ ANALİZİ	90
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	91
6.	ÖZET	96
7.	SUMMARY	98
8.	KAYNAKLAR	100
9.	ÖZGEÇMİŞ	108

SİMGELER DİZİNİ

USP	Amerikan Farmakopesi
HRV	Human Rhinovirus
PG	Prostaglandin
NSAİ	Non steroidal antiinflamatuvar
COX	Siklooksijenaz (Cyclooxygenase)
H ₁	Histamin H ₁ reseptörü
MSS	Merkezi sinir sistemi
GİS	Gastrointestinal sistem
SR	Uzatılmış salım
SSGİ	Selektif serotonin geri alım inhibitörü
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonunun ters logaritması
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLC	High performance liquid chromatography
SDS	Sodyum dodesil sülfat
LC-MS	Sıvı kromatografisi ardışık Kütle spektroskopisi
GK	Gaz kromatografisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
PEEK	Polietilenilenketon
UV-GB	Mor ötesi-Görünür bölge
PDA	Fotodiyot dizi dedektörü
PSO	Pik simetri oranı
BSS	Bağıl standart sapma
psi	Pounds per square inch

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Feniletilamin	7
Şekil 2. Parasetamol	9
Şekil 3. Parasetamol sentez yolağı	10
Şekil 4. Kadın gönüllülerde parasetamolün tek başına ve 500 mg ibuprofen eşliğinde oluşturduğu tükürük ortalama parasetamol değerleri	13
Şekil 5. Oksolamin sitrat	20
Şekil 6. Oksolamin sitrat sentez yolağı	20
Şekil 7. Fenilefrin hidroklorür	22
Şekil 8. Fenilefrin hidroklorür sentez yolağı	23
Şekil 9. Klorfeniramin maleat	26
Şekil 10. Klorfeniramin maleat sentez yolağı	26
Şekil 11. Farklı iki maddenin kromatografik ayırımı	37
Şekil 12. Kromatografinin sınıflandırılması	39
Şekil 13. Silika partikülünden mikroskopik bir kesim	40
Şekil 14. Moleküler eleme kromatografisinin şematik gösterimi	43
Şekil 15. C ₈ kolonunun iç yapısı	44
Şekil 16. Boyuna difüzyon ve Eddy difüzyonu	49
Şekil 17. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin kısımları	49
Şekil 18. Pompaların akış hızına göre sınıflandırılması	52
Şekil 19. Pompaların üretim malzemelerine göre sınıflandırılması	53
Şekil 20. Pompaların akış iletim mekanizmalarına göre sınıflandırılması	54
Şekil 21. Şırınga pompası	54
Şekil 22. Tek pistonlu pompa	55
Şekil 23. Bir sıvı kromatografisi kolonunun kısımları	57
Şekil 24. YPSK kolonu	58
Şekil 25. UV dedektörü	59
Şekil 26. Floresans dedektörü	62
Şekil 27. Bir YPSK kromatogramı	65

Şekil 28. Parasetamolün analiz raporu	72
Şekil 29. Oksolamin sitratın analiz raporu	73
Şekil 30. Fenilefrin hidroklorürün analiz raporu	76
Şekil 31. Klorfeniramin maleatın analiz raporu	77
Şekil 32. Parasetamolün kalibrasyon eğrisi	84
Şekil 33. Oksolamin sitratın kalibrasyon eğrisi	85
Şekil 34. Fenilefrin hidroklorürün kalibrasyon eğrisi	86
Şekil 35. Klorfeniramin maleatın kalibrasyon eğrisi	87
Şekil 36. Sırasıyla parasetamol (1.18 dk), fenilefrin hidroklorür (2.18 dk), oksolamin sitrat (2.80 dk) ve klorfeniramin maleat (3.34 dk) standartlarının elde edilmiş eşzamanlı kromatogramı	88

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sağlıklı 10 kadın gönüllüye oral yoldan verilen 1 g parasetamolün tek başına ve 400 mg ibuprofen eşliğinde oluşan farmakokinetik parametreleri	13
Tablo 2. Parasetamolün yaşa bağlı olarak belirlenen doz aralıkları	14
Tablo 3. Parasetamolün Türkiye'deki Müstahzarları	15
Tablo 4. Oksolamin sitratın Türkiye'deki Müstahzarları	21
Tablo 5. Fenilefrin hidroklorürün Türkiye'deki Müstahzarları	24
Tablo 6. Klorfeniramin maleatın Türkiye'deki Müstahzarları	28
Tablo 7. Analiz süresince kullanılan dalga boyları	33
Tablo 8. Anyon ve katyon değiştiriciler	41
Tablo 9. İyon çifti kromatografisinde kullanılan re ajanlar ve kullanım alanları	42
Tablo 10. 1. Ters faz kromatografisinde kullanılan çözücüler ve polariteleri	45
Tablo 10. 2. Ters faz kromatografisinde kullanılan çözücülerin ayırım ve polarite güçlerine göre sıralanması	45
Tablo 11. Normal faz kromatografisinde kullanılan hareketli fazlar	46
Tablo 12. Ters ve normal kaz kromatografilerinin kıyaslanması	47
Tablo 13. YPSK yönteminin avantaj ve dezavantajları	48
Tablo 14. Bazı dedektörler ve özellikleri	63
Tablo 15. Standartlarla numune konsantrasyonları	82
Tablo 16. Standart parasetamol pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiği doğrusal aralık	84
Tablo 17. Standart oksolamin sitrat pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiği doğrusal aralık	85
Tablo 18. Standart fenilefrin hidroklorür pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiği doğrusal aralık	86
Tablo 19. Standart klorfeniramin maleat pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiği doğrusal aralık	87
Tablo 20. Kesinlik ve doğrusallık testi sonuçları	89

Tablo 21. Geri kazanım test sonuçları	89
Tablo 22. Parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat içeren piyasa müstahzarlarında geliştirilen YPSK yöntemiyle bulunan etkin madde mg değerleri	90
Tablo 23. Standart maddelerin validasyon parametreleri	95
Tablo 24. Elde edilen % geri kazanım değerleri	95
Tablo 25. Doğruluk ve kesinlik çalışması sonuçları	96

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendiren, önerilerini ve yardımlarını esirgemeyen, paylaştığı bilgisiyle gelişmem için katkı sağlayan değerli hocam Sn. Prof. Dr. Tuncel ÖZDEN'e,

Çalışmalarım boyunca bilgisini ve vaktini esirgmeden bana yardım eden değerli hocam Sn. Öğr. Gör. Murat K. ŞÜKÜROĞLU'na,

Bilimsel çalışmalara karşı yaklaşımlarını öğrenmeye çalıştığım ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmama olanak sağladığı için değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ningur NOYANALPAN'a,

Yüksek lisans çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Sn. Prof. Dr. M. Fethi ŞAHİN, Sn. Prof. Dr. Fatma GÜMÜŞ, Sn. Doç. Dr. Tijen ÖNKOL ve Sn. Doç. Dr. Erden BANOĞLU olmak üzere bütün Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerine,

Lisans ve yüksek lisans eğitimimi Türkiye'de tamamlamam için bana sundukları bu fırsattan dolayı T. C. Milli Eğitim Bakanlığına ve ilgili kurumlara,

Eğitim ve özel hayatım boyunca benden maddi ve özellikle de manevi desteklerini esirgemeyen, beni her zaman cesaretlendiren sevgili annem, babam ve ablalarım,

Çalışmalarım sırasında her zaman olduğu gibi fedakârlık göstererek, bana karşı desteğini ve bilgisini esirgemeyen biricik eşime,

en içten duygularımla teşekkür ederim.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kimyasal yollardan sentezlenen veya doğal kaynaklardan elde edilen yeni bir ilaç adayı piyasaya çıkarılmadan önce birçok evreden geçmektedir. Bu evrelerden ilki Faz 0 evresidir. Klinik öncesi araştırmaların yapıldığı Faz 0 evresinde geliştirilen ilaç molekülünün öngörülen temel etkilerini ve toksisitesini ortaya koyan *in vitro* ve daha sonra uygun olduğu düşünülen bazı maddelere de deney hayvanları üzerinde *in vivo* testler uygulanmaktadır. İlaç molekülünün farmakokinetik özellikleri de Faz 0 evresinde incelendikten sonra, toksisitesinin düşük olduğu belirlenen moleküllerin klinik çalışmaları için Faz 1 evresine geçilir. Bu evrede sağlıklı gönüllüler kullanılır ve ilaç gönüllülere verilerek insanın dayanabilirliği (tolerabilitesi) ilacın güvenliği, güvenli doz aralığı, dozaj şekli ve insandaki absorpsiyonu, eliminasyonu, biyotransformasyonu, metabolizması, endüstriyel üretim aşamasının planlaması yapılmaktadır. Faz 2 evresinde ilaç, geliştirilme sebebi olan hastalığı taşıyan küçük bir hasta popülasyonu üzerinde incelenir. Bu evrede ilacın terapötik doz aralığı, yan etki profili, formülasyon deneyleri yapılmaktadır. Faz 3 evresinde ilaç daha fazla sayıda hasta popülasyonu üzerinde incelenir, ilacın terapötik etkinliği plaseboyla kıyaslanır, raf ömrü tayin edilir ve pazar araştırmaları tamamlanır. Faz 4 evresi, ruhsatlandırılmış yeni ilacın o güne kadar tespit edilememiş ancak piyasada rutin kullanımı sonrasında ortaya çıkabilecek istenmeyen bir etkisinin araştırıldığı, analitik, üretim ve pazarlama verilerinin değerlendirildiği evredir. Bütün bu araştırma ve analizler sadece piyasaya çıkacak olan orjinal ilaç için yapılmaktadır.

Piyasadaki orjinal ilaç üreticilerine patent ve veri koruma hakları dahilinde verilen süre sona erince diğer ilaç üreticilerinin de aynı ilacı imal etme hakları doğar. Yeni bir eşdeğer ilaç piyasaya sunulduğunda *kalite*, *güvenlik* ve *etkinlik* gibi üç ana özelliği sağlaması gerekmektedir.

Piyasaya çıkan müstahzarların yukardaki üç ana özelliği taşıyıp taşımadığı yapılacak olan analizlerle belirlenmektedir.

Piyasada bulunan bir ilaçın etkin olabilmesi için üzerinde yazılı olan etkin maddeyi veya maddeleri yine üzerinde yazılı olan miktarlarda ihtiva etmesi gerekmektedir.

Bu amaçla hazırlanmış tez çalışmasında ağrı kesici/ateş düşürücü olan parasetamolün, bronkodilatör ve antitsif etkili olan oksolamin sitratın, α -1 adrenoreseptör agonisti olan fenilefrin hidroklorürün ve antihistaminik etkiye sahip klorfeniramin maleatın miktar tayinleri için yöntem geliştirilmiş ve USP XXIX'a göre valide edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. SOĞUK ALGINLIĞI (NEZLE)

2. 1. 1. Soğuk Algınlığının Kaynağı ve Tedavisi

Soğuk algınlığı, Picornavirus ailesinden olan Human Rhinovirus (HRV) denilen bir virüs cinsinin buruna yerleşmesi ile üst solunum yollarında gelişen viral kaynaklı bir enfeksiyondur. Rhinovirüs taşıyan kişinin hapşırması sonucu eline virüs bulaşır. Aynı kişi bir başkasıyla el teması kurduğunda virüsü sağlıklı bireye bulaştırmış olur. Bu kişi elini yüzüne temas ettirdiği takdirde de virüs sağlıklı kişinin burnuna yerleşmiş olur. Rinovirüs buruna yerleştikten sonra sinüsler, kulaklar ve bronşlar için de rahatsızlık oluşturmaktadır¹.

Soğuk algınlığının temel belirtileri arasında hapşırma, burun tıkanıklığı (konjesyon), sekresyon, kaşıntının eşlik ettiği boğaz ağrısı, öksürük, ses kısıklığı ve hafif olmakla birlikte gelişen baş ağrısı, ateş, titreme ve genel olarak kendini iyi hissetmeme durumu gelmektedir. Hastalardaki soğuk algınlığı belirtilerinin iyileşmesi ortalama 2-3 günden sonra başlar ve bazı vakalarda 2 hafta sürebilir^{1,2,3}.

Yapılan araştırmalar çocukların rinovirüsle enfekte olma olasılıklarının erişkinlere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Erişkinler yılda ortalama 2-3 kez, çocuklar ise yaşına bağlı olarak 6-8 kez soğuk algınlığı virüsü ile enfekte olabilirler^{4,5}.

Yaklaşık 100 farklı çeşit rinovirüs saptanmış olup soğuk algınlığı vakalarının neredeyse yarısından fazlasından bu grup virüsler sorumludur^{1,2}.

Rinovirüsler sadece canlı organizmada (canlı hücre) üreyebilirler. Canlı organizmanın dışında üreyemezler fakat bu durumda bile canlı kalarak buruna yerleştiklerinde enfektif özelliklerini sürdürürler.

Soğuk algınlığına neden olan rinovirüs, influenza virüsü ile karıştırılmamalıdır. İnfluenza grip hastalığına neden olan virüstür ve bazı belirtileri rinovirüsün belirtilerine göre daha şiddetlidir. İnfluenza virüsü ateş, kas ağrısı ve daha ağırlı öksürüklere neden olmakla birlikte diğer belirtileri rinovirüsün belirtileri ile benzerlik gösterir^{2,6}.

2. 1. 2. Soğuk Algınlığının Tedavisindeki Amaç

Soğuk algınlığı her yaş grubunda görülen ve belirtilerinin giderilmesiyle tedavi edilmeye çalışılan bir enfeksiyon çeşitidir⁷.

Burun mukozası rinovirüsle enfekte olduğu zaman, vücut buna karşılık olarak bağışıklık sistemini harekete geçirir. Bağışıklık sistemi yapısında enflamasyon mediyatörü denilen doğal maddeler içerir. Enflamasyon mediyatörleri vücudu enfeksiyonlara veya zararlı olgulara karşı korumaktadır. Bu mediyatörlerden bazıları (histamin, kinin, prostaglandin) virüs burun mukozasına saldırdığı andan itibaren salgılanmaya başlar. Salınan bu mediyatörler damarlarda dilatasyona ve mukus salgılanmasına neden olurlar. Soğuk algınlığında meydana gelen belirtiler göz önünde bulundurularak aşağıdaki tedavi yollarına gidilebilir^{1,2,3,8}.

2. 1. 3. Antiviral Tedavi

Soğuk algınlığı viral bir hastalık olduğu için hastalığın antiviral ilaçlarla tedavi edilmesi fikri akla gelen ilk yoldur. Ancak hastalık başladıktan sonra oluşan semptomların etiyolojisinden rinovirusun çoğalmasının ne derece sorumlu olduğu halen açıklık kazanmadığı için antiviral tedaviye başvurulmamaktadır. Ancak yapılan bir araştırmada burun içine (intranazal) uygulanan interferonun rinovirüsün enfeksiyöz aktivitesine karşı kişiyi koruyucu özellikte olduğu görülmüştür¹.

2. 1. 4. Semptomatik Tedavi

Soğuk algınlığına özgü, onu tedavi edebilecek etkili bir antiviral bileşik olmadığından bu hastalığın tedavisinde belirtileri gidermek esas amaç olmuştur. Bunun için de sıklıkla, *nonsteroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ağrı kesici/ateş düşürücü ilaçlar, antihistaminik ilaçlar, dekonjestan ilaçlar, antitüssif ilaçlar ve mukolitik ilaçlar* tercih edilmektedir. Yukarda adı geçen ilaçlar ayrı ayrı kullanılabilirdiği gibi tek bir farmasötik müstahzar içinde birlikte de kullanılabilirler. İkincil bir rahatsızlık durumunda ise (pnömoni, bakteriyel sinüzit) tedaviye antibiyotik de eklenebilir. Ancak yapılan araştırmada antibiyotiklerin soğuk algınlığının belirtilerinin giderilmesinde hiçbir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca antibiyotik kullanımı soğuk algınlığı tedavi maliyetini artıracak, gastrointestinal yan etki ve bakteriyel rezistans gelişimine neden olabileceği için soğuk algınlığı tedavisinde kullanılmamaktadır⁷.

2. 1. 5. Destekleyici ve Alternatif Tedavi

Destekleyici ve alternatif tedavi ile hasta bir yandan soğuk algınlığı belirtilerini gidermek için yukarda belirtilen ilaçları kullanırken, diğer yandan da ekinezya (Echinacea), çinko, C vitamini, nemlendirilmiş hava ve sıvı alımı ile de ilaç tedavisi destek verebilir. Destekleyici tedavinin tek başına soğuk algınlığı belirtilerinin giderilmesinde etkisiz olduğu bildirilmektedir⁷.

2. 2. SOĞUK ALGINLIĞI İLAÇLARI

2. 2. 1. Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar

Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ) 19. yüzyılın sonlarına doğru salisilatların kullanılması ile tanınmaya başlamıştır. Ağrı oluşturu mekanik ve kimyasal etkenler periferde prostaglandin (PG) sentezinin artmasına neden olur. NSAİ ilaçların çoğunda bulunan ortak

özellik, dokularda araşidonik asitten PG' lerin oluşumunu katalize eden enzimler olan siklooksijenaz-1(COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimlerini inhibe etmeleridir. NSAİ ilaçlar kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılır¹⁰:

1. Salisilik asit ve türevleri
2. Anilin ve p-aminofenol türevleri (parasetamol)
3. 5-Pirazolon ve 3,5-pirazolidinon türevleri
4. N-Arilantranilik asit türevleri
5. Aril, heteroarilasetik ve propiyonik asit türevleri

2. 2. 2. Antitüssif İlaçlar

Öksürük, hasta veya sağlıklı kişilerde meydana gelebilen koruyucu ve fizyolojik bir reflekstir. Gaz, buhar, toz veya mukozadaki çeşitli nedenlere bağlı olarak mukozadaki mast hücrelerinden veya enflamasyon sırasında toplanmış enflamasyon hücrelerinden histamin, lökotrien ve prostaglandin gibi maddeler salınır. Bu maddelerin çoğu bronkokonstriksiyon ve mukus salgılanmasını dolayısıyla da öksürüğü tetikler.

Antitüssif ilaçlar öksürüğü merkezi veya periferik etkileri ile inhibe ederek etki gösterirler. Bu grup ilaçlar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilirler:

Opiooid türevi antitüssif ilaçlar

Opiooid türevi ilaçlardan olan kodein ve benzeri ilaçlar güçlü antitüssif etkili ilaçlardır. Ancak yan etkilerinin fazlalığı ve bağımlılık yapma olasılıkları nedeniyle kullanımları sakıncalıdır.

Değişik yapıdaki antitüssif ilaçlar (Oksolamin sitrat)

Bu gruptaki antitüssif ilaçlar etkilerini genellikle periferik etkiyle öksürük refleksini inhibe ederek gösterirler. Oksolamin de spazmolitik ve bronkodilatör etki göstererek bu grup antitüssif ilaçlar arasında yer alır¹⁰.

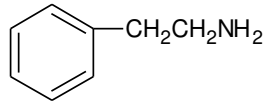
2. 2. 3. α_1 -Adrenerjik Reseptör Agonistleri (Dekonjestanlar)

α_1 -adrenerjik reseptör agonisti aktivite gösteren sempatomimetik etkili bileşikler, arteriyel vazokonstriktör etkilerinin yanısıra ödemi ve terlemeyi azaltırlar, ayrıca nazal dekonjestif etki gösterirler.

Sempatomimetik ilaçlar yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar;

1. Katekolaminler
2. İmidazolin türevleri
3. Alifatik aminler
4. Asetamit türevleri

Fenilefrinin de içinde olduğu direkt etkili sempatomimetikler veya diğer adıyla adrenerjik agonistler Şekil 1'de gösterilen feniletilamin ana yapısını taşırlar. Bu yapının türevlendirilmesi ile değişik yapıdaki sempatomimetik ilaçlar elde edilebilir^{10,11}.



Şekil 1. Feniletilamin

2. 2. 4. Antihistaminik İlaçlar

Allerji, vücudun farklı fiziksel veya kimyasal koşullarda o olaya karşı verdiği tepkidir. Vücut herhangi bir allerjenle karşı karşıya kaldığında tepki olarak histamin salıvermektedir. Bunun haricinde bradikinin, serotonin, asetilkolin, lökotrien gibi nöromediyatörlerin de salımı söz konusudur. Histaminin reseptörle etkileşmesi sonucu alerjik reaksiyonlar gözlenir. Alerjik olayların çoğunda histamin rol oynadığı için antialerjik ilaçlara “antihistaminikler” de denmektedir¹⁰. Ancak histaminin de farklı reseptör tiplerinin olduğu sonradan görülmüştür. Ash ve Schild isimli araştırmacılar 1966 yılında histaminin H₁ ve H₂ reseptör tiplerinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmaları takip eden yıllarda histaminin nörotransmitter işlevinin de olduğu ve buna özgü reseptörün de H₃ tipi olduğu görülmüştür. Bütün bu histamin reseptörleri ailesinden sadece H₁ reseptör tipi allerji ile ilintilidir¹².

Antihistaminik (Histamin H₁ reseptör blokörleri) ilaç geliştirilmesine dair çalışmalar ilk olarak 1933 yılında Pasteur Enstitüsü'nde Fournieu ve Bover tarafından yapılmıştır. Sınıflandırmaları aşağıdaki gibidir¹³:

1. Etanolaminler
2. Etilendiamin türevleri
3. Arilalkilamin türevleri
4. Piperazin türevleri
5. Fenotiazinler
6. Piperidin türevleri
7. Trisiklik antihistaminikler

2. 3. PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR VE KLORFENİRAMİN MALEAT İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

2. 3. 1. 1. Parasetamolün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Parasetamol suda eser miktarda, diklorometan ve eterde çok az ve alkolde çok iyi çözünür. Parasetamol beyaz renkli bir kristal tozudur.

Parasetamolün kapalı formülü: $C_8H_9NO_2$

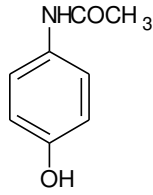
Kimyasal okunuşu: N-asetil-p-aminofenol

Eşanlamlıları: 4-(N-asetilamino)fenol, 4-hidroksiasetanilit, 4-asetaminofenol, N-(4-hidroksifenil)asetamit

Molekül ağırlığı: 151.2 g/mol

E.N. : 168 °C-172 °C

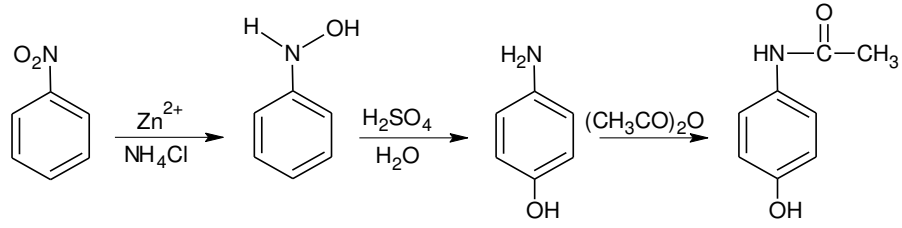
Parasetamolün açık kimyasal formülü^{14,15}:



Şekil 2. Parasetamol

2. 3. 1. 2. Parasetamolün Elde Edilişi

Parasetamol, nitrobenzenin amonyum klorür ile çinko katalizörlüğü eşliğinde tepkimeye sokulduktan sonra sülfürik asitle ve daha sonra da asetik asit anhidriti ile tepkimeye sokularak elde edilmektedir¹⁶ (Şekil 3).



Şekil 3. Parasetamol sentez yolağı

2. 3. 1. 3. Parasetamolün Farmakolojisi

Parasetamol dünya üzerinde çok geniş bir coğrafyada kullanımı olan ve en çok bilinen analjezik/antipiretik bileşiktir. İlk olarak 1878 yılında keşfedilen parasetamol ulaşılması kolay ve düşük maliyetli bir bileşik olması nedeniyle çok tercih edilmektedir ^{17,18}.

Parasetamol, özellikle çocuklarda ağrı kesici/ateş düşürücü olarak kullanımı yaygın olan bir bileşiktir. Yaklaşık 100 yıl önce keşfedilen parasetamol 1955 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde piyasaya sunulmuştur. Bir sonraki yıl ise İngiltere' de piyasaya çıkmıştır.

Parasetamolün etki mekanizması halen tam olarak aydınlatılamamış olsa da (homojenize edilmiş doku veya saflaştırılmış siklooksijenaz enzimleri olan COX-1 ve COX-2'de) parasetamolün PG sentezinin zayıf bir inhibitörü olduğu görülmüştür ¹⁹. Ancak yine de *in vivo* çalışmalarda parasetamol PG sentez inhibitörü ve selektif COX-2 inhibitörü olarak bilinmektedir²⁰. Parasetamolün COX enzimi inhibitörü olarak ifade edilmesinin nedenlerinden biri de parasetamolün ağrı kesici/ateş düşürücü etkisinin asprine benzer olmasından kaynaklanmaktadır. Birçok çalışma parasetamolün perifer bir PG sentez inhibitörü olduğunu göstermiştir. Ancak Flover ve Vane yaptıkları bir araştırmada parasetamolün beyindeki PG üretimini perifer ve dalaktaki PG üretimine göre 10 kat daha fazla inhibe ettiği göstermişlerdir. Bu durum parasetamolün esas etkisinin COX-1 ve COX-2 enzimini inhibe ederek perifer PG sentezini engellemek değil, merkezi sinir sistemi (MSS) PG

sentezini inhibe etmek olduğunu göstermektedir^{21,22}. Yakın zamanda özellikle beyinde ve kalpte yerleşmiş üçüncü ayrı bir siklooksijenaz (COX) türü tanımlanmıştır. COX-3 olarak adlandırılan bu formun selektif COX-1 ilaçlar ve parasetamolle inhibe olmakla beraber selektif COX-2 inhibitörü ilaçlarla inhibe olmadığı bildirilmiştir. COX-3'ün parasetamolün esas etkisini gösterdiği bölge olduğu sanılmaktadır^{19,23}. Parasetamolün santral aktiviteye sahip olduğunu gösteren bir başka çalışma da analjezik/antipiretik olarak kullanılan parasetamolün serebrospinal konsantrasyonunun kan plazma konsantrasyonuna oranla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Yapılan bir başka araştırma sonucunda ise spinal 5-HT₃ reseptörlerinin parasetamolün analjezik etkisiyle bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur. 5-HT₃ reseptör antagonistlerinden olan tropisetron, parasetamol ile beraber kullanıldığında parasetamolün analjezik aktivitesinin azaldığı görülmüştür. 26 gönüllü üzerinde yapılan çalışmada daha güçlü bir 5-HT₃ reseptör antagonisti olan granisetron gönüllülere verildiğinde parasetamolün etkisini inhibe etme oranının arttığı görülmüştür. Bu sonuçtan yola çıkarak parasetamolün santral aktiviteli bir analjezik/antipiretik ilaç olduğunu söyleyebiliriz¹⁸.

Parasetamol, *p*-aminofenol grubu bir NSAİ ilaçtır. Bu grup NSAİ ilaçlardan tedaviye ilk sokulan asetanilit, hastaya verildikten kısa bir süre sonra anilin ve parasetamolün olduğu görülmüş, etkin şeklin parasetamol olduğu anlaşılınca tedaviye bununla devam edilmiştir¹⁰. Parasetamol, diğer NSAİ ilaçlara kıyasla düşük antiplatelet aktivite ve düşük gastrointestinal sistem (GİS) hasarına neden olur. Bu iki özellik klinik tedavi bakımından çok önem taşımaktadır. Gastrointestinal yan etki oluşturmaması²³ ve çocuklarda anajezik/antipiretik amaçla kullanıldığında aspirin gibi Reye sendromuna neden olmaması parasetamolü güvenli ve kullanışlı bir ilaç yapmaktadır^{18,24,25}.

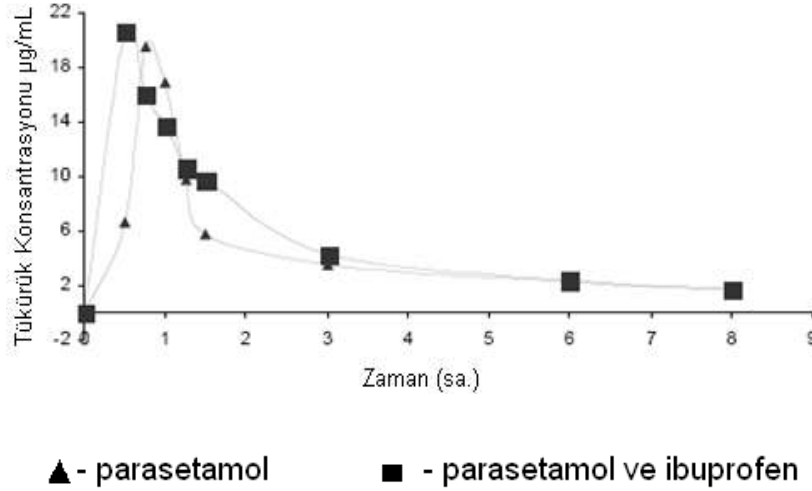
2. 3. 1. 4. Parasetamolün Farmakokinetiği

Parasetamol ağız yoluyla alındığında çabuk emilir ve etkisi erken başlar, plazma düzeyi 30-60 dakikada maksimuma ulaşır. Terapötik dozlarda kullanıldığında plazma yarılanma ömrü 2-4 saat arasındadır. Bu durum, eğer parasetamol toksik seviyede kullanıldığında değişir ve plazma yarılanma ömrü 4-8 saate çıkabilir. Parasetamol bütün vücut sıvılarına dağılır, plazma proteinlerine çok düşük düzeyde bağlanır, toksik dozlarda bile bağlanmış ilaç kısmı %20-50 arasında kalır. Terapötik doz aralığında kullanılan parasetamolün yaklaşık tamamı idrarla dışarı atılır. Parasetamol %60 glukronat konjugatı halinde, %35 sülfat konjugatı halinde ve az bir kısmı da sitokrom P-450 aracılığı ile *N*-hidroksilasyon şeklinde karaciğerde metabolize olur. Sitokrom P-450'lerin aracılık ettiği metabolizma yolağında parasetamolün toksik metaboliti olan *N*-asetil-*p*-benzokinonimin oluşur. Glutasyon, toksik metabolite bağlanarak onu toksik olmayan hale getirir. Parasetamol zehirlenmesi durumunda toksik metabolit miktarı artar. Glutasyon deposu toksik metabolitleri bağlamak için çabuk boşalır ve tekrar oluşması yavaş olduğu için toksik metabolit molekülleri karaciğerde hücre ölümüne neden olur^{26,27,28}.

Parasetamolün intravenöz (i.v.) infüzyonu sonucu oluşan plazma düzeyi, ağızdan alınan parasetamole oranla daha yüksektir. Bu durum daha fazla parasetamol molekülünün kan-beyin bariyerini aşması anlamına gelir^{26,27,28,29}.

Parasetamol magnezyum hidroksit ve alüminyum hidroksit içeren antiasit müstahzarlarıyla beraber kullanıldığında absorpsiyonunda gecikme olduğu, ancak bu durumun parasetamolün biyoyararlanımını etkilemediği bildirilmiştir. Aspirin, kodein ve diazepamın parasetamolün biyoyararlanımı üzerinde hiçbir etkilerinin olmadığı görülmüştür. NSAİ ilaç olan ibuprofen parasetamol ile beraber kullanıldığı zaman parasetamol

farmakokinetiğinin ne şekilde etkilendiği ise Şekil 4' te ve Tablo 1' de gösterilmiştir³⁰.



Şekil 4. Kadın gönüllülerde 1 g parasetamolün tek başına ve 500 mg ibuprofen eşliğinde oluşturduğu tükürük ortalama parasetamol değerleri

Tablo 1. Sağlıklı 10 kadın gönüllüye oral yoldan verilen 1 g parasetamolün tek başına ve 400 mg ibuprofen eşliğinde oluşan farmakokinetik parametreleri

Kullanılan İlaçlar	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (saat)	AUC ₀₋₈ (µg/mlsaat)	C _{max} /T _{max}
Parasetamol	19.55(±1.58)	0.7(±0.07)	33.89(±3.11)	26.07
Parasetamol ve ibuprofen	20.67(±2.34)	0.5(±0.09)	36.60(±4.23)	41.34

2. 3. 1. 5. Parasetamolün Klinik Kullanımı

Parasetamol ağızdan, rektal yoldan ve parenteral yoldan uygulanabilen bir ilaçtır^{29,31,32}. Bu nedenle tablet, çözelti (sıvı süspansiyon), supozituar ve intravenöz çözelti müstahzarlarını bulmak mümkündür. Etkili, ucuz ve ulaşılabilirliğinin kolay olması parasetamolü kullanışlı bir ilaç yapmaktadır. Dünyanın neredeyse her yerinde ağrı kesici/ateş düşürücü olarak geniş bir kullanıma sahiptir^{19,20,25,33}. Parasetamolün en önemli kullanım alanlarından bazıları soğuk algınlığında oluşan ateşin düşürülmesi, baş ağrısı, hafif ağrılar ve diş

ağrısı gibi vakalardır^{18,25}. Farklı kaynaklar parasetamol dozları hakkında farklı seçenekler sunar, fakat hepsi birbirine yakındır. Parasetamolün yaşa göre kullanılan doz aralıkları Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Tablo 2. Parasetamolün yaşa bağlı olarak belirlenen doz aralıkları

Yaş	Doz aralığı
Yetişkin birey	500 - 1000 mg her doz
12 - 16 yaş	500 - 1000 mg her doz
6 - 12 yaş	250 - 500 mg her doz
1 - 5 yaş	120 - 250 mg her doz
3 - 12 ay	60 – 120 mg her doz

Günlük en yüksek dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir, bazı kaynaklarda 3 g ve hatta 2.6 g olarak belirtilir. Bu doz aralıkları parasetamolün oral, rektal ve parenteral yoldan uygulamalarının tümünde geçerlidir. 6-12 yaş arası çocuklarda tek seferlik dozun 20-30 mg/kg’a kadar çıkarılabileceği Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bildirilmiştir¹³. Ameliyat sonrası ağrı kesici olarak etkili olduğu bilinmektedir²⁹. Yapılan bir araştırmada ameliyat sonrası ağrılar kişide rahatsızlık verici bir durum oluşturduğunda başlangıç dozu olarak 2 g parasetamol verilmiş ve takiben her 6 saatte 1 g idame dozuna devam edilmiştir. İlk 24 saatte ulaşılan 5 g’lık dozun parasetamolün farmakokinetiğinde değişikliğe neden olmadığı belirtilmiş, toksik etkinin aynı tedaviye devam edildiği takdirde ancak 72 saat sonra ortaya çıktığı görülmüştür³⁴. Kadınların adet dönemlerinde yaşanan sancılarda etkin olduğu, gastrointestinal sistem hasarı yapmadığı için de bu tür ağrılarda kullanıldığı bilinmektedir³⁵.

Yapılan araştırmalar parasetamolün aynı zamanda her çeşit artrit (romatizma) hastalığında, hastalığa bağlı oluşan iskelet ve kas ağrılarının giderilmesinde etkili olduğu görülmüştür. Artrit hastalıklarında parasetamolün katı dozaj formu olarak 500 mg’lık tablet veya kapsül

şeklinde ve 665 mg'lık sürekli salım (SR) tabletleri halinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Artritin inatçı ağrılarına karşı günde 2 defa düzenli olarak SR tablet kullanımı önerilmektedir³¹.

Parasetamolün alkol bağımlılarında kullanımıyla ilgili olarak ileriye dönük (prospektif) ve geriye dönük (retrospektif) çalışmalar yapılmıştır. Terapötik doz aşılmadığı takdirde parasetamolün alkolik karaciğerine hiçbir hasar vermediği, 1-2 g tek doz parasetamol uygulamalarında bile hasara rastlanmadığı görülmüştür. Retrospektif çalışmalara dönük olarak yapılan araştırmalarda parasetamolün terapötik doz sınırının aşıldığı durumlarda karaciğer hasarının olduğu görülmüştür³⁶.

2. 3. 1. 6. Parasetamolün Türkiye'deki Müstahzarları

Tablo 3. Parasetamolün Türkiye'deki müstahzarları³⁷

Kullanıldığı Müstahzarlar	Üretici	Miktar	Reçete	Durumu
Draje (kombine)				
DOLADAMON P	İ.E. ULAGAY	300 mg	Beyaz	Yerli
EPİDOSİN COMPOSITUM	Dr.F. FRİK	325 mg	Beyaz	Yerli
ERGAFEİN	İ.E. ULAGAY	150 mg	Beyaz	Yerli
Enjektabl Müstahzar				
PERFALGAN İNFÜZYON SOLÜSYONU	BRYSTOL-MYERS SQUIBB	100 mg/ml (100 ml)	Beyaz	İthal
Kapsül (kombine)				
A-FERİN	HÜSNÜ ARSAN	300 mg	Beyaz	Yerli
COLDEKS	DEVA	325 mg	Beyaz	Yerli
CORSAL	İ.E. ULAGAY	300 mg	Betaz	Yerli
KATARİN	BIOFARMA	250 mg	Beyaz	Yerli
Kaşe (kombine)				
GRİPİN	GRİPİN	500 mg	Beyaz	Yerli
LOKMAN	LOKMAN	500 mg	Beyaz	Yerli
LOKMAN KAŞE	LOKMAN	500 mg	Beyaz	Yerli
Saşe (poşet) (kombine)				
A-FERİN HOT	HÜSNÜ ARSAN	500 mg	Beyaz	Yerli
GRİBEX HOT PEDİATRİK	ULKAR	250 mg	Beyaz	Yerli
GRİBEX HOT	ULKAR	500 mg	Beyaz	Yerli
GRİBEX HOT-D	ULKAR	500 mg	Beyaz	Yerli
MAXİHOT	ABDİ İBRAHİM	500mg	Beyaz	Yerli
MAXİHOT	ABDİ İBRAHİM	500 mg	Beyaz	Yerli
OLEDRO HOT	DROGSAN	500 mg	Beyaz	Yerli

OLEDRO HOT T	DROGSAN	500 mg	Beyaz	Yerli
PAROL HOT PEDIATRİK	ATABAY	250 mg	Beyaz	Yerli
PAROL HOT	ATABAY	500 mg	Beyaz	Yerli
PİR HOT D	DEVA	500 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT-D	NOBEL	500 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT PEDIATRİK	NOBEL	250 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT	NOBEL	500 mg	Beyaz	Yerli
VERMİDON HOT	SANDOZ	500 mg	Beyaz	Yerli
Solüsyon				
A-PER PEDIATRİK	AROMA	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
ASOMAL ŞURUP	AROMA	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
BABİNOKS PEDIATRİK	SİSTAŞ	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
EKOSETOL ŞURUP	YENİ İLAÇ	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
GERALGİN-P PEDIATRİK	MÜNİR ŞAHİN	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
GRİPİN BEBE PEDIATRİK	GRİPİN	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
KATAPRİN PEDIATRİK	ŞANLI	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
MİNAFEN ŞURUP	DROGSAN	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
MİNOSET PEDIATRİK	BAYER	30 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PARA-COLD ŞURUP	KEYMEN	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PARACETAMOL PEDIATRİK	SABA	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PARASEDOL PEDIATRİK	KOÇAK	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PİROFEN PEDIATRİK ŞURUP	DEVA	30 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
SEDALON PEDIATRİK	GÜNSA GÜNEY	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TAMOL PEDIATRİK	SANDOZ	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TEMPO ELİKSİR	AKDENİZ	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TERMALGİNE PEDIATRİK	NOVARTİS	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
VERMİDON ÇOCUK	SANDOZ	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
ZALDAKS ŞURUP	İLAÇSAN	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
Solüyon (kombine)				
A-FERİN PLUS PEDIATRİK	HÜSNÜ ARSAN	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
CORSAL	İ.E. ULAGAY	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
DEFLU	YENİ İLAÇ		Beyaz	Yerli
DEKSAN	DEVA	20 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
FORZA PEDIATRİK	ALİ RAİF	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
KATARİN PEDIATRİK	BİOFARMA	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli

KONGEST PEDİATRİK	ECZACIBAŞ I-ZENTİVA	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
MEDİCOLD PEDİATRİK	KOÇAK	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
OLEDRO PEDİATRİK	DROGSAN	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PEDİTUS	SANDOZ	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TYLOL COLD	NOBEL	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
VİCKS MEDİNAİT	ECZACIBAŞI	32 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
Supozituvar				
PARANOX FORT	SANOİ AVENTİS	240 mg	Beyaz	Yerli
PARANOX S	SANOİ AVENTİS	120 mg	Beyaz	Yerli
TERMALGİNE PEDİATRİK	NOVARTİS	100 mg	Beyaz	Yerli
Supozituvar (kombine)				
PARANOX	SANOİ AVENTİS	120 mg	Beyaz	Yerli
PIROFEN	DEVA	200 mg	Beyaz	Yerli
SPASMO-PANALGİNE ÇOCUK	ATABAY	125 mg	Beyaz	Yerli
Süspansiyon (oral)				
CALPOL 6 PLUS I	GLAXO-SMİTH-CLİNE	50 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
CALPOLbebek ve çocuklar	GLAXO-SMİTH-CLİNE	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PAROL	ATABAY	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
PAROL PLUS	ATABAY	50 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
POLMOFEN PEDİATRİK	YENİ İLAÇ	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TAMOL PLUS	SANDOZ	50 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TERMACET PLUS	TOPRAK	50 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TERMACET	TOPRAK	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TYLOL 6 PLUS	NOBEL	50 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TYLOL	NOBEL	24 mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
Tablet				
CALPOL TABLET	GLAXO-SMİTH-CLİNE	500 mg	Beyaz	Yerli
EFFERALGAN EFFERVESAN	BRYSTOL-MYERS SQUIBB	500 mg	Beyaz	İthal
MİNOSET	BAYER	500 mg	Beyaz	Yerli
PANADOL	GLAXO-SMİTH-CLİNE	500 mg	Beyaz	İthal
PARACET JUNİOR LAK	GRİPIN	160 mg	Beyaz	Yerli

PARASEDOL	KOÇAK	500 mg	Beyaz	Yerli
PAROL	ATABAY	500 mg	Beyaz	Yerli
PHARMADOL	SODHAN	500 mg	Beyaz	İthal
PIROFEN	DEVA	500 mg	Beyaz	Yerli
SETAMOL	YENİ İLAÇ	500 mg	Beyaz	Yerli
TAMOL	SANDOZ	500 mg	Beyaz	Yerli
TERMACET	TOPRAK	500 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL	NOBEL	500 mg	Beyaz	Yerli
VOLPAN	HÜSNÜ ARSAN	500 mg	Beyaz	Yerli
Tablet (kombine)				
A-FERİN FORTE	HÜSNÜ ARSAN	650 mg	Beyaz	Yerli
A-FERİN	HÜSNÜ ARSAN	500 mg	Beyaz	Yerli
AFEERYL	GALEPHAR MA	200 mg	Beyaz	İthal
ALJİL	YENİ İLAÇ	300 mg	Beyaz	Yerli
AVMİGRAN	İ.E. ULAGAY	325 mg	Beyaz	Yerli
BENİCAL COLD T	BAYER	500 mg	Beyaz	Yerli
BUSCOPAN T	ECZACIBAŞ I-ZENTİVA	500 mg	Beyaz	Yerli
CETAFLU FORTE	ATABAY	650 mg	Beyaz	Yerli
DEFLU FORT	YENİ İLAÇ	650 mg	Beyaz	Yerli
DEFLU	YENİ İLAÇ	300 mg	Beyaz	Yerli
DERMANCI	DERMANCI	500 mg	Beyaz	Yerli
DORSİLON	SANDOZ	450 mg	Beyaz	Yerli
DRİSTAN	TURGUT	325 mg	Reçetesiz	Yerli
FORZA	ALİ RAİF	250 mg	Beyaz	Yerli
GERAKON	MÜNİR ŞAHİN	650 mg	Beyaz	Yerli
GERAKON	MÜNİR ŞAHİN	325 mg	Beyaz	Yerli
GERALGİNE-K	MÜNİR ŞAHİN	500 mg	Beyaz	Yerli
GERALGİNE-P	MÜNİR ŞAHİN	500 mg	Beyaz	Yerli
GRİPAMOL	KOÇAK	325 mg	Beyaz	Yerli
KATARİN FORTE	BİOFRMA	650 mg	Beyaz	Yerli
KONGEST FORTE	ECZACIBAŞ I-ZENTİVA	650 mg	Beyaz	Yerli
KONGEST	ECZACIBAŞ I-ZENTİVA	300 mg	Beyaz	Yerli
KUİFLEX	ABDİ İBRAHİM	200 mg	Beyaz	Yerli
KUİLİL FİLM	EMBİL	200 mg	Beyaz	Yerli
MEDAFEİN	KOÇAK	500 mg	Beyaz	Yerli
MEPADOL	AKDENİZ	300 mg	Beyaz	Yerli
MİNOSET PLUS	BAYER	250 mg	Beyaz	Yerli
MİYOREL	SANOİ AVENTİS	300 mg	Beyaz	Yerli
MOLİT PLUS	ADEKA	500 mg	Beyaz	Yerli
MUSKAZON	KURTSAN	300 mg	Beyaz	Yerli
NOPAIN PLUS	CASEL	500 mg	Beyaz	Yerli
OLDRO	DROGSAN	250 mg	Beyaz	Yerli
PANADOL	GLAXO-SMİTH-CLİNE	500 mg	Beyaz	İthal

PANALGİNE	ATABAY	300 mg	Beyaz	Yerli
PARAFON	GÜREL	300 mg	Beyaz	Yerli
PARASİNUS	KOÇAK	500 mg	Beyaz	Yerli
FERALJİN	AROMA	400 mg	Beyaz	Yerli
PİROSAL	SABA	500 mg	Beyaz	Yerli
REMİDON	DEVA	500 mg	Beyaz	Yerli
SPALT	SANTAFAR MA	450 mg	Reçeteli Reçetesiz	Yerli
SPAZMOL	DEVA	500 mg	Beyaz	Yerli
SPAZMOTEK	BİLİM	500 mg	Beyaz	Yerli
TAMOL COLD	SANDOZ	500 mg	Beyaz	Yerli
TERMALGİNE PLUS	NOVARTİS	500 mg	Beyaz	Yerli
THERAFLU FORT	NOVARTİS	650 mg	Beyaz	Yerli
THOMAPYRİN	BOEHRİNG ER- İNGELHEİM	200 mg	Beyaz	İthal
TYLOL PLUS	NOBEL	500 mg	Beyaz	Yerli
VERMİDON	SANDOZ	500 mg	Beyaz	Yerli
VERMİDON-K	SANDOZ	500 mg	Beyaz	Yerli
ZALDIAR FİLM	ABDİ İBRAHİM	225 mg	Beyaz	İthal

2. 3. 2. 1. Oksolamin Sitratın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Oksolamin sitrat suda ve alkolde az çözünen bir beyaz tozdur.

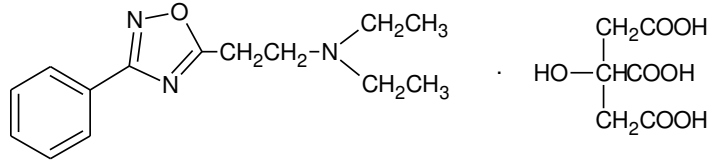
Kapalı formülü: $C_{14}H_{19}N_3O$, $C_6H_8O_7$

Kimyasal okunuşu: 5-[2-(dietilamino)etil]-3-fenil-1,2,4-oksadiazol,

Molekül ağırlığı: 437.4 g/mol

E. N. : 144.5-145.5 °C

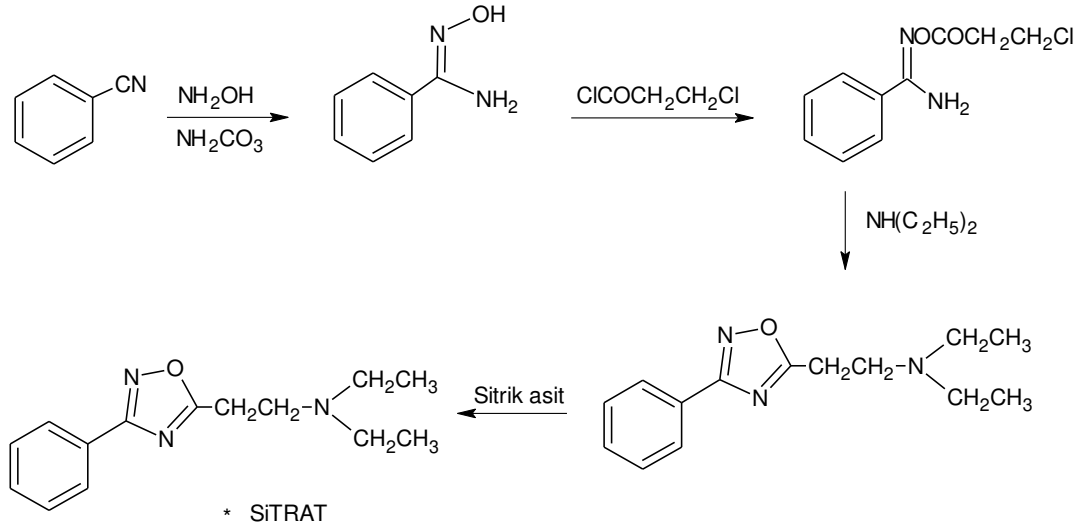
Oksolamin sitratın açık kimyasal formülü^{15,38,39}:



Şekil 5. Oksolamin sitrat

2. 3. 2. 2. Oksolamin Sitratın Elde Edilişi

Oksolamin sitrat, benamidoksimden hareketle sentezlenir. Benamidoksim ise benzonitrilden elde edilir. Benamidoksim, kloropropionil klorür ve dietilamin ile reaksiyonuyla, oksolaminin sitrik asit ile reaksiyonu sonucunda oksolamin sitrat elde edilir³⁸.



Şekil 6. Oksolamin sitratın sentez yolağı

2. 3. 2. 3. Oksolamin Sitratın Farmakolojisi

Oksolamin sitrat antiinflamatuvar ve antitüssif etkili bir bileşiktir. Antiinflamatuvar ve antitüsif etkileri ilk olarak kobayda yapılan araştırmalarda incelenmiştir. Antitüssif etkisi periferik olarak öksürük refleksini inhibe etmesiyle ortaya çıkar^{10,40,41}.

2. 3. 2. 4. Oksolamin Sitratin Farmakokinetiği

Ağızdan alınan oksolamin sitrat kısa bir sürede metabolize olur ve 24 saat içinde idrarla tamamen dışarı atılır⁴².

2. 3. 2. 5. Oksolamin Sitratin Klinik Kullanımı

Oksolamin sitratin antiinflamatuvar ve antitüssif etkinliğine dair ilk klinik çalışmalar Corbella (1960), Deidda (1960) ve Tropia (1961) tarafından yapılmıştır⁴⁰. Öksürük vakalarında hastanelerde ilk başvuru alan antitüssif ilaçlar arasındadır⁴³.

Analjezik ve bronkospazmolitik etkisi de bilinmektedir⁴². Ayrıca oksolamin sitratin varfarin kullanan hastalarda varfarinin etkisini artırdığı gözlenmiştir^{44,45}. Oksolamin sitratin az bilinen bir etkisi de Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) olan hastalarda öksürük hassasiyetini gidermesidir⁴⁶. Yapılan araştırmalarda oksolaminin özellikle 10 yaş altı çocuklarda sanrılara (halüsinasyon) neden olduğu bildirilmiştir. Erişkinlerde ve 10 yaşın üstündeki çocuklarda aynı etkiye rastlanmamıştır^{15,47}. Genellikle günde 4 kez ve en fazla 200 mg olarak kullanılması önerilmektedir⁴⁸.

2. 3. 2. 6. Oksolamin Sitratin Türkiye'deki Müstahzarları

Tablo 4. Oksolamin sitratin Türkiye'deki müstahzarları³⁷

Kullanıldığı Müstahzarlar	Üretici	Miktar	Reçete	Durumu
Kapsül (kombine)				
KATARİN	BİOFARMA	100 mg	Beyaz	Yerli
Saşe (poşet) (kombine)				
OLEDRO HOT	DROGSAN	100 mg	Beyaz	Yerli
OLEDRO HOT	DROGSAN	100 mg	Beyaz	Yerli
Solüsyon (kombine)				
KATARİN PEDIATRİK	BİOFARMA	10mg/ml (5 ml)	Beyaz	Yerli
Tablet (kombine)				
FORZA	ALİ RAİF	100 mg	Beyaz	Yerli
KATARİN	BİOFARMA	200 mg	Beyaz	Yerli
OLEDRO	DROGSAN	100 mg	Beyaz	Yerli

2. 3. 3. 1. Fenilefrin Hidroklorürün Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Fenilefrin hidroklorür beyaz renkli, kokusuz kristal yapıda bir maddedir. Suda ve alkolde iyi çözünür. Hava geçirmez şekilde ve ışıktan uzakta muhafaza edilmelidir.

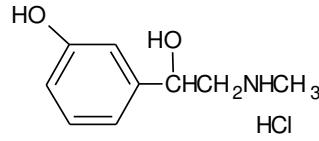
Fenilefrin hidroklorürün kapalı formülü: $C_9H_{13}NO_2 \cdot HCl$

Kimyasal Okunuşu: (S)-1-(3-Hidroksifenil)-2-metilaminoetanol

Molekül Ağırlığı: 203.7 g/mol

E.N. : 140 °C -145 °C

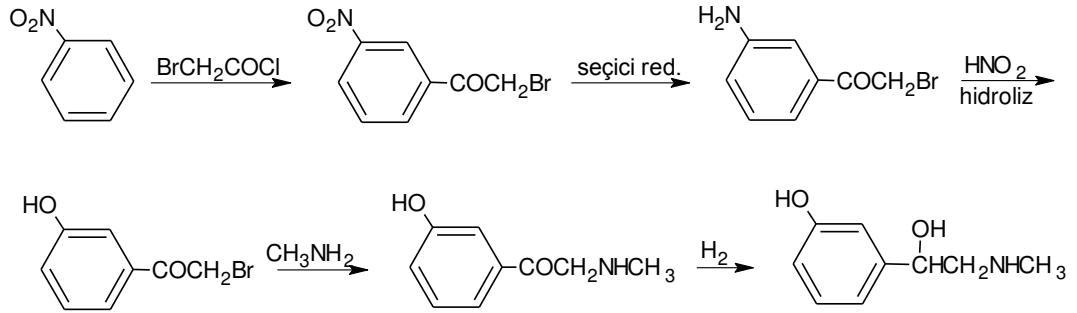
Fenilefrin hidroklorürün açık kimyasal formülü^{15,49}:



Şekil 7. Fenilefrin hidroklorür

2. 3. 3. 2. Fenilefrin Hidroklorürün Elde Edilişi

Bileşiğin sentezi için nitrobenzenden hareket edilir. Nitrobenzenin bromoasetiklorürle açillenmesinden sonra oluşan ürün redüksiyonla amin türevine dönüştürülür. Amin türevinin diazolanması ve takiben hidrolizi ile elde edilen fenolik yapı, önce metil aminle tepkimeye sokulur, takiben redüksiyon işlemi gerçekleştirilir¹⁰.



Şekil 8. Fenilefrin hidroklorür sentez yolağı

2. 3. 3. 3. Fenilefrin Hidroklorürün Farmakolojisi

Fenilefrin hidroklorür seçici α_1 -adrenoseptör agonist aktivite gösteren semptomimetik etkili bir bileşiktir. Doz yükseldikçe fenilefrinin β -reseptör aktivitesi artar. Fenilefrin intravenöz infüzyon sonrası arteriyel vazokonstriksiyon yaparak etki göstermektedir¹¹.

2. 3. 3. 4. Fenilefrin Hidroklorürün Farmakokinetiğı

Fenilefrin hidroklorürün oral biyoyararlanımı değişken ve düşük orandadır. Bunun nedeni ise fenilefrin hidroklorürün barsak mukozası ve karaciğerde bulunan Monoamin Oksidaz (MAO) enzimi ile ilk geçiş etkisine uğramasıdır. Bu şekilde fenilefrin, sülfat konjugatı, glükronat konjugatı ve oksidatif deaminasyon sonucu m-hidroksimandelik asit ve m-hidroksifenilglükole (MHFG) metabolize edilir. Ağızdan alınan fenilefrinin %70-80'i 24 saat içinde sülfat ve MHFG metaboliti şeklinde idrarla dışarıya atılır. İntramüsküler (i.m.) veya subkütan (s.c.) yoldan uygulanan fenilefrinin etkisi 10-15 dk'da başlar, s.c. uygulanan fenilefrinin etkisi 1 saat, i.m. uygulanan fenilefrinin etkisi ise 2 saatten uzun sürer. i.v. yoldan uygulanan fenilefrin 20 dk etkindir. Fenilefrinin plazma yarılanma ömrü 2-3 saattir^{15,49}.

2. 3. 3. 5. Fenilefrin Hidroklorürün Klinik Kullanım

Fenilefrin adrenerjik reseptörleri doğrudan etkileyen sempatomimetik etkili bir bileşiktir. İlaç uygulandıktan sonra periferik vazokonstriksiyon gelişir ve kan basıncı yükselir. Bu nedenle fenilefrin hipotansiyon vakalarında sık kullanılan bir ilaçtır. Bu tür vakalarda fenilefrin dozu 2-5 mg'dır. Fenilefrin, tuzları şeklinde soğuk algınlığı belirtilerini gidermek için nazal dekonjestan olarak geniş ölçüde kullanılan bir ilaçtır. Damla formunda olan %0.25-0.5'lik çözeltileri günde 4 kez, ağızdan alınacaksa 5-20 mg günde 3-4 kez kullanılabilir. Oftalmolojide midriyatik amaçla %2.5-10'luk çözeltileri kullanılır. Ayrıca fenilefrin lokal anesteziyle beraber vazokonstriksiyon oluşturmak için de kullanılmaktadır. Letal dozu 2 yaşından büyük çocuklar için 100 mg, erişkinler için ise 1 g'dır^{15,49,50}.

2. 3. 3. 6. Fenilefrin Hidroklorürün Türkiye'deki Müstahzarları

Tablo 5. Fenilefrin hidroklorürün Türkiye'deki müstahzarları³⁷

Kullanıldığı Müstahzarlar	Üretici	Miktar	Reçete	Durumu
Kapsül (kombine)				
COLDEKS	DEVA	5 mg	Beyaz	Yerli
CORSAL	İ.E. ULAGAY	5 mg	Beyaz	Yerli
RHINOTUSSAL	ABDİ İBRAHİM	20 mg	Beyaz	İthal
Nazal preparat				
NOSTİL	DEVA	2.33 mg/ml	Beyaz	Yerli
Oftalmik preparat				
MYDFRİN	ALCON	25 mg/ml	Beyaz	İthal
Saşe (poşet) (kombine)				
OLEDRO HOT	DROGSAN	10 mg	Beyaz	İthal
VERMİDON HOT	SANDOZ	10 mg	Beyaz	İthal
Solüsyon (kombine)				
CORSAL	İ.E. ULAGAY	1 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
DEFLU	YENİ İLAÇ	0.5 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
FORZA PEDIATRİK	ALİ RAİF	1 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
KNGEST PEDIATRİK	ECZACIBAŞI-ZENTİVA	0.5 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
OLEDRO PEDIATRİK	DROGSAN	1 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
PEDITUS	SANDOZ	1 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal

TUSEPTİL	MÜNİR ŞAHİN	1 mg/ml (5ml)	Beyaz	İthal
Tablet (kombine)				
CETAFLU FORTE	ATABAY	10 mg	Beyaz	İthal
DEFLU FORT	YENİ İLAÇ	10 mg	Beyaz	İthal
DEFLU	YENİ İLAÇ	5 mg	Beyaz	İthal
DRİSTAN T	TURGUT	5 mg	Beyaz	İthal
FORZA	ALİ RAİF	5 mg	Beyaz	İthal
GERAKON FORT	MÜNİR ŞAHİN	10 mg	Beyaz	İthal
GERAKON	MÜNİR ŞAHİN	5 mg	Beyaz	İthal
KONGEST FORT	ECZACIBAŞI- ZENTİVA	10 mg	Beyaz	İthal
KONGEST	ECZACIBAŞI- ZENTİVA	5 mg	Beyaz	İthal
OLEDRO	DROGSAN	5 mg	Beyaz	İthal
THERAFLU FORTE	NOVARTİS	10 mg	Beyaz	İthal

2. 3. 4. 1. Klorfeniramin Maleatın Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Klorfeniramin maleat beyaz renkte kokusuz kristalize bir tozudur. Suda, alkolde ve kloroformda iyi, eterde ise az çözünür. Klorfeniramin maleat ışığa ve oksidasyona karşı hassas bir bileşiktir, bu nedenle hava ve ışık geçirmez bir şekilde saklanmalıdır⁵¹.

Klorfeniramin maleatın kapalı formülü: $C_{14}H_{19}ClN_2$, $C_4H_4O_4$

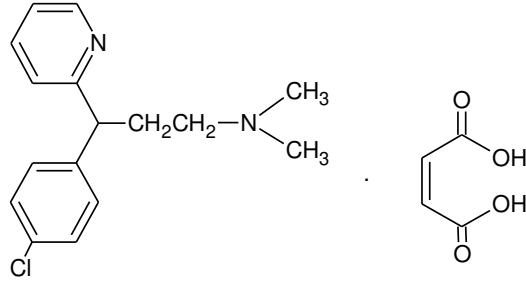
Kimyasal Okunuşu:

(±)-3-(4-klorofenil)-N,N-dimetil-3-(2-piridil)propilamin

Molekül Ağırlığı: 390.9 g/mol

E.N. : 130 -135 °C

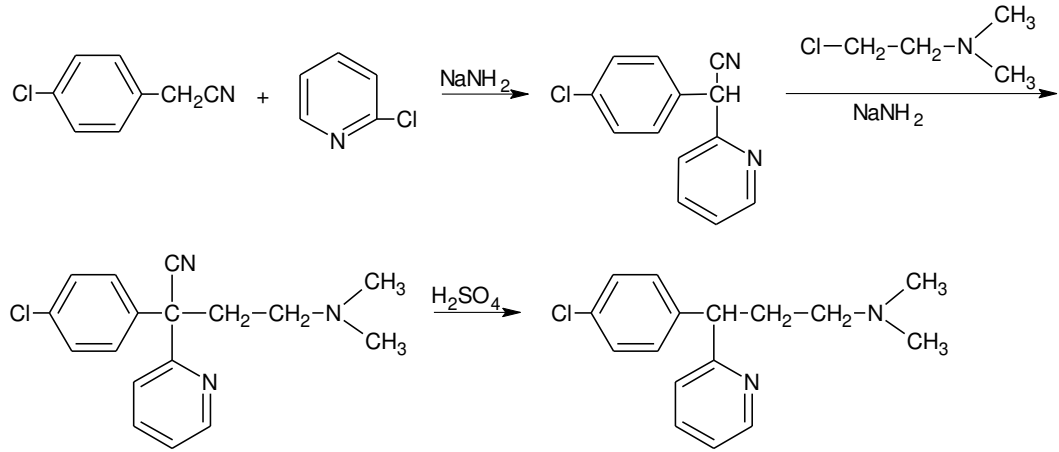
Klorfeniramin maleatın açık kimyasal formülü^{15,49}:



Şekil 9. Klorfeniramin maleat

2. 3. 4. 2. Klorfeniramin Maleatın Elde Edilişi

Fenilasetonitril veya süstitüe türevlerinden hareket edilip önce sodamit karşısında 2-kloropiridinle reaksiyon sonucu piridilfenilasetonitril elde edilir. Bu bileşik sodamit karşısında dimetilaminoetil klorürle alkillendikten sonra sülfürik asit karşısında hidroliz ve dekarboksile edilir¹⁰.



Şekil 10. Klorfeniramin maleatın sentez yolağı

2. 3. 4. 3. Klorfeniramin Maleatın Farmakolojisi

Klorfeniramin, alkilamin grubu bir histamin H₁ reseptör blokörüdür. Bu grup bileşikler düşük dozlarda antihistaminik aktivite gösterirler. Merkezi sinir sisteminde sedasyon yapma potansiyelleri

zayıftır¹⁰. Aynı zamanda parasempatolitik aktivite gösterdiği de bilinmektedir. Düşük dozlarda etki sağlaması klorfeniramin kullanışlı bir ilaç yapmaktadır^{15,52}. İlk olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde 1950 yılında piyasaya sunulan klorfeniraminin yaklaşık 20 yıl sonra selektif serotonin gerilim inhibitörü (SSGİ) etkisinin olduğunu belirtilmiştir. Ancak piyasaya bu etkisinden dolayı çıkmamıştır^{53,54}. Yapılan bir araştırmada klorfeniraminin bir antihistaminik ilaç olarak oluşturduğu yan etki (sedasyon) ele alınmış ve ilacın sedasyonda etkili formunun (+)-3-(4-klorofenil)-*N,N*-dimetil-3-(2-piridil)propilamin olduğu anlaşılmıştır⁵⁵.

2. 3. 4. 4. Klorfeniramin Maleatın Farmakokinetiği

Klorfeniramin tedavide rasemik formu şeklinde kullanılan bir antihistaminik ilaçtır. Standart klorfeniraminin 2-4 saat, sürekli salım yapan klorfeniraminin ise 7 saatte maksimum emilim noktasına ulaştığı görülmüştür. Ayrıca (+)-S şeklinin rasemik şekle oranla daha yüksek plazma konsantrasyonu oluşturduğu gözlenmiştir⁵⁶. Klorfeniramin maleat GİS' den yavaş emilim gerçekleştirmektedir. Biyoyararlanımında ilk geçiş etkisinden dolayı bir düşüş gözlenir. Dolaşımdaki klorfeniraminin %70'i plazma proteinlerine bağlıdır. Yarılanma ömrü 2-43 saat gibi geniş bir aralıktadır. Buna karşılık çocuklardaki emilim ve yarılanma ömrünün daha kısa olduğu bildirilmiştir. Metabolize olması sonucunda desmetil ve didesmetilklorfeniramin olduğu bildirilmiştir. Metabolize olmayan kısım metabolitlerle beraber idrarla atılır. Çok az bir kısmı da dışkıyla atılır¹⁵.

2. 3. 4. 5. Klorfeniramin Maleatın Klinik Kullanımı

Klorfeniramin, ürtiker, anjiyödem, rinit, konjüktivit, kaşıntının eşlik ettiği deri hastalıkları gibi allerjik durumların semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır. Soğuk algınlığı ve öksürük müstahzarlarının da içinde sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca anafilaktik şok durumunda da acil tedavi olarak i.v. uygulaması yapılır. Klorfeniramin maleat ağız yoluyla, s.c., i.m., veya i.v. yoldan uygulanabilen bir ilaçtır. İntranazal (%0.77) klorfeniramin

uygulamalarında burun kaşıntısı, hapşırma ve aşırı sekresyonun azaldığı gözlenmiştir⁵⁷. Uygulamadan önce yaşa bağlı olarak değişik doz ayarlamaları yapılmalıdır. Ağızdan günde en fazla 4 kez verilen klorfeniramin dozu 4-24 mg arası olmalıdır. 1-2 yaş arası çocuklara günde 2 kez 1 mg, 2-5 yaşları arasındaki çocuklara her 4-6 saatte bir kez 1 mg (maksimum 6 mg) 6-12 yaşlarındaki çocuklara ise her 4-6 saatte bir kez 2 mg (maksimum 12 mg) verilmelidir. Parenteral yoldan verilen klorfeniraminin dozlama aralığı ise 10-20 mg, gün boyunca ise 40 mg'ı aşmamalıdır^{15,52}.

2. 3. 4. 6. Klorfeniramin Maleatın Türkiye'deki Müstahzarları

Tablo 6. Klorfeniramin maleatın Türkiye'deki müstahzarları³⁷

Kullanıldığı Müstahzarlar	Üretici	Miktar	Reçete	Durumu
Kapsül (kombine)				
A-FERİN	HÜSNÜ ARSAN	2 mg	Beyaz	Yerli
COLDEKS	DEVA	1 mg	Beyaz	Yerli
CORSAL	İ.E.ULAGAY	2 mg	Beyaz	Yerli
KATARİN	DEVA	2 mg	Beyaz	Yerli
Nazal preparat (kombine)				
NOSTİL BURUN SPREYİ	DEVA	4 mg/ml	Beyaz	Yerli
Saşe (poşet) (kombine)				
GRİBEX HOT PEDIATRİK	ULKAR	2 mg	Beyaz	Yerli
GRİBEX HOT	ULKAR	4 mg	Beyaz	Yerli
GRİBEX HOT-D	ULKAR	4 mg	Beyaz	Yerli
MAXİHOT	ABDİ İBRAHİM	4 mg	Beyaz	Yerli
OLEDRO HOT	DROGSAN	2 mg	Beyaz	Yerli
PAROL HOT PEDIATRİK	ATABAY	2 mg	Beyaz	Yerli
PAROL HOT	ATABAY	4 mg	Beyaz	Yerli
PİR HOT	DEVA	4 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT-D	NOBEL	4 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT PEDIATRİK	NOBEL	2 mg	Beyaz	Yerli
TYLOL HOT POŞET	NOBEL	4 mg	Beyaz	Yerli
VERMİDON HOT	SANDOZ	4 mg	Beyaz	Yerli
Solüsyon (kombine)				
A-FERİN PEDIATRİK	HÜSNÜ ARSAN	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
A-FERİN PLUS PEDIATRİK	HÜSNÜ ARSAN	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
BENİCAL	BAYER	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
BRONKAR-A	NOBEL	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
CORSAL	İ.E. ULAGAY	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
DEFLU	YENİ İLAÇ	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
DEKSAN	DEVA	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli

DORFAN	AKDENİZ	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
FORZA PEDIATRİK	ALİ RAİF	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
İBURAMİN COLD	BERKO	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
KATARİN PEDIATRİK	BİOFARMA	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
KONGEST PEDIATRİK	ECZACIBAŞI- ZENTİVA	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
MEDİCOLD PEDIATRİK	KOÇAK	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
OLEDRO PEDIATRİK	DROGSAN	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TRİATÜS	KOÇAK	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
TYLOL COLD	NBEL	0.2mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
VİCKS VAPODRY	ECZACIBAŞI	0.4mg/ml (5ml)	Beyaz	Yerli
Tablet (kombine)				
A-FERİN FORT	HÜSNÜ ARSAN	4 mg	Beyaz	Yerli
CETAFLU FORTE	ATABAY	4 mg	Beyaz	Yerli
DEFLU FORT	YENİ İLAÇ	4 mg	Beyaz	Yerli
DEFLU	YENİ İLAÇ	2 mg	Beyaz	Yerli
DRİSTAN FİLM	TURGUT	2 mg	Beyaz	Yerli
FORZA	ALİ RAİF	2 mg	Beyaz	Yerli
GERAKON FORT	MÜNİR ŞAHİN	4 mg	Beyaz	Yerli
GERAKON	MÜNİR ŞAHİN	2 mg	Beyaz	Yerli
GRIPAMOL	KOÇAK	2 mg	Beyaz	Yerli
KATARİN FORTE	BİOFARMA	4 mg	Beyaz	Yerli
KONGEST FORTE	ECZACIBAŞI- ZENTİVA	4 mg	Beyaz	Yerli
KONGEST	ECZACIBAŞI- ZENTİVA	2 mg	Beyaz	Yerli
OLEDRO TABLET	DROGSAN	2 mg	Beyaz	Yerli
THERAFLU FORTE	NOVARTİS	4 mg	Beyaz	Yerli

2. 4. PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR VE KLORFENİRAMİN MALEATIN MİKTAR TAYİNLERİ İLE İLGİLİ BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

2. 4. 1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) ile Yapılan Çalışmalar

Lau ve arkadaşları (1995) YPSK yöntemini ve kondüktometrik dedektör kullanarak aralarında klorfeniramin maleat ve fenilefrin hidroklorürün de bulunduğu bir soğuk algınlığı müstahzarında 8 farklı maddeyi teşhis etmişlerdir. Ayrım için Ultrasphere CN (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) analitik kolonu ve hareketli faz olarak 1mM perklorik asit içeren su:asetonitril:etanol (38:60:2) kullanılmıştır⁵⁸.

Vuma ve arkadaşları (1996) YPSK yöntemini ve kulonmetrik (yük ölçer) dedektör kullanarak orsiprenalin (β-mimetik bronkodilatör) internal standardı eşliğinde insan plazmasında fenilefrini teşhis etmişlerdir. Ayırımı iki tane C₁₈ kolon (250 mm x 4.6 mm) ve (50 mm x 4.6 mm) kullanarak yapmışlardır. Hareketli faz sistemini ise metanol-10mM fosfat tamponundan (10:90, pH 3.2) hazırlamışlardır⁵⁹.

Ravisankar ve arkadaşları (1998) YPSK yöntemi ile bir farmasötik müstahzardaki parasetamol, ibuprofen ve klorzoksazonu teşhis etmişlerdir. İnternal standart olarak ketoprofen kullanılmıştır. Analiz için Kromasil C₈ (250 x 4.6 mm, 5 µm) kolonu, hareketli faz olarak asetonitril ve trietilamin (%0.2' lik çözeltisi, ortofosforik asitle pH 3.2'ye ayarlı) (50:50, h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 1.5 mL/dk olarak ayarlanmış ve dedektörle 214 nm' de çalışılmıştır⁶⁰.

Erk ve arkadaşları (1998) YPSK ve türev spektrofotometresini kullanarak piyasadaki bir farmasötik müstahzarda klorfeniramin ve fenilefrinin teşhislerini ve miktar tayinlerini yapmışlardır. Analizde RP-LiChrosorb C₁₈ (20 cm x 4.6 mm, 5 µm) kolonu kullanılmıştır.

Hareketli faz sistemi metanol/fosfat tamponu (50 ml 0.2 M potasyum fosfat + 34.7 ml 0.2 M NaOH, fosforik asitle pH 7.2'ye ayarlanmış) 70:30 olarak hazırlanmış ve akış hızı 1.2 mL/dk olarak belirlenmiştir. UV dedektörü ile 269 nm'de çalışılmıştır. Klorfeniramin ve fenilefrini teşhis etmek için absorbands değerleri sırasıyla 238.9 nm, 280 nm olarak ayarlanmıştır⁶¹.

Garcia ve arkadaşları (2002) bir farmasötik müstahzardaki parasetamol, fenilefrin ve klorfeniramin eşzamanlı teşhis etmek için YPSK yöntemini kullanmışlardır. Analiz, Supelco Discovery HS PEG polietilen glikol 150 x 4.6 mm, 5 µm kolonu ve 20 mM fosfat tamponu (H₃PO₄, pH 7.0'ye NaOH ile ayarlanmıştır) ve asetonitril (90:10, h/h) hareketli fazı ile yapılmıştır. Akış hızı 1.0 mL/dk olarak belirlenmiştir. UV dedektörü ile fenilefrin ve klorfeniramin için 215 nm'de, parasetamol için 310 nm'de çalışılmıştır. Standartların kromatogramı 11 dakikalık bir sürede alınmıştır⁶².

Şenyuva ve arkadaşları (2002) parasetamol, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatı bir farmasötik müstahzarda YPSK yöntemini kullanarak eşzamanlı olarak teşhis edip miktar tayini çalışması yapmışlardır. Kolon olarak µBondapak CN RP 150 x 3.9 mm, 10 µm analitik kolonu ve mobil faz olarak ta asetonitril/fosfat tamponu (1.36 mL ortofosforik asit/1 L su, pH 6.22) 78:22 kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 1.5 mL/dk ve izokratik olarak belirlenmiş, UV dedektör dalga boyu ise 265 nm olarak ayarlanmıştır. Kromatogram sonuçları 4 dakikadan kısa bir sürede gözlenmiştir⁶³.

Marin ve arkadaşları (2002) YPSK ile kapsül ve saşe formunda iki farklı farmasötik müstahzarda parasetamol, fenilefrin ve klorfeniramin eşzamanlı olarak tespit edip miktar tayinlerini yapmış ve metodu valide etmişlerdir. Analiz için Symetry Shield RP 8 250 x 4.6 mm, 5 µm kolonu kullanılmış, hareketli faz, A fosfat tamponu 40 mM (KH₂PO₄;

KOH ile pH 6.0'ya ayarlanmıştır) ve B asetonitrilden hazırlanmış ve gradient akış uygulanmıştır⁶⁴.

Oh ve arkadaşları (2004) YPSK yöntemini kullanarak insan plazmasında psödoefedrin ve klorfeniraminini teşhis etmişlerdir. İnternal standart olarak dekstrometorfan kullanılmıştır. Analiz için C₁₈ (250 x 4.6 mm, 5 µm) kolonu ve asetonitril-su-trietilamin (10 mmol/L SDS ve 60 mmol/L NaH₂PO₄, H₃PO₄ ile pH 2.6'ya ayarlı) 46:54:0.2 hareketli fazı kullanılmıştır. UV dedektörle 200 nm' de çalışılmıştır⁶⁵.

Marin ve arkadaşları (2004) YPSK ve Kapiler Elektroforez yöntemlerini kullanarak kapsül formunda olan bir farmasötik müstahzarda parasetamol, fenilefrin ve klorfeniraminin eşzamanlı teşhis etmiş ve miktar tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. YPSK yöntemi için Discovery HS PEG polietilen glikol 150 x 4.6 mm, 5 µm kolonu ve 1 mL/dk akış hızı olan fosfat tamponu (20 mM H₃PO₄, pH 7.0'ye NaOH ile ayarlı) ve asetonitril (80:20, h/h) hareketli fazı kullanılmıştır. UV dedektörle fenilefrin ve klorfeniramin için 210 nm'de, parasetamol için ise 305 nm'de çalışılmıştır. Kapiler Elektroforez yöntemi ile gerçekleştirilen ayırimda 57 cm x 50 µm ebatında silika kapileri kullanılmıştır, UV dedektörü ile 200 nm'de çalışılmıştır. Ayırım 40 mM H₃PO₄ (NaOH ile pH 6.20'ye ayarlı) ve 0.5 mM sodyum dodesil sülfat (SDS) ile gerçekleştirilmiştir⁶⁶.

Sun ve arkadaşları (2006) YPSK yöntemini kullanarak parasetamol, klorfeniramin maleat ve kafein içeren bir farmasötik müstahzarda bu maddelerin eşzamanlı teşhislerini ve miktar tayinlerini yapmışlardır. İnternal standart olarak fenasetin, ayırım ve miktar tayini için de Phenomenex Luna 250 x 4.6 mm, 5 µm C₁₈ kolon kullanılmıştır. Hareketli faz, izokratik akışlı olup %1 trietilamin içeren ve pH 3.6'ya fosforik asitle ayarlanan metanol 0.005 mol/L ve sulu potasyum dihidrojen fosfat' tan (KH₂PO₄) 45:55 (h/h) oluşmaktadır. Deney 260 nm dalga

boyunda ve 1.0 mL/dk akış hızında yapıldığında ayrılmalara 12 dakikalık bir sürede olduğu gözlenmiştir⁶⁷.

Palabıyık ve arkadaşları (2007) YPSK yöntemini kullanarak fenilefrin hidroklorür, parasetamol, klorfeniramin maleat ve dekstrometorfan hidrobromürün bir farmasötik müstahzardaki teşhisleri ve miktar tayinleri için geliştirdikleri yöntemde ACE 250 x 4.6 mm, 5 µm C₁₈ kolonunu ve psödoefedrin internal standardını kullanmışlardır. Hareketli faz bileşeni olarak asetronitril ve sodyum perklorat (pH 3, 0.01 M) kullanılmış, mobil faz akış hızı 1.4 mL/dk olarak ayarlanmış ve UV dedektörü ile 204 nm dalga boyunda çalışılmıştır⁶⁸.

Heydari R. (2008) YPSK yöntemi ile bir farmasötik müstahzardaki parasetamol, fenilefrin, dekstrometorfan ve klorfeniraminin eşzamanlı teşhisini ve miktar tayinini yapmıştır. Analizde PerfectSil Target, 250 x 4.6 mm, 5 µm kolonu ile metanol/su (1litrede 6.0 g amonyum asetat ve 10 mL trietilamin içeren, pH 5.0 ortofosforik asitle ayarlı) hareketli fazı (95:5, h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 1.2 mL/dk olarak ayarlanmış ve UV dedektörü ile Tablo 7'de gösterilen dalga boylarında çalışılmıştır⁶⁹.

Tablo 7. Analiz süresince kullanılan dalga boyları

zaman (dk)	dalga boyu (nm)
0.0	254
3.5	220
6.0	220
6.5	227
15	227

2. 4. 2. Spektrofotometri ile Yapılan Çalışmalar

Mohammed ve arkadaşları (1997) UV spektrofotometre yöntemi ile parasetamol ve parasetamol varlığında nefrotoksik ve teratojen özellikte bir metabolit veya parçalanma ürünü olan p-aminofenol teşhisini

yapmışlardır. Teşhis için DMS 100 UV-görünür bölge spektrofotometresi kullanılmıştır. *p*-Aminofenol, sodyum sülfür (Na_2S) ile okside edici bir ajan olan Fe (III) eşliğinde $\lambda=550$ nm'de metilen mavisi kompleksini vermektedir⁷⁰.

Anarcibia ve arkadaşları (2000) spektrofotometri yöntemi ile yüksek parasetamol konsantrasyonlarında fenilefrin teşhisi yapmışlardır. Absorpsiyon, DU 640 spektrofotometresi ile 1.00 cm'lik kuvarz kaplar kullanılarak ölçülmüştür. Floresans spektrum ise 150 W Xenon lambası olan 1.00 cm'lik kuvarz kaplarda Shimadzu RF 5300 spektrofotometresi ile ölçülmüştür⁷¹.

Song ve arkadaşları (2006) elektrokemilüminesans yöntemi ile klorfeniramini teşhis etmişlerdir. Elektrokimyasal ve fotokimyasal özelliklerinden dolayı $[\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}]$ tris(2,2-bipiridil)rutenium(II) reajanı kullanılmış ve klorfeniramin ile reaksiyona girmesi sonucu kemilüminesans olayı meydana gelmiştir⁷².

2. 4. 3. Kapiller Elektforez ile Yapılan Çalışmalar

Gomez ve arkadaşları (2002) kapiler elektforez yöntemi ile dekstrometorfan, difenhidramin ve fenilefrini birbirinden ayırıp eşzamanlı teşhislerini yapmışlardır. Analiz için silika kapiler kolonu (67 cm x 75 μm) kullanılmış ve kapiler kolon sıcaklığı 25 °C olarak belirlenmiştir⁷³.

Suritomsuk ve arkadaşları (2003) miseller kapiler elektrokinetik kromatografi yöntemi ile parasetamol ve klorfeniramini teşhis etmişlerdir. Ayırımı gerçekleştirmek için silika kapili (tüp) 58 cm x 75 μm kullanılmıştır. UV/GB diod array dedektörle de 214 nm'de, 15 kV akımda çalışılmıştır. Kapile yollanan tampon sistemi ise sodyum dodesil sulfat (SDS) ve asetonitril (%26 h/h) içeren sodyum dihidrojenfosfat, sodyum tetraborat (10 mM, pH=9.0) olarak belirlenmiştir⁷⁴.

Dong ve arkadaşları (2005) susuz kapiler elektroforez yöntemi ile psödoefedrin, dekstrometorfan, difenhidramin ve klorfeniraminin ayırımlarını ve teşhislerini yapmışlardır. Ayırım için 40 mM sodyum asetat, %10 asetonitril içeren metanol tamponu ve silika kapiler kolonu (47 cm x 75 µm, 25 kV) kullanılmıştır⁷⁵.

Nemeth ve arkadaşları (2008) miseller kapiler elektrokinetik kromatografi yöntemi ile parasetamol ve parasetamolün metaboliti olan *p*-aminofenolü teşhis etmişlerdir. Ayırım, silika kapili (tüp) 65 cm x 50 µm ile gerçekleştirilmiştir. Uygulanan akım 25 kV olup, UV/GB diod array dedektörle de 240 nm'de çalışılmıştır. Her iki madde 10 dakikada teşhis edilmiştir⁷⁶.

2. 4. 4. Gaz Kromatografisi ile Yapılan Çalışmalar

Lau ve arkadaşları (1990) Gaz Kromatografisi yöntemini kullanarak bir soğuk algınlığı müstahzarında aralarında klorfeniraminin de bulunduğu 8 farklı maddenin teşhisini yapmışlardır. Analiz için GSK Glass kolon (152 cm x 2 mm) kullanılmış olup kolon sıcaklığı ilk olarak 1 dakikalığına 170 °C'de tutulmuştur, sonra 10 °C/dk'da 265 °C'ye gelmesi ve bu sıcaklıkta da 10 dakika kalması sağlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan azotun akış hızı 30 mL/dk olarak belirlenmiş ve alev iyonizasyon dedektörü kullanılmıştır⁷⁷.

2. 4. 5. Sıvı Kromatografisi-Ardışık Kütle Spektrometresi ile Yapılan Çalışmalar

Celma ve arkadaşları (2000) sıvı kromatografisi ardışık kütle spektrometresi yöntemi (LC-MS-MS) ile insan plazmasında parasetamol ve klorfeniramini teşhis etmişlerdir. Sıvı kromatografisi, API 365 PE-Sciex turboiyonsprey ardışık kütle spektrometresi ile bağlanmış olup sıvı kromatografisinde ayırım Kromasil C₁₈ (50 mm x 4.6 mm, 5 µm) kolonu ile yapılmıştır. Hareketli faz olarak su-asetonitril (80:20), %0.5 formik asit ve 1

mM pentafloropropiyonik anhidrit kullanılmıştır. İzokratik akışlı sistemde akış hızı 1 mL/dk olarak belirlenmiştir. MS'de turboiyonspreyin sıcaklığı 350 °C, akış ise 200 µL/dk olarak ayarlanmıştır⁷⁸.

Marin ve arkadaşları (2004) LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry) ve YPSK yöntemleri ile kombine halde bulunan bir soğuk algınlığı müstahzarında parasetamol, fenilefrin, fenilpropanolamin ve klorfeniramin, ortamda baskı şartları sonucu oluşabilecek parçalanma ürünleriyle beraber teşhis etmişlerdir.

- YPSK yönteminde, Discovery HS PEG polietilen glikol 150 x 4.6 mm, 5 µm kolonu ve hareketli faz olarak, fosfat tamponu (20 mM H₃PO₄, pH 7.0'ye NaOH ile ayarlı) ve asetonitril (90:10, h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 1mL/dk'da ve UV dedektörü ile 215 nm ve 254 nm'de çalışılmıştır.

- LC/MS yönteminde 2 farklı kolon kullanılıp teşhis yapılmıştır.

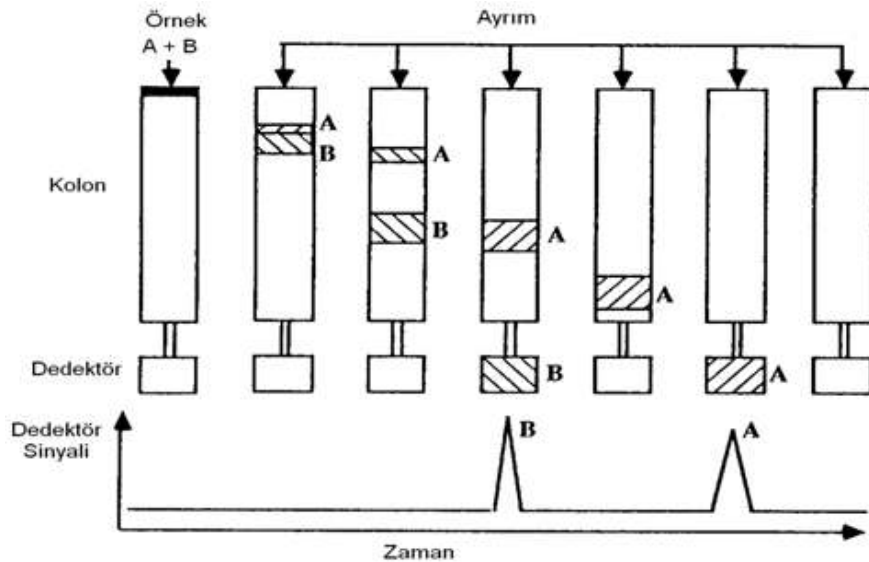
A) XTerra RP C₁₈ 250 x 4.6 mm, 5 µm analitik kolonu, hareketli faz olarak gradient akışlı A 10 mM amonyum bikarbonat (NH₄HCO₃, pH 8.0) ve B asetonitril kullanılmıştır.

B) Discovery HS PEG polietilen glikol 150 x 4.6 mm, 5 µm kolonu ve 10 mM amonyum asetat (NH₄COOCH₃, pH 7.0) ve asetonitril (90:10, h/h) mobil fazı kullanılmıştır. A ve B yöntemlerinde UV dedektörle 215 nm ve 254 nm'de çalışılmış, hareketli faz akış hızı da MS'e ulaşmadan önce 1 mL/dk olarak belirlenmiştir⁷⁹.

Zen ve arkadaşları (2006) sıvı kromatografisi ardışık kütle spektrometresi yöntemi (LC-MS-MS) ile insan plazmasında klorfeniramin ve efedrini teşhis etmişlerdir. Analiz için Zorbax SB-C₁₈ (150 mm x 4.6 mm) kolonu, hareketli faz olarak metanol:su:formik asit (80:20:0.5, h/h) kullanılmış, akış hızı olarak 0.5 mL/dk belirlenmiştir. Ardışık kütle spektrometresinde ise elektrosprey iyonizasyon kaynağı kullanılmıştır⁸⁰.

2. 5. UYGULANAN YÖNTEMLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER (KROMATOGRAFI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER)

Kromatografi, karmaşık (kompleks) karışımları birbirinden ayırmak amacı ile kullanılan fizikokimyasal bir ayırım tekniği olarak ilk kez yirminci yüzyılın başlarında Rus Botanikçi M. S. Tswett tarafından keşfedilmiştir. M. S. Tswett 1903 yılında yeni keşfettiği “adsorpsiyon temelli ayırım” olgusundan 3 yıl sonra 1906 yılında bazı bitki pigmentlerini birbirinden ayırmıştır. Bu ayırımın farklı renkler vermesinden dolayı adsorpsiyon temelli ayırım teriminin yerini “kromatografi” terimi almıştır^{81,82}. Farklı fizikokimyasal özelliklere sahip maddelerin biri sabit diğeri hareketli iki faz arasında birbirlerinden ayrılmaları ve saflaştırılmaları kromatografinin esasını oluşturmaktadır. Buna dayanarak maddeler birbirinden ayrılabilir ve teşhis edilebilirler. Şekil 11’de kromatografik ayırımın bir örneği görülmektedir^{81,83}.



Şekil 11. Farklı iki maddenin kromatografik ayırımı⁸³

Kromatografi ilk olarak Tswett tarafından sıvı-katı kromatografisi olarak keşfedildikten sonra 50 yıl içinde önce gaz

kromatografisi (GK) ardından, ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemleri geliştirilmiştir⁸¹.

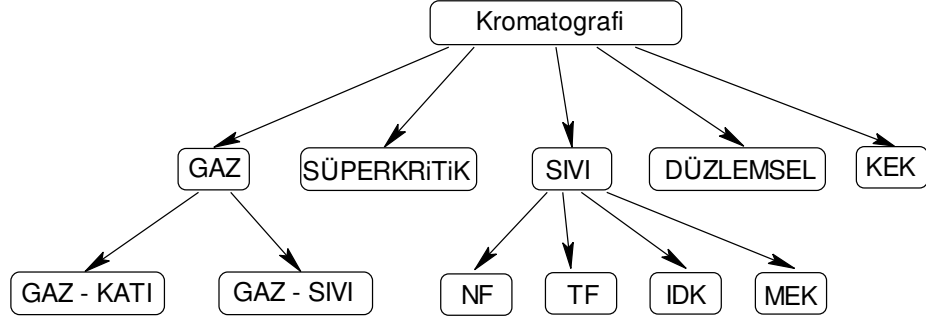
1940'lı yılların başlarında A.J.P. Martin ve R.L.M. Synge sıvı-sıvı kromatografisi yöntemini tanıtmayı ve kullanılabilir hale getirmeyi başarmışlardır^{81,82,84}.

Günümüzde kromatografi çok yönlü bir yöntem olarak bilinmektedir. Gaz Kromatografisi (GK) ile gazlar ve uçucu maddeler, sıvı kromatografisi (SK) veya ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemleri kullanılarak ise uçucu olmayan maddeler ve molekül ağırlığı büyük olan maddeler (ör; biyopolimerler) birbirlerinden ayrılabilir. Ayırımı yapılacak analit, sistem içerisinde sabit ve hareketli fazlar arasında çeşitli fiziksel ve kimyasal etkileşimlere girerek ilerlemektedir. Moleküller arası polar ve iyonik etkileşim alanları, ayrıca sabit faz yapısı, hareketli faz olarak hangi maddelerin kullanıldığı ve sıcaklığın etkisi de gözönünde bulundurulmalıdır. Bunlarla beraber kromatografik ayırimda aşağıdaki olaylar da rol oynamaktadır⁸²;

- İyonik etkileşimler
- Dipol-dipol etkileşimleri
- Dipol-indirgenmiş dipol etkileşimleri
- Moleküller arası kuvvetler (yüksüz)
- Hidrofobik-hidrofilik etkileşim kuvvetleri etkili olmaktadır.

Farklı kaynaklarda kromatografi farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Bunlardan biri hareketli fazın *sıvı* ya da *gaz* olmasına bağlı olarak yapılan sınıflandırmadır. Buna göre hareketli fazı gaz olanlar gaz kromatografisi, hareketli fazı sıvı olanlar ise sıvı kromatografisi adı altında toplanmaktadır. Bu iki sınıf dışında hareketli fazı sıvı olan ve kapiler etki ile sürüklenme sağlayan *düzlemsel kromatografi* (İTK) ve

elektroozmotik akış yapan *kapiler elektrokromatografisinden* bahsedilebilir. Şekil 12’de kromatografinin bir tür sınıflandırması yer almaktadır⁸¹.



Şekil 12. Kromatografinin sınıflandırılması

KEK – Kapiler Elektro(K)romatografi

NF – Normal Faz

TF – Ters Faz

IDK – İyon Değişirme Kromatografisi

MEK– Moleküler Eleme Kromatografisi

Ayırılma mekanizmalarına göz önünde bulundurulduğunda ise kromatografi aşağıdaki gibi sınıflandırılır^{81,83}:

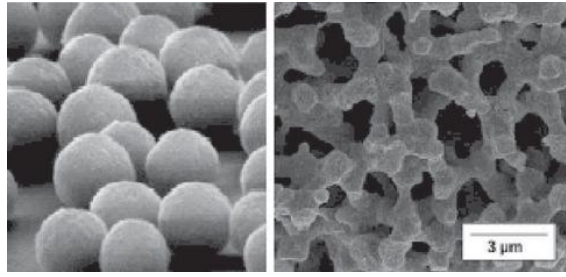
- Adsorpsiyon Kromatografisi
- Dağılma Kromatografisi
- İyon Değişirme Kromatografisi
- İyon Çifti Kromatografisi
- Moleküler Eleme Kromatografisi

2. 5. 1. Adsorpsiyon Kromatografisi

Adsorpsiyon, bir karışımda sıvı veya gaz halinde bulunan maddenin katı faz üzerine tutunmasıdır. Hareketli faz olarak sıvı kullanılmış ise sıvı-katı kromatografisi, hareketli faz olarak gaz kullanılmış ise gaz-katı kromatografisi olarak tanımlanır. Sabit faz olarak genellikle polar maddeler, hareketli faz olarak da polar olmayan (nonpolar) maddeler

kullanılır. Adsorpsiyon kromatografisinde aşağıda belirtilen adsorbanların kullanımları yaygındır^{82,85,86}.

- Alumina
- Silika
- Aktif karbon
- Silikajel
- Kalsiyum karbonat
- Nişasta
- Selüloz
- Magnezyum oksit



Şekil 13. Silika partikülünden mikroskobik bir kesim⁸¹

2. 5. 2. Dağılma Kromatografisi

Maddeler sıvı olan sabit faz ile sıvı veya gaz olan hareketli faz arasında dağılır. Sıvı sabit faz destek faz ile sabit faza tutturulmuştur. Dağılma kromatografisi, birbiriyle karışmayan iki sıvıdan (faz) oluşan bir faz sistemi içerisine konulan maddenin bu sıvılardaki çözünürlüğüne bağlı olarak iki faz arasında bir denge oluşturması olayıdır. Bu sistemde maddeler belli bir oranda dağılmaktadır, bu oran dağılma katsayısı olarak ifade edilir ve K_d ile gösterilir.

$$K_d = C_1 / C_2 \quad (1)$$

C_1 - maddenin 1. fazdaki derişimi (sabit faz)

C_2 - maddenin 2. fazdaki derişimi (hareketli faz)

$C_1 > C_2$

Sabit fazda çözünen madde miktarının hareketli fazda çözünen madde miktarına kıyasla fazla olması gerekmektedir, aksi halde madde hareketli faz ile dışarı atılır⁸³.

2. 5. 3. İyon Değişirme Kromatografisi

İyon değişirme kromatografisinde amaç karşıt yükü çekmektir. Sabit faz iyonik gruplar taşımaktadır (ör: NR^+ , SO^-). İyon değişirme kromatografisi maddelerin iyonik grupları ile iyon değişiricideki (sabit faz) iyonik grupların eşdeğer miktarlarının karşılıklı yer değişirmesi esasına dayanır. Bu yöntem amino asitlerin, iyonik haldeki metabolizma ürünlerinin ve organik iyonların ayırımında kullanılır. İyon değişirme kromatografisinde kullanılan katyon ve anyon değişirici ajanlar Tablo 8'de gösterilmiştir^{82,83,86,86,87}.

Tablo 8. Anyon ve katyon değişiriciler

Anyon Değişiriciler	Katyon Değişiriciler	
Sitrat	Ba^{+2}	Ag^+
Sülfat	Pb^{+2}	Cs^+
Oksalat	Sr^{+2}	Rb^+
İyodür	Ca^{+2}	K^+
Nitrat	Ni^{+2}	NH_4^+
Kromat	Cd^{+2}	Na^+
Bromür	Cu^{+2}	H^+
Tiyosiyanat	Co^{+2}	Li^+
Klorür	Mg^{+2}	
Format	UO_2^{+2}	
Asetat	Te^{+2}	
Hidroksit		
Florür		

2. 5. 4. İyon Çifti Kromatografisi

Bu yöntemin başka bir adı da iyon etkileşimi kromatografisidir. İyon çifti kromatografisinin en büyük özelliği güçlü asit ve/veya güçlü bazların ayırımında kullanılmasıdır. Ayırım esas olarak, hareketli faza ilave edilen ve ayrılacak madde ile karşıt iyon oluşturabilecek iyon çiftlerinin reaktif olan sabit faz tarafından adsorplanması ve iyonize olmuş maddelerin bu iyon çiftleri ile iyonik etkileşime girerek birbirinden ayrılmasıdır. İyon çifti kromatografisinde tutunma veya ayrılma iyon çifti re ajanlarının türüne, büyüklüğüne ve konsantrasyonuna bağımlı olarak değişir. Tablo 9’da iyon çifti kromatografisinde kullanılan re ajanlar ve kullanım alanları gösterilmiştir⁸³.

Tablo 9. İyon çifti kromatografisinde kullanılan re ajanlar ve kullanım alanları

Tür	Kullanılışı
Kuaterner aminler; tetrametilamonyum, tetrabutilamonyum	Güçlü ve zayıf asitler, sülfonlanmış boyalar, karboksilli asitler
Tersiyer aminler; trioktilamin	Sülfonlanmış maddeler
Alkil ve aril sülfonlar; metan/heptan sülfonik asit	Güçlü ve zayıf bazlarla, benzalkonyum tuzları, katekolaminler
Perklorik asit	Güçlü bazlar
Alkil sülfatlar; lauril sülfat	Sülfonik asit benzeri maddeler

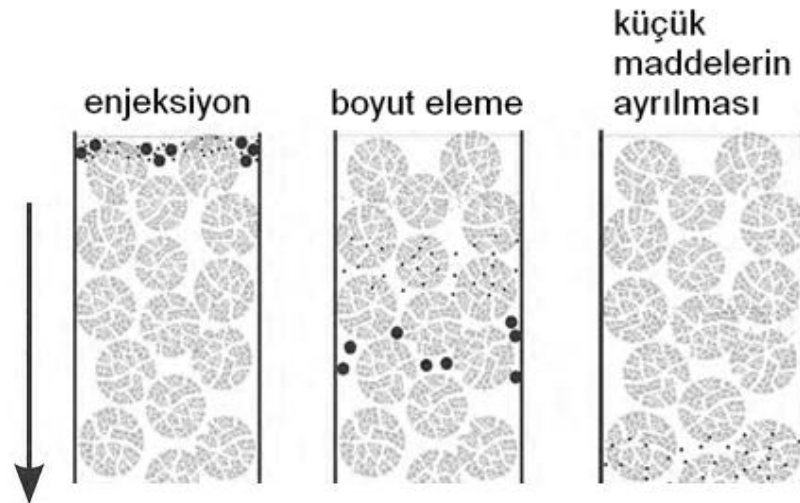
2. 5. 5. Moleküler Eleme Kromatografisi

Moleküler eleme kromatografisi diğer kromatografik yöntemlere kıyasla biraz daha farklıdır. Ayırımı yapılmak istenen moleküllerin molekül ağırlıklarının farklı olmasından dolayı birbirlerinden ayrılması esasına dayanmaktadır. Molekül ağırlığı büyük olan maddeler poröz yapılı kolonlarda tutunamadıkları için daha çabuk ayrılıp teşhis edilirler. Daha küçük molekül ağırlıklı maddeler ise porlu yapılarda tutundukları için daha geç pik verirler. Temelde iki farklı moleküler eleme kromatografi yöntemi vardır.

- Jel filtrasyon kromatografisi,
- Jel geçirgenlik kromatografisi.

Jel filtrasyon kromatografisinde sulu mobil faz ve hidrofilik sabit faz eşliğinde *biyolojik makromoleküllerin* ayırımı gerçekleştirilir.

Jel geçirgenlik kromatografisinde ise hareketli faz olarak organik bir solvan ve hidrofobik sabit faz kolon materyali ile *organik polimer* yapılı maddelerin ayırımı gerçekleştirilir^{81,83,85,88}.

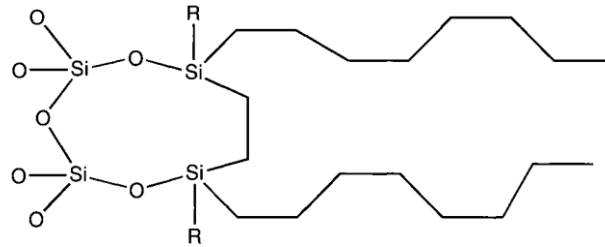


Şekil 14. Moleküler eleme kromatografisinin şematik gösterimi

2. 5. 6. Ters Faz Kromatografisi

Ters faz kromatografisi ilaç endüstrisinde çoğunlukla tercih edilen bir çeşit kromatografi türüdür. Ters faz kromatografisinde kolonda bulunan maddelerin birbirlerinden ayrılmaları polar hareketli faz ile polar olmayan (apolar, lipofilik) sabit faz tanecikleri arasında dağılmalarına bağlıdır. Howard ve Martin isimli araştırmacılar, “kieselgur” (bir çeşit adsorban, toprak) partiküllerini apolar bir hidrokarbonla kaplayarak ilk kez ters faz kromatografisinin sabit fazını hazırlamışlardır.

Ters faz kromatografisinde en çok kullanılan sabit fazlar kimyasal olarak bağlanmış ODS (18 karbon atomundan oluşmuş bir hidrokarbon zinciri)’ dir. Bunun dışında $-CH_3$, $-C_4H_9$, $-C_8H_{17}$, fenil ($-C_6H_5$), siyano $[(-CH_2)_3CN]$ ve amino $[(-CH_2)_3NH_2]$ sabit fazları da kullanılmaktadır. Sabit fazdaki karbon sayısı arttıkça daha apolar maddelerin ayırımı gerçekleşebilir. Uzun zincire sahip sabit fazlar (C_{18}) daha apolar maddelerin ayırımında kullanılırken, kısa zincirli sabit fazlar (C_2 , C_8) daha polar maddelerin ayırımında kullanılırlar^{81,83,85,88}.



Şekli 15. C_8 kolonunun iç yapısı⁸⁷

Ters faz sıvı kromatografisinde yukarıda da belirtildiği gibi sabit faza kıyasla daha polar hareketli faz maddeleri (hidro-organik karışımlar) kullanılır. Kullanılan hareketli fazın çok saf olması önerilmektedir, aksi halde hareketli fazda bulunan safsızlıklar (impürite) sabit faz ile etkileşime girebilir. Tablo 10.1’de ters faz kromatografisinde kullanılan çözücüler ve Tablo 10.2’de ise solvanların ters faz

kromatografisinde ayırım ve polarite güçlerine göre sıralanmaları yer almaktadır.

Tablo 10.1. Ters faz kromatografisinde kullanılan çözücüler ve polariteleri

Çözücü	Çözücü polaritesi P'
Su	10.2
Dimetil sülfoksit (DMSO)	7.2
Etilen glikol	6.9
Asetonitril	5.8
Metanol	5.1
Aseton	5.1
Dioksan	4.8
Etanol	4.3
Tetrahidrofuran (THF)	4.0
2 – Propanol	3.9

Tablo 10.2. Ters faz kromatografisinde kullanılan çözücülerin ayırım ve polarite güçlerine göre sıralanması

Çözücü	
Metanol	
Asetonitril	
Etanol	
İzopropanol	
Dimetilformamit	
Propan -1- ol	
Dioksan	
THF	

↓

azalan polarite
artan ayırım gücü

2. 5. 7. Normal Faz Kromatografisi

Normal faz kromatografisinde kolonda bulunan madde/ler polar sabit faz ve polar olmayan (apolar) hareketli faz arasında adsorpsiyon desorpsiyon esasına bağlı olarak ayrılırlar. Normal faz kromatografisi türünde sabit faz polar yapıdadır. Bu durumda ayırımı

yapılacak maddeler arasında daha polar olan maddenin kolonda tutunma zamanı daha fazla olmaktadır.

Normal faz kromatografisinde sabit faz silika ve alumina gibi inorganik bir adsorban olabileceği gibi siyano $[(-CH_2)_3CN]$, amin $[(-CH_2)_3NH_2]$ ve diol $[(-CH_2)_3OCH_2CH(OH)CH_2OH]$ gruplarının bağlı olduğu polar destekli sabit fazlar da kullanılmaktadır. Kullanılan hareketli fazlar genellikle susuz organik solvan karışımlarıdır. Temel olarak kullanılan hareketli fazın polarlığı ne kadar düşükse (apolar) kromatografik ayırım gücünün de o kadar arttığı bildirilmektedir. Normal faz kromatografisinde kullanılan hareketli faz çözeltileri Tablo 11’de gösterilmiştir^{81,83,88}.

Tablo 11. Normal faz kromatografisinde kullanılan hareketli fazlar

Çözücü
Hekzan
Heptan
1,1,2-Triflorokloroetan
Kloroform
1-veya 2-Kloropropan
Metilen klörür
2-Propil eter
1,2-Dikloretan
Etil eter
MTBE (metil t-butil eter)
Etil asetat
Dioksan
Asetonitril
THF
1-veya 2-Propanol
Metanol

İlaç etkin maddeleri genellikle apolar yapıda oldukları için ters faz kromatografisi normal faz kromatografisine kıyasla daha fazla

tercih edilmektedir. Tablo 12’de ters faz ve normal faz kromatografilerinin arasındaki farklar yer almaktadır.

Tablo 12. Ters ve normal faz kromatografilerinin kıyaslanması

	Ters Faz Kromatografisi	Normal Faz Kromatografisi
Sabit faz polaritesi	Düşük	Yüksek
Çözücü polaritesi	Ortadan yükseğe	Düşükten ortaya
Örnek ayrılma zamanı	Polar olanlar önce	Düşük polarlar önce
Çözücü polarite artışının etkisi	Ayrılma zamanını artırır	Ayrılma zamanını azaltır

2. 6. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya diğer adıyla yüksek basınçlı sıvı kromatografisi farmasötik müstahzarların, biyomoleküllerin, polimerlerin ve çeşitli organik ve iyonik yapıların analizinde geniş çapta kullanımı olan bir çeşit analitik teknoloji türüdür. YPSK aynı zamanda esnek ve güçlü bir analitik yapıya sahiptir⁸⁸. Bu avantajlar, yeni geliştirilen bir ilacın piyasaya sunumuna kadar geçen süreçte analizini ve bünyesinde bulundurabileceği safsızlıkların teşhisini mümkün kılar⁸⁷. 1960’lı yıllarda sıvı kromatografisi yönteminde kullanılan kolon parçacıklarının küçülmesi (5-10 µm) bu parçacıkların arasından geçecek ortama (hareketli faz) uygulanması gereken basıncın artmasına neden olmuştur. Bunun için yüksek basınçlı pompalar geliştirilmiştir. 1960’lı yıllarda Kirkland, Horvath ve Huber isimli araştırmacılar ilk yüksek performanslı (basınçlı) sıvı kromatografisini geliştirmişlerdir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin avantaj ve dezavantajları Tablo 13’te verilmiştir⁸⁸.

Tablo 13. YPSK yönteminin avantaj ve dezavantajları

Avantaj	Dezavantaj
Hızlı ve doğru kantitatif analiz Otomatik çalışma Yüksek duyarlılıkta teşhis Ürün geri kazanımı Farklı maddelerin aynı anda teşhisine uygun	Çok amaçlı bir dedektör yok Yeni bir analist için kullanımı zor

YPSK ile yapılan ayırimda amaç, analizi yapılacak olan karışımı taşıyan mobil fazın yüksek basınç eşliğinde gözenekli (porlu) yapıda olan sabit faz ortamından (kolon) sıkıştırılarak geçirilmesi ve buna bağlı olarak numune içinde bulunan değişik yapıdaki maddelerin sabit faz-hareketli faz arayüzeyi ile değişik etkileşimlere girmesi sonucu farklı alıkonma zamanlarının elde edilmesidir. Kolona karışım şeklinde verilen numuneden iyi bir ayırım elde edebilmek için sabit faz-hareketli faz arasındaki arayüzey yüzey alanının büyük olması tercih edilir^{81,82}.

Hollandalı bir bilim adamı olan van Deemter 1950'li yıllarda kromatografik kolonlardaki ayrılma olaylarını kolondaki tabaka yüksekliğiyle ilişkilendirerek bir denklem oluşturmuştur^{83,88}.

$$H = A+B / \nu+C\nu \text{ bu eşitlikte;} \quad (2)$$

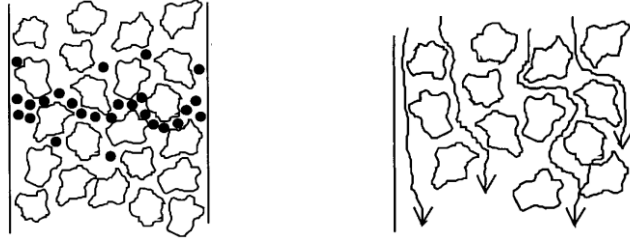
H – tabaka yüksekliği (cm)

A – Eddy difüzyonu (çoklu geçiş difüzyonu)

B – boyuna (düz) difüzyon

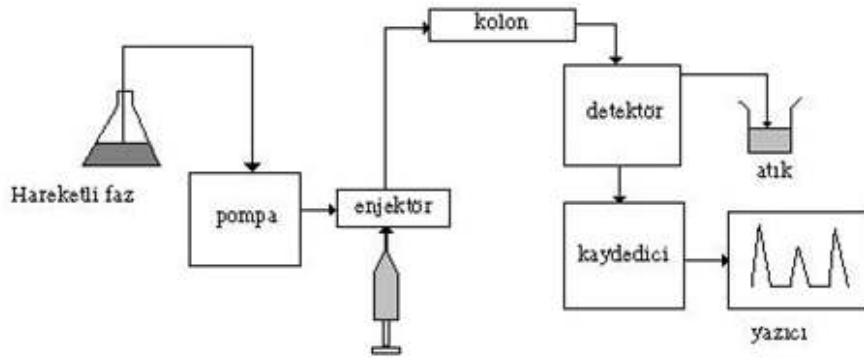
C – fazlar arası kütle aktarımı

ν – çizgisel hız



Şekil 16. Boyuna difüzyon ve Eddy difüzyonu

2. 6. 1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Sistemi



Şekil 17. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin kısımları

2. 6. 1. 1. Hareketli Faz Haznesi

YPSK sisteminde hacimce 250-1000 mL hareketli faz barındırabilecek en az iki tane hareketli faz haznesi bulunmalıdır. Pompaya giden hareketli fazda herhangi bir kabarcık, toz, tanecik vs. olmamalıdır. Hazneden hareketli faza bulaşabilecek herhangi bir safsızlık olmaması için hazneler genellikle paslanmaz çelikten veya camdan imal edilirler. Bu haznelerin havaya açılan ağız kısmı mevcuttur. Tampon oranının düşük pH'lı ortamlara neden olduğu analizlerde kaplardaki aşınmayı engellemek için çelik kapların kullanılması önerilmemektedir^{84,88}.

2. 6. 1. 2. Bağlantı Ekipmanları ve Hareketli Faz Uygulama Sistemi

Pek çok hareketli faz veya hareketli faz karışımının bünyesinde havadan gelen çözünmemiş oksijen bulunabilir. Bu tür gazlar hareketli fazda ve dolayısıyla kromatografi sisteminde hava kabarcığı oluşmasına neden olur. Bu durum dedektörden gelen sinyaldeki gürültü oranının artmasına ve kolon etkinliğinin düşmesine neden olabilir. Helyum eylemsiz (inert) bir gaz olduğu için böyle durumlarda kendisi ortamda hava kabarcığı oluşumuna neden olmadan ortamı oksijenden arındırır. Ayrıca pompaya giden hareketli fazın 2-5 µm boyundaki tanecikleri süzebilen paslanmaz çelik veya kâğıt filtrelerden geçirilerek taneciklerin uzaklaşması sağlanır⁸⁴.

Hareketli faz, kromatografi sistemine iki farklı şekilde uygulanabilir⁸⁵:

İzokratik akış – kromatografi sistemine gönderilen hareketli fazın bileşiminin ve akış hızının sabit olduğu durum

Gradient akış – kromatografi sistemine gönderilen hareketli fazın bileşiminde ve akış hızında değişikliğin olduğu durum

2. 6. 1. 3. Pompa

YPSK yönteminde çeşitli pompalar kullanılmakla birlikte bu pompaların taşınması istenilen özellikler aşağıdaki gibidir.

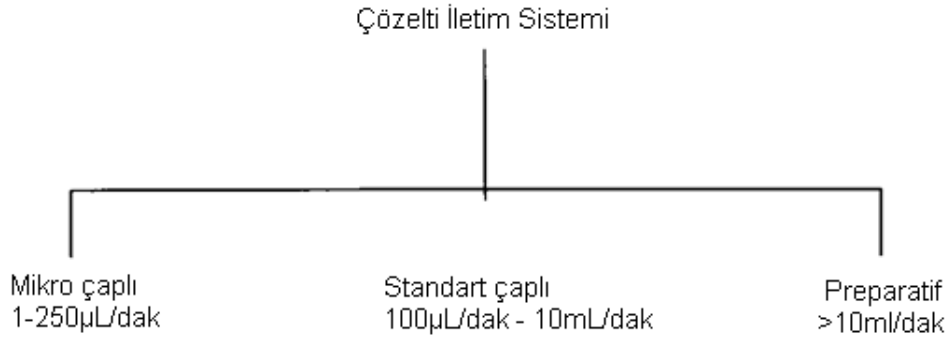
- Analitik uygulamalar için 0.1-10 mL aralığında akış sağlamalıdır,
- 6000 psi basınç altında istenen akış hızını sağlamalıdır,
- Pompa, tuz, tampon ve değişik organik çözücüler içeren hareketli faz bileşenlerine uyumlu olmalıdır,
- Doğru ve güvenilir kalitatif ve kantitatif analizler için akış hızı sabit olmalıdır,

- Puls düşürücü ile birlikte kullanılmalıdır (aksi halde akış hızında meydana gelebilecek ani değişiklikler dedektörde gürültüye ve kolonun hasar görmesine neden olur),
- Gradient çalışmalarda çözücü karışımını doğru bir şekilde ayarlamalıdır,
- Saklanması ve servisi (filtre, check valf, piston ve piston vidalarının değiştirilmesi) kolay olmalıdır.

YPSK yönteminde kullanılan pompaları üç farklı şekilde sınıflandırmak mümkündür. Birinci sınıflandırma pompaların akış hızlarına göre, ikinci sınıflandırma pompaların üretim malzemelerine göre, üçüncü sınıflandırma ise ayırımı hangi mekanizma ile ilettiklerine dair olan sınıflandırmadır^{84,85}.

2. 6. 1. 3. 1. Pompaların Akış Hızına Göre Sınıflandırılması

Akış hızlarına göre sınıflandırılan pompalar Şekil 18'deki gibi mikro çaplı, standart çaplı ve preparatif olmak üzere 3 grupta toplanırlar. Standart çaplı pompalar 100 µL/dak-10 mL/dak aralığında güvenilir ve genellikle doğru sonuçlar verdiği için YPSK analizlerinde en çok tercih edilen pompalardır. Mikro çaplı pompalar, çapı 2 mm olan kolonlarda kullanılmak için tasarlanmıştır. Bu kolonların çaplarının dar oluşu ve dolgu maddelerinin partikül büyüklüklüğünün çok küçük oluşu bu pompadan geçen akış miktarının da 1-250 µL/dak gibi düşük değerlerde olmasına neden olur. Preparatif pompalar yüksek akış hızına sahip pompalardır. Laboratuvarlarda çoğunlukla 50 mL/dak akış hızındaki pompalar kullanılmaktadır⁸³.



Şekil 18. Pompaların akış hızına göre sınıflandırılması

2. 6. 1. 3. 2. Pompaların Üretim Malzemelerine Göre Sınıflandırılması

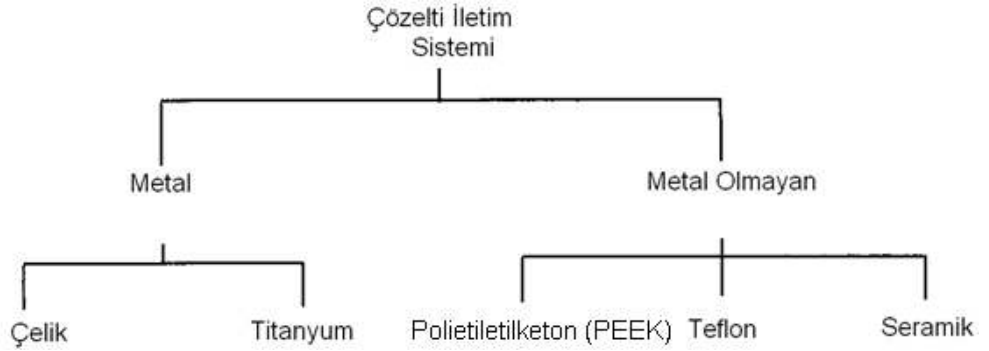
Pompalar aynı zamanda yapıldıkları malzemelere göre de sınıflandırılabilirler. Şekil 19’da görüldüğü gibi akışın gerçekleştiği pompalar üretim malzemelerine göre metal ve metal olmayan pompalar olarak sınıflandırılabilirler. YPSK pompa sistemlerinde en fazla kullanılan malzeme paslanmaz çeliktir. Paslanmaz çeliğin bu türünün tercih edilmesinin nedeni ise mekanik olarak sağlam, paslanmaya ve sıcaklığa karşı dirençli olması ve belirli bir genliğe sahip olmasından ileri gelmektedir.

Pompalarda yapım malzemesi olarak paslanmaya karşı ve numune veya çözelti adsorpsiyonuna karşı dirençli olan titanyum da kullanılmaktadır. Ayrıca basıncın yüksek olduğu durumlarda (>6000 psi) dayanıklı olması bu tür pompaları avantajlı kılar. Paslanmaz çelikten yapılmış pompalarla kıyaslandığında ise daha pahalı olması kullanımını kısıtlamaktadır.

YPSK’nin bazı uygulamalarında pompadan geçen çözelti sistemindeki tuz oranı yüksek olabilir veya bu çözeltiler güçlü asit ve/veya bazik karakterli maddeler olabilir. Ayrıca bazı biyolojik materyallerin metal yüzey ile teması halinde bozunmaya uğradığı görülmüştür. Bu durumda metal kaynaklı pompaların kullanımı önerilmemektedir.

Pompalar adı geçen metaller dışında metal olmayan maddelerden de yapılabilirler. Bunlara PEEK (**p**olietiletilk**e**ton), teflon ve seramik gibi pompalar örnek verilebilir.

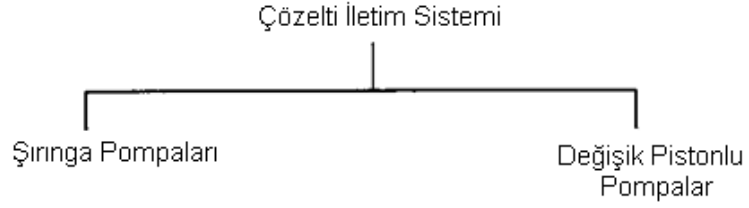
Teflon pompalar biyolojik kaynaklı maddelerle yapılan YPSK analizlerinde kullanılmakla birlikte 2000 psi ve üzerindeki basınçlarda mekanik dayanıklılık sergileyemedikleri tespit edilmiştir. PEEK pompaları ise teflon pompalara göre daha yüksek basınçlı (5000 psi) ortamlarda kullanılabilirler. Ayrıca paslanmaz çelik pompalarda hasara neden olan YPSK solvanlarından etkilenmezler. Seramik, pompaların özellikle pistonlarının yapımında 20 yıl boyunca çok geniş ölçüde kullanılmış olmakla beraber maliyetinin yüksek ve kırılgan bir yapıya sahip olması sebebiyle kullanımı sınırlanmıştır⁸³.



Şekil 19. Pompaların üretim malzemelerine göre sınıflandırılması (PEEK polietiletilketon, teflon, politetrafloroetilen)

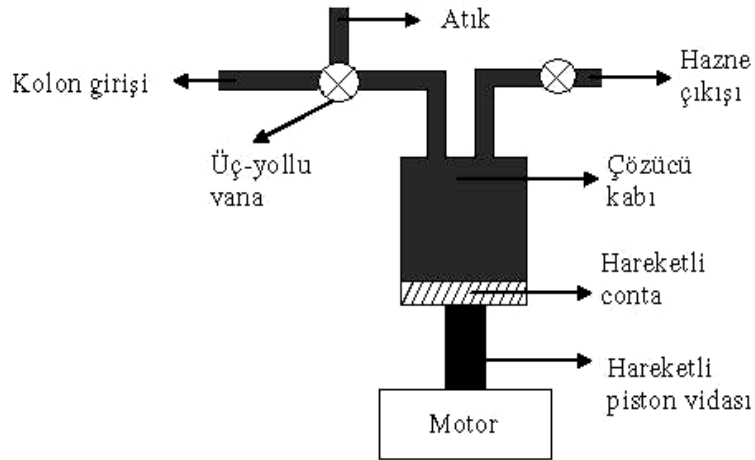
2. 6. 1. 3. 3. Pompaların Akış İletim Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

Pompanın içindeki hareketli faz değişik yollardan elde edilen itici güçle pompada ilerlemektedir. Şekil 20’de pompaların akış iletim mekanizmalarına göre sınıflandırılması yer almaktadır.



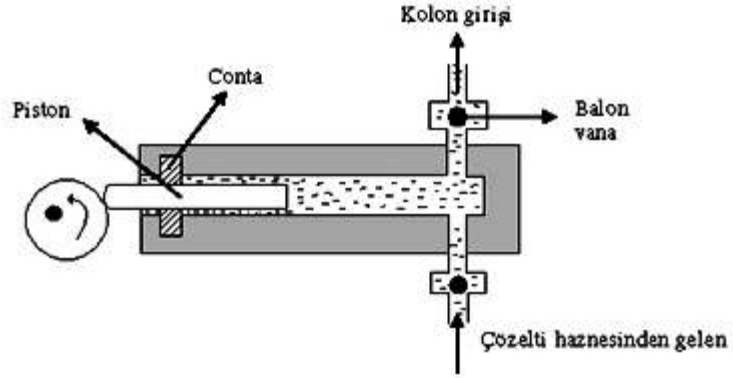
Şekil 20. Pompaların akış iletim mekanizmalarına göre sınıflandırılması

Şırınga pompaları 100-500 mL'lik bir silindir (dişli) ve motor ile hareket ettirilen pompalardır. Pulssuz (sürekli) akış sağlarlar, ayrıca düşük akış hızlarında bile düzgün bir akış hızı sağladıkları için ilerde bahsi edilecek olan mikrobör kolonların kullanıldığı YPSK uygulamalarında tercih edilirler^{83,88} (Şekil 21).



Şekil 21. Şırınga pompası

Tek pistonlu pompalarda piston paslanmaz çelikten yapılmış bir mil üzerinde ileri-geri hareket ettirilir. Pistonun geri hareketinde piston yataklarına dolan hareketli faz pistonun ileri hareketinde check valfler yardımı ile sisteme itilir. Ancak işlem sırasında pompada puls oluşur ve bu istenmeyen bir durumdur (Şekil 22).



Şekil 22. Tek pistonlu pompa

Çift pistonlu pompalarda pistonlardan biri hareketli fazı çekerken diğeri çekilen hareketli fazı sisteme itmektedir. Bu avantajının yanında en büyük dezavantajı maliyetinin yüksek olmasıdır^{83,84}.

2. 6. 1. 4. Otomatik Örnekleyici (Autosampler)

Otomatik örnekleyici viyalde bulunan numunenin (örneğin, analitin) yüksek basınç altında kolona aktarılmasını sağlamaktadır. Otomatik örnekleyici kullanmakla, YPSK ile yapılacak deneylerin tekrarlanabilirliğinin ve doğruluğunun artmasının yanı sıra, yapılan analizin maliyeti de düşürülmüş olur.

YPSK sistemine numune (örnek) göndermek için sıklıkla vana sarım enjektörler kullanılmaktadır. Yüksek basınçlı ortamlarda (7000 psi) çalışma olanağı sağladığı ve hareketli faz akışında çok az duraksamalara neden olduğu için kullanımı yaygındır.

Otomatik örnekleyicilerde kullanılan viyaller değişik boyut, şekil ve materyallerden yapılmış olabilir. Bu viyaller 300 μ L-25 mL arası hacimlerde olabilirler, ancak analitik amaçla kullanılan viyallerin hacmi genellikle 1-4 mL arasındadır. Viyaller genellikle *borosilika*tan üretilmektedir. Amber (koyu) renkli viyaller ise ışığa duyarlı maddeler için kullanılmaktadır. Bazı maddeler viyal camı ile etkileşebildikleri için bu gibi

istisnai durumlarda polimer (ör: polipropilen) yapılı viyaller de kullanılabilir^{83,88}.

2. 6. 1. 5. Kolon

Kolon, YPSK sisteminin en önemli parçalarından birisidir, çünkü analiz veya maddelerin ayırımı kolonda gerçekleşmektedir. Kolonların çoğu paslanmaz çelikten yapılmış olup YPSK sisteminin yüksek basıncına, ayrıca düşük pH'lı ortamların kullanıldığı çalışmalarda kimyasal aşınmaya karşı dayanıklı olacak şekilde imal edilmektedirler. İmalattan sonra kolonun iç yüzeyinin pürüzlü olmamasına ve bu alanda iz veya herhangi bir mikropartikül kalmamasına dikkat edilmektedir. Bu durumu önlemek için kesin bir doğrulukla delinmiş olan kolon iç yüzeyleri cilalanmaktadır.

Bir YPSK kolonunun seçiciliği, kapasitesi ve etkinliği o kolonun kaplama materyali ve üretim materyaline bağlı olarak değişmektedir. Buna bağlı olarak YPSK kolonları için değişik sınıflandırmalar yapılabilir.

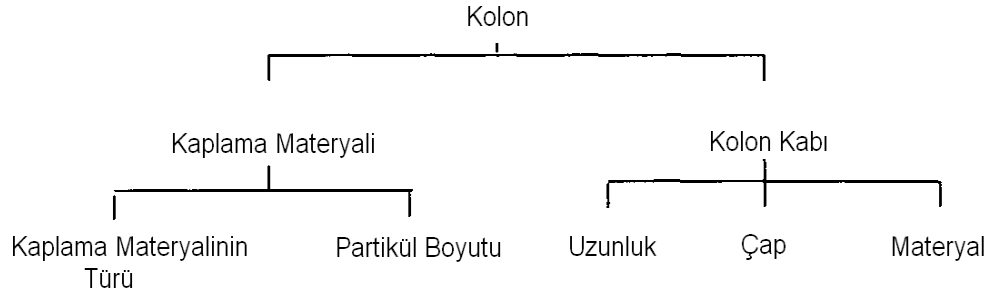
- *Kolon üretim materyaline göre:* paslanmaz çelik, PEEK, titanyum,
- *Kromatografi türüne göre:* normal faz kromatografisi, ters faz kromatografisi, iyon değiştirme kromatografisi, moleküler eleme kromatografisi,
- *Boyutlarına göre:* preparatif, analitik, mikro, nano kolonlar,
- *Destek fazlarına göre:* silika, polimer, zirkonyum, hibrid,

Günümüzde analiz işlemlerinde sıklıkla kullanılan kolonların özellikleri ise aşağıda verilmiştir.

- Uzunluğu 50-250 mm x iç çapı 2.0-4.6 mm arası olan ve 3-5 µm büyüklüğünde farklı grupların bağlı olduğu silika parçacıklı,

- Akış hızı aralığı 0.5-2.0 mL/dak olup genellikle metanol, asetoneitril ve tampon kullanımına uygun,
- Örnek (numune) yüklenme kapasitesi 1 ng-1 mg arası,
- Analiz sırasında uygulanabilir basınç aralığı 500-3000 psi arası,
- Fiyat aralığı 200 TL-1000 TL arası,
- Ortalama kolon ömrü 500-2000 enjeksiyon veya 3-24 ay arası.

Yukardaki sınıflandırmaya benzer bir sınıflandırma şematik olarak Şekil 23'te verilmiştir.



Şekil 23. Bir sıvı kromatografisi kolonunun kısımları

Kolonların paslanmaz çelikten yapıldığını, kolonların sınıflandırmasını yaparken anlatmıştık. Ancak iyon kromatografisinin kullanıldığı durumlarda çelik kolonlarda kimyasal aşınmayı önlemek için PEEK veya titanyum kolonlar kullanılmaktadır.

Kolon uzunluğu ve iç çapı kolonun etkinliğini ve hassasiyetini, analiz süresini ve basıncını etkilemekte, daha uzun kolonlar daha iyi ayırımların yapılmasını sağlamaktadır.

Kolon dolgu materyali de analiz için önemlidir. Silika, kullanımı en yaygın olan kolon dolgu materyalidir. Silika dışında alumina (AlO_2), zirkonyum (ZrO_2) gibi metal oksitlerinin de kullanımı mevcuttur. Polimer yapılı adsorbanlardan polistiren ve divinil benzen de kolon dolgu materyali olarak kullanılmaktadır. Silika dolgu materyalli kolonların sıklıkla

tercih edilmelerinin başlıca nedenleri arasında doğadaki bolluğunun fazla oluşu, maliyetinin düşük olması, istenilen boyut, şekil ve poröz (boşluk) yapıya kolayca getirilebilmesi, 3-10 µm büyüklüğünde parçacıkların olduğu, 10-30 cm boyunda olan kolonlarda yüksek basınca dayanıklı olmasından ileri gelmektedir. Bunun yanısıra değişik fonksiyonel grupların silika moleküllerine bağlanmasıyla değişik yapıda kolon dolgu materyali elde etmek mümkündür. Bunun yanında silikanın çok düşük ve çok yüksek pH değerlerine dayanıklı olmayışı dezavantaj oluşturmaktadır.(ör: < pH 2; > pH 8)^{83,88}.



Şekil 24. YPSK kolonu

2. 6. 1. 6. Dedektör

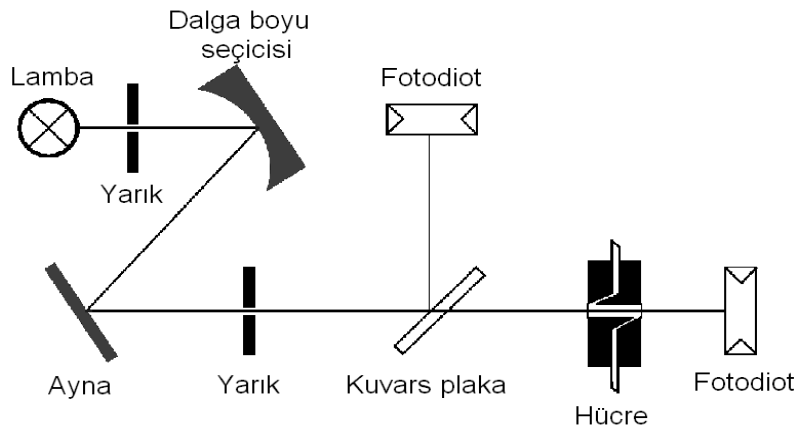
Kromatografi analitik bir teknik olarak 1900'lü yılların başında keşfedilmesine rağmen hassas ve etkili bir dedektör ile eşleştirilmesi 1940'lı yılları bulmuştur. Sıvı kromatografisinde etkili olarak kullanılan ilk dedektörler Tiselius ve Claesson tarafında 1942'de kullanılan refraktif indeks dedektörü ve Martin ve Randall tarafından 1951'de kullanılmış olan iletkenlik dedektörüdür⁸⁹. Özellikle sıvı kromatografisi dedektörlerinin çok büyük bir kısmı son 30 yıl içerisinde geliştirilmiştir. Bunlardan sadece 12 tanesi sıvı kromatografisinde etkili bir şekilde kullanılabilir. Günümüzde pratik amaçlarla bunların arasından sadece *Ultraviolet-Görünür bölge (UV-GB) dedektörleri, elektrik iletkenliğine bağlı dedektörler, floresans dedektörler ve refraktif indeks dedektörleri* kullanılmaktadır⁸⁴.

Günümüzde sıvı kromatografisi sistemi dedektörlerinin aşağıda belirtilen özellikleri taşımaları istenmektedir:

- a) YPSK sisteminde ayrılabilen her pike karşı eşit duyarlılıkta olup onu tanıyabilmelidir,
- b) Sıcaklık ve hareketli faz bileşenlerinde yapılabilecek değişikliklerden etkilenmemelidir (ör: gradient akış),
- c) Numunenin içindeki küçük miktarları teşhis edebilmelidir,
- d) Piklerde bant genişlemesine neden olmamalıdır (hücre hacmi küçük olmalıdır),
- e) Hızlı ve pikleri keskin olan bir sonuç vermelidir,
- f) Sağlam ve ucuz olmalıdır, gerektiğinde yer değişikliğine imkân tanınmalıdır⁸⁵.

2. 6. 1. 6. 1. Ultraviole-Görünür Bölge (UV-GB) Dedektörü

UV-GB dedektörleri YPSK sisteminde ayrılan maddelerin (analitlerin) soğurduğu ultraviyole (mor ötesi) ve görünür bölge ışınlarını görmemizi sağlar. Çoğu madde ve özellikle ilaç etkin maddeleri UV ışığını soğurmaktadır, bu nedenle UV-GB dedektörleri en fazla kullanılan dedektörler arasına girmektedir. UV-GB dedektörlerini kullanışlı kılan bir başka neden ise sıcaklık ve hareketli faz bileşenlerinin değişiminden etkilenmemesidir. Şekil 25'te bir UV dedektörünün şeması görülmektedir.



Şekil 25. UV dedektörü⁸⁵

UV dedektörleri ile 190-350 nm arasında, GB dedektörleri ile 350-700 nm dalga boylarında ölçüm yapmak mümkündür. UV-GB dedektörleri ile beraber kullanılacak hareketli fazın çalışılan dalga boyunda UV ışığını soğurmaması arzu edilir⁸³.

UV-GB dedektörlerinde değişik ışık kaynakları kullanılmakla birlikte genellikle aşağıda adı geçen lambalar tercih edilmektedir.

Döteryum lambalar – UV ışığının 160-365 nm'ye karşılık gelen dalga boylarında yayım yapmaktadır. UV dedektörlerde en çok kullanılan lamba türüdür. Kullanım ömürleri 1000-2000 saat kadardır.

Tungsten-halojen lambalar – Bu lambalar yakın UV ve GB sahasında yayım yapar ve döteryum lambalara ilave yardımcı lambalar olarak kullanılırlar. Tungsten-halojen lambalarının kuartz kılıfının içinde çok az miktarda iyot veya brom bulunur. Tungsten-halojen lambalarının ömrü halojensiz lambaların ömründen iki kat fazladır. Ömrünün uzun olmasının nedeni; yüksek sıcaklık nedeni ile lambada gaz fazına geçen ve lambanın ömrünü azaltan tungstenin iyot/bromla reaksiyon vermesidir. Oluşan ürün uçucudur ve bileşiğin molekülleri tele çarptığında bozunur ve tungsten yeniden açığa çıkar (340-850 nm)⁸⁵.

Cıva buhar lambası – 254-365 nm dalga boyu aralığında her iki bölgede yayım yapmaktadır^{83,89}.

Dalga boyu seçicisi de UV-GB dedektörünün diğer bir önemli parçasıdır. Bir diğer adı monokromatör olan bu parça ile istenen dalga boyundaki ışık numune kabına (hücre) gönderilebilir.

Akış hücreleri (örnek kabı) de UV-GB dedektörlerinde önemli kısımlardır. Kuartz'tan yapılan akış hücrelerinin iç hacimleri 2-10 µL arası, akış mesafesi de 2-10 mm'dir. Kuartz 200-320 nm arasındaki ışığı geçirdiğinden bu bölgede çalışabilmek için lamba kılıflarının, merceklerin,

dedektörün giriş penceresi ve örnek kaplarının duvarları (cidarı) kuvarz ile kaplanmalıdır⁸⁸.

2. 6. 1. 6. 2. Fotodiot Dizisi Dedektörü (PDA)

Fotodiot dizi dedektörler aynı zamanda diot dizi dedektörler olarak da bilinirler. 200-700 nm dalga boyu arasında UV-GB sahasında yayım yapan fotodiot dizisi dedektörü ile birçok dalga boyu değerlerinde, aynı zamanda ve hızlı bir biçimde ölçüm yapmak mümkündür. Fotodiot dizisindeki her bir fotodiot, farklı dalga boyundaki ışığın şiddetini ölçebilmektedir. Bu tür dedektörlerin kullanıldığı analiz cihazlarında dalga boyu seçicisi (monokromatör), diğer uygulamalarda olduğu gibi ışık kaynağı ile örnek arasında değil, örnek ile dedektör arasına yerleştirilmiştir. Bu tür bir yerleştirmede ışık kaynağından gelen ışığın tümü örneğe gönderilebilir.

Günümüzde fotodiot dedektörlerinin çoğu 512-1024 adet diot dizisi ile çalışacak şekilde tasarlanmaktadır. Modern fotodiot dizisi dedektörlerinin önemli bir avantajı da aletin sistemindeki veri tabanını kullanıp daha kısa sürede pik tanımlamasını yapması ve metod geliştirilmesi sırasında pik kontrolünü sağlamasıdır⁸⁸.

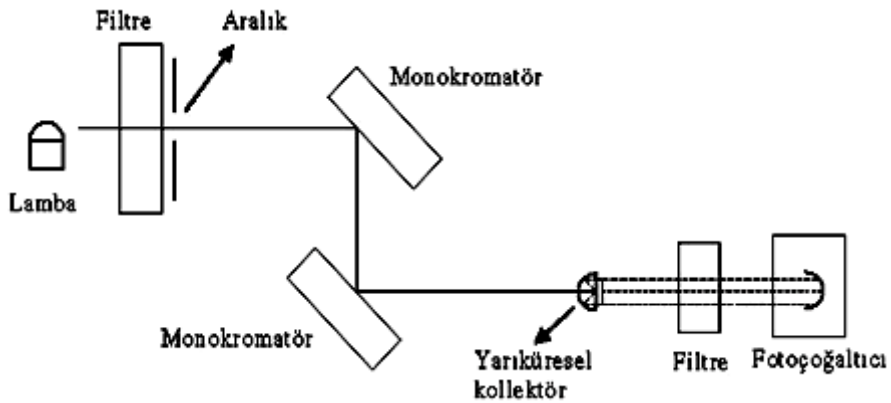
2. 6. 1. 6. 3. Refraktif İndeks Dedektörü

Refraktif indeks dedektörü, örneği taşıyan hareketli faz ile sadece hareketli faz arasındaki refraktif indeksini ölçmesi esasına dayanmaktadır. UV dedektörlere göre hassasiyeti 1000 kat daha düşük olmakla birlikte, sıcaklık ve akış hızı değişikliklerine karşı duyarlıdırlar. Bundan dolayı akış hücreleri (numune kabı) sıcaklığa karşı bir tampon gibi çalışan metal bir plaka ile kaplıdır. Refraktif indeks dedektörleri şeker, trigliserit ve ilaç yardımcı maddeleri (eksipyan) gibi genellikle zayıf kromoforik aktivite gösteren maddelerle çalışıldığı zamanlarda kullanılır^{85,88}.

2. 6. 1. 6. 4. Floresans Dedektörler

Floresans dedektörler YPSK kolonundan ayrılan maddelerin akış hücresinden geçerken yaydıkları floresans ışığını görüntülemek için kullanılırlar. Bu dedektörler, lamba, uyarılma (eksitasyon) dalga boyu seçicisi, yayım (emisyon) dalga boyu seçicisi, kare şeklinde akış hücresi ve yayılan ışıkları toplayan bir foto toplayıcı kısımdan oluşmaktadırlar. UV dedektörlerle kıyaslandığında 1000 kat kadar daha hassas oldukları belirtilmiştir. Bu tür dedektörlerle pikogram ve hatta fentogram seviyelerinde çalışılabilmektedir.

Zayıf floresans özellik gösteren maddelerin ise floresans özellik gösteren flurosein ile türevlendirilerek daha iyi floresans özellik göstermesi sağlanır. Yukarıda belirtilen iki tane dalga boyu seçicisi, floresans dedektörlerin daha hassas olarak çalışmalarını sağlar. Uyarma işlemi için dalga boyu 190-400 nm arası olan döteryum lambası veya 350-600 nm aralığında olan tungsten lambası saptanacak madde özelliğine göre ayarlanmaktadır. Yayım (emisyon) olayı tüm yönlere doğru olduğu için ışığı toplayıcı bir kollektör kısmı da bulunmaktadır. Farklı floresans dedektörlerde ışık kaynağı olarak Xenon (Zenon) lambası kullanılır^{85,88}.



Şekil 26. Floresans dedektörü

2. 6. 1. 6. 5. Elektrokimyasal Dedektörler

Elektrokimyasal dedektörler elektroaktif maddelerin ürettikleri elektrik akımını, akış hücresinin uçlarında bulunan elektrotlara iletmesini ölçerek çalışırlar. Hassas ve seçiciliği yüksek bir dedektör türüdür. Özellikle katekolaminlerin, nörotransmitterlerin, fenolik hidroksillerin, amino ve nitro gibi fonksiyonel grupların teşhislerini yaparken başvurulan bir dedektör türüdür. Hassas ve güvenilir bir dedektör türü olmasının yanında elektrod yapı malzemesinin karbon haricindekilerin gümüş, platin ve altın gibi pahalı metaller olması bu dedektör türünün maliyetini artırmaktadır. Tablo 14'te toplu halde bazı dedektörler ve taşıdıkları özellikler verilmiştir^{83,88}.

Tablo 14. Bazı dedektörler ve özellikleri

Dedektör	Analit / Özellik	Hassasiyet
UV - GB absorpsiyon (UV – GB)	UV – kromofor içeren maddeler	ng-pg
Fotodiyot dizi (PDA)	UV – GB ded. ile aynı özelliklere sahip	ng-pg
Floresans	Doğal veya floresans etiketli maddeler	fg-pg
Refraktif İndeks (Rİ)	ilaç yardımcı md., trigliserit, şeker, polimer	0.1-10 µg
Kemilüminesans – azot (CLND)	N taşıyan maddeler	< 0.1 ng
Elektrokimyasal	Elektroaktif md.	pg
İletkenlik	Anyon, katyon, organik Asitler, sürfaktanlar	ng veya ppm-ppb
Radioaktivite	Radioaktif etiketlenmiş md.	Çok düşük
Kütle spektrometre (MS) (MS-MS)	Yapı aydınlatma, çok hassas ve kesin sonuç	ng-pg
Nükleer manyetik rezonans (NMR)	Yapı açıklama ve doğrulama	mg-ng

2. 6. 1. 7. Kayıt Cihazı

YPSK sisteminde kolonda ayrılan maddelerin dedektörde oluşturdıkları sinyallerin yazılmasında değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında tek kalemli yazıcılar, bilgisayar destekli veri kaydediciler ve daha değişik yapıda olan veri kayıt sistemleri bulunmaktadır. Bilgisayar destekli veri kaydediciler kullanılması kromatografik sistemin tekrarlanabilirliğinde daha güvenilir sonuçlar doğurduğu için daha çok tercih edilmektedir⁸⁸.

2. 6. 2. YPSK Yöntemindeki Temel Parametreler

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisindeki (YPSK) yüksek performans; yüksek hız ve yüksek rezolüsyonlu ayırımları ifade etmektedir. Yüksek performans çok küçük çaplı (< 20 mikron) kolon dolgu maddeleri kullanılarak sağlanır. Küçük çaplı dolgu maddeleri kullanılarak piklerin bant genişlemesi önlenmiş ve daha dar pikler elde edilmiş olur.

Küçük çaplı kolon dolgu maddeleri kullanıldığında, kolon boyunca hareketli fazın ilerlemesini sağlamak için yüksek basınç yani yüksek performans gerekmektedir.

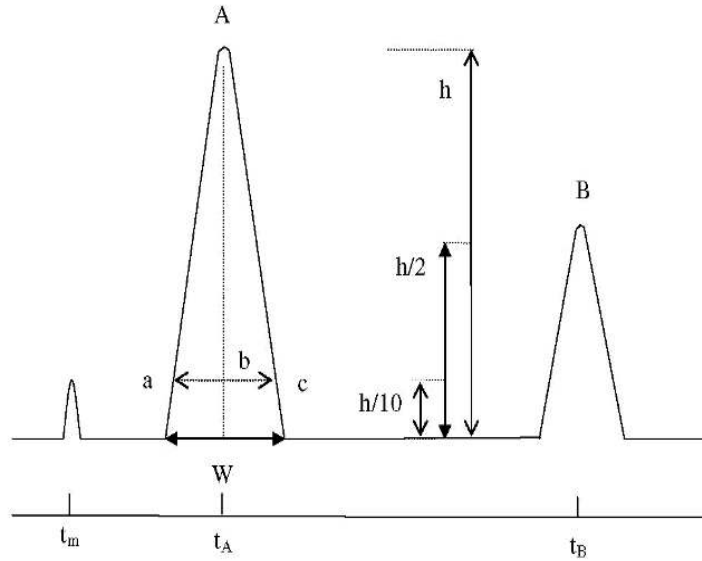
Kromatografik bir sistemde elde edilen piklerin analizi kromatogramla yapılmaktadır. Kromatogram, tayini yapılacak numunenin içerdiği bir ya da birden fazla bileşenin belirli bir zaman diliminde, belirli derişim değerlerine karşı elde edilen cevabın bir dedektör aracılığı ile saptanmasıyla elde edilen grafiğe verilen addır. Bir kromatogram aşağıdaki parametrelerle yorumlanabilir.

- i. Alıkonma zamanı, t_R
- ii. Kapasite faktörü, k'
- iii. Seçicilik, α
- iv. Kolon etkinliği, N

- v. Ayırıcılık, R
- vi. Pik simetri oranı, PSO

2. 6. 2. 1. Alıkonma zamanı (t_R)

Şekil 27'de iki analit içeren tipik bir kromatogram verilmiştir. Numune enjeksiyonundan sonra gelen pik için, pik süresi ölü zaman olarak adlandırılır ve t_m ile gösterilir. Ölü zaman, hareketli fazın ortalama göç hızını verir ve analit piklerinin tanınmasında önemli rol oynar. Şekilde sağ taraftaki pik bir analit pikidir. Alıkonma (tutunma, retensiyon) zamanı da bu pikin dedektöre ulaşması için geçen süreye verilen addır ve Şekil 27'de t_A ve t_B ile gösterilmiştir.



Şekil 27. Bir YPSK kromatogramı

- t_m – ölü zaman
- t_A – A pikinin alıkonma süresi
- t_B – B pikinin alıkonma süresi
- h – pik yüksekliği
- W – pik genişliği

2. 6. 2. 2. Kapasite faktörü (k')

Kapasite faktörü k' , çözünen maddelerin kolonda göç hızlarını tanımlamakta kullanılan önemli bir parametredir. Kapasite faktörü, alıkonma zamanının (t_R) bir başka ifade ediliş şeklidir. A maddesi için kapasite faktörü:

$$k' = (t_A - t_m) / t_m \quad (3)$$

t_A ve t_m bir kromatogram üzerinde kolayca bulunabilir. Çözünen bir madde için kapasite faktörü birden küçük ise, ayrılma hızlı gerçekleşir ve alıkonma zamanın doğru olarak belirlenmesi zor olur. Diğer yandan kapasite faktörü 20-30 gibi bir sayıdan daha büyük olursa ayrılma zamanı uzun olur. İdeal bir ayırmada kapasite faktörü değerinin 1 ile 5 arasında olması gerekmektedir. Kapasite faktörü hareketli ve sabit faz bileşenlerinin değiştirilmesiyle ayarlanabilir. Küçük kapasite faktörü veren hareketli faz çözücüler *kuvvetli çözücü*, büyük kapasite faktörü veren hareketli faz çözücüler ise *zayıf çözücü* olarak adlandırılmaktadır. Her maddenin kendine özgü bir kapasite faktörü vardır.

2. 6. 2. 3. Seçicilik faktörü (α)

Seçicilik parametresi, bir kromatogramdaki analitlerin kapasite faktörlerinin oranını verir ve α sembolü ile gösterilir. Bir kolondaki analitlerin seçicilik katsayısı, bir kolonun söz konusu maddeleri ne kadar iyi ayıracağıнын bir ölçüsüdür. Bir kolonda ayrılmaya çalışılan ve aynı karışımda bulunan A ve B maddeleri için seçicilik faktörü α , şu şekilde tanımlanır;

$$\alpha = k'_B / k'_A \quad (4)$$

k'_A - daha az kuvvetle tutunan kolondan daha hızlı şekilde elüe olan A maddesinin kapasite faktörü, k'_B - kolonda daha fazla tutunan

ve dolayısıyla daha geç elüe olan B maddesinin kapasite faktörüdür. Pratikte α değerini belirlemek için aşağıdaki eşitlik kullanılmaktadır.

$$\alpha = (t_B - t_M)/(t_A - t_M) = k'_B/k'_A \quad (5)$$

2. 6. 2. 4. Kolon etkinliği (N)

Kolon etkinliği, pik genişliği ile ilgilidir. Etkinliği yüksek olan kolonlar dar pikler verirler. Bu kolonlarla maddeleri ayırmak daha kolaydır.

Başarılı bir kromatografi çalışmasının amacı verimli bir ayırım ve dar bir kromatografik pik elde etmektir. Kromatografik kolon verimliliklerinin kantitatif ölçümünde birbiriyle bağıntılı iki terim sıklıkla kullanılır.

1. Tabaka yüksekliği H, (Plate Height)
2. Teorik tabaka sayısı N, (Number of Theoretical Plate)

Bu iki parametre arasındaki bağıntı aşağıdaki eşitlikte verilmiştir;

$$N = L/H \quad (6)$$

L – Kolon uzunluğu (cm)

Bir kolonda tabaka yüksekliğinin azalması ve teorik tabaka sayısının artması ile kolon verimliliği artar. Hareketli ve sabit fazların bileşimi, kolon dolgu maddesinin tanecik büyüklüğü ve kolon çapına bağlı olarak kolonun tipi kolon verimliliğine etki etmektedir. Kolon dolgu maddesinin tanecik çapı küçüldükçe kolon tabaka sayısı artmakta, bu da kolon verimliliğinin artmasına neden olmaktadır.

Teorik tabaka sayısı ve tabaka yüksekliği terimlerini ilk kez Martin ve Synge isimli bilim adamları ortaya atmıştır. Bu bilim adamlarına göre bir kolon birçok ayrı fakat bitişik dar tabakalardan oluşmaktadır. Her tabakada maddenin hareketli ve sabit faz arasında kurduğu dengenin

yeniden meydana geldiği kabul edilmektedir. Teorik tabaka sayısı Eşitlik 7 ile hesaplanabilir;

$$N = 16(t_R/W)^2 \quad (7)$$

W – Pik taban genişliği

A maddesine ait teorik plaka sayısının hesaplanması aşağıdaki gibi yapılmaktadır.

$$N = 16(t_A/W_A)^2 \quad (8)$$

2. 6. 2. 5. Ayırıcılık (Rezolüsyon) (R)

Ayırıcılık kolon etkinliğinin ve çözücü etkinliğinin bir ölçüsüdür. Ayırıcılıkta amaç, YPSK ile aynı ortamdaki iki farklı maddeyi birbirinden ayırmak ve bu maddelerin kromatogramda piklerini elde etmektir. Rezolüsyon terimi, R, bu amacın ne derecede gerçekleştiğini göstermektedir. Rezolüsyon teorik tanım olarak; maddelerin alıkonma zamanları arasındaki farkın ortalama pik genişliğine olan oranıdır. Rezolüsyon Eşitlik 9 ve 10 ile hesaplanabilir.

$$R = t_B - t_A / [(W_A + W_B) / 2] \quad (9)$$

ve

$$R = 1/4(\alpha - 1/\alpha)(k'/1 + k')\sqrt{N} \quad (10)$$

2. 6. 2. 6. Pik Simetri Oranı (PSO)

Pik simetri oranı Şekil 27’de gösterilen kromatogramdaki A pikinin bc ve ab uzunluklarının oranlamasıyla hesaplanır (Eşitlik 11). PSO pik yüksekliğinin zemin çizgisinden itibaren %10’luk kısmından ölçümler yapılarak hesaplanır.

$$PSO = bc/ab \quad (11)$$

Düzgün bir kromatogram eğrisi için PSO değerinin 1 olması gerekir, fakat pratikte genelde 1'e yakın bir değer olarak bulunur⁸⁸.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3. 1. KULLANILAN CİHAZLAR VE EKİPMANLAR

3. 1. 1. Enstrumental Kısım

Yapılan deneyde, kısımları aşağıda belirtilen Thermo Finnigan marka YPSK cihazı kullanılmıştır.

1. Thermo Finnigan Surveyor PDA Dedektör
2. Thermo Finnigan Surveyor Otomatik Örnekleyici
3. Thermo Finnigan Surveyor LC Pompa Sistemi
4. Chrom Quest[®]

3. 1. 2. Kolon

Analitik kolon: Agilent Zorbax SB-CN; 150 mm x 4.6 mm, 5 μ m

3. 1. 3. Diğer Ekipmanlar

1. Mikro pipet: Eppendorf Research (20, 100, 200, 1000 μ L)
2. Pipet ucu: Diamond, LP İtaliana
3. Hassas Terazisi: Shimadzu AW 320
4. Vorteks: Firlabo V3000F
5. pH metre: Jenco 6173 pH
6. Ultrasonik banyo cihazı: Bandelin Sonorex
7. Buzdolabı: Arçelik
8. Viyaller: Shimadzu
9. Cam malzemeler: Balon joje (10, 50, 100 mL), mezür (10, 100, 1000 mL), beher, erlen
10. Ultra saf su cihazı: Millipore Simplicity 185
11. Etüv: Heraeus
12. 0.45 μ m Naylon filtre

3. 2. KULLANILAN KİMYASALLAR

Analizde kullanılan kimyasal maddeler;

1. Asetonitril: (Merck)
2. Metanol: (Merck)
3. Fosforik asit: (Sigma)
4. Trietilamin: (Merck)
5. Ultra saf su: (Millipore Simplicity 185)
6. Parasetamol: (Tyco)
7. Oksolamin Sitrat: (Sandoz)
8. Fenilefrin Hidroklorür: (Boehringer)
9. Klorfeniramin Maleat: (Chemopharma)

3. 3. ANALİZDE KULLANILAN MADDELERİN ANALİZ SERTİFİKALARI

Referans Standart Olarak Kullanılan Parasetamolün Analiz Sertifikası

Çalışmalar sırasında Tyco Healthcare Group ilaç şirketinden temin edilen parasetamol kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde Tyco Healthcare Group ilaç şirketi tarafından onay verilen analiz sonuçları yer almaktadır.

tyco
Healthcare
Mallinckrodt

Handwritten: *Handwritten*

EKIN
TURKEY

17/04/07

DATE OF MANUFACTURE: MARCH 2007
RETEST DATE: MARCH 2012

CERTIFICATE OF ANALYSIS
ORDER #: 016840/1
QUANTITY: 5050 KGS
LOT: 6088907C181
ITEM: Acetaminophen USP/Paracetamol Ph Eur. Powder (50KGrocon)

TEST	LIMITS	ANALYSIS
Appearance	White crystalline powder	White crystalline powder
Infrared Absorption	To Match Standard	Matches Standard
Ultraviolet Absorption	To Match Standard	Matches Standard
Identity	To Match Standard	Matches Standard
Melting Range	168-172 Deg.C	168.7-169.1
Water	0.5% Max.	0.15%
Residue on Ignition	0.1% Max.	0.00%
Chloride -Cl-	0.014% Max.	<0.014%
Sulfate -SO4-	0.02% Max.	<0.02%
Sulfide	No coloration or spotting	No coloration or spotting
Heavy Metals -Pb-	0.001% Max	<0.001%
Readily Carbonizable Substances	Less than Standard	Less than Standard
Free p-Aminophenol	50 ppm Max.	1.7ppm
p-Chloroacetanilid	0.001% Max.	0.0000%
Assay	99.0-101.0%	99.7 %
USP and PhEur.	To comply with USP and PhEur. testing	Complies
Related Substances		
Chloroacetanilide (J)	< 10 PPM	0.0ppm
p-Aminophenol (K)	< 50 PPM	1.7ppm
4 - Nitrophenol (F)	< 500 PPM	0.0ppm
Total Other Related Substances	< 1000 PPM	95.0ppm
Any Other Related Substance	< 500 ppm	< 500 ppm
Sieve: US Std.#40	0.5% Max. Retained	0.10%
Sieve: US Std.#60	5.0% Max. Retained	2.9%
Bulk Density	21-27 lb/cu.ft.	26.0
Limit of Color	0.020 Max.	0.005

Organic Volatile Impurities is certified to meet USP/NF requirements without testing based on knowledge of the manufacturing process and controlled handling and storage.

This product is manufactured by Mallinckrodt Chemical Inc. in Raleigh, NC, US

It is hereby certified that the above is a true copy of the analysis of the subject item.

Q.A. DEPARTMENT

Handwritten Signature
Mallinckrodt Chemical Limited

Şekil 28. Parasetamolün analiz raporu

Referans Standart Olarak Kullanılan Oksolamin Sitratın Analiz Sertifikası

Çalışmalar sırasında Sandoz A. Ş. ilaç şirketinden temin edilen oksolamin sitrat kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde Sandoz A. Ş. ilaç şirketi tarafından onay verilen analiz sonuçları yer almaktadır.



Sandoz Syntek İlaç Hammaddeleri
San. ve Tic. A.Ş.
Organize Sanayi Bölgesi
1. Yol H-3 Parsel 34566 Tuzla İstanbul
Tel: 0216 458 35 00
Fax: 0216 394 22 29
www.sandoz.com.tr

ANALİZ SERTİFİKASI OKSOLAMİN SİTRAT

Lot No	: 0140011003	Üretim Tarihi	: OCAK 2008
Lot Büyüklüğü	: 413,40 kg	Son Kullanma Tarihi	: OCAK 2013
Kayıt Sıra No	: TZE.08.0046	Analiz Tarihi	: 15.01.2008
Referans	Firması Spesifikasyonları		
Sekunda Kopulu	: İyi kayışılmış kaplarda, oda sıcaklığında saklanır.		
TEST ve METOT	SPEŞİFİKASYON	SONUÇ	
Görünüş	Hafif karakteristik kokulu, beyaz kristalize toz.	Hafif karakteristik kokulu, beyaz kristalize toz.	
Çözünürlük	Suda ve Metanolde kısmen çözünür. Etanolde az çözünür.	Spesifikasyona uygun	
Çözelti Görünüşü	Çözelti renksiz ve berrak olmalıdır.	Spesifikasyona uygun	
Tanımlama			
A. IR Abs. Spektrumu	Numunenin KBr dispersiyonundan elde edilen IR absorpsiyon spektrumu aynı şekilde hazırlanan referans ile aynı dalga boylarında maksimum verir.	Spesifikasyona uygun	
B. Kimyasal Reaksiyon	Sitrat testi pozitif olmalıdır.	Spesifikasyona uygun	
C. İlgili Maddeler (TLC)	İlgili maddeler testinden elde edilen kromatogramdaki numune ve standarda ait ana lekeleri aynı olmalıdır.	Spesifikasyona uygun	
D. Erime Noktası	139°C-143°C	140°C	
E. UV Abs. Spektrumu	Maks. Abs. = 239 nm Spesifik Absorbans ≈ 260	264	
Asitlik	pH= 3.5 - 4.5	3.8	
Ağır Metaller	Maks. 20 ppm	< 20 ppm	
Kurutma Kaybı	Maks. % 0.5	% 0.0	
Sülfat Külü	Maks. % 0.1	% 0.0	
Miktar Tayini (Kuru madde üzerinden)	% 99.0 - % 101.0	% 100.5 (k.m.)	
İlgili Maddeler (TLC)			
Benzamidoksim	Maks. % 0.2	Dedekte edilmedi	
Bilinmeyen İmpürite	Maks. % 0.1	Dedekte edilmedi	
Toplam İmpürite	Maks. % 1.0	Dedekte edilmedi	
Organik Üçüçü İmpüriteler (GC)			
Etanol Asetat	Maks. 5000 ppm	6ppm	
Metanol	Maks. 3000 ppm	Dedekte edilmedi	
Değerlendirme: UYGUNDUR.			
Onaylayan :			
Tarih / İmza:	15.01.2008		

Şekil 29. Oksolamin sitratın analiz raporu

Referans Standart Olarak Kullanılan Fenilefrin Hidroklorürün Analiz Sertifikası

Çalışmalar sırasında Boehringer Ingelheim ilaç şirketinden temin edilen fenilefrin hidroklorür kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde Boehringer Ingelheim ilaç şirketi tarafından onay verilen analiz sonuçları yer almaktadır.

Cert. No : 00110361



Certificate of analysis

Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG
D-55216 Ingelheim
Phone: ++ 49 - 6132 - 77-0

Product Name:	Phenylephrine Hydrochloride	No. of Analysis :	53138363
Batch / Lot No. :	1028501		
Testing Spec. No. :	2010019-039C- 14		
Article No. :	60162720	Date of Manufacture :	04.01.2007
		Date of Analysis :	25.01.2007
		Re-Test-Period :	01/2010
		Printed on :	27.04.2007

Page :1

Test	Specification	Result
Characters		
Appearance (Visual test)	White or almost white, crystalline powder	Almost white, crystalline powder
In water (Visual test)	Freely soluble	Conforms
In Ethanol 96% (V/V) (Visual test)	Freely soluble	Conforms
Identification		
IR spectrum (IR spectrophotometry)	Corresponding to reference spectrum	Conforms
Melting point (Capillary method)	140 - 145 °C (melting point is defined as the temperature at which the test particle melts)	143 °C
Specific optical rotation [alpha] 20/D (Polarimetry)	Conforms	Conforms
pH-value (Potentiometric determination)	4,5 - 5,5	5,5
Test for chloride (Precipitation)	Positive	Conforms
Colour of solution		
(Limit test)	Not more intensely coloured than reference solution B9	Conforms
Clarity of solution		
(Limit test)	Not more opalescent than reference suspension I	Conforms
Specific optical rotation		
alpha 20/D (Polarimetry)	-47 ° to -43 °	- 47 °
pH		
(Potentiometric determination)	4,5 - 5,5	5,5

Continued next page



Certificate of analysis

Product Name:	Phenylephrine Hydrochloride		
Batch / Lot No.:	1028501	No. of Analysis:	53138363
Testing Spec. No.:	2010019-039C- 14		
Article No.:	60162720	Date of Manufacture:	04.01.2007
		Date of Analysis:	25.01.2007
		Re-Test-Period:	01/2010
		Printed on:	27.04.2007

Page :2

Test	Specification	Result
Acidity or alkalinity (Indicator test) Positive		Conforms
Melting range (Capillary method) 140 - 145 °C (sample collapses against tube (melt start) - sample becomes liquid (melt end))		142 - 143 °C
Chromatographic purity Phenylephrine Hydrochloride (Liquid chromatography) ≤ 0,1 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Benzylphenylephrine Hydrochloride (Liquid chromatography) ≤ 0,1 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Possible impurity A (RRT about 3.4) (Liquid chromatography) ≤ 0,2 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Each individual unidentified impurity (Liquid chromatography) ≤ 0,10 % (Area)		< 0,02 % (Area)
Total of all impurities (Liquid chromatography) ≤ 0,5 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Phenylephrine hydrochloride (Liquid chromatography) ≥ 99,5 % (Area)		100,0 % (Area)
Sulphate (Limit test) ≤ 200 ppm		Conforms
Ketones Phenylephrine Hydrochloride (Liquid chromatography) ≤ 0,1 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Benzylphenylephrine Hydrochloride (Liquid chromatography) ≤ 0,1 % (Area)		< 0,1 % (Area)
Residual solvents Isopropanol (Gas chromatography) ≤ 5000 ppm		849 ppm

Continued next page

Cert. No : 00110361



Boehringer
Ingelheim

Certificate of analysis

Product Name: **Phenylephrine Hydrochloride**
Batch / Lot No. : **1028501** No. of Analysis : 53138363
Testing Spec. No. : 2010019-039C- 14
Article No. : 60162720
Date of Manufacture : 04.01.2007
Date of Analysis : 25.01.2007
Re-Test-Period : 01/2010
Printed on : 27.04.2007

Page :3

Test	Specification	Result
Loss on drying (Weighing) ≤ 0,5 %		< 0,1 %
Sulphated ash (Weighing) ≤ 0,1 %		< 0,1 %
Assay		
Phenylephrine hydrochloride (Titration with perchloric acid) 99,0 - 101,0 %		100,4 %
Phenylephrine hydrochloride (Titration with tetra-n-butylammonium hydroxide) 99,0 - 101,0 %		100,2 %
chloride (Titration with silver nitrate solution) 17,2 - 17,6 %		17,4 %

Continued next page

Cert. No : 00110361



Boehringer
Ingelheim

Certificate of analysis

Product Name: **Phenylephrine Hydrochloride**
Batch / Lot No. : **1028501** No. of Analysis : 53138363
Testing Spec. No. : 2010019-039C- 14
Article No. : 60162720
Date of Manufacture : 04.01.2007
Date of Analysis : 25.01.2007
Re-Test-Period : 01/2010
Printed on : 27.04.2007

Page :4

Test	Specification	Result
------	---------------	--------

Quantitative data relate to the dried or anhydrous substance, insofar as the loss on drying or the water content (by K. Fischer) was determined.

Remarks :

Evaluation : Product corresponds with the requirements of current USP; IP; JP; Ph. Eur. and CEP

Date of Release : 25.01.2007

Signature (Quality Control Manager) : **Zimmermann, Klaus**
Phone Extension -6884

Other Remarks :

This certificate of analysis was produced automatically and is valid without signatures.

***** End of Report *****

Şekil 30. Fenilefrin hidroklorürün analiz raporu

Referans Standart Olarak Kullanılan Klorfeniramin Maleatın Analiz Sertifikası

Çalışmalar sırasında Chemopharma ilaç şirketinden temin edilen klorfeniramin maleat kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde Chemopharma ilaç şirketi tarafından onay verilen analiz sonuçları yer almaktadır.

03-00252
chemopharma

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: CHLORPHENIRAMINE MALEATE BP 2002
Batch no.: SC/C0204138
Manufacture Date: FEBRUARY 2004
Expiry date: JANUARY 2009

TEST	SPECIFICATION & LIMITS	RESULTS
Character:	white, crystalline powder	white, crystalline powder
Solubility:	freely soluble in water, soluble in alcohol and slightly soluble in ether	complies
Identification:		
A) Melting point:	between 132°C to 135°C	134°C
B) Test as per BP2002	specific absorbance 200 to 220	203
D) Test as per BP 2002	between 196°C to 200°C	197°C
E) Test as per BP 2002	to comply	complies
Appearance of the solution:	solution clear, not more than 8Y6	complies
Related substances:	not more than 0,2 %	less than 0,2 %
Heavy metals:	not more than 20 ppm	less than 20 ppm
Loss on drying:	not more than 0,5 %	0,25 %
Sulphate ash:	not more than 0,1 %	0,066 %
Assay (on dried basis):	between 98,0 % to 101,0 %	99,54 %

The Batch complies with BP 2002 specifications.

Vienna, February 2004

chemopharma
Chemikalien- und Pharmazeutika Handeltages, m.B.H. A-1150 Wien / Austria, Firmenbuch 66976, DVR 0416022
Hundert-Schoenbrunnstr. 11, 1150 Wien, Austria, Tel: +43-1-8311310, Fax: +43-1-8311311, E-Mail: office@chemopharma.co.at
Sitz u. Firmenbuchgericht: Wien

Şekil 31. Klorfeniramin maleatın analiz raporu

3. 4. KROMATOĞRAFİK ŞARTLAR

- Analitik Kolon: Agilent Zorbax SB-CN; 150 mm x 4.6 mm, 5 µm
- Hareketli Faz: Asetonitril:fosforik asit tamponu (85:15, h/h), pH 4.00
- Akış Hızı: 1.5 mL/dk
- Analiz Süresi: 3.5 dakika
- Dedektör: PDA dedektör, 265 nm
- Kolon Sıcaklığı: 22 °C
- Enjeksiyon Hacmi: 10 µL

3. 5. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

3. 5. 1. Hareketli Faz Çözeltisi

Analiz işlemlerinde kullanılan hareketli faz çözeltisi, 1 L'lik mezüre 850 mL asetonitril konulduktan sonra üzerine 150 mL fosforik asit (pH 4.00) tamponu ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Hareketli faz çözeltisi daha sonra ultrasonik banyoda 20 dk boyunca degaze edilmiştir. YPSK cihazına yerleştirilmeden önce 0.45 µm'lik naylon filtreden süzülen hareketli fazın hazırlama tarihi de üzerine yazıldıktan sonra YPSK cihazında hareketli faz haznesine yerleştirilmiştir.

3. 5. 2. Tampon Çözeltisi

Analiz işlemlerinde hareketli faz bileşenlerinden biri olarak kullanılan fosforik asit tamponu belirli pH'sı olan bir çözelti olduğu için, herhangi bir pH değişiminin analizi etkilemesi istenmeyen bir olaydır. Bu nedenle fosforik asit tampon çözeltisi az miktarda ve daha sık zamanlı olarak hazırlanmıştır. Hazırlanışında 1.36 mL fosforik asit yaklaşık 1 L suya ilave edildikten sonra ortam pH' ısı 4.00 (±0.1) olana kadar trietilamin ilave edilmiştir. Ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra üzerine hazırlandığı tarih yazılmıştır.

3. 5. 3. Standart Çözeltiler

3. 5. 3. 1. Standart Parasetamol Çözeltisi

Analiz çalışmasında kullanılacak parasetamol stok çözeltisi metanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Hassas olarak 40.0 mg tartılmış olan standart parasetamol 10 mL'lik balon jodede YPSK uygunlukta metanol ile çözülüp hacme tamamlanmıştır. Sonuç olarak 4 mg/mL'lik konsantrasyon elde edilmiştir.

3. 5. 3. 2. Standart Oksolamin Sitrat Çözeltisi

Analiz çalışmasında kullanılacak oksolamin sitrat stok çözeltisi metanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Hassas olarak 16.0 mg tartılmış olan standart oksolamin sitrat 10 mL'lik balon jodede YPSK uygunlukta metanol ile çözülüp hacme tamamlanmıştır. Sonuç olarak 1.6 mg/mL'lik konsantrasyon elde edilmiştir.

3. 5. 3. 3. Standart Fenilefrin Hidroklorür Çözeltisi

Analiz çalışmasında kullanılacak fenilefrin hidroklorür stok çözeltisi metanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Hassas olarak 40.0 mg tartılmış olan standart fenilefrin hidroklorür 10 mL'lik balon jodede YPSK uygunlukta metanol ile çözülüp hacme tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 0.1 mL alınıp 1.0 mL metanolla hacme tamamlanmıştır. Sonuç olarak 0.4 mg/mL'lik konsantrasyon elde edilmiştir.

3. 5. 3. 4. Standart Klorfeniramin Maleat Çözeltisi

Analiz çalışmasında kullanılacak klorfeniramin maleat stok çözeltisi metanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Hassas olarak 16.0 mg tartılmış olan standart klorfeniramin maleat 10 mL'lik balon jodede YPSK uygunlukta metanol ile çözülüp hacme tamamlanmıştır. Sonuç olarak 0.16 mg/mL'lik konsantrasyon elde edilmiştir.

3. 5. 4. Numune Çözeltisi

Miktar tayini yapabilmek için 20 tablet hassas olarak tartılıp havanda ezildikten sonra bir tablete eşdeğer tablet tozu yine hassas bir şekilde tartılıp 25 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Üzerine 10 mL metanol ilave edildikten sonra çalkalanarak çözünmesi sağlanmış ve 25 mL'lik balon jodede yine metanol ilavesiyle hacme tamamlanmıştır. 0.45 µm'lik naylon filtreden süzülen çözeltiden 40 µL alınarak viyalde metanolle 1 mL'ye tamamlanmıştır.

3. 6. YPSK YÖNTEMİ

3. 6. 1. Sistemin Hazırlanması

YPSK sistemine parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat enjekte edilmeden önce, sistemin dengeye gelmesi ve kanallarda (varsa) havanın giderilmesi amacıyla YPSK sisteminden öncelikle deiyonize su ve YPSK saflıkta asetonitril geçirilmiştir. Sonra da hareketli fazın kolondan geçirilmesi sağlanmıştır. Böylece kolon ve sistem uygun hale getirilmiştir. Hareketli faz tampon çözelti içerdiğinden kolonda herhangi bir bakteri kontaminasyonunu engellemek için sistem kapatılırken kolon (metanol:su 70:30) çözeltisi ile 60 dakika boyunca yıkanmıştır.

4. BULGULAR

4. 1. YPSK YÖNTEMİNDE HAREKETLİ FAZ SİSTEMİNE KARAR VERİLMESİ

Bu amaçla parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın YPSK yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen miktar tayininde hareketli faz olarak asetonitril ve fosforik asit tamponunun kullanılmasına (pH 4.00) ve bu hareketli faz bileşenlerinin de sırasıyla 85:15 oranında ve 1.5 mL/dk akış hızında uygulanmasına karar verilmiştir. Bu şartlar altında parasetamolün alıkonma zamanı 1.18 dk., oksolamin sitratın 2.80 dk., fenilefrin hidroklorürün 2.18 dk. ve klorfeniramin maleatın 3.34 dk. olarak belirlenmiştir. Asetonitril oranı artırıldığında piklerin birbirine çok yaklaştığı, hatta bazı piklerin örtüştüğü, dolayısıyla sağlıklı bir ayırımın oluşmadığı görülmüştür. Tam tersi durumda ise piklerin birbirlerinden çok geç ayrıldığı bunun da analiz süresinin ve çözelti sarfiyatının artmasına neden olduğu belirlenmiştir.

4. 2. DENEYİN YAPILIŞI

Bölüm 3.5.3'te genel hazırlanışı verilen parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat standart stok çözeltilerden hareketle final standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bu amaçla 0.4 mg/mL konsantrasyondaki parasetamol stok çözeltisinden 2 mL, 1.6 mg/mL konsantrasyondaki oksolamin sitrat stok çözeltisinden 2 mL, 0.4 mg/mL konsantrasyondaki fenilefrin hidroklorür stok çözeltisinden 0.4 mL ve 0.16 mg/mL konsantrasyondaki klorfeniramin maleat stok çözeltisinden 0.4 mL çekilerek 10 mL'lik bir balon jojeye aktarılmıştır. Daha sonra YPSK uygunlukta metanol ile hacme tamamlanmıştır. Elde edilen parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat karışımının final konsantrasyonları aşağıda verilmiştir.

Parasetamol	0.8 mg/mL
Oksolamin sitrat	0.32 mg/ mL
Fenilefrin hidroklorür	0.016 mg/mL
Klorfeniramin maleat	0.0064 mg/mL

Standart kalibrasyon eğrisini oluşturmak için yukarıda verilen çözelti kullanılmıştır. Bu amaçla final stok çözeltisinden sırası ile 25, 50, 75, 100, 125 ve 150 µL'lik hacimler mikropipet ile alınarak viyallere aktarılmıştır, daha sonra çözeltiler metanol ile 1 mL hacme tamamlanmıştır. Çalışılan standart numune konsantrasyonları Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. Standart numune konsantrasyonları

mg/ml	25 µL	50 µL	75 µL	100 µL	125 µL	150 µL
PARASETAMOL 0.8 mg/mL	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12
OKSOLAMİN SİTRAT 0.32 mg/mL	0.008	0.016	0.024	0.032	0.04	0.048
FENİLEFRİN HİDROKLORÜR 0.016 mg/mL	0.0004	0.0008	0.0012	0.0016	0.002	0.0024
KLORFENİRAMİN MALEAT 0.0064mg/mL	0.00016	0.00032	0.00048	0.00064	0.0008	0.00096

4. 3. KALİBRASYON EĞRİLERİNİN OLUŞTURULMASI VE STANDARTLARIN KROMATOGRAMI

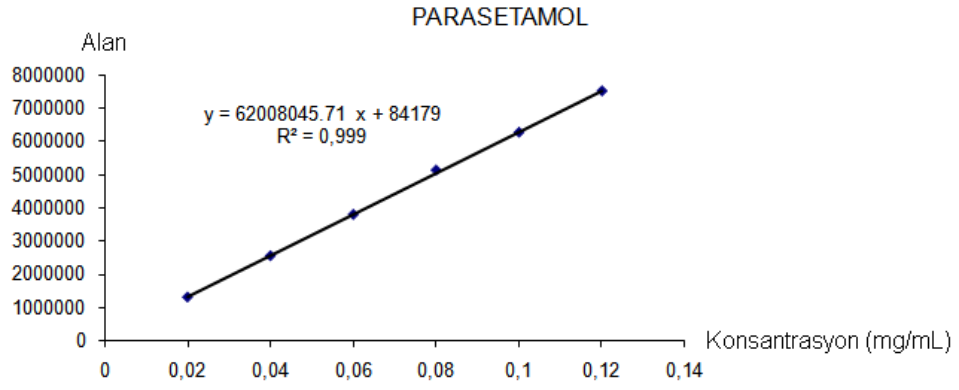
4. 3. 1. Parasetamolün Kalibrasyon Eğrisi

Parasetamolün YPSK ile analizi yönteminde doğrusal aralığın ve kalibrasyon eğrisinin saptanmasında 0.02-0.12 mg/mL konsantrasyonları arasında farklı derişimlerde metanol ile çözölüp seyreltmek suretiyle farklı çözeltieler hazırlanmış (Tablo 15) ve YPSK sistemine uygulanmıştır.

Geliştirilen YPSK yöntemi parasetamol için 0.02 ile 0.12 mg/mL konsantrasyonları arasında doğrusal olup, parasetamol için tanımlanan konsantrasyonlar arasında elde edilen eğri denklemi $y = 62008045.71 x + 84179$, $r^2 = 0.999$ olarak saptanmıştır.

Tablo 16. Standart parasetamol pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiği doğrusal aralık

	Kons. (mg/mL)	Alıkonma zamanı (dk)	Pik alanı
1.	0.02	1.180	1312031
2.	0.04	1.179	2553630
3.	0.06	1.180	3794177
4.	0.08	1.180	5125142
5.	0.1	1.180	6261074
6.	0.12	1.180	7502468



Şekil 32. Parasetamolün kalibrasyon eğrisi

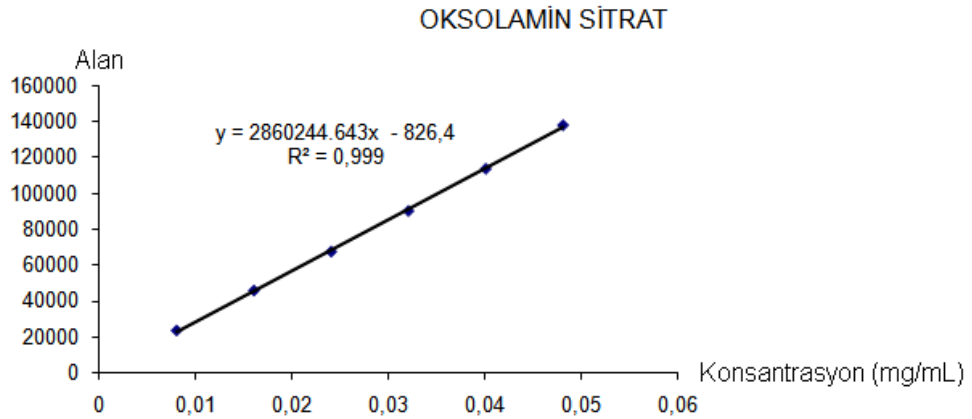
4. 3. 2. Oksolamin Sitratin Kalibrasyon Eğrisi

Oksolamin sitratin YPSK ile analizi yönteminde doğrusal aralığın ve kalibrasyon eğrisinin saptanmasında 0.008-0.048 mg/mL konsantrasyonları arasında farklı derişimlerde metanol ile çözölüp seyreltmek suretiyle farklı çözeltiler hazırlanmış (Tablo 15) ve YPSK sistemine uygulanmıştır.

Geliştirilen YPSK yöntemi oksolamin sitrat için 0.008 ile 0.048 mg/mL konsantrasyonları arasında doğrusal olup, oksolamin sitrat için tanımlanan konsantrasyonlar arasında elde edilen eğri denklemi $y = 2860244.643x - 826.4$, $r^2 = 0.999$ olarak saptanmıştır.

Tablo 17. Standart oksolamin sitrat pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiğı doğrusal aralık

	Kons. (mg/mL)	Alıkonma zamanı (dk)	Pik alanı
1.	0.008	2.785	22841
2.	0.016	2.789	45156.5
3.	0.024	2.796	66978.5
4.	0.032	2.800	89716.5
5.	0.04	2.802	113272.5
6.	0.048	2.806	137597.5



Şekil 33. Oksolamin sitratin kalibrasyon eğrisi

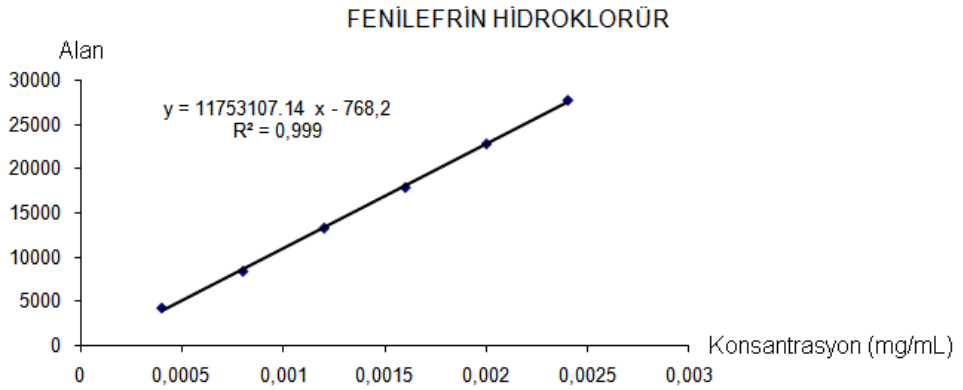
4. 3. 3. Fenilefrin Hidroklorürün Kalibrasyon Eğrisi

Fenilefrin hidroklorürün YPSK ile analizi yönteminde doğrusal aralığın ve kalibrasyon eğrisinin saptanmasında 0.0004-0.0024 mg/mL konsantrasyonları arasında farklı derişimlerde metanol ile çözölüp seyreltmek suretiyle farklı çözelti hazırlanmış (Tablo 15) ve YPSK sistemine uygulanmıştır.

Geliştirilen YPSK yöntemi fenilefrin hidroklorür için 0.0004 ile 0.0024 mg/mL konsantrasyonları arasında doğrusal olup, fenilefrin hidroklorür için tanımlanan konsantrasyonlar arasında elde edilen eğri denklemi $y = 11753107.14 x - 768.2$, $r^2 = 0.999$ olarak saptanmıştır.

Tablo 18. Standart fenilefrin hidroklorür pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiğı doğrusal aralık

	Kons. (mg/mL)	Alıkonma zamanı (dk)	Pik alanı
1.	0.0004	2.178	4262
2.	0.0008	2.183	8390
3.	0.0012	2.187	13256.5
4.	0.0016	2.192	17819
5.	0.002	2.193	22742
6.	0.0024	2.195	27647



Şekil 34. Fenilefrin hidroklorürün kalibrasyon eğrisi

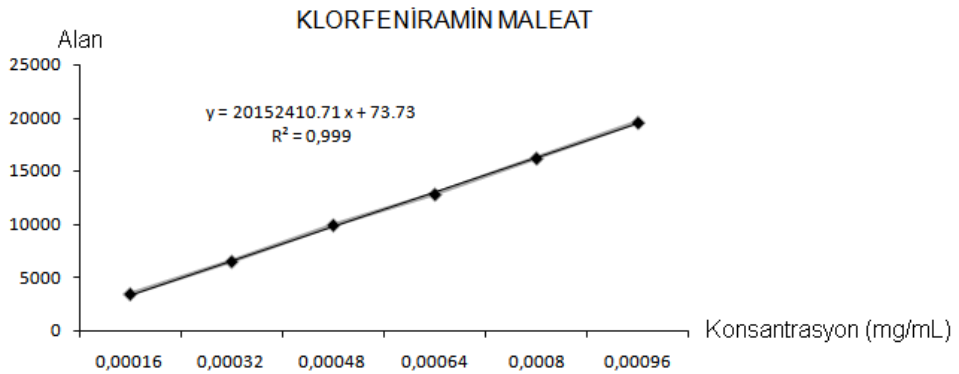
4. 3. 4. Klorfeniramin Maleatın Kalibrasyon Eğrisi

Klorfeniramin maleatın YPSK ile analizi yönteminde doğrusal aralığın ve kalibrasyon eğrisinin saptanmasında 0.00016-0.00096 mg/mL konsantrasyonları arasında farklı derişimlerde metanol ile çözölüp seyreltmek suretiyle farklı çözeltiler hazırlanmış (Tablo 15) ve YPSK sistemine uygulanmıştır.

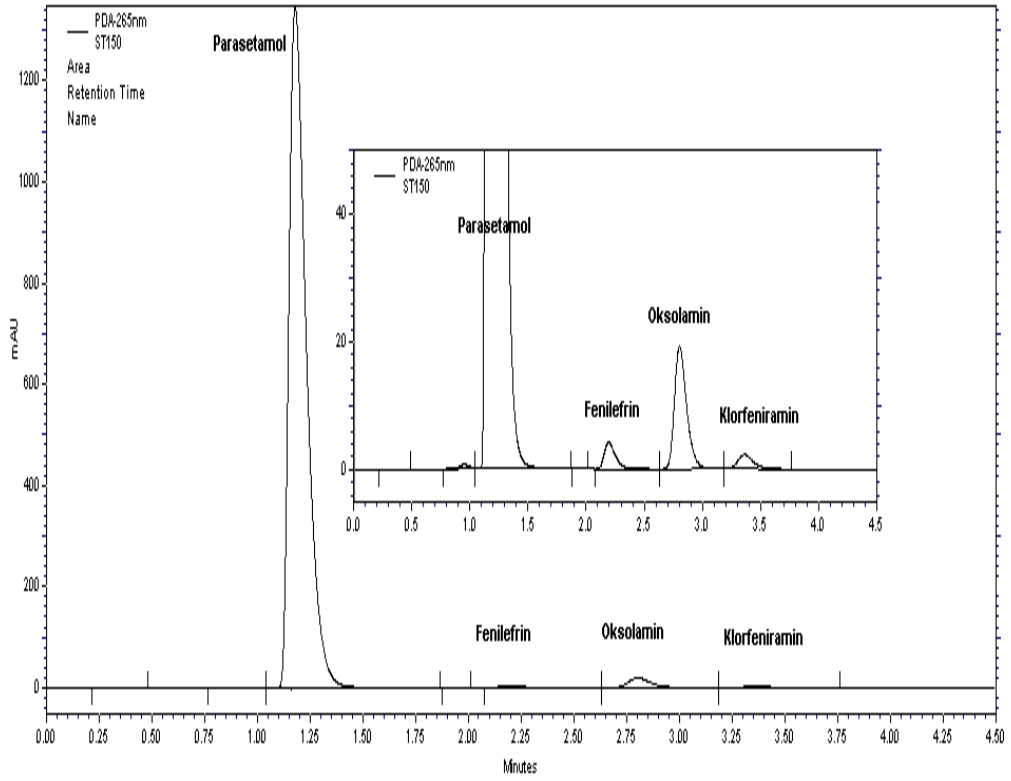
Geliştirilen YPSK yöntemi klorfeniramin maleat için 0.00016 ile 0.00096 mg/mL konsantrasyonları arasında doğrusal olup, klorfeniramin maleat için tanımlanan konsantrasyonlar arasında elde edilen eğri denklemi $y = 20152410.71 x + 73.73$, $r^2 = 0.999$ olarak saptanmıştır.

Tablo 19. Standart klorfeniramin maleat pik alanları, alıkonma süreleri ve kalibrasyonunun elde edildiğı doğrusal aralık

	Kons. (mg/mL)	Alıkonma zamanı (dk)	Pik alanı
1.	0.00016	3.335	3377
2.	0.00032	3.338	6438
3.	0.00048	3.350	9869
4.	0.00064	3.357	12773
5.	0.0008	3.360	16169.5
6.	0.00096	3.365	19528



Şekil 35. Klorfeniramin maleatın kalibrasyon eğrisi



Şekil 36. Sırasıyla parasetamol (1.18 dk.), fenilefrin hidroklorür (2.18 dk.), oksolamin sitrat (2.80 dk.) ve klorfeniramin maleat (3.34 dk.) standartlarının elde edilmiş eşzamanlı kromatogramı

4. 4. VALİDASYON PARAMETRELERİ

4. 4. 1. Kesinlik (tekrarlanabilirlik) Çalışması

Geliştirilen yöntemin parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat için tekrarlanabilirlik çalışması amacıyla kesinlik ve doğrusallık analizi yapılmıştır. Analizi yapılacak standart etkin maddelerin doğrusal aralık içerisinde çözeltileri hazırlanmış ve 10 tekrarlı analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına dayanarak (Tablo 20) yöntemin güvenilirliğine karar verilmiştir (%BSS < 2).

Tablo 20. Kesinlik ve doğrusallık testi sonuçları

İçerik	Kesinlik (% BSS)	Korelasyon katsayısı (r^2)	Doğrusal aralık (mg/mL)
Parasetamol	0.12	0.999	0.02–0.12
Oksolamin sitrat	0.18	0.999	0.008–0.048
Fenilefrin hidroklorür	0.36	0.999	0.0004–0.0024
Klorfeniramin maleat	0.59	0.999	0.00016–0.00096

4. 4. 2. Seçicilik

Seçicilik çalışmaları standart maddelerin kromatogramlarına karşılık plasebonun ve hareketli fazın kromatogramlarının karşılaştırılması ile yapılmıştır. Kromatogramlar arasında yapılan karşılaştırmalarda girişime rastlanmamıştır.

4. 4. 3. Doğruluk - Geri kazanım

Analiz sonucu elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığının bir ölçüsüdür. Sonuçlar ortalama % geri kazanım olarak ifade edilmektedir. Etkin madde içermeyen ancak dolgu maddelerinden oluşan karışım (plasebo) içine eklenen parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın analizleri gerçekleştirilmiş ve yöntemin geri kazanım değerleri belirlenmiştir (Tablo 21).

Tablo 21. Geri kazanım test sonuçları

İçerik	İlave edilen madde miktarı (mg)	% geri kazanım (BSS)
Parasetamol	250.0	99.99 (0.04)
Oksolamin sitrat	100.0	100.20 (1.20)
Fenilefrin hidroklorür	5.0	100.56 (1.56)
Klorfeniramin maleat	2.0	99.60 (0.65)

4. 5. GELİŞTİRİLEN YPSK YÖNTEMİ İLE FARMASÖTİK MÜSTAHZARLARDA PARASETAMOL, OKSOLAMİN SİTRAT, FENİLEFRİN HİDROKLORÜR ve KLORFENİRAMİN MALEATIN EŞZAMANLI MİKTAR TAYİNİ

Geliştirilen YPSK yöntemi ile yapılan analizde Türkiye ilaç piyasalarında bu dört etkin maddeyi bir arada ihtiva eden Forza Tablet® (Ali Raif) ve Oledro Tablet® (Drogsan) müstahzarları kullanılmıştır. Test çözeltisi, Bölüm 3.5.4'te anlatıldığı gibi hazırlanmış olup YPSK sistemine enjekte edilmiştir. Daha sonra elde edilen alan değerleri teker teker kalibrasyon eğrisi denklemlerinde yerine konarak piyasa müstahzarlarında bulunan etkin madde miktarları Tablo 22'de gösterilmiştir.

Tablo 22. Parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat içeren piyasa müstahzarlarında geliştirilen YPSK yöntemiyle bulunan etkin madde mg değerleri

Örnek	İçerik	Etiket değerleri (mg)	Bulunan değerler (mg)	%
Forza Tablet®	Parasetamol	250.0	250.06	100.02
	Oksolamin sitrat	100.0	100.06	100.06
	Fenilefrin hidroklorür	5.0	5.02	100.40
	Klorfeniramin maleat	2.0	2.01	100.50
Oledro Tablet®	Parasetamol	250.0	250.06	100.02
	Oksolamin sitrat	100.0	100.02	100.02
	Fenilefrin hidroklorür	5.0	5.01	100.20
	Klorfeniramin maleat	2.0	2.01	100.50

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Analizini yaptığımız parasetamol Non Steroidal Antiinflamatuvar ilaçlar, fenilefrin hidroklorür α -1 adrenerjik agonist ilaçlar, oksolamin sitrat antitüssif ilaçlar ve klorfeniramin maleat antihistaminik ilaçlar arasında önemli bir yere sahip olan bileşiklerdir. Tez kapsamında parasetamol, fenilefrin hidroklorür, oksolamin sitrat ve klorfeniramin maleatın YPSK yöntemi ile aynı anda analizleri için hızlı, duyarlı ve ekonomik bir analiz yöntemi geliştirilmeye çalışılmış, gerekli optimizasyonlar ve yöntem geçerlilik testleri yapılmıştır.

Türkiye İlaç Endüstrisi İşverenler Sendikası verilerine göre Türkiye’de 2008 yılında üretilen ilaç miktarı 1,38 milyar kutuya ulaşmıştır. Bu büyük miktar içinde soğuk algınlığı ilaçları oldukça önemli bir grubu oluşturmaktadır. İlaç üretimi sırasında yapılmakta olan kalite kontrol çalışmalarında ilaç etkin maddesi miktar tayini çalışmaları önemli bir yer tutmaktadır. Birçok ilacın birden fazla etkin madde içerdiği düşünülürse, çoklu etken madde miktar tayini çalışmalarının önemi kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Soğuk algınlığı ve grip ilaçlarının çoğunun etkin madde kompozisyonu birden fazladır. Bu ilaçların etkin madde kompozisyonu incelendiğinde genellikle parasetamolün yüksek, klorfeniramin maleat ve fenilefrin hidroklorür gibi diğer etkin maddelerin daha düşük konsantrasyonlarda bir arada kullanıldığı gözlenmektedir. Literatürde parasetamolle birlikte farklı etkin maddeleri bir arada taşıyan değişik kompozisyonlar için birçok miktar tayini yöntemi bildirilmiştir, fakat literatür araştırmalarında parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın eşzamanlı kullanılarak uygulandığı bir yöntem bulunmamaktadır. Ancak bu etkin maddelerden bazılarını bir arada ihtiva eden değişik farmasötik müstahzarlar üzerinde çok sayıda eşzamanlı teşhis ve miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Heydari ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada parasetamol, fenilefrin, klorfeniramin ve dekstrometorfanın eşzamanlı miktar tayini çalışması yapılmıştır. Bu

çalışmada bileşikleri kromatografik olarak ayırmak için PerfectSil Target 250 x 4.6 mm, 5 µm partikül büyüklüğüne sahip YPSK kolonu kullanılmıştır. Hareketli faz olarak metanol/su (1litrede 6.0 g amonyum asetat ve 10 mL trietilamin içeren, pH 5.0 ortofosforik asitle ayarlı) (95:5, h/h) kullanılmış, analiz 11 dakikada sonlanmıştır⁶⁹. Wang ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada parasetamol ve klorfeniramin maleatın eşzamanlı teşhisi için C₁₈ (250 x 4.6 mm, 5 µm) kolon ve asetronitril-su-trietilamin (10 mmol/L SDS ve 60 mmol/L NaH₂PO₄, H₃PO₄ ile pH 2.6'ya ayarlı) 46:54:0.2 hareketli fazı kullanılmış, analiz 10 dakikada tamamlanmıştır.⁶⁵

Parasetamol, klorfeniramin maleat ve fenilefrin hidroklorürün birlikte eşzamanlı miktar tayinlerinin yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Şenyuva ve Özden 2004 yılında yayınladıkları bir çalışmada parasetamol, klorfeniramin maleat ve fenilefrin hidroklorürün eşzamanlı miktar tayinini yapmışlar ve bu çalışmada YPSK kolonu olarak µBondapak marka siyano kolon kullanmışlardır⁶³. Yine Kannumula ve Krieger tarafından yapılan iki çalışmada aynı üçlü karışım için eşzamanlı miktar tayini yapılmıştır. Barbas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise parasetamol, fenilefrin ve klorfeniraminin eşzamanlı teşhisinde Symetry Shield RP 8 250 x 4.6 mm, 5 µm kolonu kullanılmış, hareketli faz, A fosfat tamponu 40 mM (KH₂PO₄; KOH ile pH 6.0'ya ayarlanmıştır) ve B asetronitrilden hazırlanmış olup gradient akış uygulanmıştır ve bu şartlarda analiz yaklaşık 15 dakikada tamamlanmıştır⁶⁴.

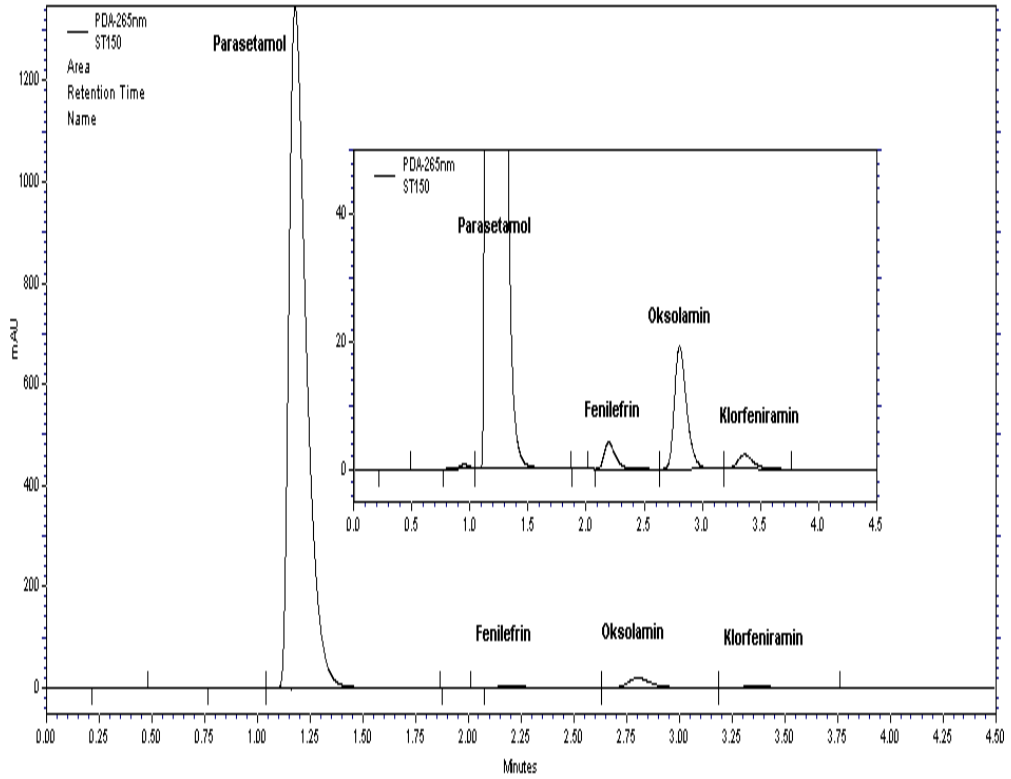
Tez kapsamında yapılan çalışmada, izokratik akışlı bir hareketli faz sistemi kullanılarak kısa sürede doğru sonuç veren bir eşzamanlı miktar tayini çalışması elde edilmiştir. Çalışma, ilaç etkin maddelerinin farmasötik müstahzarlardaki miktar tayininde yaygın olarak kullanılan, özellikle etkin madde miktarı az olan müstahzarlarda hassas sonuç vermesi ve analizin kısa sürede tamamlanabilmesi nedeniyle YPSK yöntemi ile yapılmıştır.

Uygulanan yöntemde iyi bir ayırım elde etmek için Agilent Zorbax SB-CN ($-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$); 150 x 4.6 mm, 5 μm kolon kullanılmıştır. Kullanmış olduğumuz kolon materyali düşük pH düzeylerinde yüksek verimle ayırım sağlamaktadır. Kolonun por boyutu 80 Å'dur. Kullanılan kolon asidik, nötral ve bazik karakterli maddelerin, asidik hareketli faz sistemlerinde iyi ve tekrarlanabilir bir ayırım sağlayan bir kolondur. Hareketli faz olarak asetonitril ve fosforik asit tamponu karışımının kullanılması uygun olduğu görülmüş, bu bileşenler sırasıyla % 85 h/h ve % 15 h/h oranında kullanılmıştır. Fosforik asit tamponu, fosforik asit ve trietilamin ile hazırlanarak pH 4'e ayarlanmıştır. Akış hızı 1.5 mL/dk olarak tespit edilmiştir.

Dedektör olarak ultraviole ve görünür saha dalga boylarında ölçüm yapabilen PDA dedektörü kullanılmıştır. Çalışma dalga boyu olarak 265 nm seçilmiştir.

Eşzamanlı miktar tayini deneyleri değişik ilaç firmalarından analiz sertifikaları ile birlikte temin edilen standart parasetamol (Tyco), oksolamin sitrat (Sandoz), fenilefrin hidroklorür (Boehringer Ingelheim) ve klorfeniramin maleat (Chemopharma) ile gerçekleştirilmiştir.

Bu kromatografik çalışma sırasında uygulanan şartlarda parasetamol alıkonma zamanı 1.18 dakika, oksolamin sitrat 2.80 dakika, fenilefrin hidroklorür 2.18 dakika ve klorfeniramin maleat 3.34 dakika olarak tespit edilmiştir. Piklerin oldukça keskin olduğu ve birbiri ile girişmediği gözlenmiştir (Şekil 36). Asetonitril oranı artırıldığında ve akış hızı değiştirildiğinde kromatogramdaki piklerin birbirine çok yaklaştığı, hatta bazı piklerin örtüştüğü, dolayısıyla sağlıklı bir ayırımın oluşmadığı görülmüştür. Tam tersi durumda ise piklerin birbirlerinden çok geç ayrıldığı bunun da analiz süresinin ve çözelti sarfiyatının artmasına neden olduğu görülmüştür.



Şekil 36. Sırasıyla parasetamol (1.18 dk.), fenilefrin hidroklorür (2.18 dk.), oksolamin sitrat (2.80 dk.) ve klorfeniramin maleat (3.34 dk.) standartlarının elde edilmiş eşzamanlı kromatogramı

Kalibrasyon denklemi için yapılan ölçümlerde parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın uygun konsantrasyondaki karışımları kullanılmıştır. Burada etkin madde karışımı hazırlanırken müstahzar formülasyon oranları esas alınmıştır. Kalibrasyon çalışmasında parasetamol için 0,02-0,12 mg/mL, oksolamin sitrat için 0,008-0,048 mg/mL, fenilefrin hidroklorür için 0,0004-0,0024 mg/mL ve klorfeniramin maleat için 0,00016-0,00096 mg/mL'lik konsantrasyon aralıklarında çalışılmıştır. Bu konsantrasyon aralıklarında yapılan ölçümler düzgün doğrusal bir artış veya azalış göstermiştir. Her bileşik için ayrı ayrı kalibrasyon denklemi, uygulanan bileşik konsantrasyonuna karşılık gelen pik alanından hareketle hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon denklemlerinin korelasyon katsayıları (r^2) hesaplanmıştır. Bulunan değerler çalışılan konsantrasyon aralığında oldukça yüksek düzgün doğrusallığın

elde edildiğini göstermiştir. Çalışmada dört etkin madde için bulunan korelasyon katsayısı değeri 0.999'dur. Yapılan analizde standartlarla elde edilen doğrusal aralık, korelasyon katsayısı ve kesinlik (% BSS) değerleri Tablo 23'te gösterilmiştir.

Tablo 23. Standart maddelerin validasyon parametreleri

	Sonuçlar			
	Parasetamol	Oksolamin sitrat	Fenilefrin hidroklorür	Klorfeniramin maleat
Konsantrasyon (mg/mL)	0,02 - 0,12	0,008–0,048	0,0004-0,0024	0,00016–0,00096
Korelasyon katsayısı (r^2)	0.999	0.999	0.999	0.999
Kesinlik (% BSS)	0.12	0.18	0.36	0.59

Etkin madde içermeyen ancak dolgu maddelerinden oluşan karışım (plasebo) içine eklenen parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın analizleri gerçekleştirilmiş ve yöntemin geri kazanım değerleri belirlenmiştir. Yapılan geri kazanım çalışmasında Tablo 24'teki sonuçlara ulaşılmıştır.

Tablo 24. Elde edilen % geri kazanım değerleri

İçerik	% Geri kazanım
Parasetamol	99.99
Oksolamin sitrat	100.20
Fenilefrin hidroklorür	100.56
Klorfeniramin maleat	99.60

Elde edilen validasyon parametrelerine ve kromatogram verilerine dayanarak uygulanan yöntemin parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın eşzamanlı miktar tayini için hızlı, duyarlı ve doğru sonuç veren bir yöntem olduğu gösterilmiştir.

6. ÖZET

Bu çalışmada parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleatın piyasa müstahzarlarına uygulanabilecek hızlı, duyarlı ve ekonomik bir YPSK yöntemiyle eşzamanlı miktar tayini yöntemi geliştirilmiştir.

Tabletteki etkin maddeler bölüm 3. 5. 4'te anlatıldığı gibi organik faza alınmış, YPSK ve PDA dedektörü kullanılarak 265 nm'de miktar tayinleri yapılmıştır. Analizde Agilent Zorbax SB-CN; 150 mm x 4.6 mm, 5 µm kolonu 22 °C'de kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi olarak 10 µL belirlenmiştir. Hareketli faz bileşenleri asetonitril 85:15 fosfat tamponu (pH 4.00) ve akış hızı 1.5 mL/dk olarak ayarlanmış olup toplam analiz süresi 3.34 dakika sürmüştür. Standart maddelerle yapılan çalışmalarda parasetamol için 0.02-0.12 mg/mL, oksolamin sitrat için 0.008-0.048 mg/mL, fenilefrin hidroklorür için 0.0004-0.0024 mg/mL ve klorfeniramin maleat için 0.00016-0.00096 mg/mL konsantrasyon aralıklarında doğrusallık ve sırasıyla aşağıdaki *doğruluk* ve *kesinlik* değerleri (%BSS) elde edilmiştir (Tablo 25);

Tablo 25. Doğruluk ve kesinlik çalışması sonuçları

	Sonuçlar			
	Parasetamol	Oksolamin sitrat	Fenilefrin hidroklorür	Klorfeniramin maleat
Doğruluk	99.99	100.20	100.56	99.60
Kesinlik (% BSS)	0.12	0.18	0.36	0.59

Miktar tayini yönteminin uygunluğu belirlendikten sonra USP XXIX kurallarına göre valide edilmiştir. Validasyon sırasında kesinlik, seçicilik, doğrusallık ve geri kazanım - doğruluk parametreleri belirlenmiş ve değerlendirilmiştir. Yüksek orandaki geri kazanım, yöntemin, ilaçların

formülasyonunda kullanılan katkı maddelerinden etkilenmediğini göstermektedir.

Geliştirilen yöntem hammadde veya farmasötik formdaki parasetamol, oksolamin sitrat, fenilefrin hidroklorür ve klorfeniramin maleat etkin maddelerinin aynı anda tayini için geliştirilmiş hızlı, basit, duyarlı ve yüksek doğrulukta bir yöntem olduğu için teşhis ve miktar tayini analitik çalışmalarında kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Parasetamol, Oksolamin sitrat, Fenilefrin hidroklorür, Klorfeniramin maleat, YPSK, Piyasa müstahzarları

7. SUMMARY

A rapid, sensitive and low cost HPLC method was developed for the simultaneous determination of the analgesic/antipiretic paracetamol, antitussive oxolamine citrate, sympathomimetic phenylephrine hydrochloride and the antihistaminic chlorpheniramine maleate in dosage forms.

The drug substances from the tablets had been transferred to the organic phase as explained in chapter 3. 5. 4 and determination of the drug substances were performed with HPLC-PDA detector at 265 nm wavelength. The Agilent Zorbax SB-CN; 150 mm x 4.6 mm, 5 μ m column at 22 °C had been used for assay. Injection volume was 10 μ L. Mobile phase components were acetonitrile 85:15 phosphate buffer at pH 4.00 and flow rate has been adjusted for 1.5 mL/min, and the total analysis time was 3.34 min. The linearity range in the assay for standard paracetamol was 0.02-0.12 mg/mL, for oxolamine citrate 0.008-0.048 mg/mL, for phenylephrine hydrochloride 0.0004-0.0024 mg/mL and for chlorpheniramine maleate 0.00016-0.00096 mg/mL and the *accuracy* and *precision* (%RSD) assay of standards were found respectively in Table 25.

Table 25. Accuracy and precision test results

	Results			
	Paracetamol	Oxolamine citrate	Phenylephrine hydrochloride	Chlorpheniramine maleate
Accuracy	99.99	100.20	100.56	99.60
Precision (% RSD)	0.12	0.18	0.36	0.59

USP XXIX validation parameters have been applied after the determining suitability of the development quantitation method. In a

validation process precision, specificity, linearity and accuracy (recovery) tests have been applied.

The present HPLC study provide the rapid, simple, sensitive and accurate method for the simultaneous determination of paracetamol, oxolamine citrate, phenylephrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate on the drug substances and/or drug product.

Key words: Paracetamol, Oxolamine citrate, Phenylephrine hydrochloride, Chlorpheniramine maleate, HPLC, Dosage Form

KAYNAKLAR

1. Harley A. Rotbart, Frederick G, Hayden. Picornavirus Infections Clinical Review. Archfam 2000; 9 (2): 913-920.
2. Eccles R. Understanding the symptoms of the common cold and influenza. Lancet Infect Dis. 2005; 5: 718-725.
3. Hicks TA. The Common Cold 1. baskı. Tarrytown (New York): Marshall Cavendish Benchmark; 2006.
4. Rosenstain N, Philips WR, Gerber MA, Marcy MS, Schwartz B, Dowell SF, et al. The Common Cold-Principles of Judicious Use of Antimicrobial Agents, Pediatrics 1998; 101 (1): 181-184.
5. Spickard A. The Common Cold Past, Present and Future Research. Dis Chest 1965; 48: 545-549.
6. What is Influenza [internette]. 2003 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: <http://mhcs.health.nsw.gov.au>
7. Simasek M, Blandino D. Treatment of the Common Cold, Am Fam Physician 2007; 75: 515-520.
8. Johnston SL, Papi A, Bates PJ, Mastronade JG, Monick MM, Hunninghake GW, Low Grade Rhinovirus Infection Induces a Prolonged Release of IL-8 in Pulmonary Epithelium 1998; 160: 6172-6181.
9. Turner RB. Evalution of Echinacea for the Common Cold. Ann Intern Med. 2002; 137: 1001-1002.
10. Akgün H, Balkan A, Bilgin AA, Çalış Ü, Gökhan N, Dalkara S, Erdoğan H, Erol DD, Ertan M, Özkanlı F, Palaska E, Saraç S, Şafak C, Tozkoparan B, editörler. Farmasötik Kimya. 2. baskı. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 2004.
11. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editörler. Goodman and Gilman Pharmacological Basis of Therapeutics. 11. baskı. California: The McGraw-Hill Companies, Inc; 2006.
12. Manley S, Crawford D, Histamine Receptors, 6. Ellisville: Tocris Cookson; 1997.
13. Kayaalp SO, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 10. baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti.; 2002.

14. European Pharmacopeia 5th edition. Council of Europe, Strasbourg: 2005.
15. Parfitt K. Martindale the Complete Drug Reference. 32nd edition. London: The Pharmaceutical Press; 1999.
16. Baptistella LHB, Giacomini RA, Imamura PM. Síntese Dos Analgésicos Paracetamol e Fenacetina e Do Adoçante Dulcina: Um Projecto Para Química Orgânica Experimental. Quim Nova 2003; 26 (2):284-286.
17. Crawley B, Saito O, Malkmus S, Fitzsimmons B, Hua XY, Yaksh TL. Acetaminophen Prevents Hyperalgesia in Central Pain Cascade. Neuroscience Letters 2008; 442: 50-53.
18. Anderson BJ. Paracetamol (Acetaminophen): Mechanisms of Action. Pediatric Anesthesia 2008; 18: 915-921.
19. Graham GG, Scott KF. Mechanisms of Action of Paracetamol and Related Analgesics. Inflammopharmacology 2003; 11 (4-6): 401-413.
20. Hinz B, Cheremina O, Brune K. Acetaminophen (Paracetamol) is a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor in Man. The FASEB Journal 2008; 22 (2): 383-390.
21. Spiller NM, Rork TH, Merrill GF. An Old Drug with a New Purpose: Cardiovascular Actions of Acetaminophen (Paracetamol). Current Drug Targets-Cardiovascular and Haematological Disorders 2005; 5: 419-429.
22. Kis B, Snipes JA, Busija DW. Acetaminophen and the Cyclooxygenase-3 Puzzle: Sorting Out Facts, Fictions and Uncertainties. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2005; 315 (1): 1-7.
23. Graham GG, Day RO, Milligan MK, Ziegler JB, Kettle AJ. Current Concepts of the Actions of Paracetamol (Acetaminophen) and NSAIDs. Inflammopharmacology 1999; 7 (3): 255-63.
24. John FT. Reye's Syndrome: The Case for a Causal Link with Aspirin. Drug Safety 2006; 29 (12): 1111-1121.
25. Warwick C. Paracetamol and Fever Management. JRSJ 2008; 128 (6): 320-323.

26. Sheikh SA. Pharmacokinetics of Paracetamol (Perfalgan®) Following Different Infusion Protocols in a Purcine Model. Doktora tezi. Lahore: Fachbereich Medizin der Philipps Universitat; 2008.
27. Akarca AD. Kalça Artroplastisinde Preemptif ve Peroperatif Uygulanan Parasetamolün Postoperatif Morfin Tüketini Üzerine Etkisi. Uzmanlık tezi. Adana: T. C. Çukrova Üniversitesi; 2008.
28. Medicines Information Bulletin [internette]. 2002 [15 Mayıs 2009 okundu]. Elektronik adresi www.rtichehurst@adhb.govt.nz
29. Munsterhjelm E. Characterization of Inhibition of Platelet Function by Paracetamol and its Interaction with Diclofenac and Parecoxib. Uzmanlık tezi. Helsinki: University of Helsinki; 2006.
30. Issa MM, Nejem MR, Abadla NSE. Effect of Ibuprofen on the Pharmacokinetics of Paracetamol. J. Al-Aqsa Univ 2006; 10: 147-152.
31. Patient Information on Paracetamol [internette]. 2000 [15 Mayıs 2009 okundu]. Elektronik adresi: www.rheumatology.org.au/paracetamol280509
32. Goldstein LH; Berlin M; Berkovitch M, et al. Effectiveness of Oral vs Rectal Acetaminophen A Meta-analysis. Archives of Pediatrics. and Adolescent Medicine 2008; 162 (11): 1042-1046.
33. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of Paracetamol. Drug Safety 2005; 28 (3): 227-240.
34. Gregoire N, Hovsepian L, Gualano V, Evene E, Dufour G, Gendron A. Safety and Pharmacokinetics of Paracetamol Following Intravenous Administration of 5 g During the First 24 h with a 2-g Starting Dose. Clinical Pharmacology and Therapeutics 2007; 81: 401-405.
35. Girolamo GD, Sanchez AJ, ARL Santos, CD Gonzalez. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2004; 5 (3) 561-570.
36. Dart RC, Kuffner EK, Rumack BH. Treatment of Pain or Fever with Paracetamol (Acetaminophen) in the Alcoholic Patient. Am. J. Ther. 2000; 7 (2): 123-124.
37. RxMediaPharm®. RxMediaPharm®2009. İzmir: Gemaş Genel Mühendislik Mekanik Sanayii ve Tic. A. Ş.; 2009.

38. Lorriland Research. 3-Phenyl-5-Methyl-1,2,4-Oxadiazole. Greensboro: Lorriland Research Center; 1973.
39. O'neil MJ, The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 30th edition. New Jersey: Merck and Co; 2001.
40. Dahlgren S, Dalhaman T. The Effect of Oxolamine Citrate on Experimentally Produced Inflammation in the Respiratory Organs. *Acta pharmacol. et toxicol.* 1966; 24: 286-296.
41. Dalhman T, Raud A. The Antitussive Effect of Oxolamine Citrate and Codeine Phosphate in Guinea Pigs. *Scand. J. Resp. Dis.* 1968; 49: 23-25.
42. Summary of Product Characteristics [internette]. 2006 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: www.tevapharm.com
43. Kırılmaz L, Kendirci A, Güner T. Sustained-release Dosage Form of Oxolamine Citrate: Preparation and Release Kinetics. *J. of Microencapsulation* 1992; 9 (2): 167-172.
44. Zhu X, Lee DY, Shin WG. Gender Diference in the Pharmacokinetic Interaction Between Oral Warfarin and Oxolamine in Rats: Inhibition CYP2B1 by Oxolamine in Male Rats. *Biopharm. Drug. Dispos.* 2007; 28: 125-133.
45. Min KA, Zhu X, Oh JM, Shin WG. Effect of Oxolamine on Anticoagulant Effect of Warfarin. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* 2006; 63: 153-156.
46. Ceylan BB, Karakurt S. Effect of Oxolamine on Cough Sensitivity in COPD Patients. *J. Resp. Med.* 2002; 96: 61-63.
47. McEwen J, Meyboom RH, Thils I. Hallucinations in Children Caused by Oxolamine Citrate. *Med. J. Aust.* 1989; 150 (8): 449-452.
48. Kırılmaz L, DüNDAR Ç. Eudragit ® ile Hazırlanan Matriks Tabletlerden Oksolamin Sitrat Salımı Üzerine Çalışmalar. *Acta Pharmaceutica Turcica XXXVIII* 1996; 1: 5-8.
49. Moffat AC, Jackson JV, Moss MS, Widdop B, editörler. Clarke' s Isolation and Identification of Drugs. 2nd edition. London: The Pharmaceutical Press; 1986.

50. Knochen M, Giglio J. Flow-Injection Determination of Phenylephrine hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms with on-line Solide-Phase Extraction and Spectrophotometric Detection. *Talanta* 2004; 64: 1226-1232.
51. Doctor Foster and Smith Pharmacy-Chlorpheniramine [internette]. 2007 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: www.ucomparehealthcare.com/pharmacy ve www.drsfostersmith.com
52. U. S. Department of Health and Human Services Public Health Service National Institutes of Health. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Chlorpheniramine Maleate. Rockville Pike: NIH Publication; 1986.
53. Hellbom E. Chlorpheniramine Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs) and Over-The-Counter (OTC) Treatment. *Medical Hypotheses* 2006; 66: 689-690.
54. Zamorano JAR, Leon EE, Anguiano AJ, McGlone LC, Melendez MAM, Moctezuma JV. The H1 Histamine Receptor Blocker Chlorpheniramine Completely Prevents the Increase in REM Sleep Induced by Immobilization Stress in Rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2009; 91: 291-294.
55. Tashiro M, Sakurada Y, Mochizuki H, Horikava E, Marayama M, Okamura N, Watanuki S, Arai H, Itoh M, Yanai K. Effects of a Sedative Antihistamine d-chlorpheniramine on Regional Cerebral Perfusion and Performance During Simulated Car Driving. *Hum. Pscopharmacol. Clin. Exp.* 2008; 23: 139-150.
56. Hiep BT, Fernandez C, Tod M, Banide H, Thuillier A, Lacour B, Farinotti R, Gimenez F. Intestinal Absorption and Metabolism of Chlorpheniramine Enantiomers in Rat. *Chirality* 2001; 13: 207-213.
57. Kirkegaard J, Secher C, Mygind N. Effect of the H1 Antihistamine Chlorpheniramine Maleate on Histamine-Induced Symptoms in the Human Conjunctiva. Indirect Evidence for Nervous H1 Receptors. *Allergy* 1982; 37 (3): 203-208.
58. Lau OW, Mok SC. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Active Ingredients in Cough-Cold Syrups with Indirect Conductometric Detection. *J. of Chromatography A* 1995; 693 (1): 45-54.

59. Vuma V, Kanfer I. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Phenylephrine in Human Serum with Coulometric Detection. *J. of Chromatography B. Biomedical Science and Applications* 1996; 678 (2): 245-252.
60. Ravisankar s, Vasudevan M, Gandhimathi M, Suresh B. Reversed-phase HPLC Method for the Estimation of Acetaminophen, Ibuprofen and Chlorzoxazone in Formulations. *Talanta* 1998; 46: 1577-1581.
61. Erk N, Kartal M. Simultaneous High Performance Liquid Chromatographic and Derivative Ratio Spectra Spectrophotometry Determination of Chlorpheniramine Maleate and Phenylephrine Hydrochloride. *Il Farmaco* 1998; 53: 617-622.
62. Garcia A, Ruperez FJ, Marin A, Maza A, Barbas C. Poly(ethyleneglycol) Column for the Determination of Acetaminophen, Phenylephrine and Chlorpheniramine in Pharmaceutical Formulations. *J. of Chromatography B* 2003; 785: 237-243.
63. Şenyuva H, Özden T. Simultaneously High Performance Liquid Chromatographic Determination of Paracetamol, Phenylephrine HCl and Chlorpheniramine Maleate in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. of Chromatographic Science* 2002; 40 (2): 97-100.
64. Marin A, Garcia E, Garcia A, Barbas C. Validation of a HPLC Quantification of Acetaminophen, Phenylephrine and Chlorpheniramine in Pharmaceutical Formulations: Capsules and Sachets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002; 29: 701-714.
65. Oh G, Zhon Z, Zhi XJ, Wang H. Simultaneous Determination of Pseudoephedrine and Chlorpheniramine in Human Plasma by HPLC-UV Detection Method. *Yao Xue Xue Bao*. 2004; 39 (4): 281-284.
66. Marin A, Barbas C. CE versus HPLC for the Dissolution Test in a Pharmaceutical Formulation Containing Acetaminophen, Phenylephrine and Chlorpheniramine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004; 34: 769-777.
67. Sun S, Liu G, Wang Y. Simultaneous Determination of Acetaminophen, Caffeine, and Chlorphenamine Maleate in Paracetamol and Chlorphenamine Maleate Granules. *Chromatographia* 2006; 64: 719-724.

68. Palabiyik İM, Onur F. The Simultaneous Determination of Phenylephrine Hydrochloride, Paracetamol, Chlorpheniramine Maleate and Dextromethorphan Hydrobromide in Pharmaceutical Preparations. *Chromatographia* 2007; 66: 93-95.
69. 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.
70. Mohamed FA, AbdAllah MA, Shammam SM. Selective Spectrophotometric Determination of p-aminophenol and Acetaminophen. *Talanta* 1997; 44: 61-68.
71. Arancibia JA, Nepote AJ, Escandar GM, Olivieri AC. Spectrofluorimetric Determination of Phenylephrine in the Presence of a Large Excess of Paracetamol. *Analytica Chimica Acta* 2000; 419: 159-168.
72. Song H, Zhang Z, Fen W. Electrochemiluminescent Determination of Chlorphenamine Maleate Based on $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ Immobilized in a Nano-Titania/Nafion Membrane. *Electroanalysis* 2006; 18 (18): 1838-1841.
73. Gomez MR, Olsina RA, Martinez DL, Silva MF. Simultaneous Determination of Dextromethorphan, Diphenhydramine and Phenylephrine in Expectorant and Decongestant Syrups by Capillary Electrophoresis. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002; 30: 791-799.
74. Suntornsuk L, Pipitharome O, Wilairat P. Simultaneous Determination of Paracetamol and Chlorpheniramine Maleate by Micellar Electrokinetic Chromatography. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; 33: 441-449.
75. Dong Y, Chen X, Chen Y, Chen X, Hu Z. Separation and Determination of Pseudoephedrine, Dextromethorphan, Diphenhydramine and Chlorpheniramine in Cold Medicines by Nonaqueous Capillary Electrophoresis. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005; 39: 289-289.
76. Nemeth T, Jancovics P, Palotas JN, Szalai HK. Determination of Paracetamol and its Main Impurity 4-aminophenol in analgesic Preparations by Micellar Electrokinetic Chromatography. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2008; 47: 746-749.

77. Lau Ow, Cheung YM. Simultaneous Determination of Some Active Ingredients in Cough-Cold Syrups by Gas-Liquid Chromatography. *Analyst* 1990; 115: 1348-1353.
 78. Celma C, Allue JA, Prunonosa AJ, Preaire C, Obarch R. Simultaneous Determination of Paracetamol and Chlorpheniramine in Human Plasma by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. of Chromatography A* 2000; 870: 77-86.
 79. Marin A, Barbas C. LC/MS for the Degradation Profiling of Cough–Cold Products Under Forced Conditions. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004; 35: 1034-1045.
 80. Ren S, Chen XY, Duan XJ, Zhong DF. Simultaneous Determination of Ephedrine and Chlorpheniramine in Human Plasma by a Highly Sensitive Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric Method. *Yao Zue Zue Bao*. 2006; 4 (2): 188-192.
 81. Kazakevich Y, Lobrutto R, editörler. *HPLC for Farmaceutical Scientists*. 1st edition. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.; 2007.
 82. Scott RPW. Principles and Practice of Chromatography [internette]. 2007 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: www.library4science.com.
 83. Weston A, Brown PR. *HPLC and CE*. 2nd edition. San Diego: W. B. Saunders Company; 1997.
 84. Scott RPW. Liquid Chromatography [internette]. 2007 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: www.library4science.com.
 85. Meyer VR. *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. 4th edition. St. Galen: John Wiley and Sons, Inc; 2004.
 86. Ahuja S. *Chromatography and Separation Science*. 4th edition. North Carolina: Elsevier Science; 2003.
 87. Ahuja S, Rasmussen H, editörler. *HPLC Method Developement for Pharmaceuticals*. 8th edition. North Carolina: Elsevier Science; 2007.
 88. Dong MW. *Modern HPLC for Practicing Scientists*. 4th edition. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.; 2006.
- Scott RPW. Liquid Chromatography Dedectors [internette]. 2007 [25 Nisan 2009]. Elektronik adresi: www.library4science.com.

ÖZGEÇMİŞ

Adı - Ozan

Soyadı - Pirol

Doğum Yeri ve Tarihi - Kosova/Prizren, 28/08/1983

Eğitim - (2002-2007 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi),
(1998-2002 Gjon Buzuku Fen Lisesi Kosova/Prizren),
(1990-1998 Mustafa Baki İlköğretim Okulu Kosova/Prizren),

Yabancı dil - İngilizce (iyi düzeyde konuşma ve yazma),
Sırpça ve Boşnakça (iyi düzeyde konuşma ve yazma),
Arnavutça (iyi düzeyde konuşma).