



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**AMLODİPİN İÇEREN FARMASÖTİK
PREPARATLARDA
ETKEN MADDELERİN YENİ
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Gizem TIRIS

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nevin ERK**

ANKARA

2021

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMLODİPİN İÇEREN FARMASÖTİK
PREPARATLARDA
ETKEN MADDELERİN YENİ
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERLE ANALİZİ**

Gizem TIRIS

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nevin ERK**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
19L0237001 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2021

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Amlodipin İçeren Farmasötik Preparatlarda Etkin Maddelerin Yeni Spektrofotometrik Yöntemlerle Analizi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikri tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Gizem TIRIS

Tarih:17.05.2021

İmza:

Kabul ve Onay

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalında
Gizem TIRIS tarafından hazırlanan
“Amlodipin İçeren Farmasötik Preparatlarda Etken Maddelerin Yeni
Spektrofotometrik Yöntemlerle Analizi” adlı tez çalışması
Aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile
kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:17.05.2021

Prof. Dr. Filiz KURALAY

Hacettepe Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Bengi USLU

Ankara Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN

Gazi Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Nevin ERK

Ankara Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Burcu DOĞAN TOPAL

Ankara Üniversitesi

Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	ix
Simgeler ve kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Kullanılan Etken Maddelerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	2
1.2.1. Amlodipin	2
1.2.1.1. Kimyasal Yapı	2
1.2.1.2. Farmakolojik Özellikleri	4
1.2.2. İndapamid	5
1.2.2.1. Kimyasal Yapı	5
1.2.2.2. Farmakolojik Özellikleri	6
1.2.3. Perindopril	6
1.2.3.1. Kimyasal Yapı	6
1.2.3.2. Farmakolojik Özellikleri	7
1.2.4. Telmisartan	8
1.2.4.1. Kimyasal Yapı	8
1.2.4.2. Farmakolojik Özellikleri	9
1.2.5. Olmesartan	10
1.2.5.1. Kimyasal Yapı	10
1.2.5.2. Farmakolojik Özellikleri	11
1.2.6. Kandesartan	11
1.2.6.1. Kimyasal Yapı	11
1.2.6.2. Farmakolojik Özellikleri	12
1.2.7. Atorvastatin	13
1.2.7.1. Kimyasal Yapı	13
1.2.7.2. Farmakolojik Özellikleri	14
1.3. Tez Kapsamında Çalışılan Etken Maddelerle Yapılan Çalışmalar	14
1.3.1. Amlodipin İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri	14
1.3.1.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	14
1.3.1.2. Spektrofotometri	18
1.3.1.3. Spektrofluorimetri	29
1.3.1.4. Kapiller elektroforez	29
1.3.1.5. Voltametri	30
1.3.2. İndapamid İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri	30
1.3.2.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	30
1.3.2.2. Spektrofotometri	33
1.3.2.3. Voltametri	34

1.3.3. Perindopril İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri	35
1.3.3.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	35
1.3.3.2. Spektrofotometri	37
1.3.3.3. Spektrofluorimetri	39
1.3.3.4. Kapiller Elektroforez	39
1.3.4. Telmisartan İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri	40
1.3.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	40
1.3.4.2. Spektrofotometri	43
1.3.4.3. Spektrofluorimetri	43
1.3.4.4. Kapiller Elektroforez	45
1.3.4.5. Voltametri	45
1.3.5. Olmesartan İçin Uygulanmış Analiz Örnekleri	46
1.3.5.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	46
1.3.5.2. Spektrofotometri	47
1.3.5.3. Spektrofluorimetri	48
1.3.5.4. Voltametri	49
1.3.6. Kandesartan İçin Uygulanmış Analiz Örnekleri	50
1.3.6.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	50
1.3.6.2. Spektrofotometri	51
1.3.6.3. Voltametri	53
1.3.7. Atorvastatin İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri	53
1.3.7.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	53
1.3.7.2. Spektrofotometri	54
1.3.7.3. Voltametri	55
1.3.7.4. Kapiller Elektroforez	56
1.3.7.5. Spektrofluorimetri	57
2. GEREÇ ve YÖNTEM	58
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler	58
2.2. Kullanılan Kimyasallar	58
2.3. Analizi yapılan farmasötik preparatlar	58
2.4. Tez Kapsamında Kullanılan Yöntemler	59
2.4.1. Spektrofotometrik Yöntemler	59
2.4.1.1. Absorbans Çıkarma Yöntemi	59
2.4.1.2. Oran Çıkarma Yöntemi	60
2.4.1.3. Oran Farkı Spektrofotometrik Yöntem	60
2.4.1.4. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yöntemi	60
2.4.1.5. Absorpsiyon Düzeltme Yöntemi	61
2.4.1.6. Sabit Merkez Yöntemi	61
2.4.1.7. Sabit Çıkarma Yöntemi	63
2.4.1.8. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yöntemi	65
2.4.1.9. Gelişmiş Amplitud Modülasyon Yöntemi	65
2.4.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi	65
2.5. Spektrofotometrik Analiz Yöntemlerinin Uygulanması	66
2.5.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Atorvastatin Etken Maddelerini İçeren Karışıma Uygulanması	66
2.5.1.1. Standart Çözelti Hazırlama	66
2.5.1.2. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması	66

2.5.1.3. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti	67
2.5.1.4. Kesinlik (geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliği)	67
2.5.1.5. Doğruluk (geliştirilen yöntemin geri kazanım oranı)	67
2.5.1.6. Farmasötik Preparata Uygulama	67
2.5.2. Oran Farkı Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması	68
2.5.2.1. Standart Çözelti Hazırlama	68
2.5.2.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	68
2.5.2.3. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti	68
2.5.2.4. Kesinlik	69
2.5.2.5. Doğruluk	69
2.5.2.6. Farmasötik Preparata Uygulama	69
2.5.3. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlarına Uygulanması	69
2.5.3.1. Standart Çözelti Hazırlama	69
2.5.3.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	69
2.5.3.3. Kesinlik	70
2.5.3.4. Doğruluk	70
2.5.3.5. Farmasötik Preparata Uygulama	70
2.5.4. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması	71
2.5.4.1. Standart Çözelti Hazırlama	71
2.5.4.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	71
2.5.4.3. Kesinlik	71
2.5.4.4. Doğruluk	72
2.5.4.5. Farmasötik Preparata Uygulama	72
2.5.5. Oran Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddeleri İçeren Karışımlara Uygulanması	72
2.5.5.1. Standart Çözelti Hazırlama	72
2.5.5.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	72
2.5.5.3. Kesinlik	73
2.5.5.4. Doğruluk	73
2.5.5.5. Farmasötik Preparata Uygulama	73
2.5.6. Sabit Merkez Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması	73
2.5.6.1. Standart Çözelti Hazırlama	74
2.5.6.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	74
2.5.6.3. Kesinlik	75
2.5.6.4. Doğruluk	75
2.5.6.5. Farmasötik Preparata Uygulama	75
2.5.7. Sabit Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan ile Amlodipin ve Atorvastatin İçeren Karışımlara Uygulanması	76
2.5.7.1. Standart Çözelti Hazırlama	76
2.5.7.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	76
2.5.7.3. Kesinlik	78
2.5.7.4. Doğruluk	78
2.5.7.5. Farmasötik Preparata Uygulama	78

2.5.8. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan İçeren Karışımlara Uygulanması	79
2.5.8.1. Standart Çözelti Hazırlama	79
2.5.8.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	79
2.5.8.3. Kesinlik	80
2.5.8.4. Doğruluk	80
2.5.8.5. Farmasötik Preparata Uygulama	80
2.5.9. Gelişmiş Amplitut Modülasyon Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan İçeren Karışımlara Uygulanması	80
2.5.9.1. Standart Çözelti Hazırlama	80
2.5.9.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama	81
2.5.9.3. Kesinlik	81
2.5.9.4. Doğruluk	81
2.5.9.5. Farmasötik Preparata Uygulama	82
2.6. Yüksek performanslı Sıvı Kromatografi Yönteminin Amlodipin, Perindopril ve İndapamid İçeren Karışım ile Amlodipin ve Perindopril İçeren Karışımlara Uygulanması	82
2.6.1. Standart Çözelti, Kalibrasyon Eğrisi ve Hareketli Faz Hazırlama	82
2.6.2. Kromatografik Şartlar	83
2.6.3. Kesinlik	83
2.6.4. Doğruluk	83
2.6.5. Sağlamlık	83
2.6.6. Seçicilik	84
2.6.7. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti	84
2.6.8. Farmasötik Preparatlara Uygulama	84
3. BULGULAR	85
3.1. Spektrofotometrik Analiz Yöntemlerinin Sonuçları	85
3.1.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Atorvastatin İçin Analiz Sonuçları	85
3.1.1.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi	85
3.1.1.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları	86
3.1.2. Oran Farkı Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan Analiz Sonuçları	87
3.1.2.1. Oran Farkı Yönteminin Geliştirilmesi	87
3.1.2.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları	89
3.1.3. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları	90
3.1.3.1. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Geliştirilmesi	90
3.1.3.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları	91
3.1.4. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları	92
3.1.4.1. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Geliştirilmesi	92
3.1.4.2. Yöntemin Doğruluk Çalışmaları ve Farmasötik Preparata Uygulama	93
3.1.5. Oran Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları	95
3.1.5.1. Oran Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi	95
3.1.5.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparata Uygulama	97
3.1.6. Sabit Merkez Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları	99
3.1.6.1. Sabit Merkez Yönteminin Geliştirilmesi	99

3.1.6.2. Sabit Merkez Yönteminin Farmasötik Preparat Sonuçları	100
3.1.7. Sabit Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan ile Amlodipin ve Atorvastatin Analiz Sonuçları	102
3.1.7.1. Sabit Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi	102
3.1.7.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları	104
3.1.8. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan Analiz Sonuçları	107
3.1.8.1. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yönteminin Sonuçları	107
3.1.8.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları	108
3.1.9. Gelişmiş Amplitut Modülasyon Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan Analiz Sonuçları	110
3.1.9.1. Gelişmiş Amplitut Modülasyon Yönteminin Sonuçları	110
3.1.9.2. Yöntemin Doğruluğu ve Preparat Sonuçları	112
3.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Sonuçları	113
3.2.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografik Yöntem ile Amlodipin, Perindopril ve İndapamid İçeren Karışım ile Amlodipin ve Perindopril İçeren Karışımların Analiz Sonuçları	113
3.2.1.1. Yöntem Geliştirilmesi	113
3.2.1.2. Kesinlik Sonuçları	115
3.2.1.3. Doğruluk Analizi	116
3.2.1.4. Sağlamlık Sonuçları	118
3.2.1.5. Seçicilik Sonuçları	119
3.2.1.6. Tanıma Limiti, Tayin Limiti ve Kalibrasyon Eğrisi Parametreleri	121
3.2.1.7. Yöntemin Farmasötik Preparat Sonuçları	122
4. TARTIŞMA	124
4.1. Amlodipin ve Atorvastatin Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar	124
4.2. Amlodipin ve Kandesartan Analizi İçin Yapılan Spektrofotometrik Çalışmalar	124
4.3. Amlodipin ve Olmesartan Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar	125
4.4. Amlodipin ve Telmisartan Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar	126
4.5. Amlodipin, Perindopril ve İndapamid Analizi YPSK Çalışmaları	127
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	130
ÖZET	132
SUMMARY	133
KAYNAKLAR	134
ÖZGEÇMİŞ	146

ÖNSÖZ

Antihipertansif ilaçların günümüzde kombine şekilde kullanımları giderek arttığı için ilaçların aynı anda analizi de önem kazanmaktadır. Tez çalışmamızda amlodipin içeren bazı antihipertansif ilaçların aynı anda tayini için yeni, ön hazırlama işlemine gerek duyulmayan, pratik ve kolay uygulanabilir spektrofotometrik yöntemler geliştirilmiştir.

Tez çalışmalarımın her anında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, desteğini her zaman hissettiğim, değerli fikirleri ile hep yanımda olan, göstermiş olduğu sabır ve hoşgöründen dolayı çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nevin ERK'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Anabilim dalının değerli öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine sağladıkları yardımlar ve destekler için teşekkür ederim. Tez sürecinde ve her zaman desteklerini esirgemeyen Dr. Ecz. Ali Kemal ATEŞ ve Ecz. Meltem ÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Destekleri, yardımları ve tecrübeleri ile yanımda olan hocam Prof. Dr. Ş. Evrim TEKKELİ ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hep hissettiğim üzerimde emeği büyük olan teyzem Serap Saraçoğlu, anneannem, büyük dayım ve teyzem, her zaman fikirlerini benimle paylaşan biricik yeğenim Elifsu, annem, ablam, abim, kardeşim ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACN	Asetonitril
ADE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ALS	Aliskiren hemifumarat
AML	Amlodipin besilat
ARB	Anjiyotensin reseptör blokerleri
ATN	Atenolol
ATO	Atorvastatin kalsiyum
BENZ	Benazepril
BSS	Bağıl standart sapma
DAD	Foto diyot dizisi dedektör
DPV	Diferansiyel puls voltametri
dk	dakika
EZT	Ezetimib
HYD	Hidroklorotiyazid
ICH	Uluslararası Uyum Konseyi
İND	İndapamid
İTK	İnce Tabaka Kromatografi
KND	Kandesartan sileksetil
λ	Dalga boyu
L	Litre
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
m	Eğim
mg	Miligram
nm	Nanometre
OLM	Olmesartan medoksomil
PER	Perindopril erbumin
PRD	Perindopril arjinin

ROS	Rosuvastatin
SS	Standart sapma
TEL	Telmisartan
VAL	Valsartan
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografi
UYPSK	Ultra “yüksek performanslı sıvı kromatografi
HPTLC	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Amlodipin molekül formülü	3
Şekil 1.2. İndapamid molekül formülü	5
Şekil 1.3. Perindopril molekül formülü	6
Şekil 1.4. Telmisartan molekül formülü	8
Şekil 1.5. Olmesartan molekül formülü	10
Şekil 1.6. Kandesartan molekül formülü	11
Şekil 1.7. Atorvastatin molekül formülü	13
Şekil 2.1. YPSK cihazının bölümleri	66
Şekil 3.1. AML (yeşil), ATO (pembe) ve ikili karışımlarının (mavi) spektrumları	85
Şekil 3.2. AML çalışma aralığındaki spektrumların KND 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları	87
Şekil 3.3. KND çalışma aralığındaki spektrumların AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları	88
Şekil 3.4. Pembe spektrum her iki etken maddenin 10,0 µg/mL bulunduğu karışım, siyah spektrum saf AML 10,0 µg/mL spektrumu	96
Şekil 3.5. Mavi spektrum karışımın saf AML'ye bölüm spektrumu, pembe spektrum sabit bölge çıkarıldıktan sonra elde edilen spektrum	96
Şekil 3.6. Çalışma aralığındaki AML spektrumlarının 10,0 µg/mL konsantrasyondaki OLM spektrumuna bölüm spektrumları	99
Şekil 3.7. OLM çalışma aralığındaki spektrumların AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları	99
Şekil 3.8. AML spektrumlarının ATO 10,0 µg/mL spektrumun bölümü sonucu elde edilen spektrumlar	102
Şekil 3.9. ATO spektrumlarının AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları	103
Şekil 3.10. AML 20,0 µg/mL (yeşil), TEL 20,0 µg/mL (siyah) her ikisinden 10,0 µg/mL konsantrasyonda karışımları (mavi)	107
Şekil 3.11. AML standart 20,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumu	107

Şekil 3.12. AML (kırmızı) ve TEL (yeşil) 20,0 µg/mL ve her birinden 10,0 µg/mL içeren karışım spektrumlarının (mavi) normalize AML'ye bölüm spektrumları	110
Şekil 3.13. AML çalışma aralığındaki spektrumların normalize AML spektrumuna bölüm eğrileri	110
Şekil 3.14. TEL çalışma aralığındaki spektrumların normalize AML spektrumuna bölüm eğrileri	111
Şekil 3.15. Preparat çözeltisi hazırlama aşaması	112
Şekil 3.16. Standard etken maddelere ait kromatogram 5,0 µg/mL IND, 20,0 µg/mL PER ve 10,0 µg/mL AML	114
Şekil 3.17. Standart karışımlara ait kromatogram 2,5 µg/mL IND, 10,0 µg/mL PER ve AML	120
Şekil 3.18. Preparata ait kromatogram (Triplixam®)	120
Şekil 3.19. AML ve PER karışımına ait kromatogram 10,0 µg/mL PER ve 15,0 µg/mL AML	121
Şekil 3.20. Coveram® preparata ait kromatogram (10,0/10,0 mg AML ve PER)	121

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. AML ve ATO absorbands çıkarma kalibrasyon eğrisi parametreleri	86
Çizelge 3.2. Absorbans çıkarma yöntemi yüzde geri kazanım sonuçları	86
Çizelge 3.3. Farmasötik preparat (Caduet®) sonuçları	87
Çizelge 3.4. AML ve KND için oran farkı yöntemi kalibrasyon eğrisi parametreleri	88
Çizelge 3.5. Oran farkı yöntemi AML ve KND için yüzde geri kazanım sonuçları	89
Çizelge 3.6. Oran farkı yönteminin tablet sonuçları	90
Çizelge 3.7. Yöntemde AML ve OLM kalibrasyon eğrisi parametreleri	90
Çizelge 3.8. AML ve OLM yüzde geri kazanım sonuçları	91
Çizelge 3.9. İndüklenmiş çift dalga yöntemin farmasötik preparat sonuçları	92
Çizelge 3.10. Yöntemin kalibrasyon eğrisine ait parametreler	93
Çizelge 3.11. Absorbans düzeltme yönteminin yüzde geri kazanım sonuçları	94
Çizelge 3.12. Absorbans düzeltme yönteminin farmasötik preparat sonuçları	95
Çizelge 3.13. Yönteme ait parametreler	97
Çizelge 3.14. Oran çıkarma yönteminin yüzde geri kazanım sonuçları	98
Çizelge 3.15. Oran çıkarma yönteminin farmasötik preparata uygulanması	98
Çizelge 3.16. Yöntemin kalibrasyon eğrisi parametreleri	100
Çizelge 3.17. Yöntemin standart ekleme sonuçları	101
Çizelge 3.18. Sabit merkez yönteminin farmasötik preparat sonuçları	102
Çizelge 3.19. Yöntemin AML ve ATO için kalibrasyon eğrisi parametreleri	103
Çizelge 3.20. Yöntemin AML ve KND için kalibrasyon eğrisi parametreleri	104
Çizelge 3.21. ATO ve AML için standart ekleme sonuçları	105
Çizelge 3.22. KND ve AML için standart ekleme sonuçları	106
Çizelge 3.23. Farmasötik preparat sonuçları	106
Çizelge 3.24. Gelişmiş absorbands çıkarma yöntemi AML ve TEL için kalibrasyon eğrisi parametreleri	108
Çizelge 3.25. TEL ve AML için yüzde geri kazanım sonuçları	109
Çizelge 3.26. Gelişmiş absorbands çıkarma yönteminin preparat sonuçları	109

Çizelge 3.27. Gelişmiş amplitut modülasyon yöntemi kalibrasyon eğrisi parametreleri	111
Çizelge 3.28. AML ve TEL karışımlarında analiz sonuçları	112
Çizelge 3.29. Gelişmiş amplitut modülasyon yönteminin preparat sonuçları	113
Çizelge 3.30. Sistem uygunluk parametreleri	114
Çizelge 3.31. Gün içi tekrarlanabilirlik sonuçları	115
Çizelge 3.32. Günler arası tekrarlanabilirlik sonuçları	116
Çizelge 3.33. AML, PER ve İND için yüzde geri kazanım sonuçları	117
Çizelge 3.34. AML ve PER standart ekleme sonuçları	118
Çizelge 3.35. Sağlamlık sonuçları	119
Çizelge 3.36. Kalibrasyon eğrisine ait parametreler	122
Çizelge 3.37. Triplexam® farmasötik preparat sonuçları	123
Çizelge 3.38. Coveram® farmasötik preparat sonuçları	123
Çizelge 4.1. Literatürde yapılan bazı çalışmalar	129

1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Hipertansiyon kan basıncının yükselmesi ile oluşan kalp ve damar hastalığıdır. Nedeni bilinmeyen primer ve ilaca bağımlı geçici nedeni bilinen sekonder hipertansiyon olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer hipertansiyon hastalığında kan basıncının artması hastalığın belirtisidir ve kan basıncını düzenleyen mekanizmaları etkileyen neden belirlenmemektedir. Birkaç faktör veya bilinmeyen mekanizmalar hastalığa sebep verdiği için tedavi antihipertansif ilaçlarla ve hayat tarzında değişikliklerle yapılmaktadır. Sekonder hipertansiyonda bazı renal ve endokrin hastalıklara bağlı olarak arteriyel kan basıncı artmaktadır. Hipertansiyon hastasında damar çeperinin uzun süre yüksek basınca maruz kalırsa ateroskleroz oluşmaktadır. Bu durumda konjestif kalp yetmezliği, miyokard infarktüsü, diğer kardiyovasküler hastalık oluşma riski yükselmektedir. Hipertansiyon tedavisi ve kontrol altında tutulması zamanla gelişebilecek hastalıkların önlenmesi için de önem taşımaktadır (İlerigelen, 2005; Kayaalp, 2012).

Antihipertansif ilaç grubunda başlıca beş ilaç sınıfı yer almaktadır (Türk Kardiyoloji Derneği, 2018). Bunlar diüretikler, beta blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokerleridir (ARB).

Diüretikler, böbrek tubuluslardan sodyum ve su geri Emilimini inhibe ederek vücuttan atılımını artırmaktadırlar. Hücre dışı sıvı hacmi azalarak kalp debisi ve böbrek kan akımı düşmektedir. (Kayaalp, 2012; RxMediapharma®, 2020). Orta ve ağır hipertansiyon hastalarında diğer bir gruptan antihipertansif ilaçla kombine kullanılabilir. Beta blokerler, kalp debisini, renin salınımını, pre-sinaptik norepinefrin salınımını azaltarak ve santral etkiyle kan basıncını düşürmektedirler (İlerigelen, 2005). ADE inhibitörleri, damarları genişleterek (anjiyotensin-II oluşumunu önleyerek ve bradikinin yıkımını azaltarak), damar hipertrofisini ve

sempatik sinir sistemi aktivitesini azaltarak kan basıncını azaltmaktadırlar. ARB, anjiyotensin II nin kardiyovasküler ve diğer yapılardaki etkisine aracılık eden iki tür reseptörü vardır. Kardiyovasküler sistemdeki ve diğer birçok etkilerine AT1 reseptörleri aracılık eder. Tedavide kullanılan ARB anjiyotensin II ile yarışmaya girerek onun reseptöre bağlanmasını ve etkilerini antogonize etmektedirler. Kalsiyum kanal blokerleri, sitoplazma membranındaki voltaja bağımlı kalsiyum kanal proteini üzerindeki özel bağlanma yerleri olup kalsiyum girişini azaltırlar. Bu etkiler damar düz kası ve kalp hücreleri düzeyinde olmakta ve damarları gevşetebilmektedirler (Kayaalp, 2012; Duraisamy ve ark., 2017).

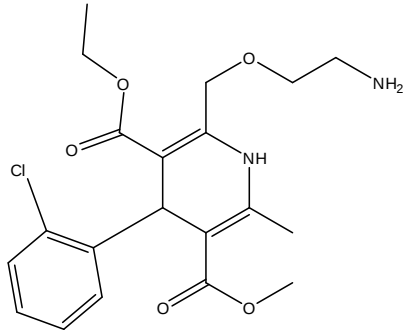
Antihipertansif ilaçlar genel olarak iki ya da üç etken madde içeren karışımlar şeklinde bulunmaktadır. Monoterapiye yanıt alınamayan hipertansiyon hastalarında kombinasyon tedavisi uygulamak en iyi yollardan biridir (Türk Kardiyoloji Derneği, 2018). RX media kapsamındaki farmasötik preparatlar incelendiğinde çok fazla sayıda antihipertansif müstahzar vardır. Kalsiyum kanal blokerleri, hipertansiyon tedavisinde ADE inhibitörleri ya da ARB ile birlikte kullanılabilirler. Kombinasyon tedavileri etken maddelerin tek başına yapacakları antihipertansif etkiden daha etkili olduğu düşünülmektedir (Kayaalp, 2012).

1.2. Kullanılan Etken Maddelerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

1.2.1. Amlodipin

1.2.1.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.1. Amlodipin molekül formülü

Kapalı formülü: $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$

Kimyasal okunuşu: (RS)-3-etil-5-metil-2-(2-aminoetoksimetil)-4-(2-klorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat

Molekül ağırlığı: 408,88 g/mol

Görünüş: Beyaz renkli bir tozdur.

Saklama koşulları: Oda sıcaklığında 15-30 °C’de iyi kapatılmış kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır.

Çözünürlük: Su ve izopropil alkolde zor çözünür, metil alkolde çözünür.

pK_a: 9,4

log P_(o/w): 3

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.1.2. Farmakolojik Özellikleri

Amlodipin besilat (AML) dihidropiridin grubu kalsiyum iyon akışı inhibitörüdür. Kalsiyumun hücre içi konsantrasyonu, düz kas tonusunun korunmasında ve miyokardın kasılmasını sağlamaktadır. Kalsiyum kas hücrelerine özel, voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından girmektedir. Kalsiyum kanal blokerleri kalsiyumun hücre içine girişini, koroner arterler ile periferik damarların düz kaslarındaki ve kalpteki L-tipi kalsiyum kanallarına bağlanarak engel olmaktadır. AML metabolik advers etkilere neden olmamakta ve astım, diyabet hastalarında kullanılabilmektedir (Kayaalp, 2012).

Oral kullanımdan sonra iyi absorbe olmaktadır ve kısa yarılanma ömrü vardır (üç-sekiz saat). Gıda ile alınması, AML'nin emilimini değiştirmemektedir. Hipertansiyonun kontrol altına alınabilmesi için günde tek doz alımından sonra kan basıncında 24 saatlik süre boyunca klinik olarak anlamlı azalmalar oluşturmaktadır. Etkisinin yavaş başlaması nedeniyle akut hipotansiyona neden olmamaktadır. AML karaciğerde metabolize olarak aktif olmayan metabolitlerine dönüşmektedirler (Howland ve ark., 2006; RxMediapharma®, 2020).

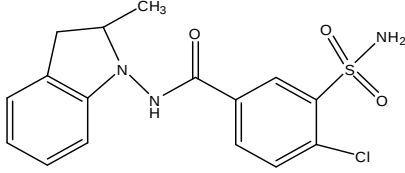
AML oral olarak kullanılan kalsiyum kanal blokörüdür. Hipertansiyon, kronik stabil anjina pectoris tedavisinde kullanılır. AML nifedipin ve dihidropiridin grubunun diğer üyelerine benzer güçlü periferik vazodilatördür. Grubun yarılanma ömrü en uzun üyesi olması nedeniyle günde tek doz halinde kullanılabilir.

Tedavi sırasında en çok görülen yan etkiler uyku hali, sersemlik, baş ağrısı, yüzde kızarıklık, karın ağrısı, bulantı, eklem şişmesi, ödem ve yorgunluktur. Çok seyrek olarak trombositopeni, lökopeni, alerjik reaksiyon, hiperglisemi görülebilmektedir (RxMediapharma®, 2020).

1.2.2. İndapamid

1.2.2.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.2. İndapamid molekül formülü

Kapalı formülü : C₁₆H₁₆ClN₃O₃S

Kimyasal okunuşu : 4-kloro-N-(2-metil-1-indolinil-3-sülfamoilbenzamit

Molekül ağırlığı: 365,832 g/mol

Görünüş: Beyaz veya beyaza yakın renkte, kristalize bir tozdur.

Saklama koşulları: 30 °C'nin altındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır.

Çözünürlük: Suda çözünmez. Metil alkol, asetonitril, glasiyel asetik asit ve etil asetatta çözünür, eter ve kloroformda çok az çözünmektedir.

pK_a: 8,8

log P_(o/w): 2,9

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.2.2. Farmakolojik Özellikleri

İndapamid (İND), farmakolojik olarak tiazid grubu diüretiklere benzeyen ve indol halkası içeren bir sülfonamid türevi diüretik ilaçtır. Sodyum reabsorbsiyonunu inhibe ederek etki ederek etkide bulunmaktadır. İdrarla sodyum ve klorür atılımını ve daha düşük bir düzeyde potasyum ve magnezyum atılımını artırarak antihipertansif özellik gösterdikleri saptanmıştır. Lipit ve glikoz metabolizmasını etkilemediği bulunmuştur. Esansiyel hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır.

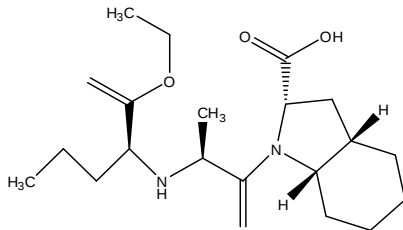
İND gastrointestinal kanaldan hızla ve tümüyle absorbe edilmektedir. Yiyecekler, absorbsiyon hızını çok az artırmaya rağmen absorbe olan ilaç miktarını etkilememektedir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı % 79'dur. Eliminasyon aktif olmayan metabolitler şeklinde temel olarak idrar yoluyla olmaktadır.

Pek çoğu hafif ve geçici olmak üzere baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk, kas krampları, el ve ayak uçlarında uyuşma, sinirlilik ve ajitasyondur. Ayrıca bazı gastrointestinal bozukluklar, ciltte alerjik reaksiyonlar, özellikle diabetiklerde hiperglisemi, bazı hastalarda hiperürisemi ve gut ataklarına, elektrolit dengesizliklerine neden olabilir (RxMediapharma®, 2020).

1.2.3. Perindopril

1.2.3.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.3. Perindopril molekül formülü

Kapalı formülü: C₁₉H₃₂N₂O₅

Kimyasal okunuşu: (2S,3aS,7aS)-1-((S)-3-((S)-2-etoksihekz-1-en-3-ilamino) büt-1-en-2-il)oktahidro-1H-indol-2- karboksilik asit

Molekül ağırlığı: 368,474 g/mol

Görünüş: Beyaz veya beyaza yakın renkte, hafif nem çekici, kristalize bir tozdur.

Saklama koşulları: 30 °C'nin altındaki oda sıcaklığında hava geçirmeyen kaplarda saklanmalıdır.

Çözünürlük: Suda ve alkolde çözünür, diklorometanda az çözünmektedir.

log P_(o/w): 2,6

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.3.2. Farmakolojik Özellikleri

Perindopril erbumin (PER) anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştüren enzimi bloke ederler. Dönüştürücü enzim aynı zamanda bradikinin yıkılmasını sağlamaktadır. Vazodilatasyon anjiyotensin II'nin konsantrasyonunun azalmasıyla ve artmış bradikinin güçlü vazodilatör etkisinin ortak sonucu olarak ortaya çıkar. PER hafif, orta ya da ileri her derecede hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Periferel vasküler direnci azaltarak kan basıncını azaltmaktadır.

Oral alım sonrası PER'in emilimi hızlıdır. İdrarla atılır. Böbrek ve kalp yetmezliği olan hastalarda ve yaşlılarda eliminasyon azalmaktadır.

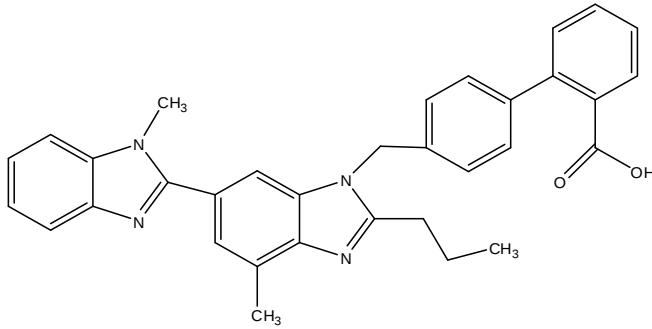
Esansiyel hipertansiyonda, kardiyak olay riskini azaltmada, konjestif kalp yetersizliği tedavisinde, daha önce diüretiklerle tedavi edilen arteriyel hipertansiyonda, renovasküler hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır.

Baş dönmesi, uyku bozuklukları ve huzursuzluk gibi yan etkiler nadir ve hafif olup genellikle tedavinin başlangıcında görölmektedir. Ayrıca tat alma bozuklukları, spazm, kabızlık, dispepsi gibi spesifik olmayan sindirim şikayetleri, vertigo ve tinnitus, deri döküntüleri, eklem boyun ve sırt ağrısı, terleme, konjuktivit, rinit, kusma görölebilmektedir. Tedavinin başlangıcında hemoglobin miktarlarında hafif yükselmeler görölebilmektedir. Bu belirtiler tedavinin kesilmesi ile kendiliğinden normale dönmektedir (RxMediapharma®, 2020).

1.2.4. Telmisartan

1.2.4.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.4. Telmisartan molekül formülü

Kapalı formülü: C₃₃H₃₀N₄O₂

Kimyasal okunuşu: 4-((1,7-dimetil-2-propil-2,5-bibenzol[d]imidazol-3-il) metil) bifenil -2 karboksilik asit

Molekül ağırlığı: 514,62 g/mol

Görünüş: Beyaz veya hafif sarımsı, kristalize bir tozdur.

Saklama koşulları: 15-30 °C arasındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır. Tabletleri kullanılmadan hemen öncesine kadar ambalajından çıkarılmamalıdır. Hava geçirmez kaplarda saklanmalıdır. Işıktan korunmalıdır.

Çözünürlük: Suda çözünmez, diklorometanda az çözünür.

log P_(o/w): 8,42

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.4.2. Farmakolojik Özellikleri

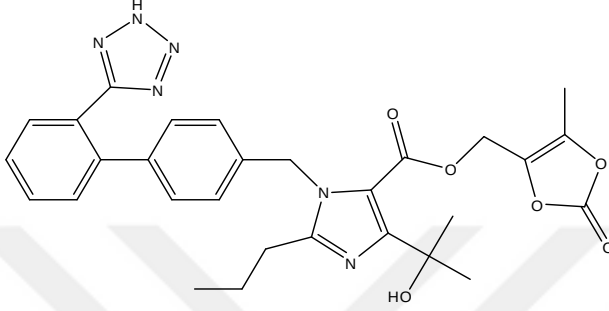
Telmisartan (TEL), hipertansiyon ve kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan anjiyotensin II reseptör antagonistidir. TEL plazma aldosteron düzeylerini azaltmaktadır ve insan plazmasındaki renini inhibe etmemekte veya iyon kanallarını bloke etmemektedir. Bradikininin parçalayan enzim olan ADE de inhibe etmemektedir. Bu nedenle bradikininin aracılık ettiği istenmeyen etkileri şiddetlendirmesi beklenmemektedir.

TEL'in absorpsiyonu hızlı olmaktadır. Albümin ve alfa-1 asit glikoprotein olmak üzere plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanmaktadır. Metabolizasyonu ana bileşiğin glukoronidlere metabolizasyonu ile olmaktadır. Oral ve intravenöz uygulamadan sonra feçes yoluyla değişmemiş olarak atılımı gerçekleşmektedir (Kayaalp, 2012).

1.2.5. Olmesartan

1.2.5.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.5. Olmesartan molekül formülü

Kapalı formülü: C₂₉H₃₀N₆O₆

Kimyasal okunuşu: (5-metil-2-okso-2H-1,3-dioksol-4-il)metil4-(2-hidroksi propan-2-il)-2-propil-1-({ 4-[2-(2H-1,2,3,4-tetrazol-5-il)fenil]fenil } metil)-1H imidazol-5 karboksilat

Molekül ağırlığı: 558,585 g/mol

Görünüş: Sarı beyaz bir toz veya kristalize halde bulunmaktadır.

Saklama koşulları: 15-30 °C arasındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır. Tabletleri kullanılmadan hemen öncesine kadar ambalajından çıkarılmamalıdır. Hava geçirmez kaplarda saklanmalıdır. Işıktan korunmalıdır.

Çözünürlük: Suda çözünmez, metanolde az çözünür.

log P_(o/w): 3,63 (RxMediapharma®, 2020)

1.2.5.2. Farmakolojik Özellikleri

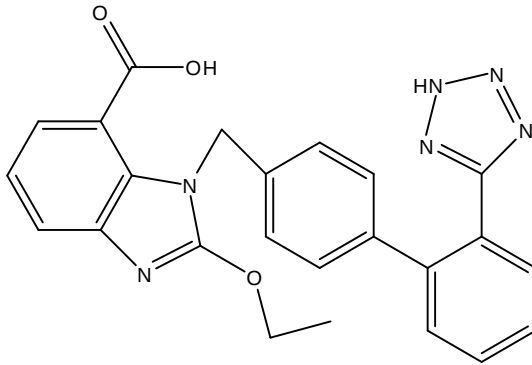
Anjiyotensin II'yi vasküler düz kasta yer alan AT1 reseptör alt tipini antogonize etmektedir. Olmesartan medoksomil'in (OLM) AT1 reseptörlerini bloke etmesine cevap olarak dolaşımdaki renin ve anjiyotensin II seviyeleri artmaktadır. Artışlar OLM'nin hipotansif etkisini etkilememektedir.

OLM oral yoldan kullanılmaktadır. Gastrointestinal absorpsiyonu sırasında farmakolojik olarak aktif metaboliti olan olmesartana dönüştürülmektedir. Olmesartan plazma proteinine yüksek ölçüde bağlanmaktadır (RxMediapharma®, 2020).

1.2.6. Kandesartan

1.2.6.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.6. Kandesartan molekül formülü

Kapalı formülü: $C_{24}H_{20}N_6O_3$

Kimyasal okunuşu: 2-Etoksi-1-{4-[2-(1H-tetrazol-5-il)fenil] benzil} benzimidazol-7-karboksilik asit

Molekül ağırlığı: 440,45 g/mol

Görünüş: Beyaz ya da beyaza yakın renkte bir tozdur.

Saklama koşulları: 30 °C'nin altındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır.

Çözünürlük: Suda çözünmez, metanolde az çözünür.

log P_(o/w): 4,79

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.6.2. Farmakolojik Özellikleri

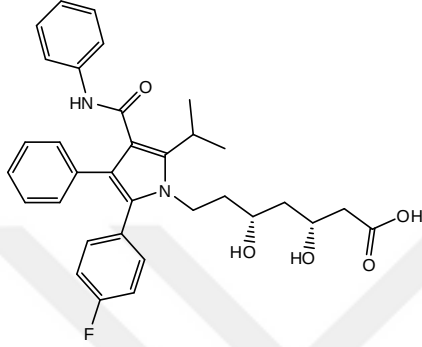
Kandesartan sileksetil (KND) hipertansiyonlu hastalarda kan basıncının kontrol altına alınması için oral yoldan kullanılan anjiyotensin II reseptör antagonistidir ve anjiyotensin II'nin AT₁ reseptör alt tipini antogonize etmektedir. Ayrıca adrenal bezden aldosteron salımını uyarmaktadır. Böylece KND anjiyotensin II'nin etkilerini bloke ederek kalp hızında önemli bir değişiklik yapmadan sistemik vasküler direnci azaltmaktadır. AT₁ reseptörlerinin bloke edilmesine bağlı olarak dolaşımdaki renin ve anjiyotensin düzeyleri artmaktadır.

Oral alındıktan sonra ortalama doruk serum konsantrasyonuna 3-4 saatte ulaşılmaktadır. KND'nin serum konsantrasyonu, ilacın dozu terapötik doz aralığında artırıldığında, doğrusal olarak artmaktadır. Biyoyaralanımı besinlerden etkilenmemektedir. Yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanmaktadır. Yarılanma ömrü yaklaşık dokuz saattir. İdrar ve safra yolu ile atılmaktadır çok az bir kısmı karaciğerde metabolize edildikten sonra atılmaktadır (Howland ve ark., 2006; RxMediapharma[®], 2020).

1.2.7. Atorvastatin

1.2.7.1. Kimyasal Yapı

Maddenin Molekül Yapısı



Şekil 1.7. Atorvastatin molekül formülü

Kapalı formülü: $C_{33}H_{35}FN_2O_5$

Kimyasal okunuşu: 7-(2-(4-florofenil)-5-izopropil-3-fenil-4-(fenilkarbomoil)-1H-pirol-1-il)-3,5-dihidroksiheptanoik asit

Molekül ağırlığı: 558,25 g/mol

Görünüş: Beyaz ya da beyaza yakın renkte bir tozdur.

Saklama koşulları: 25 °C'nin altındaki oda sıcaklığında saklanmalıdır.

Çözünürlük: Suda çok az çözünür, metanolde az çözünür.

log P_(o/w): 6,36

(RxMediapharma[®], 2020)

1.2.7.2. Farmakolojik Özellikleri

Atorvastatin kalsiyum (ATO) hiperkolestrolemi tedavisinde kullanılan statin grubu bir ilaçtır. HMG-KoA redüktazı baskıladığı için karaciğerde kolesterol biyosentezini baskılayarak plazma kolesterolünü ve serum lipoprotein düzeylerini düşürmektedir.

ATO sitokrom P450 CYP3A4 ile metabolize olmaktadır. CYP3A4 ya da taşıyıcı proteinlerin inhibitörleri olan ilaçlarla eş zamanlı kullanılması ATO plazma konsantrasyonlarında ve ve miyopati riskinde artışa neden olabilmektedir.

Oral uygulamadan sonra hızla absorbe olmakta ve en yüksek plazma konsantrasyonlarına bir ile iki saat arasında ulaşmaktadır. Emilim derecesi ve plazma ATO konsantrasyonları, ATO dozu ile orantılı olarak artmaktadır. Plazma proteinlerine yaklaşık % 98,0 oranında bağlanmaktadır. ATO büyük oranda karaciğerde metobolize edildikten sonra safra ile atılmaktadır. Ortalama plazma eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 14 saattir (Howland ve ark., 2006).

1.3. Tez Kapsamında Çalışılan Etken Maddelerle Yapılan Çalışmalar

Tez kapsamında üzerinde çalışılan antihipertansif etkili etken maddelerin son on yılda yapılan analitik çalışmalardan bazıları aşağıda sunulmuştur.

1.3.1. Amlodipin İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.3.1.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Yilmaz ve Yilmaz (2020), tarafından diferansiyel puls voltametri (DPV) ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (YPSK) kullanarak farmasötik preparatlarda rosuvastatin (ROS) ve AML'nin aynı anda belirlenmesi için iki hızlı, hassas ve spesifik yöntemler geliştirilmiştir. Platin disk elektrot kullanılarak ROS ve AML

elektrokimyasal davranışı ve aynı anda voltametrik tayini araştırılmıştır. Karşılaştırma için YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Hareketli fazın akış hızı 1,0 mL/dk ve tüm ölçümler, UV dedektör kullanılarak 225,0 nm'de gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisi, DPV için 0,5-4,0 µg/mL ve YPSK için 0,12 µg/mL konsantrasyon aralığında oluşturulmuştur. Gün içi ve günler arası bağıl standart sapma (BSS), DPV ve YPSK için sırasıyla % 2,96 ve % 3,07'den azdır. DPV ve YPSK için tayin limitleri sırasıyla 0,21 ve 0,06 µg/mL olarak belirlenmiştir. Her iki ilaç da bozunma ürünleriyle birlikte 8,0 dakikadan (dk) daha kısa sürede ayırım sağlanmıştır. Seçilen analiz koşullarında tablet yardımcı maddelerinden hiçbir etkileşim bulunmamıştır. Yöntemler, ROS ve AML etken maddelerinin farmasötik preparatlarda kalite kontrolü için uygulanmıştır.

El-Bagary ve ark. (2017), farmasötik preparatlarda perindopril arjinin (PRD), AML ve İND maddelerinin aynı anda miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. Ters faz sıvı kromatografi yöntemi PRD, AML ve İND için tek başına ve ikili karışımlarda valide edilmiş ve geliştirilmiştir. Kromatografik ayırım BDS Hypersil C₁₈ kolonda (100 × 3 mm, 5 µm) gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat tamponu (pH 2,6), metanol (50:50 h/h) içermekte, kolon sıcaklığı 50,0 °C ve akış hızı 0,6 mL/dk “izokratik ayırım” yapılmış, 215,0 nm dalga boyunda UV dedektörle ölçüm yapılmıştır. Doğruluk, kesinlik değerleri kabul edilebilir olarak bulunmuştur. Çalışma aralığı PRD için 5,0-80,0 µg/mL, AML için 2,5-80,0 µg/mL ve İND için 0,5-20,0 µg/mL dir. Analiz süresi yedi dakikadır.

Kumar ve ark. (2017), tarafından kombine şekilde bulunan preparatta AML ve İND miktar tayini için ters faz sıvı kromatografik yöntem geliştirilmiştir. Inertsil C₈ (150 mm x 4,6 mm) kolonda hareketli faz olarak pH değeri o-fosforik asit kullanılarak üçe ayarlanan KH₂PO₄ tampon:asetonitril (ACN) (70:30 h/h) sistemi kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 1,0 mL/dk olarak ayarlanmış ve 242,0 nm dalga boyunda analiz yapılmıştır. Geliştirilen metot seçicilik, doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, sağlamlık parametreleri ile valide edilmiştir.

Mohamed ve Lamie (2016a), kombine antihipertansif ilaçların aynı anda tayinini ters faz YPSK yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada AML, hidroklorotiyazid

(HYD) ve TEL'in üçlü karışımlarının miktar tayini, kısa analiz süresi sonucunda atık miktarı azaltılarak ve çevre için daha az zararlı hareketli faz kullanılarak yapılmıştır. Kromatografik ayırım Inertsil ODS-3 kolonda ($250 \times 4,6$ mm, 5 μ m) gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz 0,02 M fosfat tamponu (pH 7,0), etanol (30:70 h/h) içermekte, akış hızı 0,7 mL/dk izokratik ayırım yapılmış, 240,0 nm dalga boyunda UV dedektörle ölçüm yapılmıştır. Tüm analizler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Doğruluk, kesinlik değerleri kabul edilebilir olarak bulunmuştur. Çalışma aralığı TEL için 2,0-50,0 μ g/mL, AML için 5,0-50,0 μ g/mL ve HYD için 5,0-50,0 μ g/mL dir.

Kaila ve ark. (2013), ters faz ultra performans sıvı kromatografi yöntemini hipertansiyonda kombine tedavide kullanılan altı ilacın (atenolol, HYD, AML, İND, nifedipin, and lerkanidipin hidroklorid) aynı anda miktar tayini için geliştirmişlerdir. Ayırım 25,0 °C sıcaklıkta C₁₈ kolonda hareketli faz olarak 0,01 M, 4,0 pH fosfat tampon-acetonitril (50,0 + 50,0; h/h) 0,35 mL/dk akış hızında gerçekleştirilmiştir. Çalışma aralığı 1,0-20,0 μ g/mL arasındadır. Tanıma limiti atenolol (ATN) için 0,04 μ g/mL, hidrokolorotiyazid için 0,02 μ g/mL, AML için 0,03 μ g/mL, İND için 0,03 μ g/mL, nifedipin için 0,02 μ g/mL, lerkanidipin hidroklorid için 0,01 μ g/mL olarak bulunmuştur. Tüm ilaçlar için tek başına veya atenol ile kombinasyon preparatlarında tek hareketli faz kullanılarak analiz yapılabilir.

Gizawy ve ark. (2013), tarafından AML ve PER aynı anda analizi için ön ayırma işlemi yapılmaksızın üç tane basit, hassas ve seçici yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem oran spektrumu AML 348,0 nm dalga boyundaki eğrileri PER'in 50,0 μ g/mL konsantrasyonundaki spektruma oranı ve PER'in 227,0 nm dalga boyunda 30,0 μ g/mL AML oranı bulunup birinci türevi alınmıştır. İkinci yöntem iyon çifti ters faz YPSK kullanılarak yapılmıştır. Ayırım C₁₈ kolon kullanılarak hareketli faz olarak potasyum dihidrojen fosfat tamponu (0,05 M, pH $3,0 \pm 0,02$ ortofosforik asit kullanılarak ayarlanmıştır) : ACN 30:70 h/h 1,0 mL/dk akış hızında 215,0 nm dalga boyunda UV dedektörde yapılmıştır. Son yöntem ince tabaka kromatografidir (İTK). Ayırım silikajel 60 F₂₅₄ alüminyum plakada, n-bütanol:su:glasiyel asetik asit (4:5:1, h/h/h) hareketli faz olarak kullanılarak yapılmıştır. Önerilen metotlar ticari tabletlerin analizi için başarılı şekilde uygulanmıştır.

Wankhede ve ark. (2009), tarafından OLM ve AML aynı anda tayini için tablet formunda iki spektrofotometrik ve ters faz sıvı kromatografi yöntem geliştirilmiştir. Birinci UV spektrofotometrik yöntemde 237,5 ve 255,5 nm dalga boylarında aynı anda eşitlik yöntemi (simultaneous equation) kullanılarak 10,0-50,0 µg/mL konsantrasyon aralığında tayin edilmiştir. İkinci spektrofotometrik yöntemde yine 10,0-50,0 µg/mL konsantrasyon aralığında 242,5-232,5 ve 260,5-250,5 nm arasında eğri altında kalan alan yöntemi kullanılarak sırası ile AML ve OLM tayin edilmiştir. Ters faz sıvı kromatografi yöntem 238,0 nm dalga boyunda sabit faz olarak C₁₈ (4,6 x 250,0 mm) kolonda hareketli faz olarak 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat tamponu:ACN (50:50 h/h) kullanılarak yapılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk'dır. Alıkonma zamanı AML ve OLM için sırası ile 3,69 ve 5,36 dakikadır.

Ebeid ve ark. (2014), tarafından diüretik ilaç HYD'nin aynı anda tayini için, selektif β bloker ATN, kalsiyum kanal blokeri AML, bir ADE inhibitörü moeksipril hidroklorür, anjiyotensin II reseptör blokerleri olan valsartan (VAL) ve KND, renin inhibitörü olan aliskiren hemifumarat (ALS) gibi en yaygın olarak reçete edilen antihipertansif farmakolojik sınıfları temsil eden altı ilaçla birlikte ve iç standart olarak irbesartan kullanarak ters fazlı YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Kromatografik ayırma, Eclipse XDB-C-18 (4,6 x 150,0 mm, 5,0 µm) kolonda ACN/sodyum fosfat tamponu (0,02 M, pH 5,5) kullanılarak 1,0 mL/dk akış hızında 220,0 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Yöntem, ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. Yöntem, incelenen ilaçların her birinin HYD ile kombine formülasyonlarında tayini için başarıyla uygulandı. Geliştirilen yöntem, tayini yapılan ilaçların farmasötik dozaj formlarında kalite kontrolü ve rutin analizi için uygun olarak bulunmuştur.

Anandakumar ve ark. (2012), tarafından RP-C18 kolonu kullanılarak farmasötik formülasyonda AML, VAL ve HYD aynı anda tayini için ters fazlı YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Hareketli faz (ACN: metanol: ortofosforik asit ile pH 3'e ayarlanmış 50,0 mM fosfat tamponu), 20:50:30 h/h/h oranında kullanılmış ve 1,0 mL/dk akış hızında 239,0 nm'de analiz gerçekleştirilmiştir. Doğrusallık, AML için 0,5-5,0 µg/mL, VAL için 4,0-40,0 µg/mL ve HYD için 1,0-10,0 µg/mL konsantrasyon aralığında bulunmuştur. Yöntem, ICH kılavuzlarına göre ve istatistiksel olarak valide edilmiştir.

Yöntem, doğruluk ve kesinlik açısından değerlendirilmiştir. Kesinlik için varyans katsayısı 0,3794, 0,1703 ve 0,0578, doğruluk için ise AML, VAL ve HYD için sırasıyla 0,6351, 0,7688 ve 1,1305 bulunmuştur. Tüm ilaçlar için varyans katsayısı değerlerinin % 2'den az olduğu bulunmuştur, bu da önerilen YPSK yönteminin kesinlik ve doğruluğunu göstermektedir. Basitliği, hızı, yüksek kesinliği ve doğruluğu sayesinde önerilen YPSK yöntemi, AML, VAL ve HYD'yi farmasötik dozaj formunda belirlemek için uygulanabilmektedir.

1.3.1.2.Spektrofotometri

Attimarad ve ark. (2020), tarafından çözücü olarak % 50,0 h/h etanol su kullanılarak AML, HYD ve TEL'den oluşan antihipertansif formülasyonun üçlü bir karışımının aynı anda tayini için üç UV spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem, saf spektrumlar (371,0 nm) kullanılarak AML belirlenmesine dayanırken, HYD ve TEL, oran spektrumlarının ikinci türevinin (279,4 nm ve 314,7 nm) sıfır geçiş dalga boyundaki tepe yüksekliği ölçülerek tayin edilmiştir. İkinci yöntem, oran spektrumlarının iki farklı dalga boyunda en yüksek ve en düşük arasındaki absorpsiyon farkını belirleyerek gerçekleştirilmiştir (AML için 369,4 nm-297,5 nm; HYD için 272,1 nm, 241,5 nm; TEL için 297,2 nm, 272,7 nm). Üçüncü yöntem, oran spektrumlarının birinci türev spektrumlarının maksimum veya minimumlarının tepe noktalarının ölçülmesini içermektedir. (AML için 390,4 nm, TEL için HYD 288,1 nm için 278,9 nm) Tüm ilaçlar, önerilen üç yöntemde de kabul edilebilir bir korelasyon katsayısı ile iyi bir doğrusallık göstermektedir. ICH'e göre daha fazla doğruluk, kesinlik, duyarlılık, sağlamlık, geri kazanım çalışmaları ve seçicilik belirlenmiş ve sonuçlar kabul edilebilir aralıktadır. Ek olarak, önerilen teknikler, katı dozaj formundan AML, HYD ve TEL'in ölçümü için etkili bir şekilde uygulanmıştır. t-testi ve F testi kullanılarak analiz sonuçlarının karşılaştırılması, önerilen UV ve YPSK prosedürleri arasında önemli bir değişiklik olmadığını ortaya koyulmuştur. UV yöntemi basit, hızlıdır ve önerilen yöntemler, çok pahalı kromatografik yöntemlerle karşılaştırıldığında çevre dostu ve ekonomiktir. Bu nedenle, bu prosedürler endüstrilerde ve laboratuvarlarda rutin kalite kontrol muayenesi için kullanılabilir.

Patel ve ark. (2020), birinci dereceden türev yöntemi kullanılarak UV spektrofotometre ile ramipril ve AML eşzamanlı tayini için basit, kesin, doğru ve tekrarlanabilir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmada birinci dereceden türev yönteminin uygulanmasına karar verilmiş ve ICH (Q2 R1) kılavuzuna uygun olarak valide edilmiştir. Ramipril ve AML, distile su ile seyreltilerek sırasıyla 211,87 nm ve 254,34 nm dalga boyunda çalışılmıştır. Doğrusallık, sırasıyla 0,9990 ve 0,9980 korelasyon katsayısı ile ramipril ve AML için 2,0-25,0 µg/mL ve 2,0-50,0 µg/mL konsantrasyon aralığında oluşturulmuştur. Doğruluk, ramipril ve AML için sırasıyla % 99,91-101,06 ve % 99,66-100,66 arasında elde edilmiştir. Tanma limiti, ramipril ve AML için sırasıyla 0,078 µg/mL ve 0,059 µg/mL ve tayin limiti 0,239 µg/mL ve 0,178 µg/mL olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntemin tablet dozaj formunda ramipril ve AML tayini için rutin analizlerde uygun olduğu ortaya konulmuştur.

Trang ve ark. (2019), çalışmada, Kalman filtre algoritması için yaklaşık başlangıç konsantrasyon değerini (klasik en küçük kareler aracılığıyla) ve varyansı (Horwitz denklemi ile hesaplanan) seçmek için yeni yöntem geliştirmişlerdir. Bu çözümle, Kalman yönteminin daha az hata vermekte olduğu ve tam spektrumu kullanırken en küçük kareler yönteminden daha iyi tekrarlanabilirliğe sahip olduğu bulunmuştur. Farmasötik ürünlerde AML, HYD ve VAL aynı anda tayini için, Microsoft Excel 2016'da yazılan Kalman filtre algoritması ile birlikte tam spektrum ölçümü kullanılarak spektrofotometri-kemometrik yöntemine göre yapılmıştır. Yöntem,-tekrarlanabilirlik (incelenen üç bileşiğin tümü için % 2,2 ile % 2,3 (n = 3)) ve geri kazanım (AML için % 90,0 -% 94,0; HYD için %90,3-% 94,5 ve VAL için % 98,5 -% 103,1 (n = 3)) ile tablet üzerinde doğrulanmıştır. Sonuçlar, YPSK yönteminden elde edilen ölçümlerle tutarlı olarak bulunmuştur.

Lotfy ve ark. (2019), tarafından yeni farmasötik kombinasyonun tayini için spektral sayısal faktör teknikleri geliştirilmiştir. Hem AML hem de ROS içeren yeni bir sabit doz kombinasyon tabletini kantitatif olarak belirlemek için spektral faktör manipülasyonunu kullanan beş basit, hızlı ve doğru spektrofotometrik yöntem valide edilmiştir. Bu yöntemler, indüklenen ikili dalga boyu, absorbans düzeltme, absorbans

çıkartma, amplitut düzeltme ve gelişmiş amplitut çıkarmadır. Karşılık gelen spektral faktörleri sırasıyla eşitlik, absorpsiyon, absorbans, amplitut ve birlik faktörüdür. AML ve ROS kalibrasyon eğrileri, korelasyon katsayıları $\geq 0,9990$ ile 3,0-21,0 µg/mL konsantrasyon aralığında optimum koşullar altında yukarıda bahsedilen tüm yöntemler için oluşturulmuştur. Seçicilik, belirtilen ilaçların laboratuvarda hazırlanmış sentetik karışımları analiz edilerek hesaplanmıştır. Bu yöntemler ve bildirilenler arasında karşılaştırmalı bir çalışma, istatistiksel olarak her iki sonuç arasındaki farkın önemsiz olduğu sonucuna vararak gerçekleştirilmiştir. Aslında önerilen spektral faktör tekniği, basitliği, hızlılığı ve kesinliği nedeniyle rutin laboratuvar analizlerinde kullanım için uygundur. Genel olarak, önerilen faktör prosedürleri, farmasötik kombinasyonun analiz verimliliğini bozabilecek yardımcı maddelere herhangi bir işleme gerek olmaksızın sorunsuz bir şekilde uygulanabilmektedir.

Moussa ve ark. (2016), ALS, AML ve HYD üçlü karışımının çakışan spektrumlarını ayırmak ve üç ilacı saf formda ve kombine dozaj formunda tayin etmek için uygulanan dört yeni spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem A, temel bileşen regresyonu ve kısmi en küçük kareler kemometrik yöntemleri kullanılarak ALS, AML ve HYD'nin aynı anda tayinine dayanmaktadır. Yöntem B'de, 274,5 nm'de (izosbestik nokta, A (izo)) absorbans ölçülerek ALS ve HYD'nin toplam konsantrasyonunun belirlenmesi için modifiye izosbestik spektrofotometrik yöntem uygulanmıştır. Öte yandan, ALS ve AML ile üçlü karışımdaki HYD konsantrasyonu, 279,0 nm'de ölçülerek birinci türev spektrofotometrik yöntem kullanılarak başka işlem olmaksızın hesaplanmıştır. Böylece, ALS içeriği çıkarma yapılarak hesaplandı. Metot C, çift bölen birinci türev oran spektrofotometrisi (çift bölen -D-1 metodu), bir ilacın tayini için, oran spektrumlarının, diğer iki ilacın absorpsiyon spektrumlarının çift bölen olarak farklı konsantrasyonlarının absorpsiyon spektrumlarının toplamına bölünmesiyle elde edilmesine dayanmaktadır. Elde edilen oran spektrumlarının birinci türevi daha sonra uygun düzleştirme (smoothing) faktörü kullanılarak kaydedilmiştir. Üçlü karışımlarında ALS, AML ve HYD'nin tayini için sırasıyla 291,0 nm, 380,0 nm ve 274,5 nm'deki amplitüdlere seçilmiştir. Yöntem D, oran spektrumlarının ortalamasına dayanmaktadır. 287,0, 295,5 ve 269,0 nm'deki ortalama değerler kaydedilmiş ve sırasıyla ALS, AML ve HYD'nin tayini için kullanılmıştır. Geliştirilen

yöntemler ICH kılavuzuna göre doğru, kesin ve seçici olduğu belirlenmiştir. Önerilen yöntemler farmasötik dozaj formunun analizine uygulanarak doğru sonuçlar elde edilmiştir.

Mohamed ve Lamie (2016b), tarafından hipertansiyon tedavisi için TEL, HYD ve AML, karışımlarının aynı anda tayini için üç spesifik ve hassas spektrofotometrik yöntem uygulanmış ve valide edilmiştir. Metot A, incelenen ilaçların üçlü karışımının AML spektrumuna bölünmesine dayanan ve AML konsantrasyonunun 360.0 nm'de plato bölgesinde amplitut değerleri ölçülerek elde edilebileceği bölünme spektrumunu elde etmeye dayanan, çıkarılmış spektrumdaki oran izoabsorbtif nokta ve oran farkıdır. Daha sonra plato bölgesinin amplitut değeri, bölme spektrumundan çıkarılmış ve HYD konsantrasyonu, 278,5 ve 306,0 nm'de amplitut değerlerindeki farkın ölçülmesiyle elde edilirken, karışımdaki HYD ve TEL'in toplam konsantrasyonu 278,5 nm'de bölünme spektrumundaki izoabsorbtif noktasında ölçülmüştür. TEL konsantrasyonu daha sonra çıkarma ile elde edilmiştir. Yöntem B; çift bölen oranlı spektrum türevi spektrofotometri ve yöntem C; ortalama oran spektrumlarının spektrofotometrik yöntemlerinin ortalanmasıdır. Önerilen yöntemler, üç ilacın analizinden önce herhangi ön ayırma aşaması gerektirmedi. Üç yöntem arasında basitlik, duyarlılık ve sınırları bakımından karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır. Özgünlük, incelenen üç ilacın farklı oranlarını içeren sentetik karışımlar ve bunların tablet dozaj formları analiz edilerek araştırılmıştır. Elde edilen sonuçların resmi yöntemlerle bulunanlarla istatistiksel karşılaştırması yapıldı, farklılıklar doğruluk ve kesinlik açısından önemsiz bulunmuştur. Üç yöntem, ICH yönergelerine uygun olarak doğrulanmıştır ve TEL HYD ve AML için kalite kontrol laboratuvarlarında kullanılabilir yöntemdir.

Darwish ve ark. (2016), tarafından tablet dozaj formlarında asidik bozunma ürünlerinin varlığında AML ve ATO aynı anda tayini için iki gelişmiş, doğru ve kesin kemometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem Kısmi En Küçük Kareler (PLS-1) ve ikincisi Yapay Sinir Ağlarıdır (artificial neural networks ANN). Uygun analiz için, karışan türlerin farklı oranlarını içeren yirmibeş karışımla sonuçlanan beş faktörlü beş seviyeli deneysel tasarım oluşturulmuştur. Kalibrasyon seti olarak on beş karışım kullanılmış ve diğer on karışım, önerilen modellerin tahmin yeteneğini doğrulamak

için doğrulama seti olarak kullanılmıştır. Önerilen yöntemler, AML ve ATO içeren farmasötik tabletlerin analizine başarıyla uygulanmıştır. Yöntemlerde, bahsedilen modellerin beşli karışımın spektrumlarını tayin etmek için UV-VIS spektrofotometre gibi ucuz ve kullanımı kolay aletler kullanılabileceğini göstermektedir.

Hassan ve ark. (2016), üçlü karışımların ön ayırma işlemi olmaksızın belirlenmesi için yeni spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yeni yöntem, çift bölen oran spektrumlarının ortalamasına dayanmaktadır. Prosedürün matematiksel açıklaması gösterilmiştir. Yöntem, üçlü karışımın belirlenmesi ve AML, ALS ve HYD laboratuvarında hazırlanmış karışımlarda ve ticari farmasötik preparatta tayini ile uygulanmıştır. Yeni yöntemin avantajlarının ve uygulanabilirliğinin düzgün şekilde sunulması için, çift bölücü oran spektrumlarının yeni ortalaması ile üçlü karışımların analizi için kullanılan benzer iki yöntem, yani ortalama merkezleme ve çift oran spektrum türev spektrofotometrinin çift bölen yöntemleri oluşturulmuştur. Yöntem ayrıca farmasötik preparatın analizi için rapor edilen yöntemle karşılaştırılmıştır. Yöntem, ICH kılavuzuna göre doğrulanmış ve doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik ve sağlamlığın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu bulunmuştur.

Saad ve ark. (2016), tarafından UV-spektrofotometrinin seçiciliğini arttırmak için farklı yöntemler getirilmiştir, böylece birlikte formüle edilmiş bileşenlerin doğru şekilde tayini sağlanmıştır, ancak karışımdaki bileşenler geniş absorptivite gösteriyorsa uygulanması zor olmaktadır. Koabsorptif nokta yönteminde (KNY) geliştirilen oran farkı, söz konusu sorun için basit çözüm olmuştur; burada ışık absorbansının toplanabilme özelliği, iki bileşenin belirli dalga boyunda (koabsorptif nokta) daha düşük absorptivite bileşeninin katları olarak dikkate alınmasını toplam konsantrasyon katlarının belirlenebildiği, diğer bileşen ise seçici olarak oran farkı yöntemi uygulanarak tek adımda belirlenmesini sağlamaktadır. PRD ve AML karışımı, PRD AML'ye göre düşük absorptivitesinin PRD seçici spektrofotometrik tayinini engellediği durumlarda sorun oluşturmaktadır. Geliştirilen yöntem ile, PRD ve AML için sırasıyla 99,39 +/- 1,60 ve 100,51 +/- 1,21 doğrulukla spektrumların üst üste gelen bölgesindeki her iki bileşeni de başarıyla tayin edilmiştir.

Elghobashy ve ark. (2016), kombine dozaj formlarında ALS ve AML tayini için beş basit, duyarlı ve hızlı spektrofotometrik yöntem sunmuşlardır. Bu yöntemler, AML 360,0 nm'de ALS'nin etkileşiminin olmaması nedeniyle doğrudan ölçülmesine dayanmaktadır, ortalama geri kazanım yüzdesi 100,41 +/- 0,65 ile 5,0-35,0 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. ALS, önceden ayırma yapılmadan; (A) 290,0 nm'de birinci türev değerleri, (B) bölen olarak 35,0 µg/mL AML ile 249,0 nm ve 286,4 nm'deki değerleri kullanan oran farkı yöntemi, (C) bölen olarak 35,0 µg/mL AML kullanan 290,6 nm'deki türev oranı değerleri, (D) 280,4 nm 'de değerleri kullanan oran çıkarma yöntemi, (E) 270,1 nm izosbestik noktada absorbans ölçümü yöntemleri ile tayin edilmiştir. Bu yöntemler, ALS için 30,0-150,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal bulunmuştur. Önerilen yöntemler, laboratuvarı hazırlanmış karışımlar kullanılarak ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizi, önerilen ve bildirilen yöntemler arasında doğruluk ve kesinlik açısından önemli farklılık göstermemiştir. Önerilen yöntemler, çalışılan iki ilaçla ilgili olarak basit, doğru ve seçici bulunmuştur.

Elzanfaly ve ark. (2015), tarafından her yöntem için teorik algoritmayı gösteren ve aralarında karşılaştırma yaparak avantaj ve sınırlamaları gösteren iki sinyal işleme tekniği arasında karşılaştırmalı çalışma yapılmıştır. İncelenen yöntemler Sayısal Türev (ST) ve Sürekli Dalgacık Dönüşümüdür (SDD). Yöntemler, ikili ve üçlü karışımların aynı anda analizi için spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Karşılaştırma için, ikili karışımlarında Bisoprolol ve HYD tayini için ve üçlü karışımlarda AML, ALS ve HYD analizi için iki yöntem uygulanmıştır. Laboratuvarı hazırlanan karışımlarda elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak, SDD tekniğinin örtüşen spektrumlara sahip karışımların analizinde ST'den daha verimli ve avantajlı olduğu kanıtlanmıştır. İlaç formülasyonlarında ilaçların kantitatif tayini için SDD uygulanmış ve doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik ve sağlamlığın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu ICH kılavuzlarına göre doğrulanmıştır.

Lamie (2015), tarafından tabletlerde AML ve ATN aynı anda tayini için üç basit, spesifik, doğru ve kesin spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem çift dalga boyu spektrofotometridir. İkinci yöntem, oran spektrumunun (1 DD) birinci

türevine bağılı olarak, oran spektrumundan plato değerlerinin çıkarılmasına bağılı olan oran çıkarmadır (RS). Üçüncü yöntem, AML ve ATN için optimum dalga boyu çifti olarak 210,0 ve 225,0 nm kullanan iki değışkenli kalibrasyon yöntemini uygular. Kalibrasyon eğırleri, her iki ilaç için 4,0-40,0 µg/mL konsantrasyon aralığı üzerinde doğrusaldır. Geliştirilen yöntemlerin özgülülüğü için, iki ilacın laboratuvarda hazırlanmış karışımları ve bunların kombine dozaj formları analiz edilmiştir. İki yöntem, ICH kılavuzuna göre doğrulanmış ve rutin kalite kontrol testleri için uygulanabilmektedir.

Merey ve ark. (2014), AML'nin 364,6 nm'de tayin edildiğı AML, OLM ve HYD içeren üçlü bir karışımın aynı anda tayini için dört, doğru, kesin ve hassas spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Yöntem (A), sırasıyla 254,4 ve 338,6 nm'de oran spektrumlarının ikinci türevini ölçerek OLM ve HYD'nin belirlenmesine dayanmaktadır. Yöntem (B), OLM ve HYD için sırasıyla 260,4 ve 273,0 nm'de çift bölen oran spektrumlarının birinci türevidir. Yöntem (C), ardışık spektrofotometrik rezolusyon tekniğine dayanmaktadır. Yöntem, oran çıkarma yöntemiyle başlamakta ve ardından OLM ve HYD'yi 260,0 nm'de izoabsorptif noktalarında ölçerken, HYD 335,2 nm'de birinci türev eğırisi kullanılarak ölçülmektedir. Yöntem (D), OLM ve HYD için sırasıyla 252,0 nm ve 220,0 nm'de oran spektrumlarının ortalamasını ifade etmektedir. Geliştirilen yöntemlerin özgülülüğü için, üç ilacın farklı oranlarını ve bunların birleşik dozaj biçimlerini içeren laboratuvarda hazırlanmış karışımları analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ofisinal veya bildirilen yöntemlerle elde edilenlerle istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve $p = 0,05$ 'te doğruluk ve kesinlik açısından anlamlı fark göstermemiştir.

Farouk ve ark. (2014), tarafından benazepril'in (BENZ) tek başına ve farmasötik dozaj formunda AML ile kombinasyon halinde tayini için dört basit, doğru, tekrarlanabilir ve seçici yöntem geliştirilmiş ve daha sonra doğrulanmıştır. İlk yöntem pH indüklü fark spektrofotometridir, BENZ, sırasıyla 0,1 N HCl ve 0,1 N NaOH'de 237,0 nm ve 241,0 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiğinden AML varlığında ölçülebilirken AML'nin her iki çözücünde de dalga boyu kayması yoktur. İkinci yöntem, her iki ilacın ticari dozaj formunda tayini için Oran Çıkarma Yöntemine bağılı

yeni Genişletilmiş Oran ıkarma Yöntemidir. Üçüncü ve dördüncü yöntemler, Ana Bileşen Regresyonu ve Kısmi En Küçük Kareler içeren çok değişkenli kalibrasyondur. Yöntemlerin validasyonu ICH kılavuzlarına göre gerçekleştirilmiş ve standart eğrilerin BENZ için fark ve genişletilmiş oran çıkarma spektrofotometrik yöntemi için 2,0-30,0 µg/mL aralığında doğrusal olduğu ve AML için genişletilmiş oran çıkarma yönteminde 5,0-30,0 aralığında her analit için kabul edilmiş ortalama korelasyon katsayısına sahip olduğu bulunmuştur. Gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk sonuçları kabul edilebilir sınırlar içerisinde tayin edilmiştir.

Darwish ve ark. (2013a), tarafından ticari tabletlerde AML, VAL ve HYD aynı anda tayini için dört basit, doğru ve spesifik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Türev spektrofotometrik yöntemler arasında Türev Oranı Sıfır Geçiş ve ift Bölücü Oran Spektra-Türev Spektrofotometri yöntemleri bulunurken, kullanılan çok değişkenli kalibrasyonlar Ana Bileşen Regresyonu ve Kısmi En Küçük Karelerdir. İlaçların laboratuvarında hazırlanmiş karışımlarda ve ticari farmasötik preparatlarda belirlenmesinde önerilen yöntemler başarıyla uygulanmiştir. Önerilen yöntemlerin geçerliliği standart ekleme tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Önerilen yöntemlerin doğrusallığı AML, VAL ve HYD için sırasıyla 2,0-32,0, 4,0-44,0 ve 2,0-20,0 µg/mL aralığındadır.

Darwish ve ark. (2013c), tarafından tablet dozaj formlarında AML ve ATO aynı anda tayini için iki dalga boyunun doğru seçimine bağlı olarak üç basit, spesifik, doğru ve kesin spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem yeni Oran Farkı yöntemi, ikinci yöntem bivariate yöntemi ve üçüncüsü absorbans Oranı yöntemidir. Kalibrasyon eğrisi, AML ve ATO için sırasıyla 4,0-40,0 ve 8,0-32,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Bu yöntemler, ilaçların sentetik karışımları analiz edilerek test edilmiş ve ticari farmasötik preparatlarına uygulanmiştir. Yöntemler ICH yönergelerine göre valide edilmiş ve doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik ve sağlamlığın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu bulunmuştur.

Darwish (2013), tarafından ticari tabletlerde OLM, AML ve HYD aynı anda tayini için ICH kılavuzlarına uygun olarak yeni, basit ve spesifik spektrofotometrik

yöntemler ve yapay sinir ağı (YSA) geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Spektrofotometrik yöntemler için: ilk olarak, AML 359,0 nm'de direkt spektrofotometri ile tayin edilmiş ve oran çıkarma uygulamasıyla AML spektrumu karışım spektrumlarından çıkarılmıştır. Daha sonra HYD, izoabsorptif yöntem kullanılarak belirlenebilen OLM ile etkileşim olmaksızın doğrudan 315,0 nm'de belirlendi. Kalibrasyon eğrisi, AML, OLM ve HYD için sırasıyla 5,0-40,0; 2,5-40,0 ve 2,0-40,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal olarak bulunmuştur. YSA (çok değişkenli kalibrasyon yöntemi olarak) ayrıca 230,0-340,0 nm spektral bölge kullanılarak kombine farmasötik dozaj formlarında üç analitin aynı anda tayini için uygulanmıştır. Önerilen yöntemler, laboratuvar da hazırlanmış karışımlarda ve kombine farmasötik tabletlerde üç analitin tayini için başarıyla uygulanmıştır. Farmasötik yardımcı maddeler ile hiçbir etkileşim gözlenmemiştir. Sonuçlar, referans spektrofotometrik yöntemle karşılaştırılmıştır. Yöntemler, ICH kılavuzlarına göre valide edilmiş ve doğruluk, kesinlik ve tekrarlanabilirlik kabul edilebilir sınırlar içinde bulunmuştur.

Darwish ve ark. (2013), tarafından OLM, AML ve HYD monoterapide “kan basıncı” yeterince kontrol edilemeyen hipertansif hastaların tedavisi için tek doz kombinasyon halinde birlikte formüle edilmiştir. Çalışmada, kombine farmasötik tabletlerinde OLM, AML ve HYD'nin aynı anda spektrofotometrik tayini için üç çok değişkenli kalibrasyon yöntemi uygulanmıştır Çok değişkenli yöntemler klasik en küçük kareler, temel bileşen regresyonu ve kısmi en küçük karelerdir. Sonuçlar, üçlü karışımın analizi için kısmi en küçük kareler yönteminin klasik en küçük kareler ve temel bileşen regresyonuna üstünlüğünü göstermiştir. Optimum test koşulları oluşturulmuş ve önerilen yöntemler, geri kazanım değeri göstermiş ve kombine farmasötik tabletlerde üç ilacın analizi için başarıyla uygulanmıştır. Farmasötik yardımcı maddelerinden hiçbir etkileşim gözlenmemiştir. Sonuçlar, referans spektrofotometrik yöntemle elde edilenlerle karşılaştırılmıştır.

Darwish ve ark. (2013b), tarafından üçlü karışımlarda AML, VAL ve HYD aynı anda tayini için ICH kılavuzlarına uygun olarak yeni, basit ve spesifik spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Çalışmada direkt

spektrofotometri, oran çıkarma ve izoabsorptif nokta olmak üzere üç yöntem kullanılmıştır. AML ilk olarak direkt spektrofotometri ile tayin edilmiş ve daha sonra karışım spektrumundan AML spektrumunu çıkarmak için oran çıkarma yöntemi uygulanmıştır. HYD daha sonra, izoabsorptif nokta teorisi kullanılarak belirlenebilen VAL ile etkileşim olmaksızın doğrudan belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi, AML, VAL ve HYD için sırasıyla 4,0-32,0, 4,0-44,0 ve 6,0-20,0 µg/mL konsantrasyon aralıklarında doğrusal olarak bulunmuştur. Yöntem, ilaçların sentetik karışımlarının analiz edilmesiyle test edilmiş ve ticari farmasötik preparatlara başarıyla uygulanmıştır. Yöntem, ICH kılavuzlarına göre valide edilmiş ve doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik ve sağlamlığın kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu bulunmuştur.

Sarrafi ve ark. (2011), tarafından ATO ve AML ikili karışımının en az ön işleme ve analit ayırma işlemi olmadan tayini, UV spektral verilerinin kısmi en küçük kare analizine dayanan hızlı bir yöntem kullanılarak başarıyla gerçekleştirilmiştir. Çok değişkenli kalibrasyon modelleme prosedürleri, geleneksel kısmi en küçük kareler (PLS-2), aralıklı kısmi en küçük kareler (iPLS) ve sinerji kısmi en küçük kareler (siPLS) yöntemleri tam spektrum modeli ile karşılaştırıldığında en az hatayı gösteren spektral aralığı seçmek için uygulanmıştır. Her iki analitin aynı anda belirlenmesi, 220,0-425,0 nm arasındaki numune absorbansının PLS ile tayini ile mümkün olmuştur. Sentetik karışımında ATO ve AML için korelasyon katsayıları (R) ve çapraz doğrulama için kök ortalama kare hatası, en iyi siPLS modellerinde sırasıyla 0,9991; 0,9958 ve 0,4538; 0,2411 idi. Optimize edilmiş yöntem, ATO tabletlerinde ATO ve AML'nin belirlenmesi için kullanılmıştır. Önerilen yöntem basit, hızlı, ucuzdur ve herhangi ayırma veya hazırlama yöntemine ihtiyaç duyulmadan yapılabilmektedir.

Leite ve ark. (2011), tarafından tabletlerde AML tayini için analitik yöntemler geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Basit, doğru ve kesin sıvı kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler uygulanmıştır. Kromatografik yöntem için koşullar: LiChrospher® 100 RP-18 Merck® (125 mm x 4,6 mm, 5 µm) kolon; hareketli faz olarak fosforik asit ile pH 5,0'a ayarlanmış % 1,0 trietilamin içeren metanol / su; 1,0 mL/dk'lık bir akış hızı ve 238,0 nm'de UV dedektör. Doğrusallık, korelasyon katsayısı (r) = 0,9999 ile 50,0-350,0 µg/mL aralığındadır. Spektrofotometrik yöntem için,

numunelerin ilk dilüsyonları metanolde ve sonra ultra saf suda gerçekleştirilmiştir. Miktar tayini 364,4 nm'de yapılmıştır. Doğrusallık 41,0 – 61,0 µg/mL aralığında, korelasyon katsayısı (r) = 0,9996 ile belirlenmiştir. Sonuçlar, AML içeren tabletlerin kalite kontrolü için rutin analizde her iki yöntemin de kullanılabileceğini göstermektedir.

Mohamed (2011), tarafından ön ayırma işlemi yapılmadan AML ve VAL aynı anda tayini için spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Yöntemde metanol çözelti içindeki AML, sıfır dereceli UV spektrofotometri kullanılarak VAL herhangi etkisi olmaksızın 360,5 nm'de absorbans ölçülerek analiz yapılmıştır. Sıfır derecedeki VAL spektrumu, AML spektrumu ile tamamen örtüşmektedir. Birinci, ikinci ve üçüncü türev, örtüşen spektrumlar tayin edilememiştir. Oran spektrum tekniğinin ilk türevi VAL analizi için uygulanmıştır. Oran spektrumu, karışımın absorpsiyon spektrumunun AML'ye bölünmesiyle elde edilmiştir, böylece VAL konsantrasyonu, 290,0 nm'de oran spektrumunun birinci türevinden tayin edilmiştir. AML ve VAL tayin limitleri sırasıyla 10,0-80,0 µg/mL ve 20,0-180,0 µg/mL idi. Yöntem, farmasötik formülasyonun kantitatif tayini için başarıyla uygulanmıştır.

Nagavalli ve ark. (2010), tarafından çalışmada, etken maddelerde ve formülasyonlarda losartan potasyum, AML ve HYD'nin eşzamanlı tayini için dört farklı spektrofotometrik yöntem uygulanmıştır. Veriler, kemometrik yöntemler, klasik en küçük kareler (CLS), çoklu doğrusal regresyon (MLR), ana bileşen regresyonu (PCR) ve kısmi en küçük kareler (PLS) kullanılarak kantitatif olarak tayin edilmiştir. Kalibrasyonlar, sıfır derece spektrumlarında 230,5-350,4 nm (delta lamda 0,1 nm) aralığındaki ölçümlerle, konsantrasyon veri matrisine karşılık gelen absorpsiyon veri matrisi kullanılarak oluşturulmuştur. Losartan potasyum, AML ve HYD için doğrusallık aralığı sırasıyla 8,0-40,0; 1,0-5,0 ve 3,0-15,0 µg/mL olarak bulunmuştur. Önerilen yöntemlerin geçerliliği, hazırlanan karışımlarda ve tablet formülasyonlarında ilaçların analizi için başarıyla uygulanmıştır.

1.3.1.3.Spektrofluorimetri

Mohamed ve ark. (2016), tarafından farmasötik formülasyonlarda ve insan plazmasında AML tayini için oldukça hassas ve basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Önerilen yöntem, Tween-80 misel sistemindeki AML'nin floresans spektral davranışının araştırılmasına dayanmaktadır. Sulu çözelti içinde, AML'nin floresan yoğunluğu Tween-80 varlığında büyük ölçüde artmıştır (% 160). Floresan şiddeti, 385,0 nm'de eksitasyondan sonra 427,0 nm'de ölçülmüştür. Floresans-konsantrasyon grafiği, 0,1-4,0 µg/mL konsantrasyon aralığında oluşturulmuş ve tanıma 0,03 µg/mL olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem, AML'nin analizi için farmasötik preparatlarda tek başına veya ATO veya VAL ile kombinasyon halinde uygulanmıştır. Önerilen yöntemin uygulanması, ICH yönergelerine göre asidik, alkalın, foto ve oksidatif koşullar gibi farklı zorlanmış bozunma koşullarına maruz kaldıktan sonra insan plazması ve AML'nin stabilite çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlar, karşılaştırma yöntemleriyle elde edilenlerle istatistiksel olarak karşılaştırılmış sonuçlar elde edilmiştir.

1.3.1.4.Kapiller elektroforez

Ebeid ve ark. (2015), tarafından kombine tabletlerde VAL, AML ve HYD aynı anda tayini için kapiler zon elektroforez yöntemi geliştirilmiştir. Ayırma, 15,0 kV (pozitif polarite) potansiyeli ve 230,0 nm'de UV dedeksiyon ile pH 7,5'te 40,0 mM fosfat tamponu içeren elektrolit uygulanarak silika kapiler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Örnekler hidrodinamik olarak üç saniye 0,5 psi'de enjekte edilmiş ve kapiler kartuşun sıcaklığı 25,0 °C'de tutulmuştur. Pirazinoik asit internal standart olarak kullanılmıştır. Yöntem, özgüllük, doğrusalılık, tanıma ve tayin limitleri, doğruluk ve kesinlik ile ilgili ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. Yöntem, VAL, AML ve HYD için sırasıyla 1,82; 0,39 ve 0,6511 µg/mL tanıma limiti ve 5,51; 1,17; 1,9614 µg/mL tayin limiti ve 10,0-200,0; 2,0-20,0 ve 2,0-2014,0 µg/mL aralıklarında doğrusalılık göstermiştir. Önerilen yöntem, çalışılan ilaçların analizinde laboratuvarda hazırlanan karışımlarda ve birlikte formüle edilmiş tabletlerde başarıyla uygulanmıştır. Sonuçlar bildirilen yöntemlerle karşılaştırılmış ve önemli farklılık bulunmamıştır.

Önerilen yöntem, tayini yapılan ilaçların laboratuvarlarda kalite kontrolü için kullanılabilir.

1.3.1.5.Voltametri

Scremin ve ark. (2020), tarafından yapılan çalışmada, poli (allilamin hidroklorür) film içinde karbon siyahı ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanan elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Yeni sensör taramalı elektron mikroskopu, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve redoks probu Fe kullanılarak siklik voltametri ile karakterize edilmiştir. Sensör, dopamin, parasetamol, AML ve ROS eş zamanlı tayini için uygulanmıştır. Dört analitin hepsinin tayini doğrusal süpürme voltametri ile gerçekleştirilmiş ve tüm analitler için 0,55; 1,3; 5,7 ve 3,0 mmol/L sırasıyla DA, PAR, AML ve ROS için uygulanmıştır. Sensör, analitlerin çevresel, farmasötik ve biyolojik numunelerde aynı anda tayininde başarıyla uygulanmıştır.

1.3.2. İndapamid İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.3.2.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Hassan ve ark. (2020), tarafından bisoprolol, PER ve bunların oluşabilecek üç degradasyon ürününün aynı anda tayini için hızlı, doğru ve seçici stabilite gösteren yöntem geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. İlk yöntem bir gradyan YPSK yöntemi, ikincisi kapiler elektroforez yöntemidir. Elde edilen bozunma ürünlerinin yapıları, kızılötesi ve kütle spektrometresi kullanılarak aydınlatılmıştır. Bisoprolol ve PER için doğrusallık, YPSK ve kapiler elektroforez yöntemleri için sırasıyla 1,0-20,0 µg/mL ve 5,0-30,0 µg/mL aralığında elde edilmiştir. Önerilen yöntemler ICH kılavuzlarına göre onaylanmıştır. YPSK yönteminin daha hassas olduğu kanıtlanmış ve elde edilen bozunma ürünleri kantitatif olarak tayin edilmiştir. Yöntem kombine farmasötik formülasyonlarında bisoprolol ve PER'in belirlenmesinde başarıyla kullanılmıştır.

Dawud ve Shakya (2019), HYD ve İND'nin farmasötik formülasyonlarda ile aynı anda tayini için basit, hızlı, kesin, doğru ve hassas YPSK yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntemi geliştirmek ve optimizasyonu yapmak için merkezi bileşik tasarım kullanan Deney Tasarımı uygulanmıştır. Hareketli faz, Design Expert yazılımı ve yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimize edilmiştir. Kromatografik ayırma, 25 °C'de Hypersil (R) -Gold C-18 (100 x 4,6 mm, 3 µm, Thermo Fisher Scientific, ABD), kolonda gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz içeriği % 58,0 tampon (5,0 mM KH₂PO₄, trietilamin 0,25 mL/L), % 25,0 ACN ve % 17,0 metanoldur (pH 2,8 +/- 0,1'e ayarlanmıştır). Analiz 215,0 nm'de gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz akış hızı 1,0 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 10,0 µl'dir. Yöntem, ICH kılavuzlarına göre doğrusal, tanıma limiti, doğruluk, kesinlik, sağlamlık açısından doğrulanmıştır. Kalibrasyon eğrileri (lisinopril, HYD, kaptopril, imidapril, PER, İND ve trandolapril için) 5,0-35,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal olarak bulunmuştur.

Hemdan ve ark. (2018), çalışmada, iki farklı karışım için çevre dostu kromatografik yöntemler geliştirmek için iki faktörlü üç seviyeli yanıt yüzey tasarımından yararlanılmıştır. İlk ATO ve AML, ikincisi ise AML, PER ve İND etken maddeleri kullanılmıştır. Çevreye toksik olmadığı için hareketli fazda organik modifiye edici olarak etanol kullanılmıştır. İlk karışımın ayrılması, fosfat tamponu (pH 7) / etanol (42:58 h / h) kullanılarak elde edilmiş ve ikinci karışım, fosfat tamponu (pH 5) / etanol (40:60 h / h) kullanılmıştır. YPSK yönteminin kullanılması, kısa çalışma süresinde iyi ayrılma sağlanmış, dolayısıyla daha az atık üretilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin çevreye uyumu, Ulusal Çevre Yöntemleri Endeksi (National Environmental Methods Index) ve analitik eko-ölçek (analytical eco-scale) olmak üzere iki değerlendirme aracı ile değerlendirilmiş ve çevreye uyumlu analitik yöntemler olduğu görülmüştür. Geliştirilen yöntemler doğruluk ve çevreye uyum açısından rapor edilen diğer yöntemlerle karşılaştırılmış ve karışımların ayrılması ve miktarının belirlenmesi için rapor edilen yöntemlere alternatifler oldukları görülmüştür.

Al-Tannak (2018), tarafından, ultraviyole detektör (UYPSK-UV) yöntemiyle birleştirilmiş yeni bir Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (UYPSK)

geliştirilmiş ve PRD ve İND anti-hipertansif kombinasyonunun aynı anda tayini için yöntem geliştirilmiştir. PRD ve İND ayrılması, BEH C₁₈ (1,7 µm, 2,1 x 50 mm) analitik kolon (Waters (R) Acquity UPLC) ve % 0,01 h/h formik asitten oluşan asetik asit ile pH 4'e ayarlanmış su ve ACN (40:60 h / h) içeren hareketli faz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemde, PRD ve İND 4,5 dakikadan daha kısa bir sürede yüksek doğruluk, kesinlik, çözünürlük ve hassasiyetle ayırım gerçekleştirilmiştir. Coveryl Plus® (5000 µg PRD / 1250 µg İND) dozaj formunda bulunan PRD ve İND içeriği, 4991 µg ve 1247 µg'luk bir konsantrasyon verecek şekilde tayin edilmiştir. Sonuç olarak, geliştirilen UYPSK-UV yöntemi hassas, hızlı ve kesindir. Ayrıca, zorunlu degradasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve degradasyon ürünleri UYPSK-Elektro-Sprey İyonizasyon-QToF (UYPSK-ESI-QToF) ile tanımlanmıştır.

Raj ve Chaudhari (2012), tarafından basit, doğru, spesifik ve kesin ters fazlı YPSK yöntemi kullanılarak AML ve İND tablet dozaj formunda aynı anda analiz edilmiştir. Analiz 1,0 mL/dk akış hızında 238,0 nm dalga boyunda, 95:5 metanol:su hareketli fazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrileri, AML için 2,0-16,0 µg/mL konsantrasyon aralığında korelasyon katsayısı 0,9960 ve İND için 1,0-7,0 µg/mL konsantrasyon aralığında 0,9970 ile doğrusaldır. AML ve İND için alıkonma süreleri sırasıyla 8,722 ve 2,855 dk olarak bulunmuştur. BSS her iki ilaç için % 2,0'den az olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem valide edilmiş ve tablet dozaj formunda AML ve İND etken maddelerine başarıyla uygulanmıştır.

Baheti ve ark. (2012), tarafından antihipertansif kombinasyonun iyon çifti TF-YPSK yöntemi tablet dozaj formunda ATN ve İND'nin kantitatif tayini için hassas, doğru, kesin ve valide edilerek geliştirilmiştir. Önerilen iyon çiftli ters fazlı YPSK yöntemi, C₁₈ kolonda 5,0 µm, 150x4,6 mm, hareketli faz olarak % 0,1 a/h oktan sülfonik asit içeren, sodyum tuzu ve metanol (55:45 h/h), (pH 2,8) kullanılarak ve 235,0 nm'de gerçekleştirilmiştir. ATN ve İND için sırasıyla 1,0-250,0 µg/mL ve 1,0-25,0 µg/mL'lik bir doğrusallık aralığı elde edilmiştir. Ortalama geri kazanımlar ATN ve İND için sırasıyla % 100,48 ve % 99,82'dir. Yöntem, ICH kılavuzlarına göre valide edilmiştir

Rani ve ark. (2011), tarafından formülasyonlardan ATN ve İND'nin eşzamanlı tayini için basit, hızlı, kesin, seçici ters faz YPSK yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Kromatografik ayırma, 80:20 oranında bir hareketli faz, metanol ve su (% 1,0 ortofosforik asit ile pH 2,7'ye ayarlanmış) kullanılarak bir Waters C₁₈ kolonunda (250x4,6 mm, 5 µm parçacık boyutuna sahip) izokratik olarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 1,0 mL/dk ve 230,0 nm dalga boyunda analiz yapılmıştır. ATN ve İND'nin alıkonma zamanı sırasıyla 1,766 dk ve 3,407 dk'dır. ATN için 12,5-150,0 µg/mL ve İND için 0,625-7,5 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusallık gözlenmiştir. Her iki ilaç için elde edilen yüzde geri kazanım sırasıyla % 99,74-100,06 ve % 98,65-99,98 olarak bulunmuştur. Yöntem, özgüllük, doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve sağlamlık açısından ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. Geliştirilen yöntem, kombine dozaj formlarından ATN ve İND'nin rutin analizi için kullanılabilir.

1.3.2.2.Spektrofotometri

Omar (2010), sürfaktan olarak metilselüloz varlığında eozin ve kurşun ile üçlü kompleks oluşumuna dayalı HYD, İND ve ksipamid tayini için basit ve hassas spektrofotometrik ve spektrofotometrik yöntem geliştirmiştir. Yöntemler çözücü ekstraksiyonunu içermemektedir. Spektrofotometrik yöntem için, üçlü kompleks 543,0 nm'de maksimum absorpsiyon göstermiştir. Üçlü kompleks oluşumunu etkileyen faktörler incelenmiş ve optimize edilmiştir. Yöntem, 8,0-40,0 µg/mL konsantrasyon aralığı için Beer kanununa uymaktadır. Bu üçlü kompleksi oluşturarak etken maddelerin tayini için bir floresans yöntemi de tayinin hassasiyetini arttırmak amacıyla yapılmıştır. Her iki yöntemin analitik performansı tam olarak valide edilmiştir. Yöntemler, çalışılan ilaçların farmasötik tabletlerinde belirlenmesi için başarıyla uygulanmıştır ve elde edilen sonuçlar, referans yöntemle elde edilenlerle uyum içindedir. Tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan yaygın eksipiyenlerin kullanılan yöntemlerin analizine etkisi olmamıştır

Süslü ve Altınoğlu (2002), tarafından farmasötik dozaj formlarında İND tayini için basit, hızlı ve güvenilir türev spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Standart

çözeltiler ve numune metanol içinde hazırlanmıştır. İlacın kantitatif tayini, 252,8 nm'de ölçülen birinci türev değerleri ve 260,4 nm'de ölçülen ikinci türev değerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tayi dalga boylarında oluşturulan kalibrasyon eğrileri, İND'nin konsantrasyon aralığında birinci türev için 1,0-30,0 µg/mL ve ikinci türev spektrofotometrik yöntem için 1,0-35,0 µg/mL doğrusaldır. Geliştirilen yöntemler, örneklerin herhangi ön ayırma veya işleme tabi tutulmasını gerektirmeyen farmasötik dozaj formlarının analizi için başarıyla uygulanmıştır. İki türev spektrofotometrik yöntemden elde edilen sonuçlar literatürde bildirilen spektrofotometrik yöntemle karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Erk (2001), tarafından farmasötik dozaj formlarında PER ve İND'nin ikili karışımını tayin etmek için yeni bir hassas, basit, hızlı ve hassas ters fazlı YPSK ve iki spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem, hareketli faz olarak fosfat tamponu pH 2,4 ve ACN (7:3 h/h) kullanılarak ters fazlı YPSK yöntemine dayanmaktadır. PER ve İND için doğrusallık aralığı 5,0-70,0 ve 8,0-35,0 µg/mL'dir. İkinci yöntemde birinci türev spektrofotometri, önceden ayırma işlemi olmaksızın ikili karışımlarda PER ve İND'nin aynı anda kantitatif tayini için kullanılmaktadır. Peridopril ve İND için sırasıyla 225,7 ve 255,4 nm'de birinci türev değerlerinin doğrusal kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Üçüncü yöntem, oran türevi spektrofotometrisine dayanmaktadır, oran spektrumlarının birinci türevinin 226,5 ve 255,3 nm'deki spektrumları, ikili karışımdaki PER ve İND'yi belirlemek için seçilmiştir. Önerilen tüm yöntemler doğrusallık, kesinlik ve tekrarlanabilirlik göstermiştir. Önerilen yöntemlerde, yardımcı maddeler tarafından herhangi girişim olmaksızın ikili ilaç kombinasyonunu içeren farmasötik dozaj formlarına başarıyla uygulanmıştır.

1.3.2.3.Voltametri

Salamanca-Neto ve ark. (2018), İND tayini için bor katkılı bir elmas elektrot kullanılmıştır. İND, siklik voltametri ile 0,01 mol/L H₂SO₄'te 0,53 V'de irreversibl ve difüzyon kontrollü bir oksidasyon piki göstermiştir. Voltametrik yöntemi geliştirmek

için bor katkılı elmas elektrotun elektrokimyasal ön işleminin etkisi, destekleyici elektrolitin pH'ı, elektrolit türü ve konsantrasyonu değerlendirilmiştir. Kare dalga voltametrisinin optimize edilmiş enstrümantal parametreleri altında, İND akımı, 56,0 nmol/L tanıma limiti ile 0,099-4,3 mol/L konsantrasyon aralığı üzerinde doğrusaldır. Yöntem başarılı şekilde tabletlere uygulanmış ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak spektrofotometrik yöntemle elde edilenler ile benzer olarak bulunmuştur.

Radi (2003), tarafından bakır iyonları varlığında İND'nin voltametrik davranışı, asılı cıva damla elektrodunda doğrusal taramalı adsorptif katodik sıyırma voltametr kullanılarak geniş bir pH aralığında araştırılmıştır. İND tayini için bakır İND kompleksinin adsorptif birikimine ve ardından kompleks bakırın indirgenmesine dayanan analitik yöntem geliştirilmiştir. Optimum pH, bakır konsantrasyonu, birikim potansiyeli ve birikme süresi koşulları incelenmiştir. Optimal koşullar altında, 20,0-200,0 nmol/L aralığında doğrusal bir kalibrasyon eğrisi ve 5,0 mnol/L tayin limiti elde edilmiştir. BSS 50,0 nmol/L'de % 2,2 olarak bulunmuştur. Eksipiyenler ve metal iyonlarının bakır İND kompleksinin tayinine etkisi değerlendirilmiştir. Tablet dozaj formundaki ilacın belirlenmesi için yöntem uygulanmıştır.

1.3.3. Perindopril İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.3.3.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Hassan ve ark. (2020), bisoprolol, PER ve bunların üç oluşabilecek degradasyon ürününün aynı anda tayini için iki hızlı, doğru ve seçici stabilite gösteren yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Önerilen ilk yöntem gradyan ters fazlı YPSK yöntemi, ikincisi bir kapiler elektroforez yöntemidir. Elde edilen bozunma ürünlerinin yapıları, kızılotesi ve kütle spektrometre kullanılarak aydınlatılmıştır. Bunların ayrıca İngiliz Farmakopesinde ilaç safsızlığı ya da bu tür safsızlığın öncüsü olduğu doğrulanmıştır. Bisoprolol ve PER için doğrusallık, YPSK ve kapiler elektroforez yöntemleri için sırasıyla 1,0-20,0 µg/mL ve 5,0-30,0 µg/mL aralığında elde edilmiştir. Önerilen yöntemler ICH kılavuzuna göre onaylanmıştır. YPSK

yönteminin daha hassas olduğu kanıtlanmış ve elde edilen bozunma ürünlerinin kantitatif analizi yapılmıştır. Ayrıca, İngiliz Farmakopesi tarafından belirlenen istenen sınırdan üç kat daha düşük PER safsızlığını ölçülebilmektedir. Yöntem kombine farmasötik formülasyonlarında bisoprolol ve PER'in tayininde başarıyla kullanılmıştır.

Gumieniczek ve ark. (2015), tarafından PER ve İND'nin aynı anda tayini için yeni YPSK yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Yöntem, üç sabit doz formülasyonunda PER ve İND'nin çözünme testi için kullanılmıştır. Çözünme prosedürü, farklı ortamlar, farklı tampon pH'ı, yüzey aktif maddeler ve sıcaklık kullanılarak optimize edilmiştir. Zamanın bir fonksiyonu olarak çözünmüş ilaç miktarları için bazı kinetik modeller kontrol edilmiştir.

Paczkowska ve ark. (2014), Perindopril l-argininin cis/trans izomerlerinin farmasötik dozaj formunda tayini için foto diyot dizisi detektörlü (DAD) UYPSK yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Ayırma, Poroshell 120 Hilic (4,6 x 150 mm, 2,7 µm) kolon üzerinde, ACN - % 0,1 formik asitten (20:80 h/h) oluşan bir hareketli faz kullanılarak 1,0 mL/dk bir akış hızında gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 5.0 µL ve dalga boyu 230,0 nm'dir. UYPSK-DAD yönteminin seçiciliği, asit-baz hidrolizi ve oksidasyon sırasında oluşan bozunma ürünlerinin varlığında perindopril l-arginin tayini ile doğrulanmıştır. Yöntemin doğrusallığı perindopril l-arginin, izomer I için 0,40-1,40 µg/mL ve izomer II için 0,40-2,40 µg/mL'dir. UYPSK-DAD yöntemi, perindopril l-arginin izomerlerinin belirlenmesi için kesinlik ve doğruluk kriterlerini sağlamıştır. Tanıma limiti ve tayin limiti, izomer I için sırasıyla 0,1503 ve 0,4555 µg/mL ve izomer II için 0,0356 ve 0,1078 µg/mL'dir.

Zaazaa ve ark. (2013), tarafından karışımlarında ve bozunma ürünlerinin varlığında PRD ve AML tayini için iki spesifik, hassas ve stabilite gösteren kromatografik yöntem geliştirilmiş, optimize edilmiş ve validasyon çalışmaları yapılmıştır. İlk yöntem, ayrılan bantların dansimetrik belirlenmesi ile birleştirilen İTK yöntemine dayanmaktadır. Sistem olarak silika jel 60 F254 İTK plakaları ve etil asetat-metanol-toluen-amonyak çözeltisi, % 33,0 (6,5:2:1:0,5 h/h/h/h) kullanılarak

ayırma gerçekleştirilmiştir. İkinci yöntem, etken maddelerin fosfat tamponu (pH 2,5, 0,01 M)-ACN-tetrahidrofurandan (hacimce 60:40:%0,1) oluşan hareketli faz kullanılarak ters fazlı bir C₁₈ analitik kolon üzerinde ayırımı yapıldığı YPSK yöntemine dayanmaktadır. 218,0 nm'de analiz gerçekleştirilmiştir. Önerilen yöntemleri etkileyen farklı parametreler, belirtilen bileşenlerin maksimum ayrılması için optimize edilmiştir. Geliştirilen iki yöntemin sistem uygunluk parametreleri de test edilmiştir. Önerilen yöntemler, ICH kılavuzlarına uygun olarak valide edilmiş ve tablette PER ve AML'nin analizi için uygulanmıştır. Her iki yöntem de istatistiksel olarak birbirleriyle ve referans yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

Elshanawane ve ark. (2008), tarafından farmasötik formülasyonlarda İND ile PER ve İND ile kaptopril olmak üzere iki ikili karışımın ayrılması için iç standart olarak HYD ile yeni bir hassas, basit, hızlı ve kesin ters faz sıvı kromatografi yöntemi geliştirilmiştir. İlaçlar oda sıcaklığında 250,0 mm x 4,6 mm, 5,0 µm partikül boyutunda, siyanopropil kolon üzerinde hareketli faz olarak 10,0 mM KH₂PO₄ pH 6,0, metanol 55:45 (h/h) kullanılarak 1,0 mL/dk akış hızında ayrılmıştır. Analiz 210,0 nm'de yapılmıştır. Ayırma sürecini etkileyen faktörler incelenmiş ve optimize edilmiştir. Yöntemin doğrusalılığı, doğruluğu ve kesinliği hesaplanmıştır ve yöntem, sentetik karışımlarda ve farmasötik ürünlerdeki iki ikili kombinasyonun analizinde başarıyla uygulanmıştır.

1.3.3.2.Spektrofotometri

Rahman ve ark. (2017), saf ve ticari dozaj formlarında PER tayini için kinetik spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, ilacın, oda sıcaklığında (30 +/- 1 °C) alkali ortamda potasyum permanganat ile reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon, 603,0 nm'de ölçülerek spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Tüm kalibrasyon eğrileri 5,0-50,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Başlangıç hızı, sabit zaman ve denge zamanı yöntemleri için tanıma limitleri sırasıyla 0,752, 0,882 ve 1,091 µg/mL'dir. Değişkenler optimize edilmiş ve önerilen yöntemler ICH yönergelerine göre doğrulanmıştır. Yöntem ayrıca ticari dozaj formlarında PER tayinine uygulanmıştır. Önerilen yöntemlerin analitik sonuçları, referans

yönteminkilerle karşılaştırıldığında, doğruluk ve kesinlik açısından önemli fark göstermemiştir.

Masthannamma ve ark. (2015), tarafından çalışmada, PER, AML ve bunların kombine dozaj formlarında UV spektrofotometrik yöntemler ile aynı anda tayini için basit, doğru ve kesin yöntem geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. Yöntem A, sırasıyla 298,3 nm ve 231,9 nm PER ve AML'nin maksimum absorbans değerlerini kullanarak eşzamanlı denklem yöntemi ile ilaçların tayini için kullanılmıştır. Yöntem B, AML'nin absorbansının sıfır olduğu PER için 250,4 nm'de absorbans düzeltme yöntemi ile ilaçların tayini için kullanılmıştır. Absorbans düzeltme yöntemi, absorbansların toplanabilirlik özelliğine dayanmaktadır. 250,0 nm'de PER miktar absorbans gösterirken, AML sıfır absorbans göstermektedir. Yöntem, 2500 ve 231,0 nm, iki dalga boyunda absorbans ölçümünü içermektedir. AML'nin tayini için, bu dalga boyundaki PER'nin absorbansı nedeni ile 231,0 nm'de düzeltilmiş absorbans hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrileri, PER ve AML için sırasıyla 10,0-150,0 µg/mL ve 0,5-10,0 µg/mL konsantrasyon aralığı üzerinde 0,9990 arasında korelasyon katsayısı ile doğrusaldır. İlaçların yüzde geri kazanımı, her iki yöntemin doğruluğunu gösteren % 100'e yakın olarak bulunmuştur. Önerilen yöntemlerin validasyonu, doğruluğu, kesinliği, spesifikliği, doğrusallığı ve tanıma limiti ICH kılavuzlarına göre gerçekleştirilmiştir. Yöntemler PER ve AML'nin kombine dozaj formunda analizi için rutin çalışmada başarılı şekilde uygulanabilmektedir.

Rahman ve ark. (2012), tarafından farmasötik formülasyonlarda PER tayini için basit, hızlı ve hassas bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Önerilen yöntem, 410,0 nm'de maksimum absorbansı olan sarı renkli bir ürün oluşturmak için amin ilaç grubunun dimetilsülfoksit içinde 2,4 dinitroflorobenzen ile reaksiyonuna dayanmaktadır. Yöntemin tanıma limiti ve tayin limiti sırasıyla 0,17 ve 0,52 µg/mL olarak bulunmuştur.

1.3.3.3.Spektrofluorimetri

Fael ve Sakur (2015), tarafından PER'in 7-hidroksikumarin kullanılarak tayini için yeni, basit, seçici ve hassas bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. PER ACN içinde 7-hidroksikumarin ile reaksiyona girerek yaklaşık 58,0 nm mavi bölgeye kaymış emisyonu sahip yeni bir floresan ürünle sonuçlandığı bulunmuştur. Kompleksin floresansı, ACN içinde 350,0 nm'de eksitasyondan sonra 440,0 nm'de ölçülmüştür. Optimum koşullar altında, floresans yoğunluğu, 0,054 µg/mL'lik bir tanıma limiti ile 2,0-16,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Önerilen yöntem tamamen doğrulanmış ve saf formda ve tabletlerde PER analizine başarıyla uygulanmıştır. Önerilen ve referans yöntemle elde edilen sonuçların istatistiksel karşılaştırması, iki yöntemin performansında sırasıyla doğruluk ve kesinlik açısından önemli bir farklılık göstermemiştir. Yöntemin, yaygın olarak PER ile kombine edilen bir diüretik olan İND varlığında oldukça spesifik olduğu gösterilmiştir.

1.3.3.4.Kapiller Elektroforez

El-Gizawy ve ark. (2014), tarafından S ve R perindopril tert-butilamin (erbumin tuzu) (PER) tayini için iki ayırma yöntemi geliştirilmiştir: YPSK ve kapiler elektroforez. YPSK yönteminde, küresel silika jel parçacıklarına kimyasal olarak bağlanmış beta-siklodekstrini oluşturan kiral sabit faz, ChiraDex kolon kullanılmıştır. Hareketli faz, fosfat tamponundan (50,0 mM, pH 3,0) ve ACN'den (45:55 h/h) oluşmaktadır. Akış hızı 1,0 mL/dk ve dalga boyu 210,0 nm'de çalışılmıştır. Kapiler elektroforezde kiral seçici olarak 2-hidroksilpropil-beta-siklodekstrin (10,0 mM) kullanılmıştır. Fosfat tamponu (100,0 mM, pH 7,0) ve metanolden (% 15,0 h/h) oluşan hareketli faz kullanılmıştır. Uygulanan voltaj 15,0 kV ve saptama, bir diyot dizisi detektörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik veya elektroforetik ayırmaları etkileyen tüm faktörler incelenmiş ve optimize edilmiştir. Doğrusal konsantrasyonlar, YPSK ve KE yöntemleri için sırasıyla 2,3 ve 14,7 mg/mL tayin limitleri ile çalışma aralığı 5,0-150,0 ve 25,0-800,0 mg/mL arasında değişmiştir. Yöntemler ICH ve USP yönergelerine göre valide edilmiştir. PER erbumine rasemat içeren tabletlerde S-PER tayini için önerilen yöntemler uygulanmıştır.

1.3.4. Telmisartan İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.3.4.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Alhazmi ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada tablet oral dozaj formlarında dört kardiyovasküler etken maddenin (ATO, simvastatin, TEL ve irbesartan) aynı anda tayini için hızlı ve basit ters fazlı YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Kromatografik ayırma, 40:60 h/h oranında amonyum asetat tamponu (10,0 mM; pH 4,0) ve ACN'den oluşan bir hareketli faz ile Symmetry C₁₈ kolonu (75 mm x 4,6 mm; 3,5 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuna kadar (7,5 dk) akış hızı 1,0 mL/dk'da 3,5 dakikaya kadar tutulmuş ve ardından aniden 2,0 mL/dk'ya değiştirilmiştir. Veriler, 220,0 nm'de ultraviyole detektörü kullanılarak elde edilmiştir. Yöntem doğrusalılık, kesinlik, doğruluk ve özgüllük açısından valide edilmiştir. Geliştirilen yöntem 1,0-16,0 µg/mL konsantrasyon aralığı üzerinde doğrusalılık göstermiştir. Tanıma ve tayin limiti, sırasıyla 0,189-0,190 ve 0,603-0,630 µg/mL aralığında bulunmuştur. Gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik verileri kabul edilebilir sınırlarda hesaplanmıştır. Yeni yöntem, tablet dozaj formlarında dört ilacın tamamının miktarının belirlenmesi için, yüzde 100 +/- 2 oranında geri kazanımla başarıyla uygulanmıştır.

Maslarska ve ark. (2017), tarafından üç sartanın kalite kontrol çalışmaları ve (VAL, irbesartan ve TEL) aynı anda tayini için ultraviyole dedektör kullanılarak YPSK yöntemini geliştirilmiştir. Analiz 10,0 mM fosfat tamponu: ACN (65:35 h/h) içeren bir hareketli faz ile 30,0 °C sıcaklıkta LiChrospher C₁₈ kolonunda (250 x 4 mm, partikül boyutu 5 µm) izokratik elüsyon ile akış hızı 1,0 mL/dk olarak yapılmıştır. Çalışma, 225,0 nm'de bir UV detektörü ile gerçekleştirilmiştir. Tüm etken maddeler için kalibrasyon eğrileri 5,0-40,0 µg/mL aralığında ve doğrusal regresyon katsayıları 0,9950'den yüksek olarak hesaplanmıştır. Sartanlar için geri kazanım oranları % 96,5 ile % 103,1 aralığında bulunmuştur. Saptama limitleri 0,04-0,06 µg/mL arasında hesaplanmıştır. Ayrıca, tayin limitleri 0,12-0,16 µg/mL dir. Yöntem, üç sartanın tabletlerde kalite kontrolü için basit, hassas ve hızlı yöntem sağlamıştır.

Borba ve ark. (2017), TEL etken maddesini tabletlerde UV-spektrofotometri ve YPSK ile tayin etmek için iki yeni analitik yöntemin geliştirmiş ve valide etmişlerdir. Yeni yöntemler, doğruluk, kesinlik, sağlamlık çalışmaları yapılarak ICH kılavuzlarına uygun olarak valide edilmiştir. UV-spektrofotometrik yöntem, çözücü olarak su kullanılarak 298,0 nm'de gerçekleştirilmiştir. Ters fazlı YPSK yöntemi, ters fazlı C₁₈ Luna Phenomenex® kolonu ve C₁₈ Phenomenex® ön kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz, ACN:ultra saflaştırılmış su pH 3,0 (fosforik asit ile ayarlanmış) (40:60 h/h), içermekte ve 1,0 mL/dk akış hızında 4,6 dakikalık sürede ayrıştırılmış ve 254,0 nm'de analiz yapılmıştır. Hem UV hem de YPSK yöntemleri, TEL etken maddesinin tabletlerde belirlenmesinde güvenilir olduğunu göstermiştir.

Janardhanan ve ark. (2016), tarafından yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak farmasötik preparatta ROS, TEL, ezetimib (EZT) ve ATO'nun valide edilmiş izokratik ters faz YPSK ayrımı geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. Ayırma, Phenomenex C₁₈ kolonu (15 cm x 4,6 mm, 5 µm partikül boyutu) ve 239,0 nm'de UV dedektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon için kullanılan bağımsız değişkenlerin aralıkları ACN:% 33,0–38,0, tampon konsantrasyonu: 10,0–20,0 mM ve akış hızı: 1,0–2,0 mL/dak'dır. Bu bağımsız değişkenlerin çıktı yanıtları üzerindeki etkisi: birinci pikin (k₁) kapasite faktörü, ikinci ve üçüncü pikin resolusyonları ve beşinci pikin (k₅) kapasite faktörü değerlendirilmiştir. Bu strateji kullanılarak matematiksel bir model tanımlandı ve ayırma için yanıt yüzeyi geliştirilmiştir. Üç yanıt, Derringer'in fonksiyonları kullanılarak aynı anda optimize edilmiştir. Analiz için seçilen optimum koşullar ACN, metanol, 20,0 mM K₂HPO₄ (pH 3,0 ± 0,2) çözeltisi (34,27: 20: 45,73 h/h/h) ve akış hızı 2,0 mL/dk'dır. Analiz süresi yaklaşık 10,0 dakikadır. Optimize edilmiş test koşulu, ICH kılavuzlarına göre valide edilmiş ve Rosavel EZ, Avas-EZ ve Lipisar yirmi tabletin kantitatif analizi için uygulanmıştır. Geliştirilen yöntem basit, doğru ve kesin olarak valide edilmiş ve kalite kontrol laboratuvarlarında rutin analiz için kullanılabilir.

Tahir ve ark. (2016), tarafından hipertansiyon tedavisinde tek başına veya diğer bazı ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılan anjiyotensin II reseptör antagonistleri sınıfını analiz etmek için basit, hassas bir tayin yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen

yöntemin en önemli avantajı, sekiz ayrı ilacın tek bir kromatografik sistem üzerinde dalga boyunda ve hareketli fazda değişiklik yapılmadan tayin edilebilmesidir. İlaçların analizi, Purospher Star 4,6 mm x 25 cm, 5 µm partikül boyutlu C-18 kolonunda 254,0 nm'de ultraviyole bölgede 1,0 mL/dk akış hızında, 40,0 °C'de gerçekleştirilmiştir. Önerilen yöntem, kesinlik, doğruluk, doğrusallık, özgüllük ve sağlamlık açısından istatistiksel olarak valide edilmiştir. Yeni geliştirilen yöntemin, ticari farmasötik formülasyonlarda sekiz sartanın miktar tayini için spesifik, sağlam ve doğru olduğu belirlenmiştir.

Elshanawane ve ark. (2014), tarafından losartan potasyum, VAL, TEL ve irbesartan hipertansiyon tedavisinde tek başına veya HYD gibi diğer ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılan anjiyotensin-II-reseptör antagonistleri grubudur. HYD varlığında birkaç anjiyotensin-II-reseptör antagonistlerinin analizi için gradyan YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Yöntem, hareketli faz 0,025 M potasyum dihidrojen fosfat (pH 6,0):ACN (80:20 h/h) kullanılarak, ACE C₁₈ kolonunda (250 mmx4,6 mm, 5 µm) 220,0 nm dalga boyunda ters fazlı YPSK ile gerçekleştirilmiştir. Gradyan bir şekilde akış hızı 1,5 mL/dk'da çalışma yapılmıştır. Önerilen yöntem, doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve tanıma limiti açısından valide edilmiştir.

Czerwinska ve Mazurek (2011), losartan potasyum, VAL, TEL, irbesartan, eprosartan mesilat ve KND, anjiyotensin II reseptör antagonistleri, tabletlerde analiz edilmiştir. Gradyan sisteminde YPSK yöntemi ile ve izokratik sistemlerde bu bileşiklerin analizi için yöntem geliştirilmiştir. Analiz, 230,0 nm'de UV-VIS detektör kullanılarak Zorbax SB-Fenil kolonunda ve eprosartan mesilat ve VAL için 0.1 mol/L sodyum asetat (pH = 5,5) - ACN - metanol 35:9:6 h/h/h oranında, losartan potasyum ve irbesartan için 15:6:4 h/h/h oranında ve TEL ve KND için 10:9:6 h/h/h oranında hareketli faz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tabletlerden geri kazanım analizi yapılmıştır.

Rao ve ark. (2011), tarafından TEL ile ilgili maddelerin ayrılması ve analizi için basit ve hızlı ters fazlı sıvı kromatografik yöntem geliştirilmiş ve onaylanmıştır. Kromatografik ayırma, hareketli faz olarak % 0,1 (h/h) trietilamin (trifloroasetik asit

ile pH 3,0'a ayarlanmış) ve ACN içeren 20,0 mM amonyum asetat kullanılarak Lichrospher RP-18 kolonunda (250 x 4,6 mm, 5 µm) gerçekleştirilmiştir. Analiz 25,0 °C'de 254,0 nm'de gerçekleştirilmiştir. Yöntem, ticari tabletlerde TEL'in tayini için başarıyla uygulanmıştır.

1.3.4.2.Spektrofotometri

Kondamadgu ve Gandu (2016), tarafından ilaçların spektrofotometrik tayini için, örneğin Dobutamin hidroklorür, Lomefloksasin hidroklorür, Sildenafil sitrat, Ramipril, TEL gibi N-bromosüksinamide (NBS) karşı reaktivitelerine göre basit, hassas ve seçici yöntemler geliştirilmiştir. Her ilacın yöntemi, ilaçların NBS (aşırısı) ile oksidasyonuna ve reaksiyona girmemiş NBS miktarının 508,0 nm'de metil oranj ile tayin edilmesine bağlıdır. Kalibrasyon eğrileri, 5,0-38,0 µg/mL dobutamin, 5,0-50,0 µg/mL lomefloksasin, 4,0-28,0 µg/mL sildenafil, 2,0-14,0 µg/mL ramipril, 6,0-42,0 µg/mL TEL konsantrasyon aralığında Beer's kanununa uymaktadır ve yöntem, ilaçların hem saf halde hem de tablet formülasyonlarında tayini için uygulanmıştır. Yöntem, ICH yönergeleri açısından valide edilmiştir.

1.3.4.3.Spektrofluorimetri

Alarfaj ve ark. (2019), tarafından yapılan çalışmada, farmasötik dozaj formlarında üç anjiyotensin II reseptör antagonisti, KND, VAL ve TEL tayini için altı farklı florimetrik sistem önerilmiştir. Floresans yoğunlukları, gümüş veya altın nanopartiküllerin (AgNP'ler veya AuNP'ler) yüksek katalitik potansiyel aktivitesi (eksitasyon) 525,0, 420,0 ve 330,0 nm'de ve (emisyon) 555,0, 490,0 ve 400,0 nm'de sırası ile KND, VAL ve TEL için ölçülerek kaydedilmiştir. Yardımcı maddelerinin etkisi test edilmiştir. Geliştirilen yöntemler ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. Tüm floresans sistemleri, etken maddeleri tabletlerde ve biyo-numunelerde tayin etmek için başarıyla kullanılmıştır. Elde edilen veriler, diğer rapor edilen yöntemlerle karşılaştırılmıştır.

Belal ve ark. (2014), tarafından çalışmada, AML/KND ve AML/TEL ikili karışımlarının ön ayırma işlemi yapılmaksızın basit, seçici ve hassas spektrofotometrik yöntem ile analizi yapılmıştır. Yöntem, iki ilaçtan herhangi birinin birbirine etkisi olmaksızın su içinde sırasıyla 367,0 ve 454,0 nm'lik uyarma ve emisyon dalga boylarında AML'nin floresansının ölçülmesini içermektedir. Bunun tersine, KND'nin floresansı etanolde sırasıyla 265,0 ve 392,0 nm'lik eksitasyon ve emisyon dalga boylarında ölçülürken TEL, uyarım dalga boyu olarak 294,0 nm kullanılarak 0,05 M sodyum hidroksit solüsyonunda 366,0 nm'de ölçülmüştür. Önerilen spektrofotometrik prosedür, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, seçicilik, sağlamlık, tanıma limiti ve tayin limiti açısından valide edilmiştir. Regresyon analizi, AML, KND ve TEL için sırasıyla 0,1-1,4; 0,025-0,25 ve 0,0025-0,05 µg/mL aralıklarında floresan yoğunluğu ve konsantrasyon arasında iyi bir korelasyon göstermiştir. Tanıma limitleri AML, KND ve TEL için sırasıyla 0,034; 0,0063 ve 0,0007 µg/mL'dir. Önerilen yöntem, farklı oranlardaki birkaç sentetik ikili karışımın ve geri kazanımlara sahip laboratuvar da hazırlanmış tabletlerin analizi için başarıyla uygulanmış ve ilaç yardımcı maddelerinden herhangi etkileşim gözlenmemiştir.

Tekkeli ve Onal (2013), tarafından tabletlerde ve plazmada beş angiotensin II tip 1 reseptör antagonistinin tayini için spektrofotometrik ve spektrofotometrik yöntemler geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. Spektrofotometrik yöntem, HCl ortamında ölçülen bromat-bromür fazlasının eklenmesini ve ardından sabit miktarda metil oranj ile reaksiyona sokularak kalan bromun tayin edilmesini içermektedir. Spektrofotometrik yöntem, ilaçların seryum (IV) ile oksidasyonuna ve sonrasında indüklenen seryum (III) floresansının 365,0 nm'de 255,0 nm'de eksitasyon ile izlenmesine bağlıdır. Önerilen yöntemlerin her ikisi de etken maddelerin saf hallerinde ve farmasötik preparatlarında tayininde başarıyla uygulanmıştır. Ayrıca, biyolojik sıvılarda irbesartan ve TEL tayini için spektrofotometrik yöntem doğruluk ve hassasiyetle uygulanmıştır.

1.3.4.4.Kapiller Elektroforez

Stacescu ve ark. (2017), tarafından iki kapiller elektroforetik yöntemi araştırılmıştır: HYD ve TEL aynı anda tayini için bir kapiler zon elektroforezi ve misel elektrokinetik kapiler kromatografi. Analitik koşulları optimize etmek için, tampon bileşimi, konsantrasyon ve pH, uygulanan voltaj, sıcaklık, enjeksiyon basıncı ve süresi gibi çeşitli deneysel parametrelerin ayırma üzerindeki etkisi belirlenmiştir. İki analitin ayrılması, kapiler zon elektroforezi yöntemi ile yüzey aktif madde olarak 25,0 mM sodyum dodesil sülfat içeren pH 2,50'de 25,0 mM fosfat tamponu kullanılarak ve misel elektrokinetik kapiler kromatografi ile pH 9,50'de 50,0 mM borat tamponu kullanılarak sağlanmıştır. İki yöntemin analitik performansı doğrusallığı, kesinliği, doğruluğu ve sağlamlığı açısından valide edilmiş ve sabit doz kombinasyonlarından analitlerin belirlenmesi için yöntemler uygulanmıştır.

Adriana ve ark. (2016), tarafından UV fotodiyot dizi detektörünün kullanılmasıyla sabit doz kombinasyonlarında AML ve TEL aynı anda tayini için hızlı, basit ve hassas bir kapiler zon elektroforez yöntemi geliştirilmiştir. Ayrıştırmanın verimini artırmak için tampon konsantrasyonu ve pH, sistem sıcaklığı, uygulanan voltaj ve enjeksiyon parametreleri gibi elektroforetik parametreler optimize edilmiştir. En iyi sonuçlar, kaynaşmış silika kapiler (48,0 cm uzunluk, 50,0 µm çap) ve pH 4,50 + 25,0 kV uygulanan voltajda ve ayrıca 25,0 °C sistem sıcaklığında 50,0 mM fosfat tampon elektrolit kullanıldığında elde edilmiştir. Yöntemin analitik performansı doğrusallık, kesinlik ve sağlamlık açısından doğrulanmıştır. Ek olarak, tanıma limiti ve miktar hesaplanmıştır.

1.3.4.5.Voltametri

Alarfaj (2013), tarafından TEL adsorptif sıyırma voltametri, asılı cıva damla elektrodu ile incelenmiştir. Bileşik, pH 10,38 olan Britton Robinson tamponunda -1,5 V'ta katalitik bir hidrojen dalgası üretmiş ve pik akımı elektrotta adsorptif birikimle artmıştır. Katalitik hidrojen dalgası ile adsorptif sıyırma voltametri, TEL'in tayini için hassas yeni bir yöntem sağlayabilmektedir. İzlenen elektroanalitik yanıtı etkileyen

çeşitli kimyasal ve enstrümantal parametreler araştırılmış ve TEL tayini için optimize edilmiştir. Önerilen elektrokimyasal prosedür farmasötik tabletlerde ve insan plazmasında TEL tayini için başarıyla uygulanmıştır.

Tasdemir ve ark. (2010), tarafından elmisartanın elektrokimyasal davranışı ve testi için optimum koşullar, döngüsel voltametri ve kare dalga voltametri kullanılarak araştırılmıştır. Tüm çalışmalar Britton-Robinson tamponunda pH 100'da Ag/AgCl'ye karşı yaklaşık-1,50 V'de TEL yarı tersine çevrilebilir ve adsorpsiyon kontrollü elektrokimyasal indirgeme sinyaline dayanmaktadır. Pik akımın 1,69 nM'den (0,87 µg/L) 27,5 nM'ye (14,15 µg/L) konsantrasyonla doğrusal olarak değiştiği bulunmuştur. Tanıma ve tayin limitleri sırasıyla 1,05 nM (0,54 µg/L) ve 3,49 nM (1,79 µg/L) olarak bulunmuştur. Yöntem, geri kazanım çalışmaları yapılarak farklı örneklerle başarıyla uygulanmıştır.

1.3.5. Olmesartan İçin Uygulanmış Analiz Örnekleri

1.3.5.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Kerai ve ark. (2019), tarafından tablet dozaj formlarında OLM ve AML aynı anda tayini için ters faz ultra performanslı sıvı kromatografi yöntem geliştirilmiştir. Bozunma ürünlerinin incelenmesi sonucunda, OLM ve AML diğer stres kaynaklı bozunma koşullarına göre termoliz ve fotoliz bozunmalarında daha kararlı olduğu bulunmuştur. Önerilen stabilite çalışması, ilaç stabilitesinin izlenmesi ve kalite kontrolü için farmasötik analizde uygulanabilmektedir.

Tekkeli (2013), tarafından antihipertansif ilaç maddelerinin AML, OLM, VAL ve HYD'nin farmasötik preparatlarda ve plazmada tayini için basit, hızlı ve seçici YPSK-UV yöntemi geliştirilmiştir. Maddeler çoğunlukla kombinasyon olarak kullanılır. Kombinasyonlar, özellikle mevcut farmasötik preparatlarda üçlü bileşenler olarak çeşitli formlarda bulunmaktadır: OLM, AML ve HYD (kombinasyon I) ve AML, VAL ve HYD (kombinasyon II). Ayırma, RP-CN kolonu kullanılarak

gerçekleştirilmiş ve hareketli faz olarak ACN-metanol-100 mmol ortofosforik asit pH 2,5 (7:13:80, h/h/h) kullanılmıştır. Detektör dalga boyu 235,0 nm'ye ayarlanmıştır. Lineer aralıklar sırasıyla AML, OLM, VAL ve HYD için 0,1-18,5 µg/mL, 0,4-25,6 µg/mL, 0,3-15,5 µg/mL ve 0,3-22,0 µg/mL olarak bulunmuştur. Farmasötik müstahzarlar için yöntemin seçiciliğini kontrol etmek için zorunlu degradasyon çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak yöntem, etken maddelerin ilaç kullanan hastaların plazmalarında ve tablet analizinde uygulanmıştır.

Olabemiwo ve ark. (2012), tarafından metoprolol süksinat ve OLM'nin laboratuvar karışımlarında ve tablet dozaj formlarında analizi için doğru, kesin ve tekrarlanabilir bir izokratik ters faz YPSK yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Yöntem geliştirme, Agilent Eclipse XBD-C18 kolonda gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak, 70:30 h/h oranında bir ACN ve tampon (10,0 mM KH₂PO₄) karışımı kullanılmıştır. Tamponun pH'ı ortofosforik asit ile 2,75'e ayarlanmıştır. Akış hızı 0,6 mL/dk'ya ve UV dedektör 225,0 nm'ye ayarlanmıştır. Metoprolol süksinat ve OLM alıkonma süreleri sırasıyla 2,233 ve 3,000 dk olarak bulunmuştur. Doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve sağlamlık, tanıma limiti ve tayin limiti parametreleri yöntem için Uluslararası Uyum Konferansı (ICH) Q2 R1 kılavuzlarına göre değerlendirilmiştir. Doğrusallık çalışmasında. metoprolol süksinat ve OLM için regresyon denkleminin $y = 68402x + 64710$ ve $y = 110194x + 8855,3$ olduğu bulunmuştur. Korelasyon katsayısı, metoprolol ve OLM için sırasıyla 0,9990 ve 0,9996'dır. Önerilen yöntem son derece hassas, kesin, doğru, hızlı ve gerçekleştirmesi kolay olup tablet dozaj formunda bulunan etken maddelerin miktarının belirlenmesi için başarıyla uygulanmıştır.

1.3.5.2.Spektrofotometri

Sharma ve ark. (2012), tarafından OLM'nin farmasötik formülasyonlarda analizi için görünür bölgede iki basit ve hassas spektrofotometrik yöntem (yöntem A ve yöntem B) geliştirilmiştir. Yöntem A, OLM'nin 3-metilbenzotiyazolin-2-on hidrazon (MBTH) ile oksidatif bağlanmasına dayanmaktadır. Oluşan yeşil renkli kompleks, 631.0 nm'de lamda maksimum değerine sahiptir. Metot B, lamda maksimum 510,0

nm'de turuncu kırmızı bir kromojen üretmek için ferrik iyonların ferröz iyonlara indirgenmesini takiben 1,10-fenantrolin ile kompleksleştirilmesine dayanmaktadır. Sırasıyla 10,0-45,0 µg/mL ve 5,0-35,0 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışma yapılmıştır. Bu yöntemler, farmasötik formülasyonlara uygulanmış ve yardımcı maddelerden ve seyrelticilerden hiçbir etkileşim görülmemiştir. Önerilen yöntemler basit, hassas, doğru ve kalite kontrol uygulamaları için uygun olarak bulunmuştur.

Caglar ve Onal (2010), tarafından farmasötik formülasyonda OLM testi için iki basit, hızlı ve tekrarlanabilir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Yöntemler, incelenen ilaç maddesi ile iyon çifti ajanları (bromokresol yeşili ve bromofenol mavisi) arasındaki reaksiyonlarda iyon oluşumuna dayanmaktadır. Diklorometan ve kloroform ile ekstraksiyonla, asidik ortamda sarı renkli iyon birleşikleri oluşturulmuş ve 409,0 (bromokresol yeşili) ve 412,0 nm'de (bromofenol mavisi) absorbanslar ölçülmüştür. Reaksiyon koşullarının optimizasyonları yapılmıştır. Molar absorptivite, tanıma limiti ve tayin limitleri de belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemler etken maddelerin tabletlerde tayininde başarıyla uygulanmıştır.

Rote ve Bari (2009), OLM ve HYD'nin kombine tablet dozaj formunda aynı anda tayini için iki basit, ekonomik, hızlı, kesin ve doğru yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem, oran spektrum türevi spektrofotometriye dayanmakta ve ikinci yöntem, sıfır geçişli fark spektrofotometresidir. 231,0 ve 271,0 nm'de karşılık gelen oran spektrumlarının ilk türevindeki amplitüdler, sırasıyla OLM ve HYD belirlemek için seçilmiştir. Absorbans ölçümleri, sıfır geçişli fark spektrofotometrik yöntemle OLM ve HYD için sıfır geçişli dalga boylarında 257,8 ve 240,2 nm'de gerçekleştirilmiştir. Yöntemler F testi ve t testi uygulanmıştır. Her iki yöntem de istatistiksel olarak ve geri kazanım çalışmaları yapılarak valide edilmiştir.

1.3.5.3. Spektrofluorimetri

Darwish ve ark. (2012), çalışmada, kombine tabletlerinde OLM ve AML'nin aynı anda belirlenmesi için iki basit, hassas ve güvenilir spektrofluorimetrik yöntem

geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. Yöntemler, sırasıyla OLM ve AML için birinci türev ve oran çıkarma yöntemleridir. Optimum test koşulları oluşturulmuş ve yöntemler doğrusallık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik ve özgüllük açısından doğrulanmıştır. Regresyon analizi, OLM ve AML için sırasıyla 0,08-1,0 ve 0,25-2,0 µg/mL konsantrasyon aralıkları üzerindeki konsantrasyon ile floresan şiddeti arasında mükemmel bir korelasyon göstermiştir. Önerilen yöntemler, laboratuvarda hazırlanan karışımlarda ve % 99,0'dan az olmayan geri kazanımları olan kombine farmasötik tabletlerde iki ilacın analizi için başarıyla uygulanmıştır. Yaygın farmasötik yardımcı maddelerinden hiçbir etkileşim gözlenmemiştir. Sonuçlar, referans yöntemle elde edilenlerle karşılaştırılmıştır.

1.3.5.4.Voltametri

Celebier ve ark. (2013), tarafından çalışmada, farmasötik formülasyonlarda OLM'nin belirlenmesi için hassas, basit ve hızlı voltametrik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. OLM'nin pik akımını etkileyen deneysel parametreler araştırılmış ve optimize edilmiştir. Bu amaçla, farklı pH ve tamponlardaki elektrolitlerde asılı cıva damla elektrotunda kare dalga voltametri denenmiştir. OLM, pH aralığı 5,0 ila 8,0 arasında bir indirgenme piki göstermiş ve pH 6,5'te fosfat tamponu, iyi tanımlanmış pik elde edildiğinden analiz için optimum elektrolit koşulu olarak seçilmiştir. Geliştirilen yöntem için doğrusallık, duyarlılık, seçicilik, kesinlik, doğruluk, sağlamlık ve sağlamlık gibi doğrulama parametreleri değerlendirilmiştir. Kare dalga voltametrik pik akımları, 0,50 µg/mL tanıma limiti ve çalışma aralığı 1,00-14,56 µg/mL ($r = 0,9983$) aralığında bulunmuştur. Geliştirilen yöntem tabletlerde OLM tayininde başarıyla uygulanmış ve veriler literatürde verilen kapiler elektroforez yönteminden elde edilenlerle karşılaştırılmıştır. Geri kazanım yüzdesi % 98,20 ile % 100,26 arasında değişmiştir. OLM, analiz sırasında herhangi bir reaktifle önceden ekstraksiyon veya etkileşime gerek kalmadan geliştirilen yöntemle tabletlerden ekşiyanların varlığında doğrudan belirlenebileceği gösterilmiştir.

1.3.6. Kandasantan İçin Uygulanmış Analiz Örnekleri

1.3.6.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

De Diego ve ark. (2018), tarafından KND ve HYD aynı anda tayini için biri DAD ve diğeri evaporatif ışık saçılım dedektörü (ELSD) ile olmak üzere iki kararlılık gösteren sıvı kromatografi yöntem farmasötik preparatlarda geliştirilmiş, doğrulanmış ve karşılaştırılması yapılmıştır. KND, HYD ve başlıca bozunma ürünlerinin tayininde hareketli faz olarak DAD yöntemi için ACN ve fosfat tamponu (pH 6,0) ve ELSD yöntemi için trietilamin (pH 4,1), ACN ve asetik asitli su kullanılmış ve ayırım için bir RP-18 kolonu (125,0 mm x 4,0 mm, 5,0 µm) kullanılmıştır. Yöntemlerin kesinliği ve doğruluğu benzer olarak bulunmuş, RSD% 3,0'ın altında ve geri kazanım% 98,1 ile % 103,9 arasında hesaplanmıştır. İlaçlar hidroliz, oksidasyon, fotoliz, nem ve sıcaklık gibi stres koşullarına tabi tutulmuştur. Bozunma ürünleri, temel piklerden ve birbirinden iyi bir şekilde ayrılmıştır. Yöntemler, kombine ticari tabletlerde KND ve HYD'nin analizine başarıyla uygulanmıştır. DAD ve ELSD yöntemlerinin performansı karşılaştırılabilir, bu nedenle her iki yöntem de stabilite çalışması ve farmasötik numunelerde KND ve HYD'nin tayini için uygulanabilmektedir.

Phechkrajang ve ark. (2017), tarafından asit, alkali ve nötr hidroliz koşulları altında KND ve HYD bozunma çalışmaları; oksidasyon; fotoliz; ve termal bozunma koşullarında yapılmıştır. KND, HYD ve bunların bozunma ürünlerinin aynı anda tayini için UV dedeksiyonlu basit ve spesifik bir YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Ayırım Zorbax siyano (SB CN 4,6 x 150 mm, 5 µm) kolonu kullanılarak 1,0 mL/dk akış hızında ACN ve 10,0 mM fosfat tamponunun karışımı (pH 7,0; 32:68, h/h), ve 254,0 nm UV dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, Uluslararası Uyum Konferansı (ICH) kılavuzlarına göre doğrusalılık, çalışma aralığı, doğruluk, kesinlik ve özgüllük açısından valide edilmiştir. HYD, oksidasyon, fotoliz ve termal bozunma koşulları altında stabildi, ancak nötr, asit ve alkalın hidroliz koşulları altında bozunmuştur.

Issa ve ark. (2013), tarafından bozunma ürünlerinin varlığında KND tayini için iki stabilite gösteren yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem, Agilent C₁₈ kolonu ile

izokratik ters faz YPSK yöntemidir. Hareketli faz olarak fosfat tamponu ($\text{pH} = 2,8 \pm 0,1$) -ACN (60,0 + 40,0; h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 2,0 mL/dk ve tayin 254,0 nm'de yapılmıştır. İkinci yöntem, 254,0 nm'de ilaçların İTK-dansitometrik ölçümleri ile yapılmıştır. Ayırma, etil asetat-metanol-toluen-% 33 amonyak (40,0 + 25,0 + 20,0 + 2,0; h/h/h/h) hareketli faz kullanılarak silika jel 60 F-254 plakaları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yöntemler, Amerikan Farmakopesi kılavuzlarına göre doğrulanmış ve doğruluk, kesinlik, doğrusallık, özgüllük, sağlamlık ve sistem uygunluğu için kabul kriterleri karşılamıştır. Yöntemlerin çalışma aralıkları YPSK ve İTK için sırasıyla 10,0-200,0 $\mu\text{g/mL}$ ve 1,0-9,0 $\mu\text{g/spot}$ olarak çalışılmıştır. Önerilen yöntemler bozunma ürünleri ile laboratuvarında hazırlanmış karışımlarda ve ticari olarak temin edilebilen tabletlerde başarıyla uygulanmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak % 95,0 güven aralığında birbirleriyle karşılaştırılmıştır. İki yöntemin ortalama geri kazanımı ve kesinliği arasında önemli fark bulunmamıştır.

Qutab ve ark. (2007), tarafından farmasötik formülasyonlarda HYD ve KND'nin aynı anda tayini için basit, hassas bir YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Kromatografik ayırma, hareketli faz olarak 25:75:0,2; 0,02 M potasyum dihidrojen fosfat, metanol ve trietilamin karışımıyla, son $\text{pH} 6,0 \pm 0,1$ olan bir Fenil-2 kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Tayin 271.0 nm dalga boyunda yapılmıştır. Çalışma aralığı, HYD için 5,0-45,0 $\mu\text{g/mL}$ ve KND için 12,0-56,0 $\mu\text{g/mL}$ aralığı olarak belirlenmiş ve korelasyon katsayıları sırasıyla 0,9993 ve 0,9991 olarak bulunmuştur. İki bileşen için toplam elüsyon süresi beş dakikadan az olarak analiz tamamlanmıştır.

1.3.6.2.Spektrofotometri

Al-Onazi ve ark. (2013), tarafından çalışmada, kombine farmasötik tabletlerinde KND ve HYD'nin aynı anda spektrofotometrik tayini için iki çok değişkenli kalibrasyon yöntemi uygulanmıştır. Çok değişkenli yöntemler, temel bileşen regresyonu (PCR) ve kısmi en küçük karelerdir (PLS). Her iki yöntemde, türev spektrofotometride kullanılan tek dalga boyu yerine birçok spektral dalga boyunun aynı anda dahil edilmesi nedeniyle spektral analizde kullanılmaktadır. Optimum test koşulları oluşturulmuş ve önerilen yöntemler, geri kazanımlara sahip olup kombine

farmasötik tabletlerde iki ilacın analizi için başarıyla uygulanmıştır. Farmasötik preratlarda bulunan yardımcı maddeler ile hiçbir etkileşim gözlenmemiştir. Sonuçlar, referans YPSK yöntemi ile elde edilenler ile karşılaştırılmıştır.

Morales ve ark. (2011), çalışmada, tek ilaç olarak KND'nin farmasötik formlarda tayini için iki basit ve hızlı yöntem geliştirmişler ve valide etmişlerdir. YPSK yöntemi, Chromolith RP-18e kolonda gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz, 50,0: 50,0 (h/h) oranında ACN - % 0,1 trifloroasetik asit sulu çözeltisidir ve ayırım 1,5 mL/dk akış hızında izokratik bir elüsyonda yapılmıştır. Diyot dizisi detektörü ile 251,0 nm'de çalışılmış ve kolon sıcaklığı 20,0 °C'ye ayarlanmıştır. Türev spektrofotometrik yöntem, ilaç konsantrasyonu ile birinci dereceden türev spektrofotometrik ölçüm arasındaki doğrusal ilişkiye dayanmaktadır. KND'nin alkali sulu çözeltileri türev eğrisinde (0,1 M NaOH) 246,0 nm'de maksimum ve 263,0 nm'de minimum göstermektedir. Ortalama geri kazanım yüzdesi olarak yöntemin doğruluğu % 98,9 ve BSS % 0,76'dır. Her iki yöntem de özgüllük, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, kararlılık için belirlenen parametrelere göre valide edilmiştir. Tanıma limitleri ve tayin limitleri, kromatografik parametreler ve elde edilen seçicilik, yayınlanan diğer yöntemlerden daha iyi olarak bulunmuştur. Yöntemler, iki ticari markanın katı dozaj farmasötik formlarında uygulanmıştır.

Al-Arfaj ve ark. (2011), tarafından, KND'nin tayini için, alkali bozunma ürünü olan KND'nin varlığında ikinci türev spektrofotometrik deney yöntemi uygulanmıştır. Yöntem, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, seçicilik ve duyarlılık açısından valide edilmiştir. Analiz, metanol içinde çözünen KND sıfır derece spektrumunda 291,2 nm dalga boyunda 4,0-32,0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Tanıma ve tayin limitleri sırasıyla 0,33 ve 1,00 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Önerilen yöntem, KND ticari tabletlerinde analizi için başarıyla uygulanmıştır. Sonuçlar, referans yöntemle elde edilenle istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Erk (2003), tarafından KND ve HYD karışımları birinci türev ve oran türevi spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. 270,1 ve 255,5 nm'deki dalga boyları birinci türev amplitudunda sırasıyla KND ve HYD analizi için seçilmiştir. İkinci yöntem, ikili

karışımın absorpsiyon spektrumunun bileşenlerden (etken maddelerden) birinin normalize bir spektrumuna bölünmesi ve ardından oran spektrumunun ilk türevinin hesaplanmasına dayanmaktadır. 236,0; 250,0; 232,0; 267,0 ve 280,0 nm'deki bölüm spektrumlarının birinci türevi, KND ve HYD tayini için seçilmiştir. Kalibrasyon eğrileri KND için 6,0-38,0 µg/mL ve HYD için 4,0-28,0 µg/mL arasında oluşturulmuştur. Doğrusallık, kesinlik ve seçicilik bulunmuş ve iki yöntem, ekspiyanların herhangi bir etkisi olmaksızın ilaç kombinasyonunu içeren farmasötik dozaj formuna başarıyla uygulanmıştır.

1.3.6.3.Voltametri

Süslü ve ark. (2009), tarafından farmasötik formülasyonlarda KND tayini için hassas, basit ve hızlı bir kare dalga adsorptif sıyırma voltametrik yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Önerilen yöntem, KND'nin pH 5,0'da fosfat tamponunda asılı cıva damla elektrotunda elektrokimyasal indirgenmesine dayanmaktadır. Önerilen yöntem 0,9986'lık bir korelasyon katsayısı ile 0,25-1,34 µg/mL çalışma aralığında doğrusal bir korelasyon göstermiştir. Bu yöntem için tanıma ve tayin limitleri, sırasıyla 1×10^{-2} ve $2,5 \times 10^{-1}$ µg/mL olarak hesaplanmıştır. Gün içi ve gün içi kesinlik için elde edilen sonuçlar (% BSS olarak) % 1,10 ile 3,90 arasında bulunmuştur. Geliştirilen kare dalga adsorptif sıyırma voltametrik yönteminden elde edilen sonuçlar literatürde bildirilen analitik yöntemle elde edilenlerle karşılaştırılmıştır.

1.3.7. Atorvastatin İçin Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.3.7.1.Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Varghese ve Ravi (2011), tarafından fenofibrat, ATO ve EZT aynı anda tayini için basit, doğru, hassas, hassas YPSK ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (HPTLC)-dansitometrik yöntemler geliştirilmiştir. Yöntem A'da, gradyan YPSK analizi, 15 mL/dk akış hızında 25,0 dk süreyle çözücü gradyan elüsyonunda % 0,1 formik asit ve ACN'den oluşan bir hareketli faz kullanılarak Shim-

pack C₁₈ kolonu (150,0 x 6,0 mm) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Miktar tayini, 245,0 nm'de bir fotodiyot dizili UV detektörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem B'de, HPTLC analizi, hareketli faz olarak toluen: metanol: trietilamin (8:1.5:0.1, h/h/h) kullanılarak alüminyum destekli silika jel 60F (254) tabakası üzerinde gerçekleştirilmiştir. 245,0 nm'de UV dansitometresi ile tayin gerçekleştirilmiştir. Analitik yöntemler Uluslararası Uyum Konferansı kılavuzlarına göre onaylanmıştır. Her iki yöntem de ilaçların laboratuvarında hazırlanmış karışımlarda ve tabletlerde analizi için başarıyla uygulanmıştır. Tablet eksipiyanlarından herhangi bir kromatografik etkileşim bulunmamıştır ve yöntemler, farmasötik formülasyonlarda üç etken maddenin aynı anda tayini için uygulanabilmektedir.

Londhe ve ark. (2011), tarafından kapsüllerdeki aspirin, ATO ve klopidoğrel bisülfatın aynı anda tayini için basit, doğru, hızlı ve hassas bir “izokratik” ters fazlı YPSK yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Kromatografik ayırma, hareketli faz olarak o-fosforik asit (50:50, h/h) ile ayarlanmış bir ACN:fosfat tamponu pH 30 karışımı kullanılarak bir Inertsil ODS analitik kolonunda (150 x 4,6 mm; 5 µm) 1,2 mL/dk akış hızında 235,0 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Retansiyon zamanları aspirin, ATO ve klopidoğrel bisülfat için sırası ile 1,89, 6,6 ve 19,8 dakikadır. Kalibrasyon eğrileri, ATO için 5,0-300 µg/mL ve aspirin ve klopidoğrel bisülfat için 30,0-105,0 µg/mL konsantrasyon aralığı üzerinde doğrusaldır. Yöntemin doğruluk, kesinlik, doğrusallık ve duyarlılık çalışmaları yapılmıştır. Önerilen yöntem, kapsüllerin kantitatif analizi için uygulanmıştır. Farmasötik dozaj formunun herhangi bir bileşeninden hiçbir etkileşim gözlenmemiştir. Validasyon çalışmaları, yöntemin spesifik, hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir olduğunu ortaya koymuştur.

1.3.7.2.Spektrofotometri

Nasr ve ark. (2020), tarafından mevcut araştırmada, anti-hiperlipidemik ilaçların aynı anda tyini için çevre dostu, hızlı, uygun maliyetli, güvenilir ve kolay bir yöntem sunulmuştur. FT-IR spektrumlarını elde etmek için kullanılan peletleri yapmak için öğütme ve KBr ile karıştırma dışında numune hazırlığı yapılmamıştır. Birinci türev FTIR spektroskopisi, EZT ile ikili karışımlarında kantitatif ATO, ROS ve simvastatini

değerlendirmek için kullanılmıştır. Analizin doğrulaması, doğrusallık, doğruluk, kesinlik, sağlamlık ve seçicilik sunan Uluslararası Uyum Konferansı (ICH) kılavuzuna göre gerçekleştirilmiştir. Tüm ilaçlar için çalışma aralığı 2,0-30,0 mg/g'dır. Tanıma limiti 0,607; 0,311; 0,491 ve 0,395 mg/g olduğu ve tayin limiti EZT, ATO, ROS ve SMV için 1,839; 0,942; 1,490 ve 1,190 mg/g olduğu bulunmuştur. Önerilen tekniğin gün içi ve günler arası ölçümler arasında yüzde hata ve yüzde BSS açısından doğru ve kesin olduğu bulunmuştur. Yöntem, tabletlerde incelenen ikili karışımların tayini için uygulanmıştır. Sonuçlar referans olarak UV spektrofotometrik türev yöntemleri ile karşılaştırılmış, aralarında önemli bir fark bulunmamıştır. Analitik eko-ölçek ve Yeşil Analitik Prosedür İndeksi (GAPI) ölçeği, tekniğin yeşil kimyaya uygunluğunu değerlendirmek için kullanılan iki ölçektir ve uygun olduğu bulunmuştur.

Gowda ve ark. (2012), tarafından formülasyonlarda ramipril ve ATO kalsiyumun aynı anda tayini için hızlı, basit ters faz YPSK ve klasik en küçük kareler, temel bileşen regresyon ve kısmi en küçük kareler kalibrasyonlarına dayalı üç spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. YPSK analizinde, Phenomenex - Luna RPC-18 250.0 x 4,6 mm 5,0 µm kolonu kullanılmış, hareketli faz ACN:0,1 M sodyum perklorat (pH 2,5) (70:30, h/h), akış hızı 1,5 mL/dk ve 210,0 nm'de UV dedektör ile analiz tamamlanmıştır. Kemometrik sayısal hesaplamalar yeni R-Yazılım Ortamı (sürüm 2.1.1) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hem kemometrik yöntemlerin sonuçları hem de önerilen kromatografik yöntemin sonuçları karşılaştırılmıştır. Laboratuvarında hazırlanan karışımlar ve tablet formülasyonları, geliştirilen yöntemlerle analiz edilmiştir.

1.3.7.3.Voltametri

Alghamdi ve Alsaleemi (2019), tarafından ATO voltametrik oksidasyonu, pH 3'te fosfat tamponunda siklik voltametri kullanılarak incelenmiştir. Ag/AgCl referans elektrot ve Pt yardımcı elektrot varlığında 0,95 V potansiyelde bir oksidasyon piki veren ATO camsı karbon elektrot yüzeyinde biriktirilmiştir. Siklik voltametri kullanarak ATO tayin edilmesi yüksek hassasiyeti, pH 3,0 fosfat tamponu, 30,0 s birikme süresi, 0,0 V biriktirme potansiyeli ve 100,0 mV/s tarama hızı gibi optimum

parametrelerle sağlanmış, bu nedenle parametreler sonraki deneyler için seçilmiştir. Yöntemin analitik performansını değerlendirmek için tekrarlanabilirlik, stabilite, kalibrasyon eğrisi ve tanıma limiti çalışılmıştır. Çalışma aralığı 1×10^{-5} - 6×10^{-5} mol/L aralığındadır. Tanıma limiti $7,25 \times 10^{-8}$ mol/L (0,04 ppm) olarak hesaplanmıştır. Ticari tablette ATO tayini için siklik voltametri tekniği uygulanmıştır.

Rageh ve ark. (2018), tarafından hem farmasötik formölasyonda hem de biyolojik numunelerde ATO belirlenmesi için kurşun kalem grafit elektrot kullanılarak kare dalga voltametri ile basit ve hassas bir analitik yöntem geliştirilmiş, optimize ve valide edilmiştir. ATO'nun voltametrik davranışı, iyonik sıvı bazlı yüzey aktif madde, 1-tetradecil-3-metilimidazolyum bromür varlığında siklik ve kare dalga voltametri kullanılarak incelenmiştir. Farklı faktörlerin ATO'nun oksidasyon tepe piki üzerindeki etkisi araştırılmış ve optimize edilmiştir, örneğin: pH, tarama hızı ve sürfaktan konsantrasyonu. Ayrıca geliştirilen yöntem tabletlerde ve spike edilmiş idrar örneklerinde ATO analizine uygulanmıştır.

1.3.7.4.Kapiller Elektroforez

Mircia ve ark. (2016), tarafından çalışmada, tablet formölasyonlarında AML ve ATO'nun aynı anda tayini için basit, hızlı, uygun maliyetli kapiler elektroforez yönteminin geliştirilmesini ve valide edilmesini sunmaktadır. En iyi sonuçlar, pH 7,0 değerinde 50,0 mM fosfat tamponu kullanıldığında elde edildi, maddeler beş dakikadan daha kısa sürede tayin edilmiş, migrasyon sırası AML ve ardından ATO'dur. Elektroforez koşulların optimizasyonu, iyileştirilmiş pik şekli, ayırma süresinin elde edilmesi ile yapılmıştır. Yöntemin analitik performansları, doğrusallık, tanıma limiti, tayin limiti, kesinlik, doğruluk, sağlamlık ve seçicilik gibi belirli parametreler ile valide edilmiştir. Yöntemin uygulanabilirliği, farmasötik preparat AML ve ATO'nun değerlendirilmesiyle valide edilmiştir.

1.3.7.5.Spektroflorimetri

Ayad ve Magdy (2015), tarafından önceden ayırma işlemleri olmaksızın ATO ve EZT ikili karışımının aynı anda tayini için iki doğru, güvenilir ve oldukça hassas spektroflorometrik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem, çift taramalı eşzamanlı floresans spektrometresine dayanır. ATO ve EZT'nin her biri, sırasıyla 100,0 nm ve 40,0 nm'de tarandığında diğerinden bağımsız olarak tayin edilebilmiştir. 272,0 (Delta lambda = 100,0 nm) ve 266,0 nm (Delta lambda = 40,0 nm olmak üzere iki dalga boyundaki bağıl floresan yoğunluk-konsantrasyon grafikleri sırası ile, 0,4-8,0 µg/mL (ATO için) ve 0,6-8,0 µg/mL (EZT için) aralığında doğrusaldır. İkinci yöntem, 273,0 nm'lik tek bir uyarma dalga boyu ve lambda (Em1) = 380,0 nm ATO ve lambda (Em2) = 301,0 nm kullanıldıktan sonra iki denklemin aynı anda çözüldüğü eşzamanlı denklemler tekniğine (Vierodt yöntemi) dayanmaktadır. Optimum koşullar altında, incelenen ilaçların floresan yoğunluğu ile konsantrasyonları arasında 0,4-8,0 µg/mL (ATO için) 0,6-8,0 µg/mL (EZT için) aralığında doğrusaldır. İki ilacın floresan yoğunluklarını etkileyen farklı deneysel parametreler incelenmiş ve optimize edilmiştir. İncelenen ilaçların saf formda, dozaj formunda ve geri kazanımı olan sentetik karışımlarda belirlenmesi için önerilen yöntemler başarıyla uygulanmış ve elde edilen sonuçlar referans yöntemle elde edilenlerle karşılaştırılmıştır.

Bu tez kapsamında amlodipin besilat isimli etken madde ile karışım halinde bulunan antihipertansif etkili preparatlardan her bir etken maddenin miktarları hiçbir ayırma işlemine gerek duyulmaksızın spektrofotometrik yöntemler ile aynı anda tayininin gerçekleştirilmesi ve bazı preparatlar için yeni yüksek performanslı sıvı kromatografi metot geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

- Spektrofotometre: Shimadzu UV 1800 (UVProbe 2,52 yazılımlı)
- Yüksek performanslı sıvı kromatografi: G1379A model gaz giderici, G1311A model dörtlü pompa, G1313A model enjektör. G1315B model DAD dedektör ve kolon fırını bulunan Agilent 1100 marka cihaz (Agilent Chemstation yazılımlı)
- Analitik kolon: Waters Spherisorb® ODS-2 C₁₈ (150,0 × 4,6 mm, 5,0 µm)
- Hassas terazi: Radwag AS82/220.R2
- Ultrasonik banyo: Bandelin Sonorex
- Saf su cihazı: Millipore Milli-Q sistem
- Manyetik karıştırıcı: Heidolp MR Hei-Standard
- pH metre: S220 Mettler Toledo
- Otomatik pipet: Thermo Fisher Scientific Finn timer
- Balonjojeler: 10,0; 5,0; 100,0 mL
- 0,45µm PVDF filtre: Sartorius

2.2. Kullanılan Kimyasallar

Tüm kimyasal ve çözücüler analitik ve kromatografik saflıkta kullanılmıştır. Metanol, etanol Fischer Scientific, ACN, potasyum dihidrojen fosfat, fosforik asit (%85,0) Merck firması tarafından sağlanmıştır. Standart olarak kullanılan AML, PER, İND, TEL, OLM, KND, ATO etken maddeleri Pfizer firmasından sağlanmıştır.

2.3. Analizi yapılan farmasötik preparatlar

Triplixam® (10,0/2,5/10,0 mg perindopril arjinin/indapamid/amlodipin Servier)

Coveram® tablets (10,0/10,0 mg perindopril arjinin/amlodipin Servier).

Excaliba® (20,0/5,0 mg olmesartan medoksomil/5 mg amlodipine eşdeğer 6,944 mg amlodipin besilat UFSA).

Tansifa® (16,0/10,0 mg kandesartan sileksetil/amlodipin Nobel)

Caduet® (10,0/10,0 mg amlodipin/atorvastatin Pzifer)

Twynsta® (80,0/5,0 mg telmisartan/amlodipin besilat Boehringer Ingelheim)

Farmasötik preparatlar Türkiye'deki yerel bir eczaneden satın alınmıştır. Twynsta® Mısır'dan temin edilmiştir.

2.4. Tez Kapsamında Kullanılan Yöntemler

2.4.1. Spektrofotometrik Yöntemler

2.4.1.1. Absorbans Çıkarma Yöntemi

Kelime iki Yunanca kelimedenden türemiştir: (isos): eşit ve absorpsiyon; aynı absorpsiyon noktasına sahip anlamına gelmektedir. İkili veya üçlü karışımlardaki etken maddelerin aynı anda tayini için kullanılmaktadır. İzoabsorpsiyon noktasında, etken madde karışımı, eşit absorptivite değeri gösterdikleri için tek bir bileşen olarak işlev görür. Böylece, seçilen izoabsorpsiyon noktasında (λ_{iso}) absorbans değeri ölçülerek, hem (X) hem de (Y) etken maddesinin toplam konsantrasyonu (λ_{iso})'da absorbans değeri kullanılarak hesaplanabilirken, karışımdaki etken maddelerden birinin konsantrasyonu herhangi bir tamamlayıcı yöntem kullanılarak belirlenebilmektedir. Tayin, bileşenlerden birinin matematiksel olarak hesaplanan faktörü kullanılarak yapılabilmektedir. Her bileşenin konsantrasyonu, tamamlayıcı bir

yönteme ihtiyaç duyulmadan izoabsorpsiyon noktası regresyon denklemi ile elde edilebilmektedir. Her X ve Y'nin konsantrasyonu, ayrı ayrı, izoabsorpsiyon noktası birleşik regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmaktadır (Lotfy ve ark., 2014).

2.4.1.2.Oran Çıkarma Yöntemi

Oran çıkarma yöntemi ön ayırma işlemine gerek kalmadan ikili karışımlardaki etken maddelerin tayini için ve bazı ilaçların degradasyon ürünleri varlığında tayininde uygulanabilmektedir. Sabitlerin uzatılmış (extended) kısımda ölçüldüğü bileşenlerden birinin sıfır derece absorpsiyon spektrumunun olmasına dayanmaktadır. (El-Bardicy ve ark., 2008).

2.4.1.3. Oran Farkı Spektrofotometrik Yöntem

Yöntem ikili ve üçlü etken madde içeren karışımlara uygulanabilmektedir. Bir karışımın oran spektrumundaki iki nokta arasındaki genlik farkı, ilgili bileşenin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır, diğer (girişim yapan) bileşenin bağımsızlığı oran farkı yönteminin temel ilkesidir (Lotfy ve Saleh, 2016).

2.4.1.4. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yöntemi

Yöntem X ve Y gibi iki etken madde içeren karışıma uygulanabilmektedir. Karışımda iki λ_1 ve λ_2 olarak iki dalga boyu seçilmektedir. Seçilen iki dalga boyunda Y'nin etkisini iptal etmek için seçilen iki dalga boyundaki saf Y'nin eşitlik faktörü (F_Y) hesaplanmaktadır ve sonuç olarak karışımın spektrumunda seçilen iki dalga boyu arasındaki absorbans farkı X maddesinin konsantrasyonu ile direkt orantılıdır. X konsantrasyonu regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmaktadır. Denklem, X'in saf spektrumlarının absorbans farkı değerlerinin X konsantrasyonlarına karşı grafiğinin çizilmesiyle elde edilmektedir. Y'nin konsantrasyonunu hesaplamak için yapılabilecek aynı prosedürü kullanarak seçilen iki dalga boyunda saf X'in eşitlik faktörünü (F_X) kullanarak Y konsantrasyonu hesaplanmaktadır (Lotfy ve ark., 2015).

2.4.1.5. Absorpsiyon Düzeltme Yöntemi

Yöntem X ve Y etken maddelerinin ikili karışımlarına uygulanabilmektedir. Y bileşeninin ortalama absorpsiyon faktörü değeri (λ_1 'de Abs / λ_2 'de Abs) hesaplanmaktadır. Karışımın (X + Y) λ_2 'deki absorbansı bu dalga boyunda X'in absorbansı olmadığı için saf Y'ninkine eşit olduğundan, X'in λ_1 'deki absorpsiyonu aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanabilir:

$$X\text{'in Abs } \lambda_1 = \text{Abs } \lambda_1 \text{ karışım (X+Y)} - [(\text{abs } \lambda_1 / \text{abs } \lambda_2) \times \text{Abs } \lambda_2 (X+Y)_{\text{karışım}}]$$

Y'nin Abs λ_1 / abs λ_2 absorpsiyon faktörüdür. λ_1 ve λ_2 karışımdaki dalga boylarına karşılık gelen absorbanslardır. X ve Y etken maddelerinin konsantrasyonları, sırasıyla λ_1 ve λ_2 'deki saf spektrumların absorpsiyon değerlerini konsantrasyonlarına göre çizerek elde edilen karşılık gelen regresyon denkleminde hesaplanmaktadır (Lotfy ve Saleh, 2016).

2.4.1.6. Sabit Merkez Yöntemi

Sabit merkez yöntemi iki tamamlayıcı adımı içermektedir. Yani sabit hesaplama şu şekilde yapılmaktadır, amplitut fark yöntemini takip eden sabit çarpma adımıdır. İlk adımın dayandığı yöntem amplitud fark yöntemi ile, eğer X ve Y gibi iki ilacın karışım halindeki spektrumu var ise X ilacı, karışım spektrumunu bilinen konsantrasyondaki X ilacına (X') bölerek tayin edilebilmektedir. Bölüm sonucunda yeni bir eğri elde edilmektedir.

$$\frac{X+Y}{X'} = \frac{X}{X'} + \frac{Y}{X'} = \frac{Y}{X'} + \text{sabit}$$

Oran spektrumunda seçilen dalga boyu λ_1 ve λ_2 'deki oran amplitut değerleri P_1 ve P_2 'dir.

$$P_1 - P_2 = \left\{ \left(\frac{Y}{X'} \right)_1 + \text{constant} \right\} - \left\{ \left(\frac{Y}{X'} \right)_2 + \text{constant} \right\}$$

$$P_1 - P_2 = \left(\frac{Y}{X'} \right)_1 - \left(\frac{Y}{X'} \right)_2$$

Amplitud fark yöntemi regresyon denklemi oluşturma işlemi ile başlamaktadır.

$$\left(\frac{Y}{X'} \right)_1 - \left(\frac{Y}{X'} \right)_2 = \text{eğim} \left(\frac{Y}{X'} \right)_1 + \text{kesim}$$

Oran spektrumunun λ_1 ve λ_2 dalga boyundaki amplitut değerlerinin farkının $\left(\frac{Y}{X'} \right)_1 - \left(\frac{Y}{X'} \right)_2$, λ_1 dalga boyundaki oran amplitut $\left(\frac{Y}{X'} \right)_1$ değerine karşı grafiğe geçirilmesi ile regresyon denklemi elde edilmektedir.

Postulated amplitud değer (P postulated) $\left(\frac{Y}{X'} \right)_1$, X+Y karışımında Y ile ilgili olan değer karışımın seçilen iki dalga boyundaki oran amplitud değerleri arasındaki fark alınarak oluşturulmuş önceki regresyon denklemi kullanılarak hesaplanabilmektedir.

λ_1 dalga boyundaki karışımın $\frac{X}{X'} + \frac{Y}{X'}$ (P recorded) ratio spektrumunun recorded amplitut değerinden aynı dalga boyundaki (λ_1) postulated değer çıkarılarak amplitut fark yöntemi ile sabit değer $\frac{X}{X'}$ hesaplanabilir. Özetle,

$$\text{Sabit değer} = P_{\text{recorded}} - P_{\text{postulated}}$$

$$\frac{X}{X'} = \left\{ \frac{X}{X'} + \frac{Y}{X'} \right\}_1 - \left\{ \frac{Y}{X'} \right\}_1$$

İkinci adımda, sabit değer $\frac{X}{X'}$ bölen olarak kullanılan X' ile çarpılarak X maddesinin orijinal spektrumunu elde edilir.

$$X = \frac{X}{X'} \times X'$$

X maddesinin konsantrasyonunu hesaplamak için, orijinal spektrumlarının maksimum dalga ($\lambda_{\max}$) boylarına karşı konsantrasyonlarının grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır (Lotfy, 2012).

2.4.1.7. Sabit Çıkarma Yöntemi

Yöntem iki adımdan oluşmaktadır. İlki sabit hesaplama ile amplitut farkı, ikinci adım sabit çarpma adımdır. İkili karışımlara uygulanmaktadır. İki tane kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır. Birinci kalibrasyon eğrisi saf haldeki maddelerin spektrumlarının maksimum dalga boyuna karşılık gelen absorbanlarının konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirilmesi ile oluşturulmuştur. İkinci kalibrasyon eğrisi A maddesinin belli bir konsantrasyondaki B maddesine bölümü yapılarak oran spektrumu elde edilmiştir. Elde edilen oran spektrumunda iki dalga boyu seçilmiştir. Seçilen dalga boylarına karşılık gelen absorbanlar hem çıkarılıp hem toplanmış aşağıdaki denklem elde edilmiştir.

$$\left(\frac{A}{B'}\right)_{\lambda_1} - \left(\frac{A}{B'}\right)_{\lambda_2} = \text{eğim} \left[\left(\frac{A}{B'}\right)_{\lambda_1} + \left(\frac{A}{B'}\right)_{\lambda_2}\right] + \text{kesim}$$

Yöntemin karışıma uygulanması; eğer karışımda A maddesi tayin edilmek isteniyorsa A'ya bölüm yapılmaktadır.

$$\frac{A+B}{A'} = \frac{B}{A'} + \frac{A}{A'}$$

Bölüm spektrumunda seçilen dalga boylarına karşılık gelen absorbanların farkı alınmaktadır.

$$\Delta P = P_{\lambda_1} - P_{\lambda_2} = \left(\frac{A+B}{A'}\right)_{\lambda_1} - \left(\frac{A+B}{A'}\right)_{\lambda_2} = \left(\frac{B}{A'}\right)_{\lambda_1} - \left(\frac{B}{A'}\right)_{\lambda_2}$$

Alınan fark değeri ikinci kalibrasyon eğrisinde yerine yazılarak $(\frac{B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{B}{A'})_{\lambda_2}$ postulated toplam değeri elde edilmektedir. Recorded değeri elde etmek için karışımın oran spektrumunda seçilen iki dalga boyuna karşılık gelen absorbanslar toplanmaktadır. Yani;

$$P_{\lambda_1} + P_{\lambda_2} = (\frac{A+B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{A+B}{A'})_{\lambda_2} = (\frac{B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{B}{A'})_{\lambda_2} + (\frac{A}{A'}) + (\frac{A}{A'})$$

$$P_{\text{toplaml}} = (\frac{B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{B}{A'})_{\lambda_2} + 2 \text{ sabit değeri}$$

Recorded – postulated değeri hesaplanır.

$$\Delta P = P_{\text{recorded top}} - P_{\text{postulated top}}$$

$$= (\frac{B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{B}{A'})_{\lambda_2} + 2 \text{ sabit değeri} - (\frac{B}{A'})_{\lambda_1} + (\frac{B}{A'})_{\lambda_2}$$

$$= 2 \text{ sabit değeri elde edilmektedir.}$$

Elde edilen iki sabit değeri bölme işlemi olarak ikiye bölünmektedir.

$$2 \frac{A}{A'} / 2 = \frac{A}{A'} \quad \frac{A}{A'} \times A'$$

Bulunan absorbans değerini A maddesinin maksimum absorbansa karşı konsantrasyon olarak oluşturulan kalibrasyon eğrisinde yerine yazılarak ve konsantrasyon hesaplanmaktadır ($\mu\text{g/mL}$ ppm). Kalibrasyon eğrisi A_{max} absorbansa karşılık gelen konsantrasyon grafiğinden hesaplanmaktadır. B'yi de aynı şekilde seçilen B konsantrasyonundaki spektrumuna B' bölerek yukarıda anlatılan iki adım uygulanarak konsantrasyon hesaplanabilmektedir (Lotfy ve ark., 2020).

2.4.1.8. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yöntemi

Yöntem X ve Y gibi ikili karışımlara uygulanabilmektedir. Yöntemde iki dalga boyu seçilerek işleme başlanmaktadır. Birincisi λ_{iso} izosbestik nokta ve ikinci bir dalga boyu λ_2 seçilmektedir. Seçilen dalga boylarındaki absorbans farkları alınarak izosbestik noktadaki absorbans değerine karşı grafik oluşturulmaktadır. İkinci kalibrasyon eğrisi için her iki etken maddenin konsantrasyona karşı izosbestik noktadaki absorbansları okunarak eğri oluşturulmaktadır. Birinci kalibrasyon eğrisi için denklem $A_{iso}-A_2 = m A_{iso} + n$ şeklinde olmaktadır (Lotfy ve Saleh, 2016).

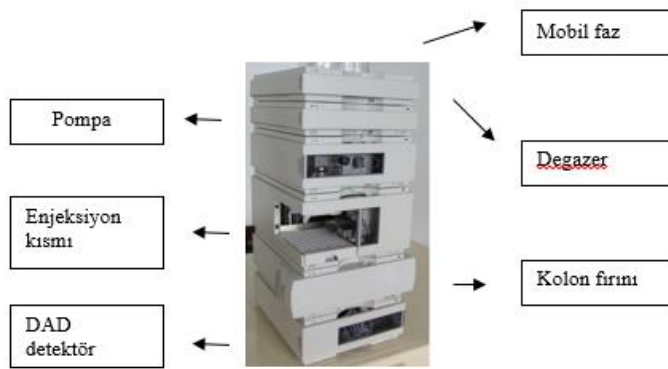
2.4.1.9. Gelişmiş Amplitut Modülasyon Yöntemi

Yöntem ikili karışımlara uygulanabilmektedir. Yöntemde bölüm spektrumu normalize spektruma bölünerek elde edilmektedir. Saf etken maddenin normalize spektruma bölünmesi ile elde edilen eğriden diğer bir dalga boyu seçilmektedir. İzosbestik noktanın seçilen dalga boyları arasındaki farklarına karşı kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır (Lotfy ve Saleh, 2016).

2.4.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

Ayırma gücü yüksek olan metot kolon kromatografinin bir şeklidir. Yöntemde hareketli faz kolondan bir pompa yardımıyla ilerletilir ve tayini yapılacak örnek sisteme enjekte edilerek kolondan ayrımı sağlanmaktadır.

Cihaz Şekil 2.1’de görüldüğü gibi pompa, enjeksiyon kısmı, kolon, dedektörden oluşmaktadır. Sabit fazda (kolon) hareketli fazın ilerlemesini ve sabit hızda akışı sağlayan bölüm pompadır. Kolonlar ayırmanın yapıldığı kısımdır. Uzunluklarına, çaplarına ve partikül boyutlarına ve türüne göre analizi yapılacak maddeye göre birçok kolon bulunmaktadır. Dedektörler kolondan ayrılan kimyasal bileşiklerin belirlenmesini sağlamaktadırlar. Floresans, elektrokimyasal, ultraviole, refraktif indeks dedektörler bulunmaktadır (Özden ve ark., 2004).



Şekil 2.1. YPSK cihazının bölümleri

2.5. Spektrofotometrik Analiz Yöntemlerinin Uygulanması

2.5.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Atorvastatin Etken Maddelerini İçeren Karışıma Uygulanması

2.5.1.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve ATO etken maddeleri 50,0 mL balonjojede metanolde çözülüp önce stok çözeltileri hazırlanmış daha sonra seyreltilerek 5,0-35,0 µg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır.

2.5.1.2. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması

Her iki etken maddenin absorbands çıkarma yöntemi ile tayin edilebilmesi için tek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. AML ve ATO'nun aynı absorbands değerine sahip oldukları izobestik nokta olan 314,0 nm dalga boyu seçilmiştir. AML artan konsantrasyonlarına karşı izobestik noktadaki absorbandsları okunarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

2.5.1.3. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti

Yöntemde izobestik noktaya göre oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak tayin limiti ve tanıma limiti hesaplanmıştır.

2.5.1.4. Kesinlik (geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliği)

Yöntemin tekrarlanabilirliği için gün içinde 0. saat, 30. dk, 1,2,3 ve 4. saatlerde olmak üzere altı farklı ölçüm alınmıştır. Günler arası tekrar edilebilirlik çalışması için 3 farklı gün ölçüm alınarak hesaplamalar yapılmıştır.

2.5.1.5. Doğruluk (geliştirilen yöntemin geri kazanım oranı)

Çalışılan yöntemin doğruluğunu belirlemek için hazırlanan tablet çözeltisine standart ekleme yöntemi ile AML ve ATO standart çözeltileri üç farklı konsantrasyonda katım yapılmıştır.

2.5.1.6. Farmasötik Preparata Uygulama

AML ve ATO içeren 10 tablet (Caduet® tartılarak bir tablet ağırlığı hesaplanmıştır. Tabletler havana alınıp karıştırılarak toz haline getirilmiştir. Bir tablet ağırlığı miktar balon jöjeye alınarak boyun kısmına kadar metanol ile doldurularak ultrasonik banyoda 20,0 dk bekletilmiştir. Karıştırıldıktan sonra hacmine

tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti 0,45 µm şırınga ucu filtreden süzüldü. Gerekli seyreltmeler yapılarak ölçüm alınmış ve miktar tayini yapılmıştır.

2.5.2. Oran Farkı Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.2.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve KND etken maddeleri iki ayrı 50,0 mL balon jodede metanol içinde çözülerek stok çözeltileri hazırlanmıştır. İki etken madde 5,0-35,0 µg/mL çalışma aralığında seyreltilerek yedi farklı konsantrasyonda üç tekrarlı çözeltileri hazırlanarak çalışılmıştır.

2.5.2.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

AML kalibrasyon eğrisini hazırlamak için saf halde hazırlanan 5,0-35,0 µg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan AML spektrumları 10,0 µg/mL konsantrasyondaki KND spektrumuna bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda 239,0 ve 255,0 nm dalga boyu seçilmiştir. Seçilen dalga boylarına karşılık gelen absorbans değerleri okunarak farkı alınmıştır. KND grafiği hazırlanırken saf KND spektrumları 10,0 µg/mL AML spektrumuna bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda 225,0 ve 289,0 nm dalga boyları seçilerek AML'ye uygulanan aynı işlemler yapılmıştır. İki etken madde için hesaplanan fark değerlerine karşı konsantrasyona göre kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

2.5.2.3. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti

Tanıma ve tayin limitini belirlemek için oran farkına göre hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır.

2.5.2.4. Kesinlik

AML ve KND için: Yöntemin tekrar edilebilirliği için gün içi ve günler arası çalışmalar yapılmıştır.

2.5.2.5. Doğruluk

Doğruluğun belirlenmesi için hazırlanan belli konsantrasyondaki tablet çözeltilerine farklı konsantrasyonlarda saf etken madde çözeltilerinin katımı yapılarak yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.2.6. Farmasötik Preparata Uygulama

AML ve KND içeren (Tansifa®) tablet tartılmıştır. Havanda toz haline getirilerek bir tablet ağırlığı kadar miktar balonjojeye alınmıştır. Boyun kısmına kadar metanol eklenerek ultrasonik banyoda 20,0 dk bekletilmiştir. Balon joje tamamlama çizgisine kadar tamamlanıp şırınga ucu filtreden süzölmüştür. Seyreltmeler yapılarak spektrumları alınmıştır. Yüzde geri kazanım değerleri yöneme göre hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.5.3. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlarına Uygulanması

2.5.3.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve OLM saf maddeleri balon jodede çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Gerekli seyreltmeler yapılarak AML 2,5-30,0 µg/mL ve OLM 2,5-25,0 µg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanıp çalışma eğrisinde kullanılmıştır.

2.5.3.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

Saf OLM ve AML eşitlik faktörü hesaplanmıştır. AML eşitlik faktörü için 239,0 nm ve 255,0 nm dalga boyları, OLM için 237,0 nm ve 250,0 nm dalga boyları seçilmiş, seçilen dalga boylarındaki absorbans değerleri oranlanmış, sırası ile 0,37 ve 0,85 (F_{AML} ($A_{255,0} / A_{239,0}$) ve F_{OLM} ($A_{237,0} / A_{250,0}$)) olarak hesaplanmıştır. AML'nin kalibrasyon eğrisini oluşturmak için OLM'nin eşitlik faktörü kullanılmış OLM için AML kullanılmıştır.

$$OLM \text{ için } \Delta A (A_{255,0} - F_{AML}A_{239,0}) = \text{eğim} \cdot C_{OLM} \pm \text{kesim}$$

$$AML \text{ için } \Delta A (A_{237,0} - F_{OLM}A_{250,0}) = \text{eğim} \cdot C_{AML} \pm \text{kesim}$$

2.5.3.3. Kesinlik

AML ve OLM tekrarlanabilirlik çalışmaları için: gün içi ve günler arası farklı günde tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır. 10,0 µg/mL konsantrasyonda çalışılmıştır.

2.5.3.4. Doğruluk

Doğruluğun belirlenebilmesi için yöntem laboratuvar karışımlarına, tablete ve tablete standart ekleme deneyleri yapılarak yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.3.5. Farmasötik Preparata Uygulama

AML ve OLM içeren Excaliba® tablet tartılmış daha sonra toz haline getirilerek bir tablet ağırlığı kadar miktar hesaplanmıştır. Tartılan bir tablet ağırlığı kadar miktar 50,0 mL'lik balon jöjeye alınarak metanolde ultrasonik banyoda çözülerek hacmine tamamlanmıştır. Şırınga ucu 0,45 µm partikül boyutlu PVDF filtreden süzülerek metanol ile konsantrasyonları çalışma aralığı içerisine girecek şekilde seyreltmeler yapılmıştır.

2.5.4. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.4.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve OLM saf maddelerinin standart çözeltileri bölüm 2.5.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.4.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

Absorbans faktör değeri (F) hesaplanmaktadır. Birinci dalga boyu OLM maksimum absorbansının olduğu 255,0 nm dalga boyu, ikinci olarak 360,0 nm (OLM’nin hiç absorbansının olmadığı) dalga boyu seçilmiştir.

$$\text{Absorbans faktör } F_{\text{AML}} = \text{Abs}_{255,0 \text{ nm}} / \text{Abs}_{360,0 \text{ nm}} = 0,128 / 0,118 = 1,0847$$

OLM ve AML kalibrasyon eğrileri konsantrasyona karşı 255,0 nm dalga boyundaki absorbansa göre oluşturulmuştur.

$$\text{OLM: } A_{255,0 \text{ nm}} = 0,0416 C + 0,0092 \quad r^2:0,9999$$

$$\text{AML: } A_{255,0 \text{ nm}} = 0,0126 C + 0,0093 \quad r^2:0,9975$$

Karışımındaki aml ve olm konsantrasyonunu hesaplamak için,

$$\lambda_{255,0} \text{ de karışımındaki AML nin absorbansı} = F_{\text{aml}} \times \text{abs}_{360,0} (\text{karışım})$$

$$\lambda_{255,0} \text{ de karışımındaki OLM nin absorbansı} = \text{abs}_{255,0} (\text{karışım}) - \text{abs}_{255,0} \text{ AML}$$

Yukarıdaki hesaplamalar ile bulunan absorbans değerleri ilgili kalibrasyon eğrisi denkleminde yerine konularak konsantrasyon hesaplanmaktadır.

2.5.4.3. Kesinlik

Tekrarlanabilirlik çalışmaları bölüm 2.5.3.3’de anlatıldığı şekilde çalışılmıştır.

2.5.4.4. Doğruluk

Yüzde geri kazanım çalışmaları için yöntem laboratuvar karışımlarına, tablete standart ekleme yapılarak ölçümü yapılan spektrumlara uygulanmıştır.

2.5.4.5. Farmasötik Preparata Uygulama

Farmasötik preparat bölüm 2.5.3.5’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Yöntemde preparatta AML tayini için 360,0 nm’de absorbans ölçülüp faktör değeri ile çarpılmıştır. Bulunan değer AML kalibrasyon eğrisinde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplaması yapılmıştır. OLM tayini için tabletin spektrumunda 255,0 nm’deki absorbans değerinden AML için hesaplanan değer çıkarılmıştır. OLM’nin kalibrasyona karşı 255,0 nm’de oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplanmıştır.

2.5.5. Oran Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etken Maddeleri İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.5.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve OLM saf maddelerinin standart çözeltileri bölüm 2.5.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.5.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

OLM ve AML etken maddelerinin saf spektrumlarında maksimum dalga boyları olan sırası ile 255,0 ve 360,0 nm dalga boyuna karşılık gelen absorbanslarına karşı konsantrasyon grafiği oluşturulmuştur. Karışımda OLM tayini için karışım spektrumu saf 10,0 µg/mL konsantrasyondaki AML spektrumuna bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda sabit bölge oluşmuştur. Sabit bölgedeki 360,0 nm dalga boyundaki absorbans değeri bölüm spektrumundan çıkarılmıştır. Yeni elde edilen

spektrum AML saf 10,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumu ile çarpılarak saf OLM elde edilmiştir. Elde edilen spektrumda 255,0 nm deki absorbans değeri okunmuş ve kalibrasyon eğrisinden elde edilen kalibrasyon denkleminde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır. Karışımda AML tayini doğrudan hazırlanan maksimum absorbansa karşı konsantrasyon grafiği çizilerek hesaplanmıştır.

2.5.5.3. Kesinlik

AML ve OLM saf maddelerinin standart çözeltileri bölüm 2.5.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.5.4. Doğruluk

Yüzde geri kazanım çalışmaları için yöntem laboratuvarında hazırlanan sentetik karışımlara, tablete ve tablete standart ekleme yapılarak uygulanmıştır. Olması gereken miktara göre geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.5.5. Farmasötik Preparata Uygulama

Tablet çözeltisi bölüm 2.5.3.5’te anlatıldığı gibi hazırlanıp yöntem uygulanmıştır. Yöntemi uygulamak için öncelikle hazırlanan tablet çözeltisinin spektrumu alınmıştır. Alınan spektrumda OLM tayini için tablet spektrumu programdan AML 10,0 µg/mL konsantrasyonuna bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda sabit bir bölge oluşmuştur. Bu bölgedeki 360,0 nm dalga boyuna karşılık gelen absorbans değeri yine program yardımı ile çıkarılmıştır. Elde edilen spektrumda 255,0 nm deki absorbans değeri okunmuştur. Oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklemde absorbans yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır. Preparatta AML doğrudan tayin edilerek hesaplanmıştır.

2.5.6. Sabit Merkez Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Etkin Maddelerini İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.6.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML ve OLM saf maddelerinin standart çözeltileri bölüm 2.5.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.6.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

Yöntemde her bir etken madde için iki kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır. OLM tayininde birincisi için, 2,5-30,0 µg/mL AML spektrumları 10,0 µg/mL konsantrasyondaki OLM spektrumuna program üzerinden bölme işlemi yapılarak oran spektrumu elde edilmiştir. Oran spektrumunda 238,0 ve 225,0 nm dalga boylarındaki absorbans farkı 238,0 nm absorbansa karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır. Karışımdaki OLM miktar tayini için karışım spektrumu OLM 10,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumuna bölünerek oran spektrumu elde edilmektedir. Elde edilen oran spektrumunda 238,0 ve 225,0 nm dalga boylarındaki absorbans farkı alınarak denklemde yerine konulmaktadır ve denklemden 238,0 nm deki denklemle hesaplanan absorbans değeri hesaplanmaktadır. Oran spektrumunda 238,0 nm’deki absorbans değeri direkt okunmuştur. Direkt okunan değerden hesaplanan değer çıkarılarak sabit OLM/OLM10’ absorbansı elde edilmektedir. Bu değer saf OLM 10,0 µg/mL konsantrasyondaki absorbans değeri ile çarpılarak ikinci kalibrasyon eğrisi yardımı ile oluşturulan denklem yardımı ile OLM’nin miktar tayinine geçilmektedir. İkinci kalibrasyon eğrisini oluşturmak için saf OLM spektumlarının konsantrasyona karşı maksimum absorbansı olan 255,0 nm de grafiğe geçirilmiştir.

AML tayininde birinci kalibrasyon eğrisi için, 2,5-25,0 µg/mL OLM spektrumları 10,0 µg/mL konsantrasyonundaki AML spektrumuna program yardımı ile bölme işlemi yapıldığında oran spektrum elde edilmektedir. Oran spektrumda 273,0 ve 225,0 nm dalga boylarındaki absorbans farkı 273,0 nm absorbansa karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmaktadır. Karışımdaki AML miktar tayini için karışım spektrumu aml 10,0 µg/mL spektrumuna bölünerek oran spektrum elde edilmektedir. Elde edilen oran spektrumunda 273,0 ve 225,0 nm dalga boylarındaki absorbans farkı alınarak denklemde yerine konulmaktadır ve denklemden 273,0 nm

deki denklemden hesaplanan absorbans değeri hesaplanmaktadır. 273,0 nm’de direkt oran spektrumundaki okunan absorbans değerinden denklemden hesaplanan absorbans değeri çıkarılarak sabit $a \cdot l$ elde edilmektedir. Bu değeri $10,0 \mu\text{g/mL}$ ile çarpılarak AML miktar tayinine geçilmektedir. İkinci kalibrasyon eğrisinde konsantrasyon hesabı için AML konsantrasyonuna karşı maksimum absorbans olan 360,0 nm de grafiğe geçirilmiştir.

2.5.6.3. Kesinlik

AML ve OLM saf maddelerinin standart çözeltileri bölüm 2.5.3.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.6.4. Doğruluk

Yüzde geri kazanım çalışmaları için yöntem sentetik laboratuvar karışımlarına, hazırlanan tablet çözeltisine uygulanmıştır.

2.5.6.5. Farmasötik Preparata Uygulama

Tablet çözeltisi çalışma aralığına denk gelecek şekilde $10,0 \mu\text{g/mL}$ OLM ve $2,5 \mu\text{g/mL}$ AML içerecek şekilde hazırlanmıştır. Yöntemde OLM tayininde ölçümü alınan tablet spektrumu program yardımı ile saf OLM $10,0 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki spektruma bölünmüştür. Elde edilen bölüm eğrisinde 238,0 ve 225,0 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin farkı alınmıştır. AML etken maddesinin OLM’ye bölünmesi ile oluşturulan kalibrasyon denkleminde yararlanılarak 238,0 nm de denklemden hesaplanan absorbans değeri hesaplanmıştır. Bölüm işlemi yapılan tablet spektrumundan 238,0 nm’de direkt absorbans okunmuştur. Direkt okunan absorbans değerinden denklem ile hesaplanan absorbans değeri çıkarılarak sabit $a \cdot l$ elde edilmiştir. Hesaplanan fark değeri saf OLM spektrumunun 255,0 nm’deki absorbans değeri ile çarpılmıştır. Bulunan absorbans değeri OLM’nin konsantrasyonuna karşı absorbans denkleminde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır. Tablette AML

taini için tablet spektrumu program yardımı ile saf AML 10.0 µg/mL konsantrasyondaki spektruma bölünmüştür. Oluşan bölüm eğrisinde 225,0 nm ve 273,0 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri birbirinden çıkarılmıştır. Bulunan absorbans değeri OLM'nin AML'ye bölünmesi ile oluşturulan denklemde yerine yazılarak denklemden hesaplanan değer 273,0 nm'de elde edilmiştir. Bölüm işlemi yapılan tablet spektrumunda 273,0 nm'de absorbans direkt okunmuştur. Direkt okunan değerden denklemden hesaplanan değer çıkarılmış ve aml/aml' absorbans değeri elde edilmiştir. Absorbans değeri saf AML absorbansı ile çarpılarak AML absorbansı bulunmuştur. Bu değer AML'nin 360,0 nm'ye karşı oluşturulan denklemde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır.

2.5.7. Sabit Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan ile Amlodipin ve Atorvastatin İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.7.1. Standart Çözelti Hazırlama

Her bir etken maddenin ayrı ayrı standart çözeltileri bölüm 2.5.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. AML ve ATO de aynı şekilde hazırlanmıştır.

2.5.7.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

Yöntemin AML ve ATO karışımına uygulanmasında herbir etken madde için iki kalibrasyon eğrisi toplam dört kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. ATO tayini için çalışma aralığındaki saf AML spektrumları program ile ATO 10,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumuna bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda 236,0 ve 250,0 nm olmak üzere iki dalga boyu seçilmiştir. Bu dalga boylarındaki absorbanslar hem toplanmış hem de çıkarılmıştır. Toplanan absorbans değerleri çıkarılan absorbans değerlerine karşı grafiğe geçirilerek denklem oluşturulmuştur. Karışıma uygulamak için karışım spektrumu ATO'ya bölünmüştür. Bölüm spektrumunda seçilen dalga boylarındaki absorbans değerleri birbirinden çıkarılmıştır. Bulunan değer oluşturulan kalibrasyon denkleminde yerine yazılarak

denklemden hesaplanan absorbands toplamı bulunmuştur. Karşımın bölüm spektrumunda 236,0 nm ve 250,0 nm'deki absorbands değerleri direkt toplanmıştır. Direkt toplanan değerlerin içinde iki sabit değer de vardır. Direkt toplanan değerden denklem yardımı ile hesaplanan değer çıkarıldığında iki sabit değer elde edilmektedir. Bu değer ikiye bölünerek bir sabit değer olan ato/ato' değeri elde edilmiştir. Bu değer ATO'nun 10,0 µg/mL konsantrasyon spektrumunda 247,0 nm'deki absorbands değeri ile çarpılmıştır. Elde edilen değer diğer oluşturulan kalibrasyon denkleminde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır. Diğer denklem ATO maksimum absorbandsına karşı konsantrasyon grafiğe geçirilerek oluşturulmuştur. AML tayini için ATO spektrumları AML 10,0 µg/mL konsantrasyondaki spektruma bölünmüştür. Yeni oluşan bölüm spektrumunda 288,0 nm ve 278,0 nm olmak üzere iki dalga boyu seçilmiştir. İki dalga boyuna karşılık gelen absorbands değerleri okunmuştur. Bu değerlerin toplamı farkına karşı grafiğe geçirilerek denklem elde edilmiştir. İkili karışımda AML tayini için karışım spektrumu 10,0 µg/mL konsantrasyondaki AML'ye program yardımı ile bölünmüştür. Elde edilen bölüm spektrumunda 288,0 nm ve 278,0 nm'deki absorbands değerlerinin farkı alınmıştır. Elde edilen değer denklemde yerine yazılarak denklemden elde edilen toplam değeri bulunmuştur. Bölüm eğrisinde direkt olarak iki dalga boyundaki absorbands değerleri toplanmıştır. Direkt toplanan değerden denklemden hesaplanan değer çıkarılarak iki sabit değer (aml/aml') elde edilmiştir. Bu değer ikiye bölünüp 10,0 µg/mL konsantrasyondaki AML'nin maksimum dalga boyundaki absorbands değeri (360,0 nm) ile çarpılmıştır. Bu değer ikinci olarak oluşturulan AML'nin konsantrasyona karşı maksimum absorbandsına göre denklemde yerine yazılarak miktar tayini yapılmıştır.

AML ve KND karışımında her bir etken maddenin miktarını tayin etmek için aynı işlemler uygulanmıştır. KND tayini için karışım KND 10,0 µg/mL konsantrasyonuna bölünmüştür. Bölüm spektrumunda seçilen dalga boyları 239,0 nm ve 255,0 nm'dir. KND için ikinci oluşturulan kalibrasyon eğrisi konsantrasyona karşı maksimum absorbands (254,0 nm) grafiğidir. Son adımda buradan oluşturulan denklem yardımı ile konsantrasyona geçilmiştir. AML tayini için karışım AML 10,0 µg/mL konsantrasyona program yardımı ile bölünmüştür. Bölüm spektrumunda 225,0 nm ve 289,0 nm dalga boyları seçilmiştir. Diğer adımlar yukarıda anlatıldığı şekilde

uygulanmış ve ikinci kalibrasyon eğrisi AML'nin konsantrasyona karşı maksimum absorbandsı 360,0 nm'deki absorbanda karşı grafiğe geçirilerek oluşturulmuştur. Buradan ikili karışımda AML tayin edilmiştir.

2.5.7.3. Kesinlik

AML ve KND için: Yöntemin tekrar edilebilirliği için gün içi ve günler arası çalışmalar yapılmıştır.

AML ve ATO için: gün içi altı farklı zamanda ve günler arası üç farklı günde tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır. 10,0 µg/mL konsantrasyonda üç tekrarlı çalışılmıştır.

2.5.7.4. Doğruluk

Doğruluğun belirlenmesi için hazırlanan belli konsantrasyondaki tablet çözeltilerine farklı konsantrasyonlarda saf etken madde çözeltilerinin katımı yapılarak, hazırlanan laboratuvar karışımlarına ve preparata yöntem uygulanarak yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.7.5. Farmasötik Preparata Uygulama

Preparat çözeltileri bölüm 2.5.2.6'da belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Yöntemin preparata uygulanmasında spektrumu alınan tablet çözeltisine işlemler yapılarak miktar tayini hesaplanmıştır. ATO ve AML içeren preparatta ATO tayin etmek için tablet spektrumu ATO'nun sabit konsantrasyondaki (10,0 µg/mL) spektrumuna bölünmüştür. Elde edilen spektrumda 236,0 ve 250,0 nm dalga boyları seçilerek absorbands değerleri çıkarılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisinde yerine yazılarak denklemden hesaplanan absorbands toplamı bulunmuştur. Bölüm işlemi yapılan spektrumda seçilen iki dalga boyundaki absorbandslar direkt toplanmıştır. Direkt toplanan değerden denklemden bulunan değer çıkarılarak ikiye bölünmüştür.

Bu değer ATO'nun (10,0 µg/mL) maksimum absorbans ı ile çarpılmıştır. Bulunan değer ATO'nun maksimum absorbansa karşı absorbans grafiğinde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplanmıştır.

2.5.8. Gelişmiş Absorbans ıkarma Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.8.1. Standart özelti Hazırlama

Her iki etken maddenin stok çözeltileri 50,0 mL balon jodede hazırlanmıştır. AML 5,0-35,0 µg/mL ve TEL 4,0-20,0 µg/mL çalışma aralığında hazırlanmıştır.

2.5.8.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

TEL ve AML için izosbestik nokta 328,0 nm seçilmiştir. İkinci dalga boyu seçilirken AML saf spektrumları 328,0 nm'de absorbans ı okunmuş ve bu absorbans değerlerine eşit olan absorbans dalga boyu 264,0 nm'de olduğu için seçilmiştir. Kalibrasyon eğrilerinin ilki oluşturulurken saf TEL'in izosbestik noktadaki absorbansına karşılık $\lambda_{264,0} - \lambda_{328,0}$ dalga boylarındaki absorbanslarının fark değerlerine karşı grafiğe geirilmıştir.

Diğer kalibrasyon eğrileri saf AML ve TEL konsantrasyona karşı izosbestik noktadaki absorbans değerine göre grafiğe geçirilerek oluşturulmuştur.

Karışımdaki TEL konsantrasyonunu hesaplamak için karışımın spektrumundaki seçilen dalga boylarındaki absorbans farkları alınmıştır. İlk denklemde yerine konularak denklemden hesaplanan değer hesaplanmıştır (TEL izosbestik noktadaki absorbans değeri). Bulunan değer ikinci oluşturulan kalibrasyon denkleminde yerine yazılarak TEL konsantrasyonuna geçilmiştir.

Karışımın spektrumunda direkt 328,0 nm'deki (izosbestik noktadaki) absorbansı okunur (recorded değer). Bu değer içinde hem TEL hem AML absorbansı bulunmaktadır. Okunan direkt (recorded) değerden denklemden hesaplanan değer (postulated) çıkarılarak AML'nin 328,0 nm'deki absorbans değeri bulunmuştur. Buradan da AML için ikinci oluşturulan kalibrasyon denkleminde hesaplanarak konsantrasyona geçilmiştir.

2.5.8.3. Kesinlik

Yöntemin tekrar edilebilirliği için AML ve TEL saf etken maddelerine gün içi ve günler arası deneyler yapılmıştır.

2.5.8.4. Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu belirleyebilmek için tablet çözeltisine standart ekleme yapılarak geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.8.5. Farmasötik Preparata Uygulama

AML ve TEL içeren (Twynsta®) tablet tartılmıştır. Havanda toz haline getirilerek bir tablet ağırlığı kadar miktar balonjojeye alınmıştır. Boyun kısmına kadar metanol eklenerek ultrasonik banyoda 20,0 dk bekletilmiştir. Balon joje tamamlama çizgisine kadar tamamlanıp şırınga ucu filtreden süzölmüştür. Seyreltmeler yapılarak spektrumları alınmıştır. Yüzde geri kazanım değerleri yönteme göre hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.5.9. Gelişmiş Amplitut Modulasyon Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan İçeren Karışımlara Uygulanması

2.5.9.1. Standart Çözelti Hazırlama

AML 5,0-35,0 µg/mL ve TEL 4.0-20.0 µg/mL çalışma aralığında metanol çözeltisi içerisinde 50,0 mL balon jode hazırlanmıştır.

2.5.9.2. Kalibrasyon Eğrisi Hazırlama

Çalışılan etken maddelerin izosbestik noktası 328,0 nm olarak belirlenmiştir. Çalışılan spektrumlar normalize spektruma bölünerek elde edilen eğrilerde de aynı izosbestik noktaya sahip olması gerekmektedir ve 328,0 nm olarak seçilmiştir. Bölüm spektrumunda ikinci dalga boyu olarak 290,5 nm seçilmiştir. TEL normalize AML spektrumuna bölünerek elde edilen eğriden 328,0 nm'deki absorbansa karşı seçilen iki dalga boyları arasındaki absorbans farkları grafiğe geçirilmiştir. Diğer kalibrasyon eğrileri bölüm spektrumundaki 328,0 nm dalga boyundaki absorbansa karşı konsantrasyon grafiğe geçirilerek elde edilmiştir.

Karışım da her bir etken madde tayin edilirken karışım spektrumları normalize spektruma bölünerek elde edilen eğrilerde seçilen dalga boylarındaki absorbans farkı alınarak oluşturulan ilk denklemde yerine yazılmış denklemden elde edilen izosbestik noktadaki absorbans bulunmuştur. Elde edilmek istenen etken maddeyi tayin ederken o madde için oluşturulan diğer denklemde yerine yazılarak konsantrasyona geçilmektedir. Diğer etken madde için karışımın bölüm eğrisinde direkt olarak 328,0 nm'deki absorbansı okunmaktadır. Bu değerden denklemden hesaplanan değer çıkarılıp ilgili denklemde yerine yazılarak konsantrasyona ulaşılmaktadır.

2.5.9.3. Kesinlik

Tekrar edilebilirlik çalışmaları için AML ve talimisartan saf etken maddelerine gün içi ve günler arası deneyler yapılmıştır.

2.5.9.4. Doğruluk

Doğruluğu belirleyebilmek için laboratuvarında standart etken madde karışımları hazırlanarak geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

2.5.9.5. Farmasötik Preparata Uygulama

Preparat çözeltileri bölüm 2.5.8.5'te anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Yöntem preparata uygulanırken tablet spektrumları normalize spektruma bölünmüş elde edilen bölüm eğrisinde 290,5 ve 328,0 nm dalga boylarındaki absorbans farkı alınarak denklemde yerine konulmuş ve 328,0 nm'deki absorbans değeri denklem yardımı ile hesaplanmıştır. Bölüm eğrisinde 328,0 nm'de absorbans direkt olarak okunmuştur. Direkt okunan değerden denklemde hesaplanan değer çıkarılarak ilgili denklemlerde yerine yazılarak konsantrasyon hesaplamaları yapılmıştır.

2.6. Yüksek performanslı Sıvı Kromatografi Yönteminin Amlodipin, Perindopril ve İndapamid İçeren Karışım ile Amlodipin ve Perindopril İçeren Karışımlara Uygulanması

2.6.1. Standart Çözelti, Kalibrasyon Eğrisi ve Hareketli Faz Hazırlama

Stok etken madde çözeltileri 200,0 µg/mL konsantrasyonda metanolde çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltiler hareketli faz kullanılarak seyreltilmiştir. AML ve PER 10,0-40,0 µg/mL, İND 5,0-20,0 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Üç tekrarlı olarak hazırlanan kalibrasyon çözeltileri cihaza enjekte edilmiştir. Her etken madde piklerinin alanları okunarak konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen denklemden laboratuvar karışımlarında ve farmasötik preparatlarda analiz yapılmıştır. Potasyum dihidrojen fosfat kullanılarak 20,0 mM fosfat tamponu hazırlanmış ve fosforik asit ile pH 3'e ayarlanmıştır. Süzme işleminden sonra bütün çözücüler ultrasonik banyoda yarım saat bekletilerek degaze işlemi yapılmıştır.

2.6.2. Kromatografik Şartlar

G1379A model gaz giderici, G1311A model dörtlü pompa, G1313A model enjektör. G1315B model DAD dedektör ve kolon fırını bulunan Agilent 1100 marka cihaz kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz 65:5:30 (h/h/h) oranında ACN:metanol:fosfat tampon karışımından hazırlanmış ve 0,45 µm membran filtreden süzölmüştür. Akış hızı 1,0 mL/dk olarak çalışılmış, enjeksiyon hacmi 20,0 µl olarak ayarlanmıştır. 220,0 nm dalga boyunda çalışılmış ve analiz 25,0 °C’de yapılmıştır. 20,0 dk boyunca kolondan hareketli faz geçirilerek kolon şartlandırılmıştır. Analiz Waters Spherisorb® ODS-2 C₁₈ (150 × 4,6 mm, 5 µm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Agilent Chemstation yazılımlı programda alan okumaları yapılarak miktar tayini yapılmıştır.

2.6.3. Kesinlik

Tekrarlanabilirlik çalışmaları etken maddeler için gün içi ve günler arası deneyler yapılarak elde edilmiştir. Gün içi çalışmalar için 0., 30. dk, 1., 2., 3., 4. ve 5. saatlerde ölçümler alınmıştır. Günler arası tekrarlanabilirlik çalışmaları için beş farklı günlerde ölçüm yapılmıştır.

2.6.4. Doğruluk

Yöntemin doğruluğunun belirlenebilmesi için yüzde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Yüzde geri kazanım hesaplamaları laboratuvar karışımlarına, farmasötik preparata ve farmasötik preparata standart ekleme yapılarak uygulanmıştır.

2.6.5. Sağlamlık

Yöntemin sağlamlığı, ACN / tampon çözelti pH 3,0 / metanol oranındaki küçük değişiklikler gibi farklı deneysel koşullar altında numunelerin analizi ile incelenmiştir (hacimce 55/40/5 ile 60/35/5 ve 65/30/5). Ek olarak, tampon pH (2,5; 2,7 ve 3,0), akış

hızı (0,8; 1,0 ve 1,2 mL/dk), kolon sıcaklığı (25, 30 ve 35 °C) ve farklı dedektör dalga boylarında (215,0; 220,0 ve 225,0 nm) kontrol edilmiştir.

2.6.6. Seçicilik

Yöntemin seçiciliği için farmasötik preparatta etken maddelerin tayini yapılmıştır. Preparatta bulunan yardımcı maddeler etken maddelere girişim yapmamıştır.

2.6.7. Tanıma Limiti ve Tayin Limiti

Tayin limiti kabul edilebilir en düşük konsantrasyonun belirlenmesinde ve tanıma limiti ölçüm sınırlarına girmeyen ama cihazın ölçebildiği en düşük sınırın belirlenmesinde kullanılmıştır. Bazı formüllerle hesaplanmıştır.

$$\text{Tanıma limiti} = 3 \times \text{SS} / m \quad \text{Tayin limiti} = 10 \times \text{SS} / m$$

m: kalibrasyon eğrisinin eğimi SS: en düşük konsantrasyondaki etken madde kromatogramlarından elde edilen alanların standart sapma değeri

2.6.8. Farmasötik Preparatlara Uygulama

Triplixam® ve Coveram® tabletlerinden on tablet tartılarak bir tablet ağırlığı bulunmuştur. Havanda toz edilmiştir. Bir tablet ağırlığı kadar miktar tartılarak 50 mL hacminde balon jojeye alınmış metanolde çözülmüştür. 20,0 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiş ve hacmine tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm şırınga filtreden süzölmüştür. Hareketli faz yardımı ile gerekli seyreltmeler yapılmıştır. Her bir etken maddenin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi yardımı ile hesaplanmıştır. Tablet çözeltilerine konsantrasyonu bilinen saf standart çözeltiler eklenerek yöntemin doğruluğu belirlenmiştir.

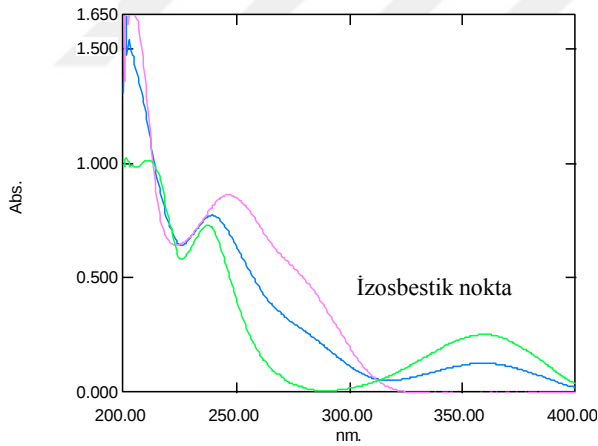
3. BULGULAR

3.1. Spektrofotometrik Analiz Yöntemlerinin Sonuçları

3.1.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Atorvastatin İçin Analiz Sonuçları

3.1.1.1. Absorbans Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi

Yöntem basit, hızlı olarak iki etken maddenin aynı anda miktar tayini için uygulanmıştır. Yöntemde çözücü olarak metanol kullanılmış ek bir çözücü kullanılmamıştır. Yöntemin uygulanabilmesi için etken maddelerin isosbestik noktaya sahip olmaları gerekmektedir. AML, ATO ve isosbestik noktalarını (314,0 nm) gösteren spektrum Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. AML (yeşil), ATO (pembe) ve ikili karışımlarının (mavi) spektrumları

Absorbans çıkarma yönteminde artan konsantrasyona karşı izobestik noktadaki absorbans değerleri grafiğe geçirilmiştir. Tekrar edilebilirlik çalışmaları için gün içi ve günler arası deneyler yapılmış ve kalibrasyon eğrisine ait veriler ile birlikte Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. AML ve ATO absorbans çıkarma kalibrasyon eğrisi parametreleri

Parametre	AML ve ATO
Dalgaboyu	314,0 nm
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0
Eğim	0,0032
Kesim noktası	0,0065
Regresyon (r^2)	0,9985
Tanıma limiti (µg/mL)	0,29
Tayin limiti (µg/mL)	0,98
Gün içi BSS, %	2,01
Günler arası BSS, %	3,95

3.1.1.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları

Analizin doğruluğu için tablete standart ekleme yapılarak yüzde geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Veriler Çizelge 3.2’de verilmiştir. Yöntem tablete uygulanarak miktar tayini yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.2. Absorbans çıkarma yöntemi yüzde geri kazanım sonuçları

Numune No	Tablet ATO kons. (µg/mL)	Eklenen standart ATO kons. (µg/mL)	Bulunan standart ATO kons. (µg/mL)	ATO yüzde içerik sonuçları	Tablet AML kons. (µg/mL)	Eklenen standart AML kons. (µg/mL)	Bulunan standart AML kons. (µg/mL)	AML yüzde içerik sonuçları
1	10,85	5,0	15,63	98,6	13,87	5,0	18,92	100,3
2	10,85	10,0	20,41	97,9	13,87	10,0	23,89	100,1
3	10,85	15,0	35,28	98,4	13,87	15,0	28,94	100,2
Ortalama				98,3				100,2
SS				0,36				0,10
BSS, %				0,37				0,09

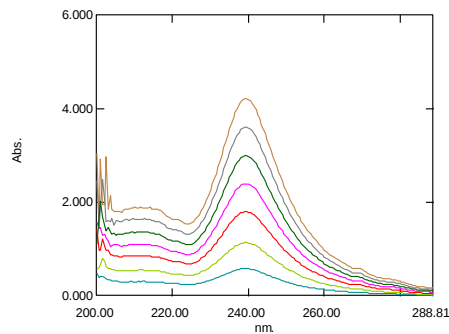
Çizelge 3.3. Farmasötik preparat (Caduet®) sonuçları

Numune No	Caduet® Yüzde içerik	
	ATO	AML
1	99,5	99,8
2	100,6	100,4
3	99,7	99,8
4	101,9	100,6
5	100,3	101,4
Ortalama	100,4	100,4
SS	0,95	0,66
BSS, %	0,94	0,66

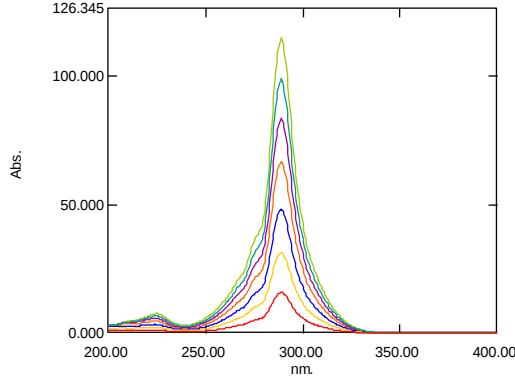
3.1.2. Oran Farkı Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan Analiz Sonuçları

3.1.2.1. Oran Farkı Yönteminin Geliştirilmesi

AML ve KND etken maddelerini tayininde iki madde için de kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. AML için kalibrasyon eğrisi hazırlanırken çalışma aralığındaki her bir spektrum 10,0 µg/mL konsantrasyondaki KND spektrumuna bölünmüş elde edilen spektrumlar Şekil 3.2’de gösterilmiştir. KND kalibrasyon eğrisi hazırlanırken AML 10,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumuna bölünmüş elde edilen spektrumlar Şekil 3.3’te gösterilmiştir.



Şekil 3.2. AML çalışma aralığındaki spektrumların KND 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları



Şekil 3.3. KND çalışma aralığındaki spektrumların AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları

Çalışma eğrisi oluşturulurken bölüm 2.5.2.2’de belirtilen dalga boyları seçilmiştir ve oluşturulan eğrilere ait parametreler Çizelge 3.4’te verilmiştir.

Çizelge 3.4. AML ve KND için oran farkı yöntemi kalibrasyon eğrisi parametreleri

Parametreler	AML ve KND	
	AML	KND
Dalgaboyu (nm)	239,0-255,0	225,0-289,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0	5,0-35,0
Eğim	0,0791	3,1102
Kesim noktası	0,0138	-1,5849
Regresyon (r^2)	0,9999	0,9996
Tanıma limiti (µg/mL)	0,41	0,42
Tayin limiti (µg/mL)	1,36	1,43
Gün içi BSS, %	2,04	2,51
Günler arası BSS, %	3,01	3,12

3.1.2.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları

Doğruluk çalışmaları için laboratuvar karışımlarına ait AML ve KND sonuçları çizelge 3.5’da gösterilmiştir. Tablete ait sonuçlar çizelge 3.6’de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Oran farkı yöntemi AML ve KND için yüzde geri kazanım sonuçları

No	KND				AML			
	Eklenen AML konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Eklenen KND konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	10,00	10,38	103,8	10,00	5,00	5,04	100,8
2	10,00	15,00	15,46	103,0	10,00	10,00	10,02	100,2
3	10,00	20,00	20,45	102,2	10,00	15,00	15,15	101,0
4	10,00	25,00	25,15	100,6	10,00	20,00	20,04	100,2
5	10,00	35,00	35,13	100,4	10,00	25,00	24,95	99,8
Ortalama	102,0				100,4			
SS	1,52				0,50			
BSS, %	1,49				0,50			

Çizelge 3.6. Oran farkı yönteminin tablet sonuçları

Numune no	Tansifa® Yüzde içerik	
	AML	KND
1	100,4	103,55
2	101,6	100,36
3	101,0	101,93
4	100,1	100,03
5	100,4	100,70
Ortalama	100,7	101,3
SS	0,60	1,44
BSS, %	0,59	1,42

3.1.3. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları

3.1.3.1. İndüklenmiş Çift Dalga Boyu Yönteminin Geliştirilmesi

Bölüm 2.5.3.2’de anlatıldığı şekilde iki kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur ve eğriye ait parametreler Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Yöntemde AML ve OLM kalibrasyon eğrisi parametreleri

Parametre	AML	OLM
Dalga boyu (nm)	237,0-250,0	255,0-239,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	2,5-30,0	2,5-25,0
Eğim	0,0186	0,0288
Kesim noktası	0,0012	0,0072
Regresyon (r^2)	0,9993	0,9999
Tanım limiti (µg/mL)	0,64	0,76
Tayin limiti (µg/mL)	2,12	2,05
Gün içi BSS, %	2,01	1,05
Günler arası BSS, %	3,94	2,34

3.1.3.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları

Analizin doğruluk çalışmaları için tablete standart ekleme yapılmış ve yöntem farmasötik preparata uygulanmış ve sonuçları çizelge 3.8 ve 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.8. AML ve OLM yüzde geri kazanım sonuçları

No	OLM				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	5,0	14,43	96,2	3,47	5,0	8,58	101,3
2	10,00	10,0	19,63	98,2	3,47	10,0	13,74	101,9
3	10,00	15,0	25,19	100,7	3,47	15,0	18,90	102,3
Ortalama	98,7				101,9			
SS	2,32				0,52			
BSS, %	2,36				0,51			

Çizelge 3.9. İndüklenmiş çift dalga yöntemin farmasötik preparat sonuçları

Numune no	Excaliba® Yüzde içerik	
	AML	OLM
1	95,28	96,05
2	98,71	97,05
3	95,09	99,42
4	97,81	97,26
5	99,93	98,56
Ortalama	97,36	97,7
SS	2,13	1,33
BSS	2,18	1,36

3.1.4. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları

3.1.4.1. Absorpsiyon Düzeltme Yönteminin Geliştirilmesi

Bölüm 2.5.4.2’de anlatıldığı şekilde kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur ve veriler Çizelge 3.10’de sunulmuştur.

Çizelge 3.10. Yöntemin kalibrasyon eğrisine ait parametreler

Parametre	AML	OLM
Dalgaboyu (nm)	255,0	
Çalışma aralığı (µg/mL)	2,5-25,0	
Eğim	0,0416	
Kesim noktası	0,0092	
Regresyon (r^2)	0,9999	
Tanırma limiti (µg/mL)	0,47	
Tayin limiti (µg/mL)	1,55	
Gün içi BSS, %	1,05	
Günler arası BSS, %	2,34	

3.1.4.2. Yöntemin Doğruluk Çalışmaları ve Farmasötik Preparata Uygulama

Tablete standart ekleme yapılmış ve yöntem preparata uygulanarak sonuçlar çizelge 3.11 ve 3.12’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Absorbans düzeltme yönteminin yüzde geri kazanım sonuçları

No	OLM				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Eklene standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Eklene standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	5,0	14,45	98,4	3,47	5,0	8,21	98,9
2	10,00	10,0	19,64	98,2	3,47	10,0	13,89	100,2
3	10,00	15,0	25,29	100,2	3,47	15,0	19,15	100,7
Ortalama	98,9				99,9			
SS	1,10				0,93			
BSS, %	1,11				0,92			

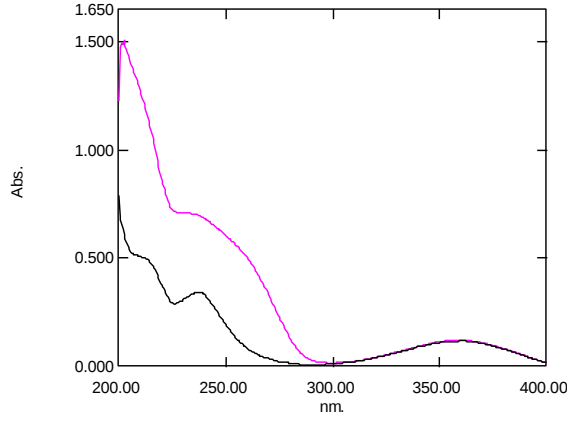
Çizelge 3.12. Absorbans düzeltme yönteminin farmasötik preparat sonuçları

Numune no	Excaliba®	
	Yüzde içerik	
	AML	OLM
1	97,76	96,37
2	99,28	98,49
3	100,24	99,15
4	99,76	99,83
5	100,24	97,27
Ortalama	99,5	98,2
SS	1,02	1,40
BSS %	1,03	1,43

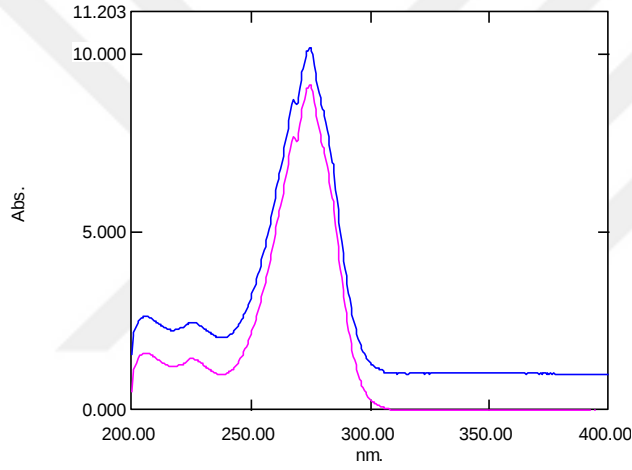
3.1.5. Oran Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları

3.1.5.1. Oran Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi

Yöntemde karışımdan OLM tayin edilirken karışımın spektrumu 10,0 µg/mL konsantrasyondaki saf AML spektrumuna bölünmüştür. Şekil 3.4'te her ikisi de 10,0 µg/mL içeren karışımın ve saf AML spektrumu gösterilmiştir. Şekil 3.5'te karışımın spektrumu saf AML'ye bölünmüş ve sabit bölge çıkarılmış olan spektrumlar verilmiştir.



Şekil 3.4. Pembe spektrum her iki etken maddenin 10,0 µg/mL bulunduğu karışım, siyah spektrum saf AML 10,0 µg/mL spektrumu



Şekil 3.5. Mavi spektrum karışımın saf AML'ye bölüm spektrumu, pembe spektrum sabit bölge çıkarıldıktan sonra elde edilen spektrum

Yöntem bölüm 2.5.5.2'de belirtildiği şekilde uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 3.13'te verilmiştir.

Çizelge 3.13. Yönteme ait parametreler

Parametre	AML	OLM
Dalgaboyu (nm)	360,0	255,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	2,5-30,0	2,5-25,0
Eğim	0,0121	0,0416
Kesim noktası	0,0018	0,0092
Regresyon (r^2)	0,9994	0,9999
Tanım limiti (µg/mL)	0,43	0,76
Tayin limiti (µg/mL)	1,41	2,05
Gün içi BSS, %	2,36	1,05
Günler arası BSS, %	3,04	2,34

3.1.5.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparata Uygulama

Yüzde geri kazanım sonuçları ve farmasötik preparat sonuçları çizelge 3.14 ve 3.15'te verilmiştir.

Çizelge 3.14. Oran çıkarma yönteminin yüzde geri kazanım sonuçları

No	OLM				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	5.00	14.44	98.3	3.47	5.00	8.44	99.7
2	10,00	10.00	19.63	98.2	3.47	10.00	13.90	100.2
3	10,00	15.00	25.28	100.1	3.47	15.00	18.94	101.6
Ortalama				98,9				100,5
SS				1,07				0,98
BSS, %				1,08				0,97

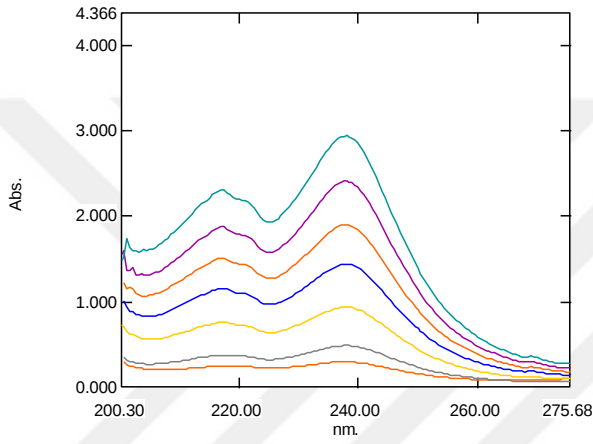
Çizelge 3.15. Oran çıkarma yönteminin farmasötik preparata uygulanması

Numune no	Excaliba® Yüzde içerik	
	AML	OLM
1	105,21	98,34
2	99,68	98,51
3	100,21	99,38
4	100,59	99,63
5	101,21	97,06
Ortalama	100,4	98,6
SS	2,21	1,01
BSS, %	2,18	1,03

3.1.6. Sabit Merkez Yönteminin Amlodipin ve Olmesartan Analiz Sonuçları

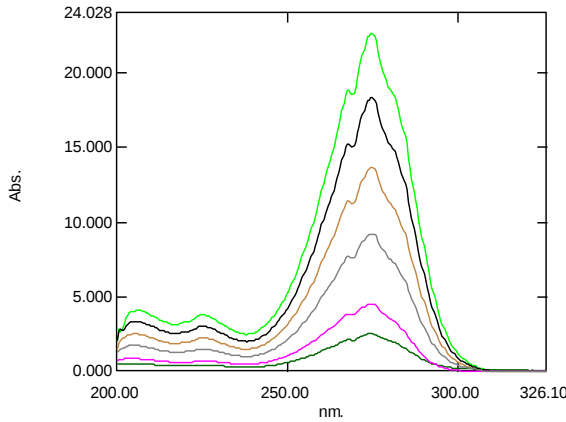
3.1.6.1. Sabit Merkez Yönteminin Geliştirilmesi

Yöntemde OLM kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için çalışma aralığındaki tüm AML spektrumları OLM 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüş ve bölüm spektrumları Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6. Çalışma aralığındaki AML spektrumlarının 10,0 µg/mL konsantrasyondaki OLM spektrumuna bölüm spektrumları

AML kalibrasyon eğrisi için OLM’nin çalışma aralığındaki tüm spektrumları AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüştür ve Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. OLM çalışma aralığındaki spektrumların AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları

Yöntemde her bir etken madde için iki kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve denklemlere ait parametreler çizelge 3.16’de verilmiştir.

Çizelge 3.16. Yöntemin kalibrasyon eğrisi parametreleri

	Birinci kalibrasyon eğrisi		İkinci kalibrasyon eğrisi	
Parametre	AML	OLM	AML	OLM
Dalgaboyu (nm)	273,0; 225,0	238,0; 225,0	360,0	255,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	2,5-30,0	2,5-25,0	2,5-30,0	2,5-25,0
Eğim	0,3509	0,8281	0,0121	0,0416
Kesim noktası	0,023	0,0410	0,0018	0,0092
Regresyon (r^2)	0,9990	1,000	0,9984	0,9999
Tanıma limiti (µg/mL)	-	-	0,43	0,76
Tayin limiti (µg/mL)	-	-	1,41	2,05
Gün içi BSS, %	-	-	2,36	1,05
Günler arası BSS, %	-	-	3,04	2,34

3.1.6.2. Sabit Merkez Yönteminin Farmasötik Preparat Sonuçları

Yöntem preparata uygulanmış tablete standart ekleme yapılarak yüzde geri kazanım hesaplanmıştır. Sonuçlar çizelge 3.17 ve 3.18’de verilmiştir.

Çizelge 3.17. Yöntemin standart ekleme sonuçları

No	OLM				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	5,00	15,06	100,4	3,47	5,00	8,6	101,06
2	10,00	10,00	21,43	101,2	3,47	10,00	14,01	100,01
3	10,00	15,00	28,56	100,3	3,47	15,00	18,65	100,97
Ortalama	100,6				100,7			
SS	0,49				0,58			
BSS, %	0,49				0,57			

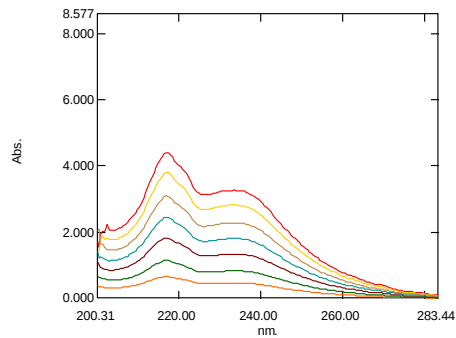
Çizelge 3.18. Sabit merkez yönteminin farmasötik preparat sonuçları

Numune no	Excaliba®	
	Yüzde içerik	
	AML	OLM
1	97,05	98.91
2	98,23	98.65
3	99,65	99.61
4	101,54	99.04
5	100,45	99.42
Ortalama	99,38	99,13
SS	1,77	0,38
BSS	1,78	0,39

3.1.7. Sabit Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Kandesartan ile Amlodipin ve Atorvastatin Analiz Sonuçları

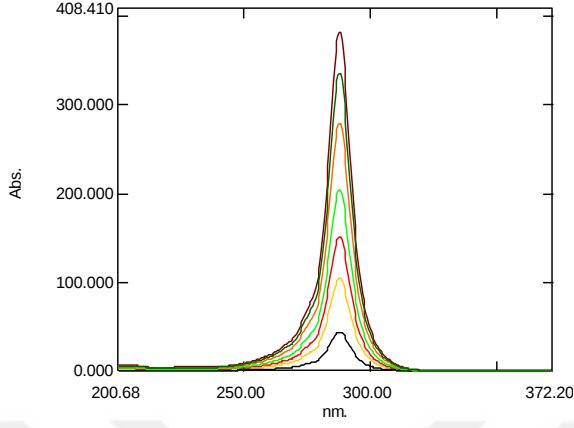
3.1.7.1. Sabit Çıkarma Yönteminin Geliştirilmesi

AML ve ATO karışımının analizinde her bir etken madde için iki kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. AML kalibrasyon eğrisi oluşturulurken ilk adımda ATO çalışma aralığındaki spektrumları AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüştür. Bölüm spektrumları Şekil 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.8. AML spektrumlarının ATO 10,0 µg/mL spektrumun bölümü sonucu elde edilen spektrumlar

ATO tayini için çalışma aralığındaki AML spektrumları ATO 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüş Şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. ATO spektrumlarının AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölüm spektrumları

Kalibrasyon eğrileri bölüm 2.5.7.2’de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrilerine ait veriler çizelge 3.19’da verilmiştir.

Çizelge 3.19. Yöntemin AML ve ATO için kalibrasyon eğrisi parametreleri

	Birinci kalibrasyon eğrisi		İkinci kalibrasyon eğrisi	
Parametre	AML	ATO	AML	ATO
Dalgaboyu (nm)	236,0; 250,0	278,0; 288,0	360,0	247,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0	5,0-35,0	5,0-35,0	5,0-35,0
Eğim	0,3305	0,6257	0,0136	0,0493
Kesim noktası	0,006	0,0442	-0,0146	0,0092
Regresyon (r^2)	1,000	1,000	0,9984	0,9999
Tanıma limiti (µg/mL)	-	-	0,84	0,32
Tayin limiti (µg/mL)	-	-	2,81	1,06
Gün içi BSS, %	-	-	2,01	1,48
Günler arası BSS, %	-	-	3,95	1,23

AML ve KND karışımının analizinde toplam dört kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. AML kalibrasyon eğrisi için KND çalışma aralığındaki spektrumları AML 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüş ve Şekil 3.3'te gösterilmiştir. KND için AML çalışma aralığındaki spektrumlar KND 10,0 µg/mL spektrumuna bölünmüş ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Kalibrasyon verilerine ait veriler Çizelge 3.20'de verilmiştir.

Çizelge 3.20. Yöntemin AML ve KND için kalibrasyon eğrisi parametreleri

Parametre	Birinci kalibrasyon eğrisi		İkinci kalibrasyon eğrisi	
	AML	KND	AML	KND
Dalgaboyu (nm)	239,0, 255,0	225,0; 289,0	360,0	254,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0	5,0-35,0	5,0-35,0	5,0-35,0
Eğim	0,4809	0,8782	0,0124	0,0303
Kesim noktası	0,0196	0,3144	-0,006	0,0084
Regresyon (r ²)	1,000	1,000	1,000	0,9996
Tanırma limiti (µg/mL)	-	-	0,26	0,25
Tayin limiti (µg/mL)	-	-	0,86	0,84
Gün içi BSS, %	-	-	2,36	1,08
Günler arası BSS, %	-	-	3,04	2,56

3.1.7.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları

Yöntemin doğruluğu için bulunan sonuçlar ve preparat sonuçları çizelge 3.21, 3.22 ve 3.23'te verilmiştir.

Çizelge 3.21. ATO ve AML için standart ekleme sonuçları

No	ATO				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,85	5,00	15,96	100,69	13,87	5,00	18,67	98,94
2	10,85	10,00	20,25	99,12	13,87	10,00	23,80	99,71
3	10,85	15,00	26,86	101,91	13,87	15,00	28,34	98,16
Ortalama	100,6				98,9			
SS	1,40				0,77			
BSS, %	1,39				0,78			

Çizelge 3.22. KND ve AML için standart ekleme sonuçları

No	KND				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Eklenen standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	8,00	10,00	18,11	100,5	6,94	15,00	21,87	99,68
2	8,00	15,00	23,73	100,2	6,94	20,00	26,41	98,03
3	8,00	20,00	28,65	102,3	6,94	25,00	31,86	99,75
Ortalama				101,0				99,2
SS				1,14				0,97
BSS, %				1,12				0,98

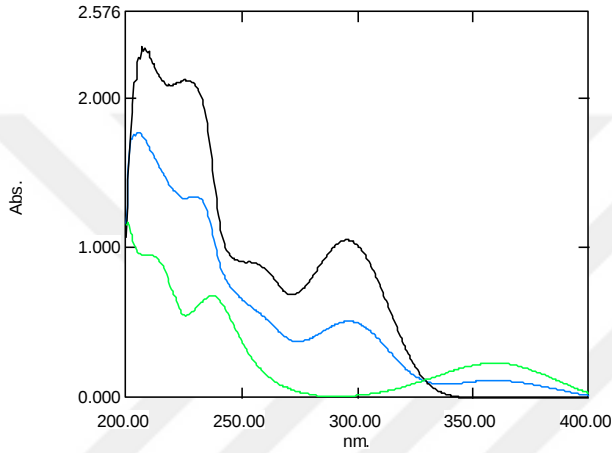
Çizelge 3.23. Farmasötik preparat sonuçları

Numune no	Caduet® Yüzde içerik		Tansifa® Yüzde içerik	
	AML	ATO	AML	KND
1	99,82	96,31	100,02	99,84
2	100,01	99,23	100,06	99,21
3	98,56	99,15	100,37	99,82
4	100,34	98,36	101,11	99,26
5	99,42	98,00	101,90	100,38
Ortalama	99,6	98,21	100,7	99,7
SS	0,68	1,18	0,80	0,48
BSS, %	0,69	1,20	0,79	0,48

3.1.8. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan Analiz Sonuçları

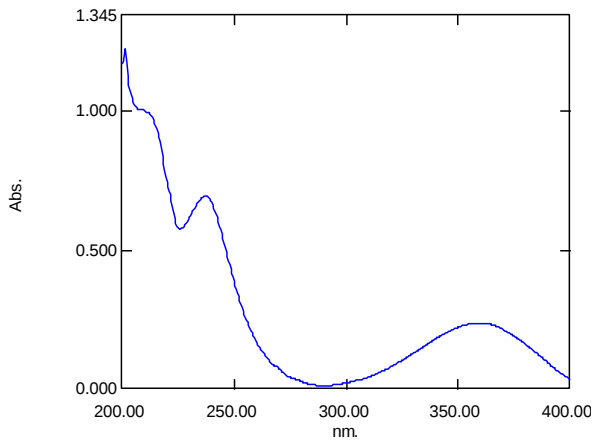
3.1.8.1. Gelişmiş Absorbans Çıkarma Yönteminin Sonuçları

Yöntemin uygulanabilmesi için etken maddelerin izosbestik noktaya sahip olması gerekmektedir. AML ve TEL etken maddelerinin izosbestik noktalarını gösteren spektrum Şekil 3.10’da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. AML 20,0 µg/mL (yeşil), TEL 20.0 µg/mL (siyah) her ikisinden 10,0 µg/mL konsantrasyonda karışımları (mavi)

AML için dalga boyu seçilirken izosbestik noktadaki (328,0 nm) ve ikinci dalga boyu 264,0 nm seçilmiştir ve spektrum Şekil 3.11’de verilmiştir.



Şekil 3.11. AML standart 20,0 µg/mL konsantrasyondaki spektrumu

Belirlenen dalga boylarındaki absorbans farklarına karşı izosbestik noktadaki absorbans yardımı ile kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. İkinci eğri de konsantrasyona karşı izosbestik noktaya karşı oluşturulmuş ve eğrilere ait parametreler Çizelge 3.24’te verilmiştir.

Çizelge 3.24. Gelişmiş absorbans çıkarma yöntemi AML ve TEL için kalibrasyon eğrisi parametreleri

	Birinci kalibrasyon eğrisi		İkinci kalibrasyon eğrisi
Parametre	AML	TEL	TEL
Dalgaboyu (nm)	328,0	328,0	264,0; 328,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0	4,0-20,0	4,0-20,0
Eğim	0,006	0,0075	4,2841
Kesim noktası	-0,0054	-0,0081	0,053
Regresyon (r^2)	0,9998	0,9979	0,9986
Tanıma limiti (µg/mL)	0,39	0,42	0,001
Tayin limiti (µg/mL)	1,29	1,41	0,004
Gün içi BSS, %	1,22	1,65	
Günler arası BSS, %	2,59	2,41	

3.1.8.2. Yöntemin Doğruluğu ve Farmasötik Preparat Sonuçları

Yöntemin doğruluğu için hesaplanan yüzde geri kazanım sonuçları ve preparat sonuçları Çizelge 3.25 ve 3.26’da verilmiştir.

Çizelge 3.25. TEL ve AML için yüzde geri kazanım sonuçları

No	TEL				AML			
	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik	Tablet konst. (µg/mL)	Ekleme standart konst. (µg/mL)	Bulunan konst.	Yüzde içerik
1	10,00	4,00	14,29	100,1	0,625	5,00	5,57	99,02
2	10,00	6,00	15,73	99,3	0,625	10,00	10,72	100,89
3	10,00	8,00	18,22	100,2	0,625	15,00	15,95	102,08
Ortalama	99,8				100,7			
SS	0,49				1,54			
BSS, %	0,49				1,53			

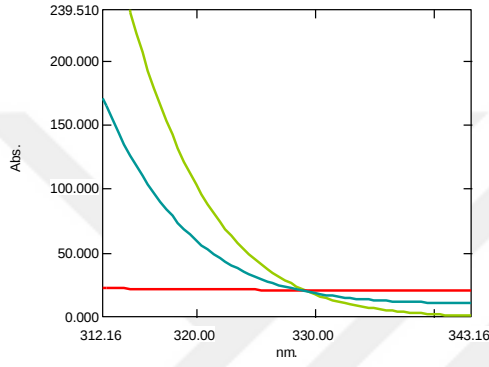
Çizelge 3.26. Gelişmiş absorban çıkarma yönteminin preparat sonuçları

Numune no	Twynsta® Yüzde içerik	
	AML	TEL
1	101,21	101,0
2	101,36	102,8
3	101,95	101,9
4	100,25	100,7
5	100,35	100,0
Ortalama	101,0	101,3
SS	0,72	1,09
BSS	0,71	1,08

3.1.9. Gelişmiş Amplitut Modulasyon Yönteminin Amlodipin ve Telmisartan Analiz Sonuçları

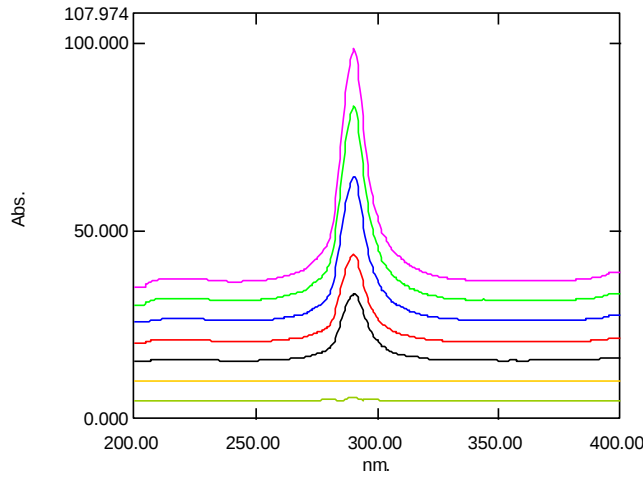
3.1.9.1. Gelişmiş Amplitut Modulasyon Yönteminin Sonuçları

Etken maddelerin saf spektrumlarının ve karışımlarının olduğu spektrumda izosbestik nokta Şekil 3.10’da verilmiştir. Normalize spektruma bölünmüş eğride izosbestik nokta Şekil 3.12’de verilmiştir.

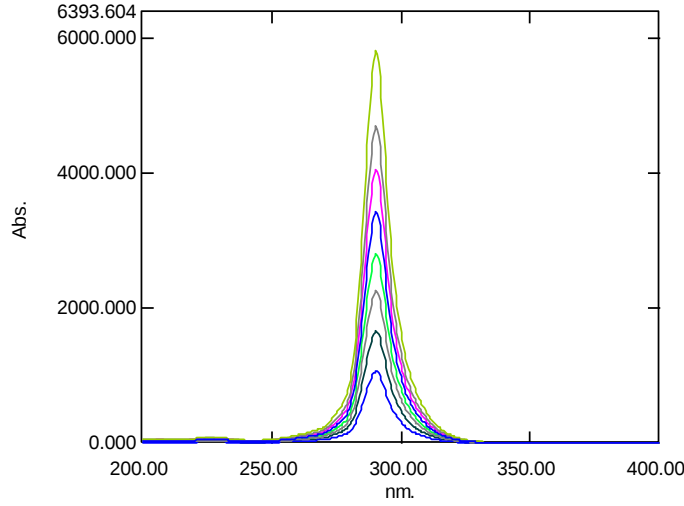


Şekil 3.12. AML (kırmızı) ve TEL (yeşil) 20,0 µg/mL ve her birinden 10,0 µg/mL içeren karışım spektrumlarının (mavi) normalize AML’ye bölüm spektrumları

AML normalize AML spektrumuna bölüm eğrileri ve TEL normalize AML spektrumlarına bölüm eğrileri sırası ile Şekil 3.13 ve 3.14’te verilmiştir.



Şekil 3.13. AML çalışma aralığındaki spektrumların normalize AML spektrumuna bölüm eğrileri



Şekil 3.14. TEL çalışma aralığındaki spektrumların normalize AML spektrumuna bölüm eğrileri

Yöntem için oluşturulan kalibrasyon eğrilerine ait parametreler ve veriler çizelge 3.27’de verilmiştir.

Çizelge 3.27. Gelişmiş amplitut modülasyon yöntemi kalibrasyon eğrisi parametreleri

Parametre	İkinci kalibrasyon eğrisi		Birinci kalibrasyon eğrisi
	AML	TEL	TEL
Dalgaboyu (nm)	328,0	328,0	290,5; 328,0
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-35,0	4,0-20,0	4,0-20,0
Eğim	1,0976	1,373	216,41
Kesim noktası	-0,8581	-1,4653	183,9
Regresyon (r^2)	0,9998	0,9977	0,9985
Tanıma limiti (µg/mL)	0,001	0,0007	-
Tayin limiti (µg/mL)	0,004	0,002	-
Gün içi BSS, %	1,22	1,65	
Günler arası BSS, %	2,59	2.41	

3.1.9.2. Yöntemin Doğruluğu ve Preparat Sonuçları

Gelişmiş amplitut modülasyon yönteminin doğruluğu için yöntem laboratuvarında hazırlanan karışımlara uygulanmış ve sonuçlar çizelge 3.28’de gösterilmiştir. Preparat sonuçları çizelge 3.28’de verilmiştir. Preparat hazırlama ve süzme işlemi Şekil 3.15’te verilmiştir.



Şekil 3.15. Preparat çözeltisi hazırlama aşaması

Çizelge 3.28. AML ve TEL karışımlarında analiz sonuçları

No	TEL				AML			
	Eklenen AML konst. (µg/mL)	Eklenen TEL standart konst. (µg/mL)	Bulunan TEL konst.	Yüzde içerik	Eklenen TEL konst. (µg/mL)	Eklenen AML standart konst. (µg/mL)	Bulunan AML konst.	Yüzde içerik
1	10,00	4,00	4,01	100,1	10,00	5,00	5,08	101,6
2	10,00	6,00	5,89	98,2	10,00	10,00	10,00	100,0
3	10,00	8,00	7,95	99,4	10,00	15,00	14,84	98,9
4	10,00	10,00	9,86	98,6	10,00	20,00	19,84	99,2
5	10,00	12,00	11,82	98,5	10,00	25,00	24,73	98,9
Ortalama				98,9				99,7
SS				0,77				1,14
BSS, %				0,78				1,15

Çizelge 3.29. Gelişmiş amplitut modülasyon yönteminin preparat sonuçları

Numune no	Twynsta® Yüzde içerik	
	AML	TEL
1	98,9	99,9
2	99,6	101,2
3	101,2	103,5
4	99,65	102,6
5	101,5	101,3
Ortalama	100,2	101,7
SS	1,22	1,24
BSS %	1,12	1,22

3.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Sonuçları

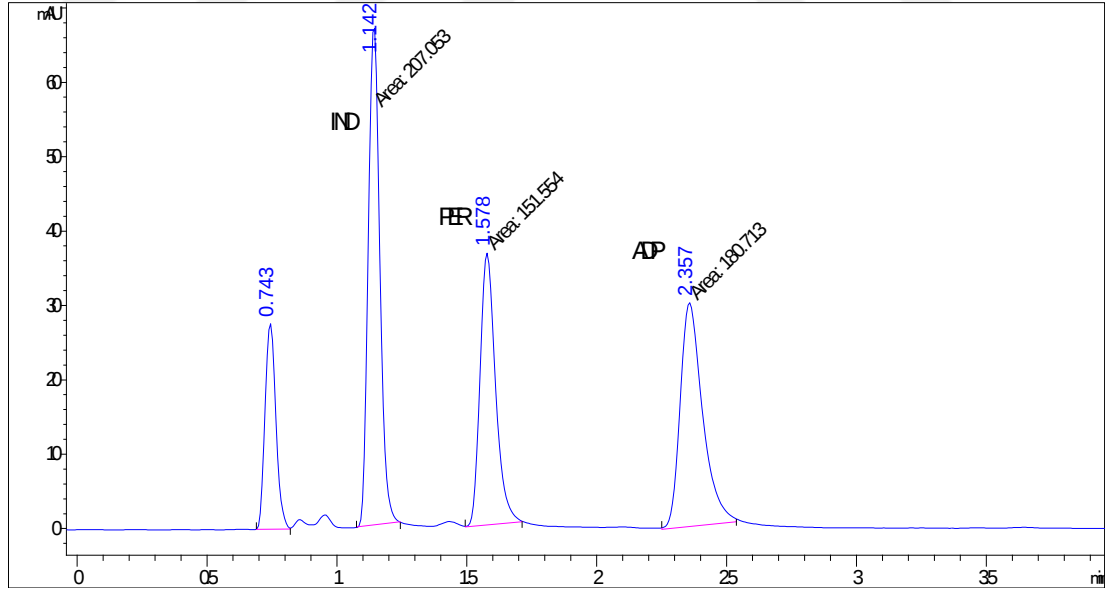
3.2.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografik Yöntem ile Amlodipin, Perindopril ve İndapamid İçeren Karışım ile Amlodipin ve Perindopril İçeren Karışımların Analiz Sonuçları

3.2.1.1. Yöntem Geliştirilmesi

Analizin en iyi şekilde gerçekleştirilmesi için bazı koşullar denenerek deney koşulları belirlenmiştir. ACN:pH 3 fosfat tampon:metanol 50:45:5, 55:40:5, 63:30:5 ve 60:35:5 (h/h/h) olarak hareketli faz oranları değiştirilmiştir. Akış hızı 1,2 ve 1,5; sıcaklık 30,0 °C, 40,0 °C olarak denenmiştir. En iyi kromatografik ayırım ACN:pH 3 fosfat tampon:metanol 65:30:5 (h/h/h) oranlarında, akış hızı 1,5 mL/dk ve 40,0 °C sıcaklıkta 220,0 nm dalga boyunda elde edilmiştir. Sonuçlar çizelge 3.30'da verilmiştir. Etken maddelere ait kromatogram Şekil 3.16'da verilmiştir.

Çizelge 3.30. Sistem uygunluk parametreleri

Hareketli faz oranı		Retansiyon zamanı	Alan	Plaka sayısı	Kuyruklanma faktörü	Ayrım
50:45:5 h/h/h	IND	1,562	444,2	4201	0,87	8,90
	PER	2,158	355,3	1584	0,91	3,91
	AML	3,338	714,2	3188	0,51	5,30
48:47:5 h/h/h	IND	1,724	429,6	4693	0,82	1,36
	PER	2,418	357,1	1405	0,91	3,87
	AML	3,869	562,9	3151	0,40	5,40
65:30:5 h/h/h (orjinal)	IND	1,141	437,3	2280	0,95	4,65
	PER	1,574	325,8	3286	0,77	4,37
	AML	2,351	733,6	3469	0,61	5,99
40:50:10 h/h/h	IND	1,902	471,9	3696	0,79	10,75
	PER	2,598	376,1	2215	1,02	2,74
	AML	4,521	745,4	3294	0,42	5,24



Şekil 3.16. Standard etken maddelere ait kromatogram 5,0 µg/mL IND, 20,0 µg/mL PER ve 10,0 µg/mL AML

3.2.1.2.Kesinlik Sonuçları

Yöntemin tekrar edilebilirliğinin analiz edilebilmesi için gün içi ve günler arası deneyler AML, İND ve PER etken maddeleri için yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.31 ve 3.32’de verilmiştir.

Çizelge 3.31. Gün içi tekrarlanabilirlik sonuçları

Eklenen konsantrasyonlar $\mu\text{g/mL}$	Zaman	Bulunan yüzde %
10,0 $\mu\text{g/mL}$ İND	0. dk	101,4
	30. dk	101,6
	1. saat	102,2
	2. saat	102,4
	3. saat	102,4
	4. saat	102,6
	5. saat	102,9
15,0 $\mu\text{g/mL}$ AML	0. dk	101,3
	30. dk	104,4
	1. saat	100,7
	2. saat	101,2
	3. saat	101,6
	4. saat	101,4
	5. saat	105,1
15,0 $\mu\text{g/mL}$ PER	0. dk	103,2
	30. dk	99,2
	1. saat	99,6
	2. saat	100,5
	3. saat	100,3
	4. saat	101,5
	5. saat	101,5

Çizelge 3.32. Günler arası tekrarlanabilirlik sonuçları

Eklenen konsantrasyon $\mu\text{g/mL}$	Zaman	Bulunan Yüzde %
10,0 $\mu\text{g/mL}$ İND	1. gün	99,9
	2. gün	101,6
	3. gün	104,0
	4. gün	100,9
	5. gün	97,7
15,0 $\mu\text{g/mL}$ AML	1. gün	100,5
	2. gün	101,2
	3. gün	103,1
	4. gün	103,9
	5. gün	103,9
15,0 $\mu\text{g/mL}$ PER	1. gün	101,8
	2. gün	100,2
	3. gün	106,4
	4. gün	100,1
	5. gün	103,0

3.2.1.3. Doğruluk Analizi

Yöntemin doğruluğunu tayin etmek için farmasötik preparatlara bilinen konsantrasyonda standart ekleme yapılmıştır. Üç etken maddeyi içeren preparata ait sonuçlar Çizelge 3.33’de ve ikili karışım içeren preparata ait sonuçlar Çizelge 3.34’te verilmiştir.

Çizelge 3.33. AML, PER ve İND için yüzde geri kazanım sonuçları

Numune no	Eklenen konsantrasyon (µg/mL)			Bulunan konsantrasyon (µg/mL)			Yüzde içerik %		
	İND	PER	AML	İND	PER	AML	İND	PER	AML
Numune 1	2,50+2,00	6,79+10,00	13,87+10,00	4,51	16,85	23,83	100,3	100,3	99,9
Numune 2	2,50+1,00	6,79+10,00	13,87+10,00	3,56	16,56	24,01	101,9	98,7	100,5
Numune 3	2,50+2,50	6,79+5,00	13,87+10,00	5,02	12,13	24,10	100,4	102,9	100,9
Numune 4	2,50+2,50	6,79+15,00	13,87+10,00	4,81	22,30	23,79	96,2	102,4	99,7
Numune 5	2,50+2,50	6,79+10,00	13,87+15,00	5,11	17,21	29,53	102,1	102,5	102,3

Çizelge 3.34. AML ve PER standart ekleme sonuçları

Numune no	Eklenen konsantrasyon (µg/mL)		Bulunan konsantrasyon (µg/mL)		Yüzde içerik %	
	PER	AML	PER	AML	PER	AML
Numune 1	6,79+15,00	13,87+20,00	21,86	34,29	100,3	101,2
Numune 2	6,79+15,00	13,87+20,00	22,39	34,22	102,7	101,0
Numune 3	6,79+25,00	13,87+20,00	32,27	33,53	101,5	99,0
Numune 4	6,79+20,00	13,87+15,00	27,05	28,55	100,9	98,9
Numune 5	6,79+20,00	13,87+25,00	27,77	39,04	103,7	100,4

3.2.1.4. Sağlamlık Sonuçları

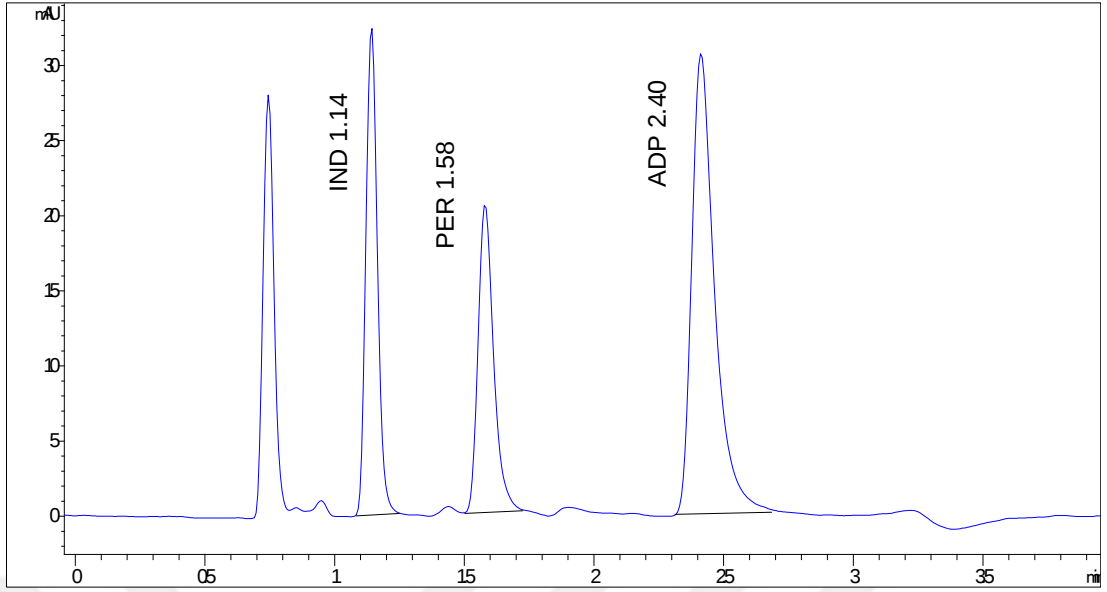
Yöntemin sağlamlık analizi için hareketli faz oranları ve dalga boyu değiştirilerek deneyler yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.35’te verilmiştir.

Çizelge 3.35. Sağlamlık sonuçları

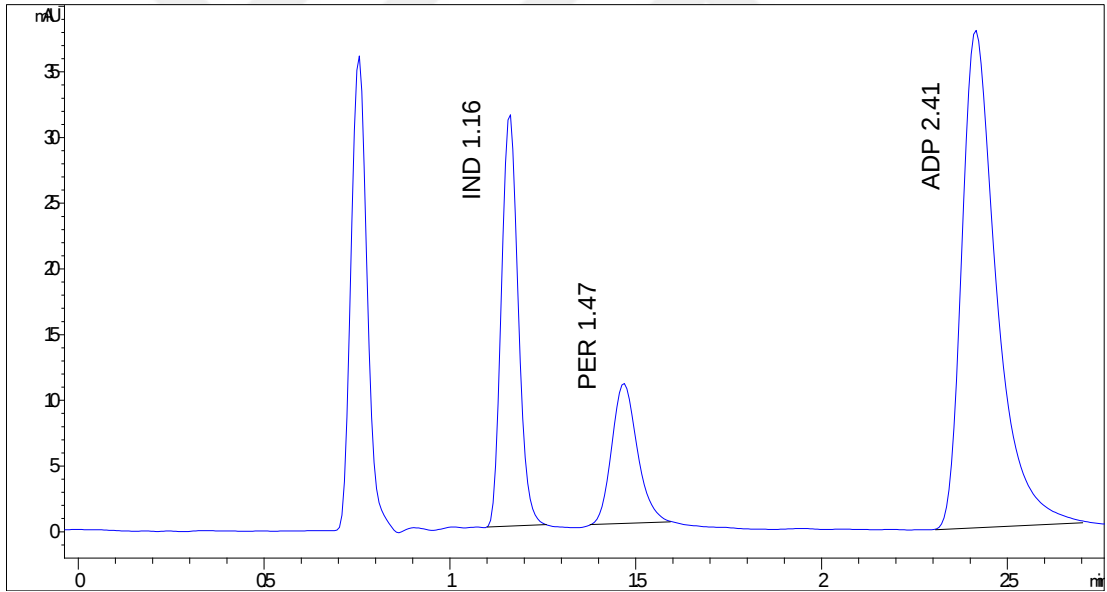
Haraketli faz oranı		Ablıkonma zamanı	Alan	Plaka sayısı	Kuyruklanma faktörü	Ayrım
55:40:5 h/h/h	IND	1,362	449,0	3696	0,873	7,46
	PER	1,890	336,2	2215	0,848	4,34
	AML	2,826	702,5	3294	0,55	5,36
65:30:5 h/h/h (orjinal)	IND	1,141	437,3	2280	0,946	4,65
	PER	1,574	325,8	3286	0,766	4,37
	AML	2,351	733,6	3469	0,607	5,99
60:35:5 h/h/h	IND	1,244	459,1	3232	0,82	5,95
	PER	1,720	352,4	2974	0,72	4,45
	AML	2,542	772,1	3370	0,5	5,45
Dalga boyu						
220,0 nm	IND	1,141	461,5	2267	0,94	4,50
	PER	1,570	342,1	3326	0,76	4,21
	AML	2,350	772,1	3483	0,60	5,78
210,0 nm	IND	1,141	1097,4	2280	0,95	4,51
	PER	1,574	570,8	3306	0,77	4,21
	AML	2,351	979,4	3477	0,58	5,77

3.2.1.5. Seçicilik Sonuçları

Yöntemin seçiciliğı için laboratuvarıarda hazırlanan üç etken madde standart karışımlara ve preparata ait kromatogramlar sırası ile Şekil 3.17 ve Şekil 3.18’de verilmiştir.

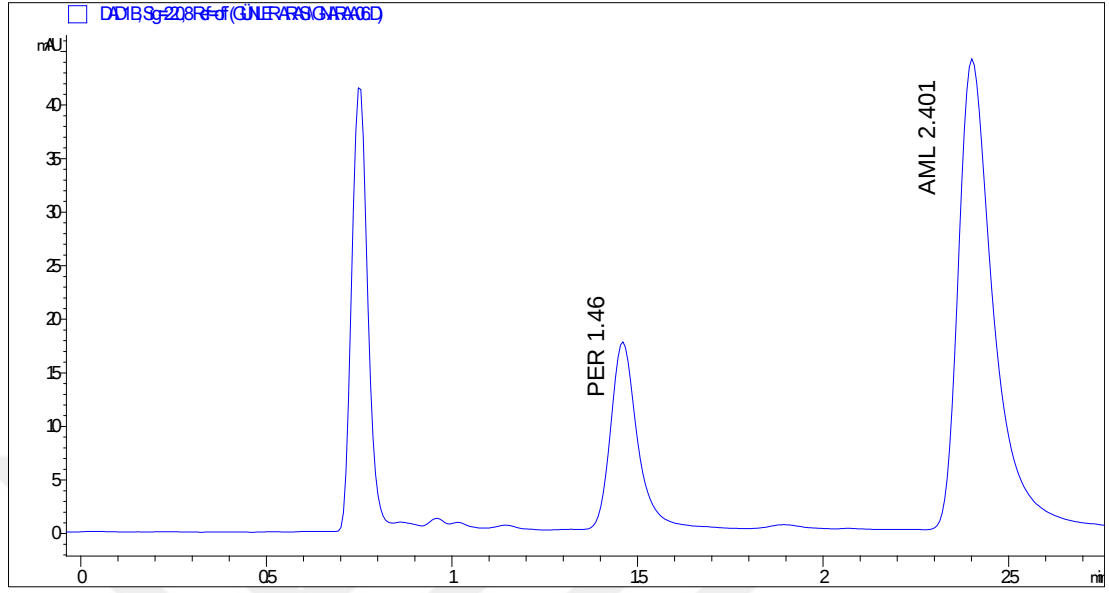


Şekil 3.17. Standart karışımlara ait kromatogram 2,5 µg/mL IND, 10,0 µg/mL PER ve AML

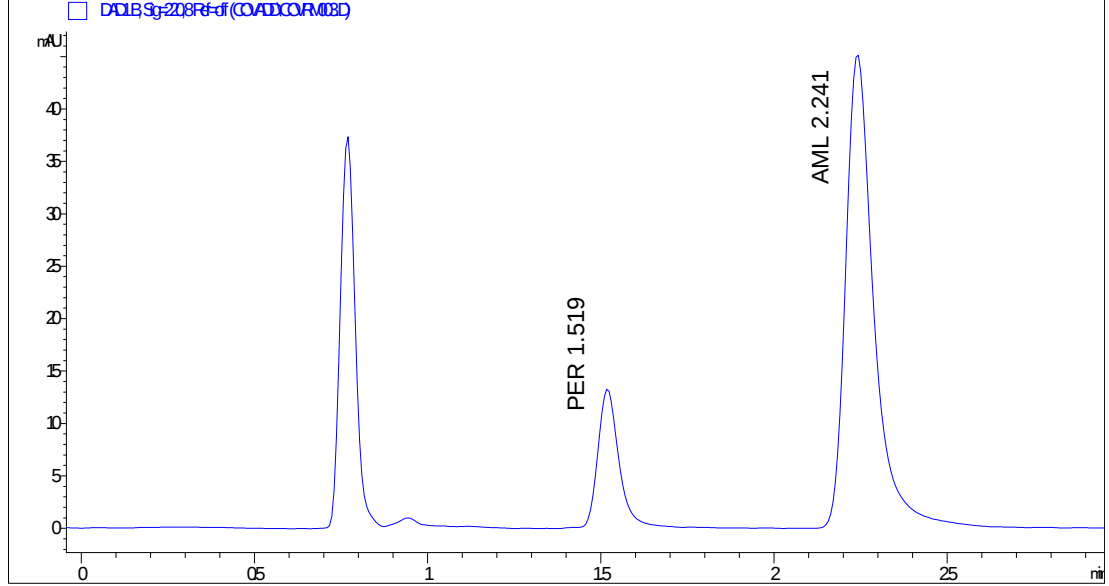


Şekil 3.18. Preparata ait kromatogram (Triplixam®)

İkili etken madde karışımına ait sonuçlar ve Coveram® preparat sonuçları Şekil 3.19 ve 3.20’de verilmiştir.



Şekil 3.19. AML ve PER karışımına ait kromatogram 10,0 µg/mL PER ve 15,0 µg/mL AML



Şekil 3.20. Coveram® preparata ait kromatogram (10,0/10,0 mg AML ve PER)

3.2.1.6. Tanıma Limiti, Tayin Limiti ve Kalibrasyon Eğrisi Parametreleri

Sonuçlara ait parametreler çizelge 3.36’de verilmiştir.

Çizelge 3.36. Kalibrasyon eğrisine ait parametreler

Parametre	İND	PER	AML
Çalışma aralığı (µg/mL)	5,0-20,0	10,0-40,0	10,0-40,0
Dalga boyu (nm)	220,0	220,0	220,0
Kesim	8,0238	11,959	36,022
Eğim	42,954	8,2795	20,064
Korelasyon faktörü, r^2	0,9993	0,9990	0,9990
Tanıma limiti (µg/mL)	0,01	0,18	0,05
Tayin limiti (µg/mL)	0,05	0,62	0,18

3.2.1.7. Yöntemin Farmasötik Preparat Sonuçları

Yöntem Triplixam® ve Coveram® farmasötik preparatlarına uygulanmış sonuçlar sırası ile çizelge 3.37 ve 3.38’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.37. Triplixam® farmasötik preparat sonuçları

Yüzde içerik %			
Numune no	İND	AML	PRD
Numune 1	100,3	98,6	97,5
Numune 2	100,5	100,8	96,7
Numune 3	100,8	99,7	97,5
Numune 4	100,1	99,3	98,3
Numune 5	100,5	101,5	99,9
Ortalama %	100,5	100,0	97,9
S.S.	0,28	1,17	1,2
B.S.S. %	0,28	1,17	1,3

Çizelge 3.38. Coveram® farmasötik preparat sonuçları

Numune no	AML	PRD
Numune 1	100,7	99,8
Numune 2	101,4	99,4
Numune 3	101,6	98,1
Numune 4	101,9	97,9
Numune 5	101,4	99,4
Ortalama %	101,4	98,9
S.S.	0,44	0,9
B.S.S %	0,44	0,9

4. TARTIŞMA

4.1. Amlodipin ve Atorvastatin Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar

AML ve ATO etken maddelerini içeren karışımlara absorbans çıkarma ve sabit çıkarma spektroskopik yöntemleri uygulanmıştır. Absorbans çıkarma yönteminde izobestik nokta olan 314,0 nm, oran farkı yöntemi ve sabit çıkarma yöntemlerinde AML için 236,0; 250,0 nm ve ATO için 278,0; 288,0 nm dalga boyları seçilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayıları bütün yöntemler için 0,9979'dan büyük bulunmuştur. Kalibrasyon eğrilerine ait veriler çizelge 3.1, 3.4 ve 3.20'de verilmiştir. Absorbans çıkarma yönteminde 314,0 nm dalga boyunda tanıma limiti 0,29 ve sabit çıkarma yönteminde AML için 360,0 nm dalga boyunda 0,84; ATO için 284,0 nm dalga boyunda 0,32 olarak bulunmuştur. Tayin limiti absorbans çıkarma yönteminde 314,0 nm dalga boyunda 0,98 ve sabit çıkarma yönteminde AML için 360,0 nm dalga boyunda 2,81; ATO için 284,0 nm dalga boyunda 1,06 olarak bulunmuştur.

Yöntemlerin doğruluk çalışmaları yapılmıştır. Yüzde geri kazanım ve BSS sonuçları absorbans çıkarma yönteminde ATO için % 98,3; % 0,37 AML için % 100,2; % 0,09 olarak ve sabit çıkarma yönteminde ATO için % 100,6; % 1,39; AML için % 98,9; % 0,78 olarak bulunmuştur.

Yöntemler farmasötik preparata (Caduet® 10,0/10,0 mg) başarı ile uygulanmış ve yüzde geri kazanım değerleri hesaplanarak çizelge 3.3 ve 3.23'te gösterilmiştir.

4.2. Amlodipin ve Kandesartan Analizi İçin Yapılan Spektrofotometrik Çalışmalar

Farmasötik preparatlarda AML ve KND aynı anda tayini için basit, hızlı ve ekonomik olarak gerçekleştirilen spektrofotometrik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Etken maddelerin analizi için oran farkı ve sabit çıkarma spektrofotometrik yöntemleri uygulanmıştır.

Kalibrasyon eğrileri hazırlanırken oran farkı yönteminde çalışma aralığındaki spektrumlar diğer etken maddenin sabit konsantrasyondaki spektrumuna oranlanarak iki dalga boyu seçilerek yapılmıştır. AML için 239,0 ve 255,0 nm dalga boyları, KND için 225,0 ve 289,0 nm dalga boyları seçilerek analizler gerçekleştirilmiştir. Sabit çıkarma yönteminde oran alınarak oluşturulan kalibrasyon eğrilerine ek olarak maksimum absorbanlarına göre AML için 360,0 ve KND için 254,0 nm dalga boylarında oluşturulmuştur.

Yöntemlerin doğruluğu için hazırlanan tablet çözeltilerine standart ekleme yapılarak yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Oran farkı yönteminde ortalama yüzde geri kazanım ve BSS değerleri KND için % 102,0 ve 1,49; AML için % 100,4 ve % 0,50 olarak bulunmuştur. Sabit çıkarma yönteminde KND için % 101,0 ve % 1,12; AML için % 99,2 ve % 0,98 olarak bulunmuştur.

Oran farkı ve sabit çıkarma yöntemleri Tansifa® tablete başarılı bir şekilde uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 3.6 ve 3.23'te verilmiştir.

4.3. Amlodipin ve Olmesartan Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar

Etken maddelerin aynı anda tayini için indüklenmiş çift dalga boyu yöntemi, absorpsiyon düzeltme yöntemi, oran çıkarma yöntemi ve sabit merkez yöntemleri uygulanmıştır.

Yöntemler basit, ekonomik, hızlı bir şekilde AML ve OLM içeren farmasötik preparata uygulanmıştır.

Kalibrasyon eğrileri oluşturulurken indüklenmiş çift dalga boyu yönteminde AML için 237,0; 250,0 ve OLM için 255,0; 239,0 nm dalga boylarında işlemler

yapılmıştır. Absorbsiyon düzeltme yönteminde 255,0 ve 360,0 nm dalga boyları seçilerek factör değeri hesaplanmış miktar tayinleri 255,0 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Oran çıkarma yönteminde 255,0 ve 360,0 nm dalga boylarında miktar hesaplanmıştır. Sabit merkez yönteminde birinci kalibrasyon eğrisinde AML için 273,0 ve 225,0 nm, OLM için 238,0 ve 225,0 nm, ikinci kalibrasyon eğrisinde AML için 360,0 ve OLM için 255,0 nm dalga boyları seçilmiştir.

Yöntemlerin doğruluğu için farmasötik preparat çözeltilerine standart ekleme yapılmıştır. Yüzde geri kazanım ve BSS sonuçları indüklenmiş çift dalga boyu yönteminde OLM için % 98,7; % 2,36 ve AML için % 101,9, % 0,51; absorpsiyon düzeltme yönteminde OLM için % 98,9; % 1,11 ve AML için % 99,9; % 0,92, oran çıkarma yönteminde OLM için % 98,9; % 1,08 ve AML için % 100,5; % 0,97; sabit merkez yönteminde OLM için % 100,6; % 0,49 ve AML için % 100,7; % 0,57 olarak bulunmuştur.

Farmasötik preparata (Excaliba®) yöntemler uygulanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.9, 3.12, 3.15 ve 3.18’de verilmiştir.

4.4. Amlodipin ve Telmisartan Analizi İçin Spektrofotometrik Çalışmalar

AML ve TEL etken maddelerinin aynı anda tayini için gelişmiş absorbans çıkarma ve gelişmiş amplitut modülasyon yöntemleri uygulanmıştır. Yöntemler karışımlara ve preparata ön ayırma işlemlerine gerek kalmadan başarı ile uygulanmıştır.

Gelişmiş absorbans çıkarma yönteminde kalibrasyon eğrisi oluşturmak için izosbestik nokta olan 328,0 nm ve diğer dalga boyu olarak 264,0 nm seçilmiştir. Gelişmiş amplitut modülasyon yönteminde bütün absorbanslar normalize spektruma bölünerek elde edilen bölüm spektrumu üzerinden yapılmıştır. Normalize AML spektrumu 10,0 µg/mL konsantrasyondaki AML spektrumunun kendi

konsantrasyonuna bölünmesi ile elde edilmiştir. Yöntemde 328,0 nm ve 290,5 nm dalga boyları ile kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur.

Yöntemlerin doğruluğu için preparata standart ekleme yapılmış, karışımlara ve preparata yöntemler uygulanmıştır. Gelişmiş absorpsiyon çıkarma yöntemi için yüzde geri kazanım ve BSS değerleri sırası ile AML için % 100,7; % 1,53; TEL için % 99,8; % 0,49; gelişmiş amplitud modülasyon yönteminde AML için % 99,7; % 1,15; TEL için % 98,9; 0,78 olarak hesaplanmıştır.

Farmasötik preparat sonuçları Çizelge 3.26 ve 3.29'da verilmiştir.

4.5. Amlodipin, Perindopril ve İndapamid Analizi YPSK Çalışmaları

AML, PER ve İND olarak üç etken maddeyi içeren preparatta ve AML, PER içeren preparatta aynı anda tayini için hızlı ve ekonomik bir yöntem geliştirilmiştir.

Ayrımın en iyi şekilde yapılabilmesi için deney koşullarındaki parametreler ile çeşitli denemeler yapılmıştır. Hareketli faz seçiminde ACN, tampon ve metanol oranları değiştirilerek denemeler yapılmıştır. Sonuçlar çizelge 3.25'te verilmiştir. En iyi ayrımın ACN:pH 3 fosfat tampon:metanol 65:30:5 (h/h/h) oranlarında olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık 30 °C ve 35°C ve 40 °C'de çalışılmış ve 40 °C seçilmiştir. Kolon basıncına bakılarak farklı akış hızları denenmiş ve en uygun akış hızının 1,5 mL/dk olduğuna karar verilmiştir.

Analizde sabit faz olarak kullanılan Waters Spherisorb® ODS-2 C₁₈ (150 × 4,6 mm, 5 µm) kolonda en iyi ayrım gerçekleştirilmiştir.

Yöntemin tekrar edilebilirliği için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik deneyleri yapılmıştır.

Farmasötik preparata standart ekleme yapılarak yüzde geri kazanım değerleri hesaplanmıştır ve yöntemin doğruluğu gösterilmiştir.

Etken madde laboratuvarında hazırlanan saf karışımlarının kromatogramları ile preparat kromatogramları karşılaştırılarak yöntemin seçici olduğu gösterilmiştir.

Belirlenen koşullarda yöntem Triplixam® ve Coveram® farmasötik preparatlarına başarı ile uygulanmıştır. Bağlı standart sapma değerleri Triplixam® için sırası ile İND, AML ve PER için % 0,28; % 1,17 ve % 1,3 olarak bulunmuştur. Coveram® için AML 0,44 ve PER 0,9 olarak bulunmuştur.



Çizelge 4.1. Literatürde yapılan bazı çalışmalar

Tanıma limiti (µg/mL)		Tayin limiti (µg/mL)		ÇALIŞMA ARALIĞI (µg/mL)		ETKEN MADDELER	KAYNAK
YPSK		YPSK		YPSK			EL-BAGARY ve arkadaşları (2017)
0,77		2,34		5,0-80,0		PER	
0,44		1,32		2,5-80,0		AML	
0,11		0,34		0,5-20,0		İND	
Spektrofluorimetrik		Spektrofluorimetrik		Spektrofluorimetrik			Mohamed ve Lamie (2016b)
Sulu sistem	Tween-80 sistem	Sulu sistem	Tween-80 sistem	Sulu sistem	Tween-80 sistem		
0,10	0,30	0,03	0,10	0,5-5,0	0,1-4,0	AML	
YPSK	İTK	YPSK	İTK	YPSK	İTK		Zaazaa ve arkadaşları (2013)
0,92	0,14 µg/bant	2,78	0,41 µg/bant	10,0-100,0	4,0-28,0	PER	
0,58	0,09 µg/bant	1,77	0,26 µg/bant	5,0-45,0	2,0-8,0 µg/bant	AML	
Spektrofotometrik		Spektrofotometrik		Spektrofotometrik			Caglar ve Onal (2010)
bromokresol yeşili	bromofenol mavisi	bromokresol yeşili	bromofenol mavisi	bromokresol yeşili	bromofenol mavisi		
0,05	0,8	0,17	2,5	1,0-40,0	10,0-120,0	OLM	
Spektrofluorimetrik		Spektrofluorimetrik		Spektrofluorimetrik			Darwish ve arkadaşları (2012)
Birinci türev	Oran çıkarma	Birinci türev	Oran çıkarma	Birinci türev	Oran çıkarma		
0,008	-	0,02	-	0,08-1,0	-	OLM	
-	0,04	-	0,13	-	0,25-2,0	AML	

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

AML ile ATO, AML ile KND, AML ile TEL ve AML ile OLM etken maddelerini içeren farmasötik preparatlarda spektroskopik yöntemlerle miktar tayini yapılmıştır.

AML ile ATO için absorbans çıkarma, sabit çıkarma spektroskopik yöntemleri uygulanmıştır. Caduet® (10,0 mg/10,0 mg) tablete absorbans çıkarma yöntemi uygulandığında ATO için geri kazanım sonuçları 100,4; BSS 0,94; AML için geri kazanım sonuçları 100,4; BSS 0,66 olarak bulunmuştur. Sabit çıkarma yönteminde geri kazanım sonuçları AML için 99,6; ATO için 98,2; BSS AML için 0,69; ATO için 1,20 olarak bulunmuştur.

AML ile KND için oran farkı ve sabit çıkarma yöntemleri uygulanmıştır. Tansifa® tablete oran farkı yöntemi uygulandığında geri kazanım AML için 100,7; KND için 101,3; BSS AML için 0,59; KND için 1,42 olarak hesaplanmıştır. Sabit çıkarma yönteminde geri kazanım AML ve KND için sırası ile 100,7; 99,7 ve BSS 0,79; 0,48 olarak bulunmuştur.

AML ile OLM etken maddelerinin tayini için indüklenmiş çift dalga boyu, absorpsiyon düzeltme, oran çıkarma ve sabit merkez yöntemleri uygulanmıştır. Excaliba® tablete yöntem uygulanmıştır. İndüklenmiş çift dalga boyu yönteminde geri kazanım AML ve OLM için sırası ile 97,4; 97,7; BSS 2,18; 1,36; absorpsiyon düzeltme yönteminde geri kazanım 99,5; 98,2; BSS 1,03; 1,43; oran çıkarma yönteminde geri kazanım 100,4; 98,6; BSS 2,18; 1,03; sabit merkez yönteminde geri kazanım AML için 99,4; 99,1; BSS 1,78; 0,39 olarak hesaplanmıştır.

AML ve TEL miktar tayini için gelişmiş absorbans çıkarma ve gelişmiş amplitut modülasyon yöntemleri Twynsta® preparatına uygulanmıştır. Gelişmiş absorbans çıkarma yönteminde geri kazanım AML için 101,0; TEL için 101,3; BSS AML için 0,71; TEL için 1,08 olarak bulunmuştur. Gelişmiş amplitut modülasyon yönteminde

AML ve TEL için yüzde geri kazanım ve BSS sırası ile 100,2; 101,7 ve 1,12; 1,22 olarak hesaplanmıştır.

Yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi AML, PER ve İND içeren Triplixam® preparatına uygulanmıştır. Geri kazanım sonuçları AML için 100,0; İND için 100,5 ve PER için 97,9; standart sapma 1,17; 0,28 ve 1,2 olarak, BSS 1,17; 0,28 ve 1,3 olarak hesaplanmıştır.

YPSK yöntemi AML ve PER içeren Coveram® preparatına uygulanmıştır. AML ve PER için geri kazanım sonuçları 101,4; 98,9; standart sapma AML için 0,44 ve PER için 0,9; BSS AML için 0,44 ve PER için 0,9 olarak bulunmuştur.

Tez çalışmalarımız kapsamı sonucunda uygulanan yöntemler farmasötik preparatlara basit, ekonomik, ön işleme gerek kalmaksızın uygulanmış ve miktar tayini yapılmıştır. Tüm araştırma laboratuvarlarında pratik olarak uygulanabilecek yöntemler geliştirilmiştir.

ÖZET

Amlodipin İçeren Farmasötik Preparatlarda Etken Maddelerin Yeni Spektrofotometrik Yöntemlerle Analizi

Hipertansiyon birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkan kan basıncı yüksekliğidir. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar önceki yıllarda farmasötik preparatların içerisinde tek etken madde varken artık günümüzde iki etken maddeli veya üç etken madde içeren kombine preparatların sayısında artış görülmektedir.

Tez kapsamında antihipertansif ilaç olan amlodipin içeren farmasötik preparatlarda etken maddelerin aynı anda miktar tayinleri için yeni spektrofotometrik yöntemler uygulanmıştır. Absorbans çıkarma, oran farkı, indüklenmiş çift dalga boyu yöntemi, absorpsiyon düzeltme, oran çıkarma, sabit merkez ve sabit çıkarma yöntemleri ile çalışılmıştır. Amlodipin ile atorvastatin, olmesartan ve kandesartan içeren ikili karışımlar spektroskopik yöntemler ile, perindopril ve indapamidi birlikte içeren karışımlar yüksek basınçlı sıvı kromatografi yöntemi ile analiz edilmiştir.

Amlodipin içeren farmasötik preparatlardan etken maddelerin spektroskopik yöntemler ile aynı anda miktar tayinleri hızlı, basit, ekonomik ve hiçbir ayırma işlemine gerek duyulmaksızın gerçekleştirilmiştir. İkili ve üçlü farmasötik preparatlarda yüksek basınçlı sıvı kromatografi yöntemi ön işlemlere gerek kalmaksızın kısa analiz süresi ile çevreye duyarlı olarak geliştirilmiştir.

Yöntemlerin doğruluğu için yüzde geri kazanım çalışmaları yapılmış ve farmasötik preparatlara başarı ile uygulanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Amlodipin, Atorvastatin, Kandesartan, Olmesartan, Spektrofotometrik yöntemler

SUMMARY

Analyses Active Ingredient in Pharmaceutical Preparations Containing Amlodipine by Novel Spectrophotometric Methods

Hypertension is high blood pressure resulting from many causes. The drugs used in the treatment of hypertension were the only active ingredient in the pharmaceutical preparations in the previous years, but now there is an increase in the number of combined preparations with two active ingredients or three active ingredients.

In the scope of the thesis, novel spectrophotometric methods were applied for the simultaneous quantitation of active substances in pharmaceutical preparations containing amlodipine as an antihypertensive drug. Absorbance subtraction, ratio difference, induced dual wavelength, absorption correction, ratio subtraction, constant center and constant extraction methods were studied. Binary mixtures containing amlodipine and atorvastatin, olmesartan and candesartan were analyzed by spectroscopic methods, and mixtures containing perindopril and indapamide together were analyzed by high pressure liquid chromatography method.

Simultaneous quantitation of active substances from pharmaceutical preparations containing amlodipine by spectroscopic methods was performed quickly, simply, economically and without the need for any separation process. High pressure liquid chromatography method in double and triple pharmaceutical preparations has been developed environmentally friendly with short analysis time without the need for pretreatment. Percentage recovery studies have been carried out for the accuracy of the methods and have been successfully applied to pharmaceutical preparations.

Keywords: Amlodipine, Atorvastatin, Candesartan, Olmesartan, Spectrophotometric methods.

KAYNAKLAR

- ADRIANA M, GABRIEL H, ALEXANDRU VR, STEFANA S, RUXANDRA S ve HAJNAL K (2016). Simultaneous determination of amlodipine and telmisartan from pharmaceutical products by way of capillary electrophoresis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, **29**(1): 42-45.
- AL-ARFAJ NA, AL-ONAZI WA ve EL-BRASHY AM (2011). Spectrophotometric Determination of Candesartan cilexetil in presence of its alkaline induced degradation product. *Asian Journal of Chemistry*, **23**(4): 1696-1700.
- AL-ONAZI WA, DARWISH HW, AL-ARFAJ NA ve AL-BRASHY AM (2013). Application of pcr and pls methods for the simultaneous determination of candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide in their pharmaceutical preparations. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **8**(3): 1253-1262.
- AL-TANNAK NF (2018). UHPLC-UV method for simultaneous determination of perindopril arginine and indapamide hemihydrate in combined dosage form: A stability-indicating assay method. *Scientia Pharmaceutica*, **86**(1): 13.
- ALARFAJ NA (2013). Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of antihypertensive agent telmisartan in tablets and its application to human plasma. *Journal of Analytical Chemistry*, **68**(4): 335-340.
- ALARFAJ NA, ALTAMIMI SA, EL-TOHAMY MF ve ALMAHRI AM (2019). Exploitation of localized surface plasmon resonance of silver/gold nanoparticles for the fluorescence quantification of angiotensin II receptor antagonists in their tablets and bio-samples. *New Journal of Chemistry*, **43**(1): 492-503.
- ALGHAMDI AF ve ALSALEEMI MS (2019). Determination of atorvastatin at pharmaceutical tablet using cyclic voltammetry technique. *Moroccan Journal of Chemistry* **7**(4): 652-659.
- ALHAZMI HA, ALNAMI AM, ARISHI MAA, ALAMEER RK, AL BRATTY M, REHMAN ZU, JAVED SA ve ARBAB IA (2018). A fast and validated reversed-phase HPLC method for simultaneous determination of simvastatin, atorvastatin, telmisartan and irbesartan in bulk drugs and tablet formulations. *Scientia Pharmaceutica* **86**(1): 13.
- ANANDAKUMAR K, JOTHIESWARI D, SUBATHRAI R, SANTHI DV ve VETRICHILVAN T (2012). Validated RP-HPLC method for the simultaneous determination of amlodipine besylate, valsartan, and hydrochlorothiazide in bulk and in pharmaceutical formulation. *Acta Chromatographica* **24**(1): 37-50.

- ATTIMARAD M, CHOCHAN MS ve ELGORASHE REE (2020). Smart analysis of a ternary mixture of amlodipine, hydrochlorothiazide and telmisartan by manipulation of UV spectra: Development, validation and application to formulations. *Journal of Molecular Structure* **1212**: 10.
- AYAD MF ve MAGDY N (2015). Application of new spectrofluorometric techniques for determination of atorvastatin and ezetimibe in combined tablet dosage form. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **63**(6): 443-449.
- BAHETI KG, SHAH N ve SHAIKH S (2012). Ion-pairing reverse-phase high performance liquid chromatography method for simultaneous estimation of atenolol and indapamide in bulk and combined dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **74**(3): 271-274.
- BELAL TS, MAHROUS MS, ABDEL-KHALEK MM, DAABEESC HG ve KHAMISB MM (2014). Validated spectrofluorimetric determination of two pharmaceutical antihypertensive mixtures containing amlodipine besylate together with either candesartan cilexetil or telmisartan. *Luminescence* **29**(7): 893-900.
- BORBA PAA, CAVALLERI C, PEZZINI BR ve STULZER HK (2017). Development and validation of analytical methods for telmisartan quantification in raw material and in tablets by uv-spectrophotometer and hplc. *Latin American Journal of Pharmacy* **36**(9): 1858-1866.
- CAGLAR S ve ONAL A (2010). Two simple and rapid spectrophotometric methods for the determination of a new antihypertensive drug olmesartan in tablets. *Journal of Analytical Chemistry* **65**(3): 239-243.
- CELEBIER M, SUSLU I ve ALTINOZ S (2013). Validated voltammetric determination of olmesartan medoxamil: Method development and electrochemical behaviors investigation. *Analytical Methods* **5**(5): 1301-1306.
- CZERWINSKA K ve MAZUREK AP (2011). Identification and determination of selected angiotensin II receptor antagonist group drugs by hplc method. *Acta Poloniae Pharmaceutica* **68**(6): 831-837.
- DARWISH HW (2013). Application of smart spectrophotometric methods and artificial neural network for the simultaneous quantitation of olmesartan medoxamil, amlodipine besylate and hydrochlorothiazide in their combined pharmaceutical dosage form. *Chemistry Central Journal* **7**: 9.
- DARWISH HW, BAKHEIT AH ve ATTIA MI (2013). Three multivariate calibration methods for simultaneous spectrophotometric determination of olmesartan medoxamil, amlodipine besylate and hydrochlorothiazide in their combined dosage form. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* **8**(1): 323-333.

- DARWISH HW, BAKHEIT AH ve DARWISH IA (2012). New spectrofluorimetric methods for the simultaneous determination of olmesartan medoxamil and amlodipine besylate in their combined tablets. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* **7**(4): 1599-1607.
- DARWISH HW, HASSAN SA, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2013a). Comparative study between derivative spectrophotometry and multivariate calibration as analytical tools applied for the simultaneous quantitation of Amlodipine, Valsartan and Hydrochlorothiazide. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **113**: 215-223.
- DARWISH HW, HASSAN SA, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2013b). Sequential spectrophotometric method for the simultaneous determination of amlodipine, valsartan, and hydrochlorothiazide in coformulated tablets. *International Journal of Spectroscopy*: 8.
- DARWISH HW, HASSAN SA, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2013c). Three different methods for determination of binary mixture of Amlodipine and Atorvastatin using dual wavelength spectrophotometry. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **104**: 70-76.
- DARWISH HW, HASSAN SA, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2016). Advanced stability indicating chemometric methods for quantitation of amlodipine and atorvastatin in their quinary mixture with acidic degradation products. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **154**: 58-66.
- DAWUD ER ve SHAKYA AK (2019). HPLC-PDA analysis of ACE-inhibitors, hydrochlorothiazide and indapamide utilizing design of experiments. *Arabian Journal of Chemistry* **12**(5): 718-728.
- DE DIEGO M, GODOY R, MENNICKENT S, VERGARA C, MIRANDA D ve NAVARRO P (2018). Stability-indicating liquid chromatographic methods with photodiode array detection and light scattering detection for simultaneous determination of candesartan and hydrochlorothiazide. *Journal of Chromatographic Science* **56**(2): 99-107.
- DURASAMY K, JAGANATHAN KS ve KRISHNA MV (2017). Method development and validation of HPLC tandem/mass spectrometry for quantification of perindopril arginine and amlodipine besylate combination in bulk and pharmaceutical formulations. *Research in Pharmaceutical Sciences* **12**(4): 307-314.
- EBEID W, SALIM M, ELKADY E, ELZAHR A, EL-BAGARY R ve PATONAY G (2015). Simultaneous determination of valsartan, amlodipine besylate and hydrochlorothiazide using capillary zone electrophoresis (CZE). *Pharmazie* **70**(6): 368-373.

- EBEID WM, ELKADY EF, EL-ZAHER AA, EL-BAGARY RI ve PATONAY G (2014). Synchronized separation of seven medications representing most commonly prescribed antihypertensive classes by using reversed-phase liquid chromatography: Application for analysis in their combined formulations. *Journal of Separation Science* **37**(7): 748-757.
- EL-BAGARY RI, ELKADY EE, MOWAKA S ve ATTALLAH MA (2017). A validated hplc method for simultaneous determination of perindopril arginine, amlodipine, and indapamide: Application in bulk and in different pharmaceutical dosage forms. *Journal of Aoac International* **100**(4): 992-999.
- EL-BARDICY MC, LOTFY HM, EL-SAYED MA ve EL-TARRAS MF (2008). Smart stability-indicating spectrophotometric methods for determination of binary mixtures without prior separation. *Journal of Aoac International* **91**(2): 299-310.
- EL-GIZAWY SM, ABDELMAGEED OH, DERAYEA SM, OMAR MA ve ABDELMEGIED AM (2014). Chiral separation of perindopril erbumine enantiomers using high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Analytical Methods* **6**(3): 825-830.
- ELGHOBASHY MR, NASHAT NW, ABBAS SS ve MOUSTAFA AA (2016). Determination of aliskiren hemifumarate and amlodipine besylate in their combined dosage form by different spectrophotometric methods. *Current Pharmaceutical Analysis* **12**(4): 391-398.
- ELSHANAWANE AA, ABDELAZIZ LM, KAMAL MM ve HAFEZ HM (2014). Quantitative determination of four angiotensin-II-receptor antagonists in presence of hydrochlorothiazide by a gradient technique hplc in their pharmaceutical preparations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **37**(2): 171-186.
- ELSHANAWANE AA, MOSTAFA SM ve ELGAWISH MS (2008). Development and validation of LC method for simultaneous determination of two binary mixtures containing indapamide. *Chromatographia* **67**(9-10): 837-840.
- ELZANFALY ES, HASSAN SA, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2015). Continuous wavelet transform, a powerful alternative to derivative spectrophotometry in analysis of binary and ternary mixtures: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **151**: 945-955.
- ERK N (2001). Comparison of spectrophotometric and an LC method for the determination perindopril and indapamide in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **26**(1): 43-52.

- ERK N (2003). Application of first derivative UV-spectrophotometry and ratio derivative spectrophotometry for the simultaneous determination of candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide. *Pharmazie* **58**(11): 796-800.
- FAEL H ve SAKUR AAH (2015). Novel spectrofluorimetric method for the determination of perindopril erbumine based on charge transfer reaction with 7-Hydroxycoumarin. *Journal of Fluorescence* **25**(4): 811-818.
- FAROUK M, ABD ELAZIZ O, TAWAKKOL SM, HEMDAN A ve SHEHATA MA (2014). Comparative study between univariate spectrophotometry and multivariate calibration as analytical tools for quantitation of Benazepril alone and in combination with Amlodipine. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **123**: 473-481.
- GIZAWY SM, BEBAWY LI, ABDELMAGEED OH, OMAR MA, DERYEA SM ve ABDEL-MEGIED AM (2013). High performance liquid chromatography, TLCdensitometry, and first-derivative spectrophotometry for simultaneous determination of amlodipine and perindopril in bulk powder and its tablets. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **36**(10): 1323-1339.
- GOWDA N, TEKAL R, THANGAVELU R, VIPUL K ve RAJASHREE M (2012). Validated high-performance liquid chromatographic and chemometric based spectrophotometric determination of ramipril and atorvastatin in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Food and Drug Analysis* **20**(3): 577-587.
- GUMIENICZEK A, MACZKA P, KOMSTA L ve PIETRAS R (2015). Dissolution profiles of perindopril and indapamide in their fixed-dose formulations by a new HPLC method and different mathematical approaches. *Acta Pharmaceutica* **65**(3): 235-252.
- HASSAN SA, ELZANFALY ES, SALEM MY ve EL-ZEANY BA (2016). Mean centering of double divisor ratio spectra, a novel spectrophotometric method for analysis of ternary mixtures. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **153**: 132-142.
- HASSAN SA, NASHAT NW, ELGHOBASHY MR, ABBAS SS ve MOUSTAFA AA (2020). Stability-Indicating RP-HPLC and CE methods for simultaneous determination of bisoprolol and perindopril in pharmaceutical formulation: A comparative study. *Journal of Chromatographic Science* **58**(8): 747-758.
- HEMDAN A, MAGDY R ve FAROUK M (2018). Response surface design as a powerful tool for the development of environmentally benign HPLC methods for the determination of two antihypertensive combinations: Greenness assessment by two green analytical chemistry evaluation tools. *Journal of separation science* **41**(16): 3213-3223.

HOWLAND RD, MYCEK MJ, HARVEY RA ve CHAMPE PC (2006). Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology, Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 3rd Ed., Chapter 19.

İLERİGELEN B (2005). Hipertansiyon tedavisi. Klinik Gelişim **18**(2): 33-41.

ISSA YM, HUSSIEN EM, IBRAHIM MM, ALDEL-GAWAD FM ve BARAKAT S (2013). Stability-Indicating methods for the determination of candesartan cilexetil in bulk drug and pharmaceutical formulations. *Journal of Aoac International* **96**(3): 580-586.

JANARDHANAN VS, MANAVALAN R ve VALLIAPPAN K (2016). Chemometric technique for the optimization of chromatographic system: Simultaneous HPLC determination of Rosuvastatin, Telmisartan, Ezetimibe and Atorvastatin used in combined cardiovascular therapy. *Arabian Journal of Chemistry* **9**: S1378-S1387.

KAILA HO, AMBASANA MA ve SHAH AK (2013). Development and validation of a reversed-Phase ultra-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of six drugs used for combined hypertension therapy." *Journal of Aoac International* **96**(2): 295-300.

KAYAALP SO (2012). Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 1. Cilt, 3. Bölüm Antihipertansif İlaçlar. Ankara, Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. 13. Baskı, s.:379-410.

KERAI JR, VYAS AJ, VIHOL B, PATEL P ve PATEL A (2019). Dad based stability indicating rp-uplc method for simultaneous determination of olmesartan medoxomil and amlodipine besylate. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **52**(11): 959-964.

KONDAMADGU S ve GANDU V (2016). Quantification of drugs and pharmaceuticals using N-Bromosuccinimide and methyl orange dye: A spectrophotometric study. *Oriental Journal of Chemistry* **32**(1): 709-717.

KUMAR B, KUMAR R, PATEL H ve KUMAR A (2017). Development and Validation of an Rp-Hplc method for simultaneous estimation of amlodipine besylate and indapamide in bulk and tablet dosage form. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences* **4**(11): 4278-4287.

LAMIE NT (2015). Spectrophotometric methods for simultaneous determination of amlodipine besylate and atenolol in their tablet dosage form. *Spectroscopy and Spectral Analysis* **35**(12): 3538-3543.

LEITE HD, SANTORO MIRM, PORTO JMA, GARCIA PL, DE ALMEIDA MM, TAVARES VF ve KEDOR-HACKMANN ERM (2011). Quantitative determination

of amlodipine besylate in tablets by high performance liquid chromatography and UV spectrophotometry. *Latin American Journal of Pharmacy* **30**(3): 527-533.

LONDHE SV, DESHMUKH RS, MULGUND SV ve JAIN KS (2011). Development and validation of a reversed-phase HPLC method for simultaneous determination of aspirin, atorvastatin calcium and clopidogrel bisulphate in capsules. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **73**(1): 23-29.

LOTFY HM (2012). Determination of simvastatin and ezetimibe in combined tablet dosage forms by constant center spectrophotometric method. *Int J Pharm Pharm Sci* **4**(4): 673-679.

LOTFY HM, ERK N ve ROSTOM Y (2019). Developing spectral numerical factor technique for the determination of amlodipine besylate and the latest generation of statins in their new pharmaceutical combination. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **218**: 320-330.

LOTFY HM, HEGAZY MA, REZK MR ve OMRAN YR (2014). Novel spectrophotometric methods for simultaneous determination of timolol and dorzolamide in their binary mixture. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **126**: 197-207.

LOTFY HM, MONIR HH, ERK N ve ROSTOM Y (2020). Novel feature extraction approach for achieving potential spectral resolution: Green analytical application on zofenopril calcium and hydrochlorothiazide in their spectrally overlapping binary mixture. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **230**: 13.

LOTFY HM ve SALEH SS (2016). Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006–2016): A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **8**(10).

LOTFY HM, SALEH SS, HASSAN NY ve SALEM H (2015). Novel two wavelength spectrophotometric methods for simultaneous determination of binary mixtures with severely overlapping spectra. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **136**: 1786-1796.

MASLARSKA V, YANKOV V, OBRESHKOVA D ve BOZHANOV S (2017). Simultaneous determination of sartans by high performance liquid chromatography with ultra violet detection. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* **51**(2): 343-348.

MASTHANNAMMA SK, TEJASWINI IS, SAIDULU P ve RAMBABU G (2015). Simultaneous equation method and absorption correction method for the estimation of perindopril erbumine and amlodipine besylate in bulk and in combined tablet dosage

form using uv spectrophotometry. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **6**(6): 2484-2490.

MEREY HA, RAMADAN NK, DIAB SS ve MOUSTAFA AA (2014). Spectrophotometric methods for simultaneous determination of ternary mixture of amlodipine besylate, olmesartan medoxomil and hydrochlorothiazide. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **125**: 138-146.

MIRCIA E, BALACI T, HANCU G, ION V ve CARJE A (2016). Simultaneous determination of amlodipine and atorvastatin by capillary electrophoresis from fixed pharmaceutical formulations. *Farmacia* **64**(3): 398-402.

MOHAMED AMI, OMAR MA, HAMMAD MA ve MOHAMED AA (2016). Development and validation of highly sensitive stability indicating spectrofluorimetric method for determination of amlodipine in pharmaceutical preparations and human plasma. *Journal of Fluorescence* **26**(6): 2141-2149.

MOHAMED HM ve LAMIE NT (2016a). Analytical eco-scale for assessing the greenness of a developed rp-hplc method used for simultaneous analysis of combined antihypertensive medications. *Journal of Aoac International* **99**(5): 1260-1265.

MOHAMED HM ve LAMIE NT (2016b). Application and validation of superior spectrophotometric methods for simultaneous determination of ternary mixture used for hypertension management. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **155**: 103-110.

MOHAMED NG (2011). Simultaneous determination of amlodipine and valsartan." *Analytical Chemistry Insights* **6**: 53-59.

MORALES J, GAI MN, GUNTHER G, LEMUS I ve LASTRA O (2011). Development and validation of high performance liquid chromatographic and derivative spectrophotometric methods for the determination of candesartan cilexetil in pharmaceutical forms. *Afinidad* **68**(554): 311-316.

MOUSSA BA, EL-ZAHER AA, MAHROUSE MA ve AHMED MS (2016). Resolution of overlapped spectra for the determination of ternary mixture using different and modified spectrophotometric methods. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **165**: 127-137.

NAGAVALLI D, VAIDHYALINGAM V, SANTHA A, SANKAR ASK ve DIVYA O (2010). Simultaneous spectrophotometric determination of losartan potassium, amlodipine besilate and hydrochlorothiazide in pharmaceuticals by chemometric methods. *Acta Pharmaceutica* **60**(2): 141-152.

- NASR JJM, AL-SHAALAN NH ve SHALAN SM (2020). Sustainable environment-friendly quantitative determination of three anti-hyperlipidemic statin drugs and ezetimibe in binary mixtures by first derivative Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **237**: 10.
- OLABEMIWO OM, MAHESH P, RAO A ve RAO VJ (2012). Development and validation of rp-hplc method for simultaneous determination of metoprolol succinate and olmesartan medoxomil in bulk and pharmaceutical dosage form. *Asian Journal of Chemistry* **24**(6): 2762-2766.
- OMAR MA (2010). Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of certain diuretics through ternary complex formation with eosin and lead (II). *Journal of Fluorescence* **20**(1): 275-281.
- ÖZDEN S, ERTAN R, AKI-ŞENER E, YALÇIN İ, NEBİOĞLU D ve BÜYÜKBİNGÖL E (2004). *Farmasötik Kimya Pratikleri 1-2*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi s.:51-56.
- PACZKOWSKA M, ZALEWSKI P, GARBACKI P, TALACZYNSKA A, KRAUSE A ve CIELECKA-PIONTEK J (2014). The development and validation of a stability-indicating uhplc-dad method for determination of perindopril arginine in bulk substance and pharmaceutical dosage form. *Chromatographia* **77**(21-22): 1497-1501.
- PATEL AB, JADAV HM, VYAS AJ, PATEL AI, PATEL NK ve CHUDASAMA A (2020). Simultaneous determination of ramipril and amlodipine besylate in tablet dosage form by first order derivative spectrophotometric method. *Chemical Methodologies* **4**(4): 467-476.
- PHECHKRAJANG CM, QUYNH PTN ve SUNTORNUSUK L (2017). Forced degradation studies of candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide using a validated stability-indicating HPLC-UV method. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **51**(5): 416-424.
- QUTAB SS, RAZZAQ SN, ASHFAQ M, SHUJA ZA ve KHAN IU (2007). Simple and sensitive LC-UV method for simultaneous analysis of hydrochlorothiazide and candesartan cilexetil in pharmaceutical formulations. *Acta Chromatographica* **19**: 119-129.
- RADI A (2003). Adsorptive cathodic stripping voltammetric determination of indapamide as copper complex at a hanging mercury drop electrode. *Chemia Analytica* **48**(2): 273-281.
- RAGEH AH, EL-ZAHRY MR ve ATIA NN (2018). Utility of ionic liquid-based surfactant in enhancement of oxidation peak signal of atorvastatin at pencil graphite electrode. *Current Analytical Chemistry* **14**(2): 101-110.

- RAHMAN N, RAHMAN H ve HAQUE SM (2017). Kinetic spectrophotometric method for the determination of perindopril erbumine in pure and commercial dosage forms. *Arabian Journal of Chemistry* **10**: S831-S838.
- RAHMAN N, RAHMAN H ve KHATOON A (2012). Development of spectrophotometric method for the determination of perindopril erbumine in pharmaceutical formulations using 2,4 dinitrofluorobenzene. *Journal of the Chilean Chemical Society* **57**(2): 1069-1073.
- RAJ MC ve CHAUDHARI BG (2012). Development and validation of rp-hplc method for simultaneous estimation of amlodipine besylate and indapamide in tablet dosage form. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **3**(9): 3146-3150.
- RANI GT, SANKAR DG, KADGAPATHI P ve SATYANARAYANA B (2011). A validated rp-hplc method for simultaneous estimation of atenolol and indapamide in pharmaceutical formulations. *E-Journal of Chemistry* **8**(3): 1238-1245.
- RAO RN, PRASAD KG, NAIDU CG ve MAURYA PK (2011). Development of a validated liquid chromatographic method for determination of related substances of telmisartan in bulk drugs and formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **56**(3): 471-478.
- ROTE AR ve BARI PD (2009). Ratio spectra derivative and zero-crossing difference spectrophotometric determination of olmesartan medoxomil and hydrochlorothiazide in combined pharmaceutical dosage form. *Aaps Pharmscitech* **10**(4): 1200-1205.
- RXMEDIAPHARMA® (2020). RxMediaPharma interaktif ilaç bilgi kaynağı. GEMAŞ. L. Üstünes. Bornova, İzmir, Gemaş Genel Mühendislik Mekanik San. ve Tic. A.Ş.
- SAAD AS, ABO-TALIB NF ve E-GHOBASHY MR (2016). Novel ratio difference at coabsorptive point spectrophotometric method for determination of components with wide variation in their absorptivities. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **152**: 480-484.
- SALAMANCA-NETO CAR, YOSHIDA FA, SARTORI ER ve MORAES JT (2018). Boron-doped diamond electrode: a modification-free platform for sensitive square-wave voltammetric determination of indapamide hydrochloride. *Analytical Methods* **10**(27): 3347-3352.
- SARRAFI AHM, KONOZ E ve GHIYASVAND M (2011). Simultaneous determination of atorvastatin calcium and amlodipine besylate by spectrophotometry and multivariate calibration methods in pharmaceutical formulations. *E-Journal of Chemistry* **8**(4): 1670-1679.

- SCREMIN J, MATTOS GJ, CRAPNELL RD, ROWLEY-NEALE SJ, BANKS CE ve SARTORI ER (2020). Glassy carbon electrode modified with layering of carbon black/poly(allylamine hydrochloride) composite for multianalyte determination. *Electroanalysis*: 12.
- SHARMA T, MOITRA SK, SI SC ve GOWRISANKAR D (2012). Visible spectrophotometric determination of olmesartan medoxomil in pharmaceutical formulations. *Asian Journal of Chemistry* **24**(8): 3771-3772.
- STACESCU S, HANCU G, GAGYI L, SOARE RM ve KELEMEN H (2017). Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and telmisartan from pharmaceutical preparations using capillary electrophoresis. *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia* **62**(2): 189-198.
- SUSLU I ve ALTINOZ S (2002). Two derivative spectrophotometric determinations of indapamide in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **30**(2): 357-364.
- SUSLU I, OZALTIN N ve ALTINOZ S (2009). Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of candesartan cilexetil in pharmaceutical formulations. *Journal of Applied Electrochemistry* **39**(9): 1535-1543.
- TAHIR MS, ADNAN A ve SYED Q (2016). Chromatographic resolution of angiotensin II receptor antagonists (sartans). *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **1027**: 57-63.
- TASDEMIR IH, AKAY MA, ERK N ve KILIC E (2010). Voltammetric behavior of telmisartan and cathodic adsorptive stripping voltammetric method for its assay in pharmaceutical dosage forms and biological fluids. *Electroanalysis* **22**(17-18): 2101-2109.
- TEKKELI SEK (2013). Development of an HPLC-UV method for the analysis of drugs used for combined hypertension therapy in pharmaceutical preparations and human plasma. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*: 10.
- TEKKELI SEK ve ONAL A (2013). New spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for the determination of angiotensin II receptor antagonists in tablets and plasma. *Journal of Analytical Chemistry* **68**(6): 501-509.
- TRANG NTQ, HOP NV, CHAU NDG ve TRAN TB (2019). Simultaneous determination of amlodipine, hydrochlorothiazide, and valsartan in pharmaceutical products by a combination of full spectrum measurement and kalman filter algorithm. *Advances in Materials Science and Engineering*: 9.

Türk Kardiyoloji Derneği Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu. Erişim tarihi: 04.11, 2018, https://www.tkd.org.tr/kilavuz/k03/4_2c93c.htm?wbnum=1107.

VARGHESE SJ ve RAVI TK (2011). Quantitative simultaneous determination of amlodipine, valsartan, and hydrochlorothiazide in "exforge hct" tablets using High-Performance Liquid Chromatography and High-Performance Thin-Layer Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **34**(12): 981-994.

WANKHEDE SB, WADKAR SB, RAKA KC ve CHITLANGE SS (2009). Simultaneous estimation of amlodipine besilate and olmesartan medoxomil in pharmaceutical dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **71**(5): 563-567.

YILMAZ B ve YILMAZ N (2020). Simultaneous determination of rosuvastatin and amlodipine in binary mixtures by differential pulse voltammetry and HPLC methods. *Eurasian Chemical Communications* **2**(8): 881-894.

ZAAZAA HE, ABBAS SS, ESSAM HAM ve EL-BARDICY MG (2013). Validated chromatographic methods for determination of perindopril and amlodipine in pharmaceutical formulation in the presence of their degradation products. *Journal of Chromatographic Science* **51**(6): 533-543.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı :Gizem

Soyadı :Tırıs

Doğum yeri ve tarihi :

Uyruğu :TC

Medeni durumu :

İletişim adresi ve telefonu :

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden-eskiye doğru)

Öğrenim Dönemi	Derece	Öğrenim Alanı	Öğrenim Birimi
2016-	Doktora	Analitik Kimya	Ankara Üniversitesi
2010-2015	Lisans	Eczacılık	Ankara Üniversitesi
2005-2009	Lise	-	Meram Anadolu Lisesi

Yabancı dili: İngilizce

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden-yeniye doğru)

Eczacı

IV- Mesleki Deneyimi

Görev Yılı	Görevi	Üniversite
2017-	Araştırma Görevlisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1) Lotfy Hayam M, Tırıs Gizem, Erk Nevin, Rostom Yasmin (2020). Analytical tools for greenness assessment of chromatographic approaches: Application to pharmaceutical combinations of Indapamide, Perindopril and Amlodipine. *Microchemical Journal*, 159(105557), 1-10., Doi: 10.1016/j.microc.2020.105557

2) Yasmin Rostom, Hayam M. Lotfy, Meltem Öztürk, Gizem Tiris, Nevin Erk, Sarah S. Saleh (2021). Trade-off efficacy and data processing strategy in the power of spectral resolution of co-formulated antihypertensive pharmaceuticals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 247 119080.

3) Tırıs Gizem, Ciloglu Emine, Erk Nevin (2020). Novel approaches for determination of antiretroviral reverse transcriptase inhibitor agent in commercial dosage forms by using spectrofluorimetric, first derivative spectrophotometric, and HPLC methods. *FUTURE JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, 6(1), Doi: 10.1186/s43094-020-00070-w

4) Tırıs Gizem, Alver Cansu, Erk Nevin (2020). A novel stability-indicating method for determination of a new antidepressant effect of vortioxetine in a pharmaceutical formulation by using RP-HPLC. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(118), Doi: 10.1186/s430 00135-w.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

1) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem (2019). High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Amlodipine and Perindopril. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies

2) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem, Öztürk Meltem (2019). Quantitative Analysis of Some Beta Blocker Drugs in Co-formulated Drug by Using Factorized Zero Order and Factorized Difference Amplitude Methods. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies

3) Lotfy Hayam M, Tırıs Gizem, Erk Nevin, Öztürk Meltem (2019). An Easy and Green Spectrophotometric Method for the Determination of Some Antihypertensive Drugs in Their Pure and Pharmaceutical Formulations. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies

4) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem, Öztürk Meltem (2019). Advanced Spectrophotometric Methods for the Determination of Carvedilol and Hydrochlorothiazide Drugs in Their Bulk and Medical Formulations. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies

5) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem (2019). Smart Spectrophotometric Determination of Tenofovir Disoproxil and Emtricitabine in Medical Dosage Formulations by Using Unified Regression Equation. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies

- 6) Lotfy Hayam M, Tırıs Gizem, Erk Nevin (2019). A Green and New Spectrophotometric Methods for Analysis of Olmesartan Cilexetil and Amlodipine Besylate in Medical Dosage Formulations. 5th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies
- 7) Tırıs Gizem, Erk Nevin (2018). Rapid Determination of Antihypertensive Agents Using RatioDifference and Ratio Derivative Spectrophotometric Technique. 4th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies
- 8) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem (2018). Quantitative Analysis of Telmisartan and Amlodipine in Bulk Drug and Commercial Dosage Forms by Using Absorbance Subtraction and Amplitude Correction Spectrophotometric Techniques. 4th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies
- 9) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem (2018). Sensitive and Reliable Spectrophotometric Techniques for theEstimation of Telmisartan and Hydrochlorothiazide in CombinedDosage Forms. 4th International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies
- 10) Erk Nevin, Tırıs Gizem (2018). Ratio derivative and difference spectrophotometric techniques for simultaneous determination of carvedilol and hydrochlorothiazide in marketed tablets. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences
- 11) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem, Şahin Egemen (2018). Quantitative Analysis Of Amlodipine And Atorvastatin By Using Constant Center Spectrophotometric Technique. 12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences
- 12) Lotfy Hayam M, Erk Nevin, Tırıs Gizem (2018). New Applications Of Spectrophotometric Techniques For The Simultaneous Determination Of Zofenopril Calcium And Hydrochlorothiazide In Pharmaceutical Formulations,. 12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5284108)
- 13) Tırıs Gizem, Erk Nevin (2017). Sensitive and Rapid Determination of Protease Inhibitors in Pure Drugs and Their Mixtures using High Performance LiquidChromatography. International Congress on Chemistry And Materials Science
- 14) Erk Nevin, Tırıs Gizem, Ateş Ali Kemal (2017). Highly Sensitive Determination of Certain Antihypertensive Drugs in Their Pure and Combined Forms. International Congress on Chemistry And Materials Science
- 15) Erk Nevin,Tırıs Gizem (2017). Different Spectrophotometric Methods for Simultaneous Determination of Certain Antihyperlipidemic Drugs in Their Bulk and Mixtures. International Congress on Chemistry And Materials Science
- 16) Tırıs Gizem, Erk Nevin (2017). Comparative Study of New Spectrophotometric Techniques for the Simultaneous Determination of Ezetimibe and Rosuvastatin in binary mixtures. International Congress on Chemistry And Materials Science

17) Erk Nevin, Tırıs Gizem (2017). Determination of Bisoprolol Fumarate and Hydrochlorothiazide in Combined Tablet Dosage Form by Novel Spectrophotometric Techniques. 3rd International Turkic World Conference on Chemical Sciences Technologies ITWCCST – 2017

18) Erk Nevin, Tırıs Gizem, Çıtlak Pelin (2017). Development of High Performance Liquid Chromatographic Method with Stability Indicator for Flurbiprofen Quantification. 3rd International Turkic World Conference on Chemical Sciences Technologies ITWCCST – 2017

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Verdiği seminerler: Termal Analiz Yöntemleri (2018) Ankara Üniversitesi

Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı

Projeler

Amlodipin İçeren Farmasötik Preparatlarda Etken Maddelerin Yeni Spektrofotometrik Yöntemlerle Analizi (19L0237001) Ankara Üniversitesi BAP 2019-2021.