

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEKSRABEPRAZOL SODYUM İÇEREN  
FARMASÖTİK PREPARATLARDA HPLC İLE  
MİKTAR TAYİNİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ebru Nurdan ŞENTÜRK**

**Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA**

**Tez Danışmanı : Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN**

Nisan 2018

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

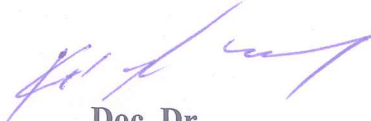
DEKSRABEPRAZOL SODYUM İÇEREN  
FARMASOTİK PREPARATLARDA HPLC İLE  
MİKTAR TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru Nurdan ŞENTÜRK

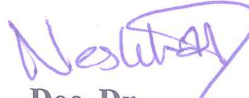
Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 10/04/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr.  
Kudret YILDIRIM

Jüri Başkanı



Doç. Dr.  
Neslihan ŞAKİ

Üye



Dr.Öğr.Üyesi  
Semra YILMAZER  
KESKİN

Üye

## BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ebru Nurdan ŞENTÜRK

10/04/2018

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezime adaptasyonumda, çalışmalarımı yönlendirmesinde, araştırmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan çalışmam süresince bilgi, tecrübe ve güler yüzü ile çalışmama ışık tutan, danışman hocam Sayın Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e,

Laboratuvar çalışmalarımnda ve tezin yazımında yardımlarını esirgemeyen, Biyokimya dalı doktora öğrencisi Yüksek Kimyager Cihansel SANCAK ÜNLÜ'ye,

Tezimin hazırlanması sırasında beni cesaretlendiren ve bu çalışmayı gerçekleştirmemde emeği geçen, maddi, manevi hiçbir desteği esirgemeyen aileme teşekkür ediyor ve bu tezi değerli annem, Nuray ŞENTÜRK'e ithaf ediyorum.

Bu tez çalışması, SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2017-50-01-034)

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ .....	viii
ÖZET .....	ix
SUMMARY .....	x

### BÖLÜM 1.

GİRİŞ .....	1
-------------	---

### BÖLÜM 2.

GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Deksrabeprazol Sodyum.....	5
2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	5
2.1.2. Farmakolojik özellikleri .....	5
2.1.3. Yan etkileri .....	6
2.1.4. Kullanım şekli ve dozu.....	7
2.1.5. Deksrabeprazol ile yapılan analiz çalışmaları.....	7
2.2. Kromotografik Yöntemler.....	10
2.2.1. Koromotografik yöntemlerin sınıflandırılması.....	11
2.2.2. Kromotografide temel olan fiziksel ve kimyasal olaylar.....	12
2.2.2.1. Dağılma kromotografisi.....	12
2.2.2.2. Adsorpsiyon kromotografisi.....	12
2.2.2.3. İyon değiştirme kromotografisi.....	13
2.2.2.4. Boyut eleme kromotografisi.....	14
2.3. Yüksek performanslı sıvı kromotografisi.....	14

2.3.1. Sıvı kromatografisinin dayandığı parametreler.....	16
2.3.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı.....	19
2.3.3. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin uygulama alanları..	24

### BÖLÜM 3.

GEREÇ VE YÖNTEM .....	26
3.1. Kullanılan Cihazlar.....	26
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	26
3.3. Çözeltiler.....	27
3.3.1. Deksrabepazol sodyum standart çözeltisi.....	27
3.3.2. Hareketli faz çözeltisinin hazırlanması.....	27
3.3.3. Potasyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması.....	27
3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesine İlişkin Çalışmalar.....	27
3.4.1. Kromatografik koşulların belirlenmesi.....	28
3.5. Yöntem Validasyonu.....	28
3.5.1. Seçicilik.....	28
3.5.2. Doğrusallık.....	29
3.5.3. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (metodun kesinliği)....	29
3.5.4. Çözelti kararlılığı.....	30
3.5.5. Doğruluk (geri kazanım).....	30
3.5.6. Yöntemin sağlamlığı (güvenilirlik).....	30
3.5.7. Uygunluk testi.....	31
3.6. Ticari Tablet Üründe Deksrabepazol Sodyumun Analizi.....	31
3.6.1. Geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz.....	31
3.6.2. Kıyas yöntemi ile tayin.....	31
3.6.2.1. Çözeltiler.....	32

### BÖLÜM 4.

BULGULAR .....	33
4.1. Kromatografik Koşulların Belirlenmesi .....	33
4.1.1. Dedektör ve dalga boyu seçimi .....	33
4.1.2. Kolon seçimi.....	34

4.1.3. Hareketli faz bileşiminin belirlenmesi.....	34
4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu.....	36
4.2.1. Seçicilik.....	36
4.2.2. Doğrusallık.....	37
4.2.3. Doğruluk.....	38
4.2.4. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik.....	39
4.2.5. Çözelti kararlılığı.....	39
4.2.6. Yöntemin sağlamlığı.....	40
4.2.7. Uygunluk testi.....	41
4.3. Ticari Tablet Üründe Deksrabeprazol Sodyumun Analizi.....	41
4.3.1. Geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz.....	41
4.3.2. Kıyas Yöntemi ile Ölçü Eğrisinin Hazırlanması ve Regresyon Analizi.....	42
4.3.2.1. Kıyas yöntemi olarak geliştirilen UV spektrofotometrik yöntem ile analiz.....	43
<b>BÖLÜM 5.</b>	
<b>TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>46</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>48</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>52</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ATC	: Anatomik ve Terapötik Kimya Sınıflandırma Sistemi
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
cm	: Santimetre
g	: Gram
dk	: Dakika
GÖRH	: Gastroözofageal Reflü Hastalığı
Hg	: Civa
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ICH	: Uluslararası Harmonizasyon Konferansı
LFR	: Larengofaranjial Reflü Hastalığı
L	: Litre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
N	: Normalite
nm	: Nanometre
pH	: Hidrojen Konsantrasyonunun Eksi Logaritması
ppi	: Proton Pompa İnhibitörü
R	: Korelasyon Katsayısı
RSD	: Relatif Standart Sapma
SD	: Standart Sapma
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi



USP	: Amerikan Farmakopesi
UV	: Ultraviolet
V	: Hacim
ZES	: Zollinger Ellison Sendromu
°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
µL	: Mikrolitre

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Deksrabeprazol sodyum.....	5
Şekil 2.2.	Hareketli ve durgun fazlara göre sınıflandırma.....	11
Şekil 2.3.	Tek bileşenli bir karışım için kromotogram.....	17
Şekil 2.4.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin şematik gösterimi....	19
Şekil 2.5.	HPLC UV-görünür bölge dedektörler.....	23
Şekil 4.1.	254 nm de 0,10 mg/mL deksrabeprazol sodyum kromatogramı...	33
Şekil 4.2.	272 nm de 0,10 mg/mL deksrabeprazol sodyum kromatogramı...	34
Şekil 4.3.	Deksrabeprazol sodyumun pH=7,0 fosfat tamponu içerisindeki çözeltilisine ait kromotogram.....	35
Şekil 4.4.	Deksrabeprazol sodyumun metanol içerisindeki çözeltilisine ait kromatogram.....	35
Şekil 4.5.	Deksrabeprazol sodyumun asetonitril içerisindeki çözeltilisine ait kromatogram.....	35
Şekil 4.6.	Hareketli faz enjeksiyonuna ait kromatogram.....	36
Şekil 4.7.	Çözücü asetonitril enjeksiyonuna ait kromatogram.....	36
Şekil 4.8.	Deksrabeprazol sodyumun 0,07-0,13 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrisi.....	38
Şekil 4.9.	Oda sıcaklığında 24 saat bekletilen standarta ait kromatogram.....	40
Şekil 4.10.	Buzdolabında karanlıkta 1 ay bekletilen standarta ait kromatogram.....	40
Şekil 4.11.	Tablet ürününe ait HPLC kromotogram örneği.....	42
Şekil 4.12.	Deksrabeprazol sodyumun 0,008-0,02 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrisi.....	43
Şekil 4.13.	Tablet ürününe ait UV kromotogram örneği.....	44

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1.	Deksrabeprazol sodyumun 0,077-0,143 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrilerine ait pik alanı değerleri ve istatistiksel veriler.....	37
Tablo 4.2.	Deksrabeprazol sodyum için geri kazanım çalışması sonuçları.....	38
Tablo 4.3.	Gün içi ve günler arası analiz tekrarlanabilirliği.....	39
Tablo 4.4.	Yöntemin sağlamlık parametreleri.....	41
Tablo 4.5.	Sistem uygunluk parametreleri.....	41
Tablo 4.6.	Tablet örneğinin geliştirilen metot ile analiz sonuçları.....	42
Tablo 4.7.	Deksrabeprazolun 0,08-0,020 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrilerine ait değerler.....	43
Tablo 4.8.	UV spektroskopik yöntemle elde edilen veriler.....	44
Tablo 4.9.	Ticari tablette geliştirilen yöntemle elde edilen analiz sonuçları ve bu sonuçların geliştirilen kıyas yöntemiyle elde edilenlerle istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	45
Tablo 5.1.	Optimize edilmiş kromatografik koşullar.....	47

## ÖZET

Anahtar kelimeler: Deksrabeprazol sodyum, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, miktar tayini

Deksrabeprazol sodyum, uzun yıllardır proton pompası inhibitörü olarak yaygın bir şekilde kullanılan rabeprazolün R (+)-izomeridir ve peptik asit hastalıkları tedavisinde kullanılan bir proton pompası inhibitörü molekülüdür. Bu etkin madde gastro-özofajial reflü hastalığı ile görülebilen Zollinger-Ellison sendromu ve mide ülseri oluşmasında önemli bir rol oynayan bakteri türü olan *Helicobacter pylori* tedavisi için de kullanılmaktadır.

Klinik çalışmalar ışığında deksrabeprazol sodyumun benzer tedavi edici özellikteki moleküllere nazaran daha düşük dozda etkili olması, molekülün kullanımı arttırmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada sadece Deksrabeprazol içeren farmasötik preparatta basit, hızlı ve kesinliği yüksek bir HPLC yöntemi geliştirildi ve geliştirilen yöntemin validasyonu yapıldı.

Geliştirilen yöntem, etkin maddenin C<sub>18</sub> kolonda; asetonitril:fosfat tamponu (pH=7) (50:50) hareketli fazı ve UV dedektör ile 272 nm dalga boyunda 1 mL/dak. akış hızında tespiti temeline dayanır. Çalışılan doğrusal konsantrasyon aralığı 0,077-0,143 mg/mL, R<sup>2</sup> değeri 0,998'dir. Geliştirilen yöntem ticari ilaç formülasyonu analizine başarıyla uygulanmıştır. Sonuçlar geliştirilen UV spektrofotometrik yöntem ile Student-t ve Fischer-F testleri uygulanmış, istatistiksel açıdan karşılaştırılmış ve yöntemler arasında ortalamalar ve standart sapmalar yönünden anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

Geliştirilen HPLC yöntemi kolay, kesinliği yüksek ve tekrarlanabilir olup tablet analizlerinde güvenle kullanılabilir olarak değerlendirilmektedir.

## **HPLC DETERMINATION WITH DEXRABEPRAZOL SODIUM PREPARATIONS**

### **SUMMARY**

Keywords: Dexrabeprazole sodium, High performance liquid chromatography, determination

Dexrabeprazole sodium is a rabeprazole R (+) - isomer widely used as proton pump inhibitor for many years. It is a proton pump inhibitor molecule used in the treatment of peptic acid diseases. It is also used Zollinger-Ellison syndrome seen with gastro-oesophageal reflux disease and Helicobacter pylori, a bacterial species that plays an important role in gastric ulcer formation.

In the light of clinical trials, because of more effective by lower dosages than similar therapeutic molecules, using the molecule is increasing. In this study, a simple, rapid and precise HPLC method was developed for the pharmaceutical form containing only Dexrabeprazole sodium and the developed method was validated.

The developed method is based on, acetonitrile: phosphate buffer (pH=7) (50:50) for mobile phase and UV detector at a wavelength of 272 nm at, flow rate is 1 mL/min. The linear concentration range is studied 0.077-0.143 mg / mL, and R<sup>2</sup> value is 0.998. The developed method has been successfully applied to commercial drug formulation analysis. Student-t and Fischer-F tests were performed with the developed UV spectrophotometric method and statistically compared. There was no significant difference between the two methods probability level in terms of averages and standard deviations.

The developed HPLC method is easy, accurate and reproducible and can be used safely in tablet analysis.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Sindirim sistemi, yenilen besinlerin sindirilmesini ve gerekli vitamin ve minerallerin vücuda alınmasını sağlayan önemli bir sistemdir. Bu sistemde pek çok organ görevli olup bu organlardan birinin bile düzgün çalışmaması, çeşitli hastalıklara neden olabilir. Sindirim sistemi ağız, yutak, yemek borusu, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak organlarını kapsar. Bu kadar organın görev aldığı sistemde dengesiz beslenme, sigara, su kullanımının yetersizliği, düzensiz beslenme, sıcak gıda alımı gibi çeşitli nedenlerden ötürü sistem dengesi bozularak hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu hastalıklar çok çeşitli olabilmekte ve bazıları ölüme kadar gidebilmektedir [1].

Sindirim sistemi rahatsızlıklarının pek çok hazırlayıcısı vardır. Ülser, gastrit ve reflüyle beraber sık görülen sindirim hastalıkları arasında yer almaktadır. Ülserin en büyük nedenleri "*Helicobacter pylori*" adlı bir bakteri ve düzenli ilaçlar (aspirin, antiromatizmal ilaçlar) alımıdır. Diğer muhtemel nedenleri arasında genetik yatkınlık (irsiyet), her türlü stres, kortizon türü ilaçlar, alkol, sigara, kahve alışkanlığı, çevre kirliliği sayılabilir. *Helicobacter* enfeksiyonunun midenin iç yüzeyini kaplayan koruyucu tabakada yarattığı değişimler zamanla gastrit hatta ülser ile sonuçlanır [2].

Ülser, mide veya duodenumun (onikiparmak bağırsağı) mide asidi ve sindirim sıvıları (örneğin pepsin) tarafından harabiyeti sonucunda meydana gelen doku kaybıdır. Doku kaybı, pepsinin etkisiyle daha derinlere inerek, enflamasyon denilen yara meydana getirir. Toplumumuzda, herhangi bir zamanda mevcut ülserli hasta (yeni geçiren veya geçirmiş) yüzdesi %2-6'dır. Duodenal (onikiparmak barsağı) ülseri, mide ülserine göre çok daha fazla görülür. Duodenal ülser 30-50 yaşları arasında daha sık olup, erkeklerde kadınlara göre 2-4 kat daha fazladır. Mide ülseri 60 yaş üstü kadınlarda daha çok görülür [2].

Her geçen gün artmakta olan rakamlar, mide rahatsızlıklarını minimize ederek gündelik hayatı kolaylaştırmayı sağlayacak olan yeni moleküllerin keşfedilmesine ve kullanılmasına olan ilgiyi arttırmaktadır. Özellikle proton pompası inhibitörleri mide asidinin azalması, mide, bağırsak ve yemek borusunda bulunan ülserlerin iyileşmesini ve ağrının giderilmesini sağlamaları sebebiyle yoğun olarak kullanılmaktadırlar [3].

Deksrabepazol sodyum, peptik asit hastalıkları tedavisinde kullanılmak üzere Hindistan'da pazara sunulmuş bir proton pompası inhibitörü molekülüdür. Bu etken madde gastro-özofajial, reflü hastalığı ile görülebilen Zollinger-Ellison sendromu ve mide ülseri oluşmasında önemli bir rol oynayan bakteri türü olan *Helicobacter pylori* tedavisi için de kullanılmaktadır. Uzun yıllardır proton pompası inhibitörü olarak yaygın şekilde kullanılan rabepazolün R(+)-izomeridir. Yapılan çalışmalar deksrabepazolün, etkinlik bakımından Rabeprazole üstün olduğunu, daha hızlı ve fazla iyileşme sağladığını göstermiştir [4].

Bu çalışmada, moleküle olan ilginin her geçen gün artması sebebiyle, farmasotik preparatlarda tayin için basit, duyarlı ve güvenilir bir yüksek performanslı sıvı kromatografik analiz yöntemi geliştirilmesi ve geliştirilen yöntemin valide edilmesi amaçlanmıştır.

## BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

Benzimidazol çekirdeği, biyolojik olarak önemli bir yere sahip olan ve önemli biyolojik aktiviteler gösteren bir yapıya sahiptir. Bundan dolayı da pek çok farmakolojik etkisiyle ilaç alanında önemli bir farmakor olarak kullanılmaktadır [5].

Birçok doğal bileşiğin yapısında imidazol ve benzimidazol yapılarına oldukça sık rastlanmaktadır. Bunların bir kısmı ve sentetik türevlerinin terapötik etkileri bilinmektedir ve bu etkiler arasında antihelmintik, antifungal, antibakteriyel, antiviral, H<sub>2</sub> reseptör blokeri, proton pompası inhibitörü (PPI) ve antikanser aktiviteler bilinmektedir [6]. Günümüzde süstitüe benzimidazol bileşiklerinden bazıları ve benzeri bileşikler proton pompası inhibitörü ve H<sub>2</sub> reseptör blokeri olarak oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [7].

Proton pompası inhibitörleri (PPI), gastrik asit salınımını H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-adenozin trifosfataz enzimi antagonisti olarak etki ederek inhibe etmektedir. Gastroözofajiyal reflü hastalığı (GÖRH), peptik ülser, eroziv özafajit gibi asit ilişkili üst gastrointestinal sistem hastalıkları PPI'nin kullanım alanları arasında yer almaktadır. PPI'ler aynı zamanda nonsteroid antiinflamatuvar (NSAI) ilaçlara ve aspirine bağlı yan etkilerin önlenmesinde gösterdiği başarı ile de gelecek için umut vermektedir. PPI'lere örnek olarak omeprazol, lansoprazol, pantoprazol ve rabeprazol sayılabilir [8].

PPI'lerle ilgili çalışmaların başlangıcı 1980'lere dayanmaktadır. Klinikte omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol ve esomeprazol kullanılan PPI'lerdir. Midede parietal hücrelerde bulunan H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz enzimine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak etki gösteren benzimidazol türevi ilaç grubudur. Yapı ve etki olarak benzer özellik gösteren bu ilaçlar pompa inhibisyonundan sonra mide asit sekresyonunu inhibe ederler [9].



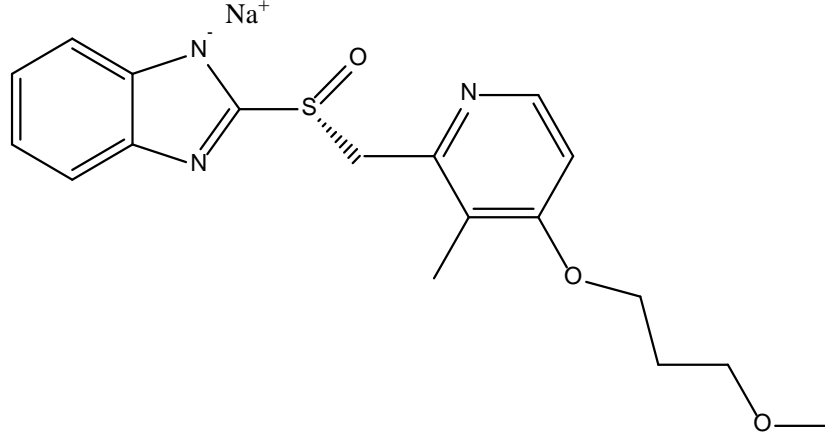
PPİ'ler yapı olarak H<sub>2</sub> reseptör blokörleriyle benzerlik gösterirler. Metilsülfinil grubu ile birbirine bağlanmış pirimidin ve benzimidazol 8 halkalarından oluşan ana iskelete sahip olan PPİ'ler, değişik yan grupların bağlanmasıyla birbirinden ayrılırlar [10].

Proton pompası inhibitörlerinin kullanım alanları aşağıda maddeler halinde verilmiştir;

- Fonksiyonel dispepsi
- Gastroözofajiyal reflü hastalığı (GÖRH)
- Peptik ülser (Mide-duodenum)
- Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların ve aspirinin yan etkilerini önlemek ya da oluşan yan etkileri tedavi etmek için
- Helicobacter pylori (Hp) eradikasyonu
- Eroziv gastroduodenitis
- Asit-pepsin ile ilişkili hastalıklara bağlı üst gastrointestinal sistem kanamalarının tedavisi
- Stress ülseri profilaksisi ve tedavisi
- Zollinger-Ellison sendromu (ZES)
- Larengofarenjiyal reflü hastalığı (LFR)
- Hemokromatozisde demir absorpsiyonunu azaltmak için
- Tanı testinde kullanma (PPİ'lere klinik yanıt veya gastrik pH üzerine PPİ'lerin etkisi vs.)
- GÖRH'de darlık ve "Barrett's oesophagus" kanser gelişimini önlemek için [11].

## 2.1. Deksrabeprazol Sodyum

### 2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



Şekil 2.1. Deksrabeprazol sodyum [14].

Şekil 2.1.'de açık yapısı gösterilen deksrabeprazol sodyum, Rabeprazol R (+) izomeridir [12]. Kimyasal adı, 2-[(R)-{[4-(3-metoksipropoksi)-3-metil-2-piridinil] metil} sulfinil] -1 H-benzimidazol'dür [13]. Molekülün kapalı formülü  $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$  olup, molekül ağırlığı 381,426 g/mol'dür [14]. Yoğunluğu 0,45-0,55 g/mL ve erime noktası 140-141 °C'dir. Kaynama noktası 603,9 °C 760 mmHg ve alevlenme noktası 319,1 °C'dir. Görünüşü beyaz kristal toz halindedir [15]. Çözünürlüğü; su ve metanolde iyi çözünür, etanol, kloroform ve etil asetatda çözünür, eter ve heksanda çözünmez [16].

### 2.1.2. Farmakolojik özellikleri

Deksrabeprazol sodyum, peptik asit hastalıkları, gastroözofajiyal reflü hastalığı (GÖRH) temel tedavisi, semptomatik eroziv ya da ülseratif gastro-özofajiyal reflü hastalığı tedavisi, aktif bağırsak ve Zollinger-Ellison sendromu kısa süreli tedavisi için kullanılan yeni bir proton pompası inhibitörüdür. Deksrabeprazol, antikolinerjik veya histamin  $H_2$  reseptör antagonist özelliği göstermeyen antisekretuar bileşik sınıfındadır. Gastrik asit salgılanmasını, gastrik parietal hücre salgı yüzeyinde gastrik

$H^+/K^+$  ATPaz inhibasyonu ile sağlar. Bu enzim parietal hücre içindeki asit pompası olarak kabul edildiği için proton pompası inhibitörü olarak tanımlanır [17].

Sıçanlarda asit ile ilişkili gastrik lezyonlarda deksrabeprazol rasemik bileşikten ve S(-)-rabeprazolden daha etkin bulunmuştur. Deksrabeprazol [R(+)-rabeprazol] peptik asit hastalıkları tedavisinde kullanılmak üzere Hindistan'da pazara sunulmuştur. Deneysel ve klinik çalışmalar, deksrabeprazolün (önerilen rabeprazol dozunun yarısı kadar dozda) farmakokinetik etkinlik bakımından rabeprazole üstün geldiğini, ayrıca daha hızlı ve fazla iyileşme sağladığını göstermiştir [4].

Oral uygulamadan sonra etki başlangıcı bir saattir. Deksrabeprazole ait terminal plazma yarı ömrü 24 saattir [18].

Günlük 10 mg deksrabeprazolün etkinliği, GÖRH semptomlarının hafifletilmesinde günde 20 mg rabeprazole eşdeğerdir. Bu, günde 10 mg'lık deksrabeprazolün, maksimum miktarda proton pompası engelleyecek kadar güçlü ve yeterli olduğundan rabeprazol için önerilen daha yüksek dozlarda kullanımın önüne geçtiğinin göstergesidir [17].

Molekülün ATC sınıflandırılması şu şekildedir;

ATC Kodu Listesi ve Tüm İlaçlar

A - Sindirim Sistemi ve Metabolizma (1238 ilaç)

A02 - Mide İlaçları (237 ilaç)

A02B - Peptik Ülser ve Gastro-Özofajiyal Reflü İlaçları (203 ilaç)

A02BC - Proton Pompası İnhibitörleri (146 ilaç)

A02BC07 – Deksrabeprazol [19].

### 2.1.3. Yan etkileri

Yürütülen klinik çalışmalarda en sık bildirilen yan etkiler baş ağrısı, ishal, karın ağrısı, genel bir kuvvetsizlik, güçten düşme hali, mide ve bağırsaklarda gaza bağlı şişkinlik, deri döküntüleri ve ağız kuruluğu gözlenmiştir. Klinik çalışmalarda

karşılaşılan yan etkilerin çok büyük bir bölümü, hafif ile orta derecede şiddetli ve geçici nitelikte olarak tespit edilmiştir.

Seyrek görülen yan etkileri arasında ise kilo alma, sinirlilik, karaciğer iltihabı, interstisyel nefrit, kanda sodyum azlığı, zihinsel karmaşa hali, deride kızarıklık ve kabarcıklı reaksiyonlar gibi bulgular gözlenmiştir [20].

#### **2.1.4. Kullanım şekli ve dozu**

Hekimin belirlediği tedavi tanısına göre etken maddenin günlük kullanımı 10-60 mg arasında değişebilmektedir. Tedavi süresi yine hekimin belirlediği tanı doğrultusunda 4 ile 8 hafta arasında değişmektedir. Enterik kaplı tablet yeterli miktarda su ile birlikte; çiğnmeden ya da kırılmadan, bir bütün halinde yutulmalıdır [21].

#### **2.1.5. Deksrabeprazol ile yapılan analiz çalışmaları**

Shon S. Chitlange ve arkadaşları tarafından (2010), farmasötik dozaj formunda deksrabeprazol ve domperidon tayini için ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. 285 nm mor ötesi (UV) dalga boyunda yapılan çalışmada hareketli faz karışımı aseton: toluen: metanol (4,5:4,5:0,5, v/v/v) olarak seçilmiştir. Deksrabeprazol ve Domperidon için alıkonma faktörlerini göreceli olarak sırasıyla  $0,49 \pm 0,02$  ve  $0,24 \pm 0,03$  olarak tespit etmişlerdir. Yöntem doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve dayanıklılık bakımından valide edilmiştir ve Deksrabeprazol için doğrusallık aralığını 50-350 ng/bant ( $R^2=0,9960$ ) ve Domperidon için ise 100-700/n=bant ( $R^2=0,9982$ ) bulmuşlardır. Yöntem, farmasötik formülasyonda ilaçların analizi için başarıyla uygulanmıştır [12].

Shon S. Chitlange ve arkadaşları (2010), aynı çalışmada kapsül dozaj formunda Deksrabeprazol ve Domperidonun tayini için üç adetspektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. İlk yöntemde seçilen dalga boyu deksrabeprazol için  $\lambda_{max}$  258,5 nm ve domperidon için  $\lambda_{max}$  286,5 nm'dir. İkinci yöntemde, aynı dalga boylarında çok bileşenli analiz modu kullanılmıştır. Üçüncü yöntem ise eğri altında alan yöntemi

olup, seçilen dalga boyları sırasıyla, deksrabeprazol için 263,5-253,5 nm ve domperidon için 291,5-281,5 nm'dir. Tüm yöntemleri deksrabeprazol için 5-35 µg/mL ve domperidon için 10-70 µg/mL arasında olmak üzere doğrusal bulmuşlardır. Üç yöntemde de doğruluk ve kesinlik yöntemleri uygulanarak valide edilmiştir, elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Önerilen yöntemlerin son derece hassas, kesin ve doğru olduğunu, böylelikle hedeflenen amaç için kullanılabileceğini belirtmişlerdir [22].

Sreedhara Rao ve arkadaşları (2016), kombine kapsül dozaj formunda yer alan deksrabeprazol ve domperidonun ayrılması ve tayin edilmesi için kütle spektrometrelili yüksek performanslı ince tabaka kromatografi cihazı ile hızlı, nicel ve optimize edilmiş bir yöntem geliştirmiş ve valide etmişlerdir. Formülasyonları, silika jel 60 F254 plakaları üzerinde, bir doymuş toluen: etil asetat: metanol karışımı (6:5:2 v/v) ile ayrılmışlardır. Dansitometrik tayini 285 nm'de yansıma taraması ile gerçekleştirmişlerdir ve alıkonma faktörleri deksrabeprazol ve domperidona için sırasıyla  $0,53 \pm 0,02$  ve  $0,43 \pm 0,02$  olarak tespit etmişlerdir. Yöntemde ek olarak, etkin madde pikleri ve saflıkları kütle spektrometresi ile teyit edilmiştir [23].

Miri Kim ve arkadaşları (2017), farmasötik tabletlerde toz halindeki ilaçtan rabeprazolün R-(+) ve S-(-) enantiyomerlerinin ayrılarak tayini için basit ve hızlı bir sıvı kromatografik yöntem geliştirmişlerdir. Chiralpak IC (150x4,6 mm, 5 µm) kolon ve hekzan:etanol:etilendiamin (30:70:0.05 v/v) mobil faz ile izokratik modda, 35 °C'de 6,0'dan büyük rezolüsyona sahip ayırma sağlamışlardır. Yöntemin doğrusallığının iyi, duyarlılığının her iki enantiyomer için 0,01 µg/mL olduğu bildirilmiştir. Gün içi kesinlik S-(-) enantiyomer için %0,44–1,79 arasında, R-(+) enantiyomeri için %0,65-1,97 arasında değişmiştir. Her iki enantiyomer için günler arası kesinlikte standart sapmaları %1,81'den düşük bulmuşlardır. Metodun ticari tabletlerde başarılı bir şekilde uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir [24].

S. Sharma ve arkadaşları (2011), Deksrabeprazol ve Domperidonun kombine dozaj formunun dissolüsyon testinde eşzamanlı analizi için RP-HPLC tahlil yöntemi

geliştirmişlerdir. Çalışmada elde edilen test sonuçları f2 karşılaştırılması yapılmıştır ve sonuçlar kabul kriterleri içerisinde bulunmuştur. Çalışmada bileşikler, 25 cm x 4,6 mm, 5 µm Phenomenex Luna C18 kolonunda ters fazlı kromatografik şartlar altında ayrılmıştır. Gradyan akış programlı metotta mobil faz olarak tampon:asetonitrilden oluşan kombinasyon 1,0 mL/dk akış hızında verilmiş ve dedeksiyon 271 nm'de gerçekleştirilmiştir. Ayırma 14 dakika içinde tamamlanmış ve göreceli standart sapma RSD %2,0'dan düşük bulunmuştur [25].

P.S. Shedpure ve arkadaşları (2011), tablet dozaj formundaki deksrabeprazol sodyumun tanımlanması için hızlı, ekonomik ve doğru iki yöntem geliştirmiştir. İlk metotta, türevlerin eğrinin bir minimum ve bir maksimumunu dikkate alarak hesaplandığı birinci dereceden türevlendirme spektroskopisidir. Diğer yöntemde ise, 278-303 nm dalga boyu aralığının seçildiği eğri altındaki alanda gerçekleştirilmiştir. Linearite, her iki metotta 6-36 µg/mL konsantrasyon aralığında gözlenmiştir. Yöntem doğrusallık, hassasiyet ve doğruluk parametreleri açısından doğrulanmıştır [26].

Kıran K. Patil ve arkadaşları (2011), deksrabeprazolün tablet ve toz halindeki enantiyomerik ayrılması için basit, hızlı ve sağlam bir LC yöntemi geliştirilmiş ve valide etmiştir. Çalışmada deksrabeprazolün enantiyomerleri, su:asetonitril (50:50, v/v) içeren 0.5 mL'lik bir akış hızında bir mobil faz kullanılarak bir Chiralpak AD-RH (amiloz bazlı sabit faz) kolonu ile analizlenmiş ve optimal yöntemde enantiomerler arasındaki rezolüsyon 1,5'den fazla bulunmuştur. Geliştirilen yöntem valide edilmiş ve sağlam olduğu kanıtlanmıştır. (S)-enantiomer için kalibrasyon eğrisi, 0,05 µg/mL (LOQ) ile 1 µg/mL konsantrasyon aralığında mükemmel doğrusallık göstermiştir. (S)-enantiomerin geri kazanım yüzdesi 97-101 arasında değiştiğini bildirmişlerdir [27].

Gangavath Kalpana Devi ve G. Rajitha (2015), Domperidon ve Deksrabeprazol'ün saf haliyle tablet dozaj formunda doğrulanması için hızlı ve kesin bir ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışma 1,0 mL/dak bir akış hızında mobil faz olarak pH 3,5 olan bir metanol:fosfat tamponu (65:35)

karışımı kullanılarak bir Symmetry C18 (4,6x150 mm, 5 µm) kolonu üzerinde 270 nm'de gerçekleştirildi. Domperidon ve Deksrabeprazolün tutulma zamanı sırasıyla 2.456, 4,312±0,02 dk'dır. Yöntem, 5-25 mg/mL domperidon ve 2,5-12,5 mg/mL deksrabeprazole konsantrasyon aralığında doğrusal yanıtlar üretmiştir. Testin belirlenmesi için yöntem hassasiyeti %2,0 RSD'nin altında bulunmuştur [28].

## 2.2. Kromatografik Yöntemler

Kromatografi, bir karışımda bulunan maddelerin biri sabit diğeri hareketli iki faz arasında dağılma, adsorpsiyon ve iyon değişimi özelliklerinin farklı olması esasına dayanan bir ayırma yöntemidir. Sistemdeki fazlardan sabit olana sabit faz, hareketli olana hareketli faz denir. Analizi yapılacak maddelerin iki faz arasındaki dağılımı, her iki fazdaki madde derişimlerine bağlıdır [29].

Kromatografik yöntemler karmaşık karışımlardaki kimyasal bileşiklerin ayrılması, tanınması ve teşhisi için en çok kullanılan analitik yöntemlerdir. Kimya alanında diğeri ayırma, tanı ve teşhis yöntemlerinden hiç birisi kromatografi kadar etkili olmayıp uygulamada yaygın olarak kullanılmaz. Bu nedenle kromatografik yöntemler araştırma amacı ile daha çok kullanılır. Dolayısıyla çok geniş ve verimli bir alana sahiptir [30].

Çok değışik sistem ve tekniğ'e uygulanmasından dolayı, kromatografinin tam olarak tanımını yapmak oldukça zor olup bununla birlikte, bu yöntemlerin tümünde ortak olarak bir sabit faz ve bir de hareketli faz olmak üzere iki faz mevcuttur. Akış halinde gaz veya sıvı bir fazla birlikte karışımdaki bileşenler, durgun faz üzerinden geçirilirler; geçirilme esnasında bileşenlerin göç hızlarına bağlı olarak ayırma işlemi gerçekleşir. Bu bilgilere dayanarak genel bir tanım yapacak olursak; kimyasal maddelerin sabit bir ortama ilave edilip bunların belli bir hareketli faz yardımı ile yüzey adsorpsiyonu, dağılma, iyon değıştirme ve eleme gibi farklı özelliklerinden faydalanarak, sabit ortamdan ayrılma yöntemlerine kromatografi denir [31].

### 2.2.1. Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması

Kromatografik yöntemleri faz tiplerine, uygulama biçimine veya ayrılma mekanizmalarına göre şöyle sınıflandırmak mümkündür [30].

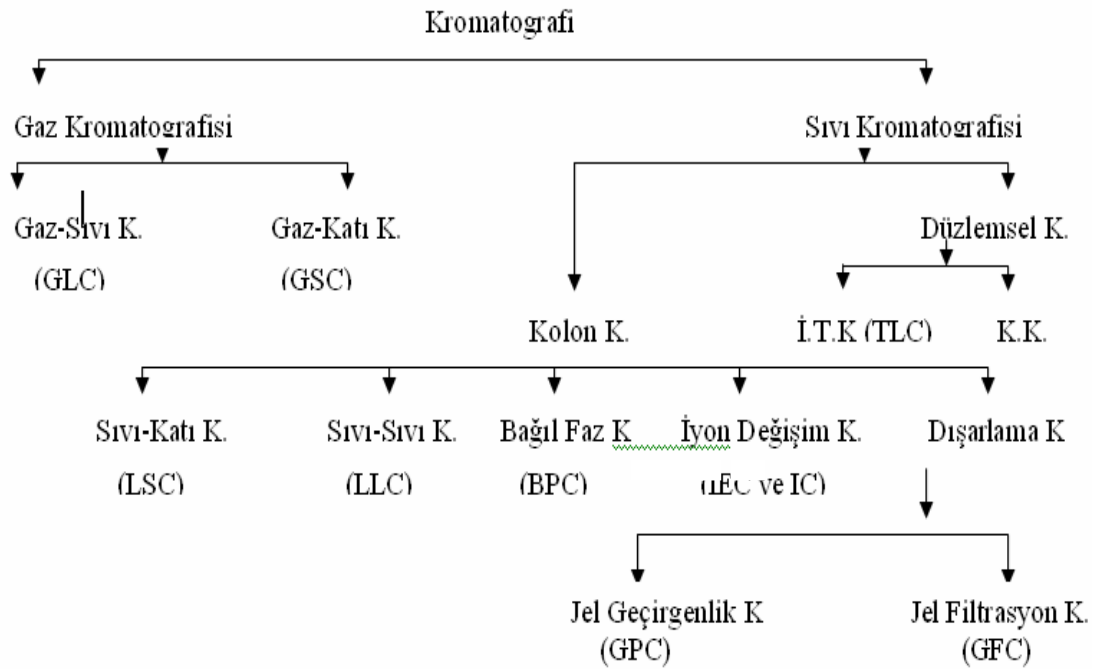
-Teorik Sınıflandırma

- a- Paylaşım Kromatografisi
- b- Adsorpsiyon Kromatografisi
- c- Jel Filtrasyon Kromatografisi
- d- İyon Değişim Kromatografisi

-Pratik Sınıflandırma

- a- Kağıt Kromatografisi
- b- İnce Tabaka Kromatografisi
- c- Kolon Kromatografisi
- d- Gaz Kromatografisi
- e- Sıvı Kromatografisi

-Hareketli ve Durgun Fazlara Göre Sınıflandırma Şekil 2.2.'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Hareketli ve durgun fazlara göre sınıflandırma



### 2.2.2. Kromatografide temel olan fiziksel ve kimyasal olaylar

Kromatografik yöntemlerde maddelerin ayrılmasında etkili olan dört ayrı mekanizma mevcut olup bunlar dağılma, adsorpsiyon, iyon değiştirme ve boyut eleme kromatografileridir. Bu yöntemler aşağıdaki başlıklarda incelenmiştir.

#### 2.2.2.1. Dağılma kromatografisi

Dağılma kromatografisi sıvı-sıvı kromatografisi olarak da bilinmektedir. Bu yöntemin temelinde birbiri ile karışmayan iki sıvı faz arasında maddelerin dağılması ilkesi yatmaktadır. Sabit faz, katı yüzey üzerinde kolon dolgu maddesi üzerine tutturulmuş ince bir sıvı film tabakasıyken, diğer sıvı hareketli fazdır. Karışımdaki maddelerin sabit faz içerisinde kısmen çözünmesi gerçeğleşmektedir (solvofofik etki). Burada maddelerin sabit fazdaki çözünürlükleri fazla, hareketli faz içerisindeki çözünürlükleri ise az olmalıdır aksi taktirde maddelerin ayrımı gerçeğleşmez ve hareketli faz ile beraber atılırlar. Sabit faz ile hareketli faz farklı polariteye sahip olduklarında örnek molekülleri de farklı çözünürlüklere sahip olabilmektedirler. Bu iki fazın polarite farklılığına göre dağılma kromatografisini iki kısımda inceleyebiliriz; bunlar ters-faz sıvı kromatografisi ve normal faz sıvı kromatografisidir [32].

Durgun faz oldukça polar yapıya sahip ve hareketli faz da apolar yapıya sahip ise buna Normal-Faz Kromatografisi, durgun faz apolar (çoğu zaman bir hidrokarbon) hareketli faz ise nispeten polar yapıya (su, asetonytril, metanol) sahip ise buna da Ters-Faz Kromatografisi denir [30].

#### 2.2.2.2. Adsorpsiyon kromatografisi

Adsorpsiyon; çözünmüş maddenin katı faz üzerinde tutunması olarak tanımlanır. Bu kromatografi yönteminde analiz edilen madde gaz halinde ise yöntem gaz-katı, sıvı halde ise sıvı-katı kromatografisidir. Adsorpsiyon özelliği gösteren maddelere adsorban denir ve burada tutunma yüzeyseldir. Adsorpsiyon sırasında çözücü içinde

maddeler adsorbe ya da desorbe olabilirler. Adsorpsiyon ve desorpsiyon hızlarının farkı toplam adsorpsiyon olarak tanımlanmaktadır. Adsorpsiyon ve desorpsiyon hızları birbirine eşit ise denge halindedir ve bu durumda madde kolonda sabit hızla ilerler. Sabit faz ile hareketli faz arasındaki bir A çözünüeni için kütle aktarımı şu şekilde ifade edilmektedir.

Ahareketli faz  $\Leftrightarrow$  Asabit faz

Çözünen maddenin adsorpsiyon katsayısı veya dağılma katsayısı K; maddenin adsorbandaki molar derişiminin (C1), maddenin hareketli fazdaki derişimine (C2) oranı ile tanımlanır.

$$K = C_1/C_2$$

K değerinin büyük olması, karışım içindeki maddenin adsorban tarafından daha iyi tutunduğu anlamına gelir, K değerinin küçük olması ise maddenin hareketli faza daha fazla ilgi duyduğunu göstermektedir [32].

### 2.2.2.3. İyon değiştirme kromatografisi

İyon değiştirme kromatografisi, net yükteki farklılıklara dayalı olarak iyonik bileşikleri ayırmak için kullanılmaktadır. Ayrılacak bileşiklerin yüküne bağlı olarak iki tip iyon değiştirici kullanılır. Bunlardan ilki bileşiklerin negatif yüklü oldukları anyon değiştiricilerdir ve burada iyon değiştirme materyali pozitif bir yük taşımaktadır. İkincisi ise, bileşiklerin pozitif yüklü olduğu katyon değiştiricilerdir burada da iyon değiştirme materyali negatif yük taşımaktadır [33].

Katyon değiştirici reğinelerin en genel aktif bölgeleri kuvvetli bir asit olan sülfonik asit grubu (-SO<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>) ve zayıf bir asit olan karboksil grubudur (-COO-H<sup>+</sup>). Anyonik iyon değiştiriciler, kuvvetli bir baz olan tersiyer amin grupları (-N (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>+OH<sup>-</sup>) veya daha zayıf bir baz olan primer amin gruplarını (-NH<sub>3</sub>+OH<sup>-</sup>) içermektedir. İyon değiştirme kromatografisi, ilaçlar ve bunların metabolitleri, serumlar, gıda koruyucu

maddeler, vitamin karışımları, şekerler ve farmasötik preparatlar gibi birçok farklı organik ve biyokimyasal sistemlere uygulanabilmektedir [30].

#### **2.2.2.4. Boyut eleme kromatografisi**

Jel-geçirgenlik veya jel-süzme kromatografisi adı da verilen boyut-eleme kromatografisi, özellikle yüksek molekül ağırlığına sahip maddelere uygulanabilen önemli bir tekniktir. Boyut-eleme kromatografisi için dolgu maddeleri, çözünen madde ve çözücü moleküllerinin içine difüzlenebileceği düzgün bir gözenek ağı içeren küçük boyutlu silis veya polimer taneciklerinden meydana gelmektedir. Gözenekler içinde küçük moleküller etkin bir şekilde yakalanabilmekte, büyük moleküllerde gözenek dışında kaldığından dolayı hareketli faz akımı ile kolondan kolaylıkla elue olabilmektedir. Daha sonra da gözeneklerde tutulan küçük moleküller de hareketli faz akımı ile yüzeyden kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir. Gözenek içinde ortalama kalma süresi, analit molekülünün etkin büyüklüğüne bağlı olmaktadır [30].

#### **2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi**

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography ya da High Performance Liquid Chromatography, HPLC), esas olarak gaz kromatografisine benzemektedir. Hızlı, tekrarlanabilir, doğru ve klinik laboratuvarlarda az miktarda numuneye çalışma olanağı sağlayan bu iki kromatografi yöntemi son yıllarda büyük gelişmeler göstermişlerdir. Ancak gaz kromatografisinde hareketli faz olarak kullanılan gazın ayırmayı etkileyici bir özelliğinin bulunmaması ve sadece uçucu olan ya da uçucu hale gelebilen maddelerin analiz edilebilmesine karşılık HPLC’de hareketli faz olarak kullanılan çözücülerin ayırmayı etkileyici özelliklerinin bulunması, HPLC’nin daha geniş bir kullanım alanına sahip olmasını sağlamaktadır [29].

HPLC, bir karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı hareketli fazı kullanır. Bu bileşenler ilk olarak çözgüde çözünürleştirilirler ve daha sonra yüksek basınç altında kromatografi kolonundan geçmeye zorlanırlar. Analiz süresince kullanılan

mobil fazın içeriğinde gerçekleşen değişim ve mobil fazı oluşturan çözümlerin karıştırılma prensbine göre HPLC sistem türleri genel olarak 2 farklı kategoride gruplandırılmaktadır. Bunlar izokratik ve gradient sistemdir. Sabit bir bileşimli tek bir çözücü ile yapılan elüsyon (ayırma) izokratik elüsyon olarak adlandırılır. Polarlıkları birbirlerinden farklı iki veya daha fazla çözücü sistemlerinin kullanıldığı tekniğe de gradient elüsyon denir. Bu teknikte iki çözücünün oranı önceden programlanmış olarak bazen sürekli bazen de kademeli bir şekilde değiştirilir [34].

HPLC, sıvı fazda çözünebilir kimyasal madde karışımının kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrılabilirdiği oldukça duyarlı bir yöntemdir. Günümüzde HPLC, birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Başlıca kullanım amaçları kimyasal ayırma, saflaştırma, tanımlama ve derişim tayinidir. Kimyasal ayırma işlemi her maddenin belli bir sabit faz ve mobil faz bileşiminde farklı çıkış süresinin olmasından yararlanılarak yapılmaktadır. Yapılan kimyasal ayırmanın derecesi çoğunlukla sabit faz ve mobil faz seçimine bağlıdır. Saflaştırma ise saflaştırılması istenen bir maddenin diğer maddelerden ya da atıklardan ayrılması işlemidir. Her maddenin belli kromatografik koşullar altında karakteristik bir piki bulunur. Ayrılması istenen maddeye göre ve diğer maddelerle olan ilişkisine göre koşullar belirlenir. Kromatografik saflaştırma işleminde, istenen madde kolon çıkışında toplanarak diğer bileşenlerinden izole edilir. Bu ise ancak doğru bir mobil faz seçimiyle mümkündür [35].

HPLC'nin diğer kromatografik yöntemlere göre bazı avantajlarını şöyle sıralayabiliriz;

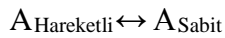
- Kolon ayırıcılığı yüksektir.
- İşlem kullanıcıya daha az bağımlıdır ve bu nedenle tekrarlanabilirlik artmıştır.
- Nicel analize uygundur.
- Analiz süresi genelde daha azdır.
- Geniş derişim aralıklarında çalışma olanağı sağlayacak kadar esnekler.
- Düşük sıcaklıklarda uygulanır.
- Maddenin geri kazanımı kolaydır.
- Dedektör seçme olanağı vardır.

HPLC ile aminoasitler, nükleik asitler, ilaçlar, karbonhidratlar, proteinler, hidrokarbonlar ve benzeri maddeler analiz edilebilmektedir [32].

### 2.3.1. Sıvı kromatografisinin dayandığı temel parametreler

Sıvı kromatografisinin dayandığı temeller olan dağılma katsayısı, alıkonma zamanı, analitin göç hızı kapasite faktörü, seçicilik faktörü, kolon verimi ve kolon performasyonunun optimizasyonu aşağıda anlatılmıştır.

Dağılma (partisyon) katsayısı: Dağılma kromatografisiyle bir karışımdaki maddelerin hareketli faz ve sabit faz arasındaki farklı çözünmelerinden faydalanılarak birbirlerinden ayrılması gerçekleştirilebilmektedir. Bütün bu ayırma işlemlerinde etkili olan parametre, çözünenlerin hareketli ve sabit sıvı faz arasındaki dağılma (partisyon) derecesini temel almaktadır. A çözüneni için söz konusu denge, aşağıdaki eşitlikle gösterilebilir;



Bu reaksiyonun denge sabiti K'ya, dağılma (partisyon) oranı veya dağılma (partisyon) katsayısı adı verilir;

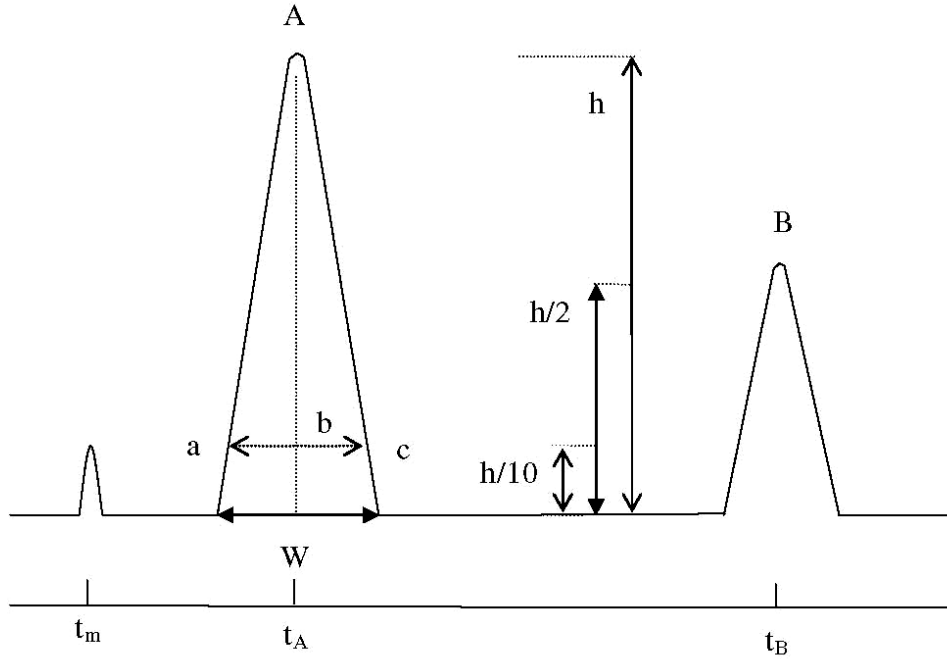
$$K = C_S / C_M$$

şekilde gösterilir. Burada  $C_S$ , analitin durgun faz içindeki molar derişimi  $C_M$  ise analitin hareketli faz içindeki molar derişimidir. İdeal olarak çözünen madde derişimlerinin geniş aralıkta dağılma oranı sabittir, diğer bir deyişle  $C_S$  doğrudan  $C_M$  ile orantılıdır [30].

Alıkonma (Retensiyon) zamanı: Şekil 2.3.'de tek bir analit içeren numune için tipik bir kromatogram verilmiştir. m; sabit faz ile etkileşmeyen maddelerin veya hareketli fazın alıkonma zamanını,  $t_A$ ; A maddesinin alıkonma zamanını,  $t_B$ ; B maddesinin alıkonma zamanını göstermektedir. Alıkonma zamanı yerine alıkonma hacmi de denilmektedir. Ayrılamayan piklerin veya hareketli fazın alıkonma hacmi, ölü hacim ( $V_0$ ) olarakta adlandırılır. Bir maddenin alıkonma hacmi ayırımı yapılacak olan

maddenin sabit fazdan elüe olması için gerekli olan hareketli faz hacmidir. Alıkonma hacmi; alıkonma zamanı ile hareketli faz akış hızını (F) çarpılması ile hesaplanabilir.

$$V_0 = t_m \times F$$



Şekil 2.3. Tek bileşenli bir karışım için kromotogram [32].

Analitin göç hızı kapasite faktörü: Kapasite faktörü  $K'$ , çözünen maddelerin kolonda göç hızlarını tanımlamakta yaygın olarak kullanılan önemli bir parametredir.

$$K' = (t_R - t_M) / t_M$$

$t_R$  ve  $t_M$  değerleri kromotogramlardan kolayca bulunur. Bir çözünen madde için kapasite faktörü birden çok küçük ise, ayrılma hızlı gerçekleşir ve alıkonma zamanı doğru bir şekilde belirlenemez. İdeal bir ayırma işleminde kapasite faktörü değerinin 1-5 arasında olması gerekmektedir. Kapasite faktörü hareketli faz ve durgun faz bileşimlerinin değiştirilmesiyle ayarlanabilir. Dolayısıyla her maddenin kendine özgü bir kapasite faktörü mevcuttur [30].

Seçicilik faktörü, farklı göç hızları: Seçicilik, esas olarak sabit fazın özelliğine göre değişiklik gösterse de seçiciliği kısmen etkileyen faktörlerden birisi de hareketli fazın bileşimidir. Seçicilik faktörü, kolonda daha uzun süre tutulan maddeye ait kapasite faktörünün daha kısa süre tutulan maddeye ait kapasite faktörüne oranlanması ile hesaplanır. Bu tanıma göre seçicilik daima 1'den büyüktür.

$$\alpha = K_B' / K_A'$$

Kolon verimi: Başarılı bir kromatografinin amacı verimli bir ayırım ve dar bir kromatografik bant elde etmektir. Kromatografik kolon verimliliklerinin kantitatif ölçümünde birbiriyle bağıntılı iki terim sıkça kullanılır:

Tabaka yüksekliği, H, (Plate Height)

Teorik tabaka sayısı, N, (Number of Theoretical Plate)

Bu ikisi arasındaki bağıntı aşağıdaki eşitlikle verilir;

$$N = L/H$$

L: Kolon dolgusunun uzunluğu (cm)

Bir kolonda tabaka yüksekliğinin azalması ve teorik tabaka sayısının artmasıyla kolon verimliliği artar. Hareketli ve durgun fazların bileşimi, kolon dolgu maddesinin tanecik büyüklüğü ve kolon çapına bağlı olarak kolonun tipi kolon verimliliğine etkilemektedir. Kolon dolgu maddesinin tanecik çapı küçüldükçe kolon tabaka sayısı artar bu da kolon verimliliğini artırır.

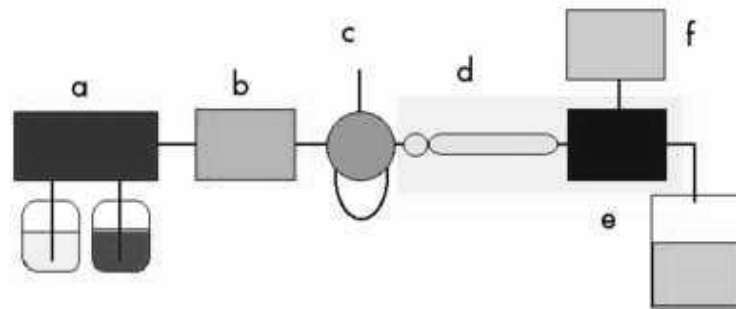
Kolon performansının optimizasyonu: Kromatografik çalışmalarda deney koşulları, bir karışımın bileşenlerini en kısasürede net bir şekilde ayıracak biçimde optimize edilerek belirlenmektedir. Optimizasyon deneylerinin amacı bant genişlemesini azaltmak ve bileşiğin rölatif göç hızını değiştirmektir. Bant genişlemesi ve dolayısıyla kolon verimliliğinin kaybı, çözünen bileşenlerin kolon içerisinde göçleri sırasında yeralan çok sayıda kütle-aktarım işlemlerinin belli hızlara sahip oluşunun

bir sonucu olup bu hızları etkileyen bazı değişkenler denetlenebilir ve ayırmaları iyileştirmek için kullanılabilir.

Kolon performansına etki eden değişkenler: İstenilen ayırmayı sağlamak için optimum koşullar araştırılırken  $\alpha$ ,  $k'$  ve  $N$  (veya  $H$ ) gibi temel parametrelerin az ya da çok birbirinden bağımsız olarak ayarlanmalıdır. Böylece  $\alpha$  ve  $k'$ , en kolay sıcaklık ve hareketli fazın bileşimindeki oynamalar ya da değişik bir kolon dolgu kullanılarak değiştirilebilir. Her hangi bir çalışmada, teorik tabaka sayısı, kolon boyunun değiştirilmesi, tabaka yüksekliği, hareketli fazın akış hızı, dolgu maddesi tane büyüklüğü, hareketli fazın viskozitesi ve sabit fazı oluşturan absorbe edilmiş sıvı filmin kalınlığı gibi parametreler değiştirilerek iyi bir ayırım gerçekleştirilebilmektedir [30].

### 2.3.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı

Şekil 2.4.'de açık yapısı gösterilen yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydedici olarak beş ana bölümden oluşan bir sistemdir.



- |                        |              |
|------------------------|--------------|
| a. Gradient kontrolörü | d. Kolon     |
| b. Pompa               | e. Dedektör  |
| c. Numune enjeksiyonu  | f. Kaydedici |

Şekil 2.4. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin şematik gösterimi [30].

HPLC sisteminde sıkıca doldurulmuş kolon içinden hareketli fazın akışını sağlayan sistemlere pompa sistemi adı verilir. Her birinin kendine göre avantaj ve dezavantajları bulunan pistonlu, vidalı (şırınga tipi) ve pnömatik olmak üzere üç tip



pompa sistemi mevcuttur [30]. İyi bir ayırım sağlayabilmek için pompaların aşağıda verilen özelliklere sahip olmaları istenir;

- 6000 psi'ye kadar basınç üretmesi
- Puls içermeyen basınç çıkışı sağlaması
- 0,1-10 mL/dak aralığında akış hızı sağlaması
- %0,5 ve daha iyi akış tekrarlanabilirliği sağlaması
- Korozyona dayanıklı parçalara sahip olması [31].

Temel olarak pompa sistemi mobil fazın (hareketli faz) yüksek basınçta HPLC sistemi içinde hareket etmesini sağlayarak degazörden mobil fazı çekip, örnekleme ve kolon ünitesine gönderir. Bu işlemi akış hızını ve basınç değerini ayarlayarak gerçekleştirir [34].

Pistonlu pompalar; HPLC cihazlarının %90'ında kullanılan pompalardır. Motor kontrollü bir pistonun ileri ve geri hareketiyle çözücünün pompalandığı küçük bir silindirden oluşmuş sistemlerdir [30]. Pistonlu pompaların kullanım alanları diğer pompa sistemlerine oranla daha geniş olmakla birlikte, kademeli olarak azaltılan miktarlarda darbeleri bir akım verir. Pistonlu pompaların avantajı istenildiği kadar çözgen basabilmesidir. Ayrıca iç hacminin küçük olması dereceli sıyırma işlemi için ideal bir durum olarak gösterilir [34].

Vidalı pompalar; bir kademeli motordan güç alan vidalı güdüm mekanizması ile kumanda edilen pompa sistemleridir. Vidalı tip pompalarda kolaylıkla kontrol edilebilen, darbesiz bir akım alınmaktadır. Ancak kapasitede düşme ve çözgen oranlarının değiştirilmesinde sorunlarla karşılaşılabilir.

Pnömatik pompalar; en basit pompa sistemleridir. Akış pulsuz, ancak kapasitesi sınırlı olup, çıkış basıncı düşüktür [30]. En basitinde hareketli faz, sıkıştırılmış hava ile basınçlandırılan bir kabın içindeki portatif bir rezervuarda bulunur. Pnömatik pompalar oldukça basittir, ucuzdur ve darbesiz akım verirler; kapasiteleri ve çıkış

basınçları sınırlıdır, çözünenin viskozitesine göre akış hızı değişmektedir. Ayrıca dereceli sıyırma işlemi için uygun değildir [34].

İlk ve en basit numune verme sistemi şırınga ile enjeksiyon sistemleridir. Bu amaçla 100 atm basınca kadar dayanıklı mikro şırıngalar kullanılmaktadır. Bu tekniğin avantajı oldukça basit uygulanabilmesidir. Ne yazık ki, şırınga ile enjeksiyonun tekrarlanabilirliği nadiren %2-3'den daha iyi olup çoğu zaman da daha kötü olabilmektedir. Numune giriş sarımlarının kullanılması esasına dayanan otomatik enjeksiyon sistemleri en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Birçok sıvı kromatografisi cihazının ayrılmaz bir parçası olan bu sarımlar, değiştirilebilir nitelikte olup 5 µL-500µL arasında değişen hacimlerde numune enjeksiyonu yapabilmektedir [30].

Kolonlar sistemin en önemli kısmı olup, dolgu materyali ve taşıyıcı kısım olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Dolgu materyalinin partikül yüzeyi ile partikül büyüklüğü, taşıyıcı kısmın ise uzunluğu, çapı ve üretildiği materyalin ayırma üzerinde etkileri mevcuttur. Kolonlar daha dayanıklı olan paslanmaz çelikten veya plastikten yapılmaktadır. Analitik amaçlar için kullanılan kolonların en küçüğü 5 cm, en büyüğü 150 cm uzunlukta olabilmekte ve iç çapları 1-8 mm arasında değişmektedir. Basınç paslanmaz çelik kolonlarda 3500 psi, plastik kolonlarda ise 1500 psi'yi geçmemelidir [29].

HPLC kolonlarında en fazla kullanılan dolgu maddesi mikroporöz silikalardır. Alumina ve Celite (diatomite toprağı) de çok kullanılan maddeler arasında yer almaktadır. Dolgu maddelerin tanecik büyüklüklerinin 1,5-10 mikrometre aralığında olması istenmektedir. İkinci bir tip dolgu maddesi zarlı (pellicular) taneciklerdir; bunlar 40 µm kadar çaptaki cam taneciklerinin, 1-3µm kalınlıkta silika jel, alumina veya bir iyon değiştirici reçine gibi poröz bir madde ile kaplanarak hazırlanır. Böyle bir ince tabaka fazlar arasındaki dengenin hızla kurulmasını sağlar ve böylece kolon verimi yükselir. Zarlı dolgu maddeli kolonlara sınırlı miktarlarda örnek verilebilir ki bu miktar poröz maddenin ancak onda biri kadar olabilir [34].

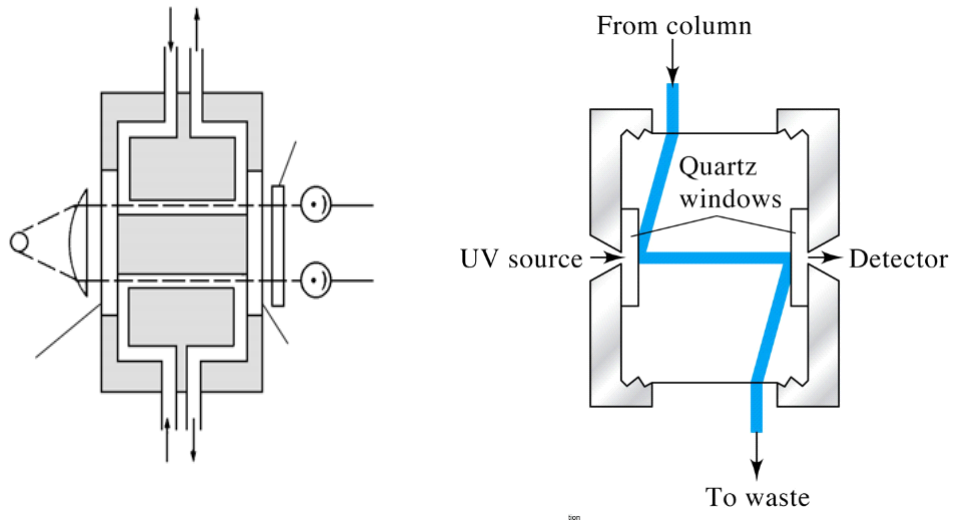
Analitik kolonların ömrünü uzatmak için analitik kolondan önce emniyet (klavuz, ön ya da guard) kolon denilen kolon sistemleri kullanılır. Bu kolonların görevi hem hareketli faz hem de numune içerisinde bulunan toz parçacıklarını veya yabancı maddeleri tutarak uzaklaştırmak olup ayrıca bu kolonlar hareketli fazı sabit faz ile doyurularak sıvı-sıvı kromatografisinde sabit fazın sürüklenme ile kaybı minimuma indirgenmektedir. Emniyet kolonunun dolgusunun bileşimi ile analitik kolonunki benzer olmalıdır. Ancak, basınç düşmelerini azaltmak için, emniyet kolonun dolgu maddesinin parçacık boyutu analitik kolonunkinden genellikle daha büyük olması istenir [31].

Dedektörler ışık enerjisini elektrik enerjisine dönüştüren cihazlardır. Sıvı kromatografi dedektörleri temel olarak iki tiptir. Bunlardan ilki birinci tip dedektörler, hareketli fazın kırma indisi, dielektrik sabiti veya yoğunluğu gibi, analit tarafından değiştirilebilen yığın özelliklerine göre cevap veren Dedektör sistemleridir. İkinci tip dedektörler ise, analitin UV absorbansı, floresans şiddeti veya difüzyon akımı gibi hareketli fazın sahip olmadığı analit ile ilgili özelliklere cevap veren dedektörlerdir. HPLC’de kullanılan dedektörler; UV-Vis. Dedektör, Diyod-Array Dedektör, Floresans Dedektör, Refraktif İndeksDedektör, Elektrokimyasal Dedektör ve Kütle Spektroskopik Dedektör şeklinde sıralamak mümkündür. Çalışmamızda UV-Vis. esaslı Diyod-Array Dedektör (DAD) kullanılmıştır [30].

Şekil 2.5.’de gösterilen UV-Görünür bölge dedektörleri, çoğu ilaç analizinde kullanılan UV-Görünür absorbans Dedektörler olup, fotometrelerden farklı olarak küçük bir akış hücresi (flow-cell) taşıyan ve bu hücrenin içinden geçerken maddeler tarafından absorplanan UV ışını ya da görünen ışığı saptayabilen dedektör sistemleridir. Sabit ve değişken dalga boylu dedektörler olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Sabit dalga boylu dedektörleri basit bir dedektör olup, dalga boyunun seçimi için farklı interferanslı filtreler kullanılabilir. Bu dedektörlerde genellikle UV kaynağı olarak civa lambası kullanılır. Bunun dışında alternatif ışık kaynakları ile daha değişik dalga boylarını gözlemekte mümkündür.

Değişken dalga boylu dedektörler 108-400 nm arasında sürekli radyasyon verebilen döteryum lambaya ya da 400-700 nm arasında ışık veren bir tungsten lambaya sahip bulunan istenilen dalga boyunu seçmek içinde bir monokromatör taşıyan fotometrelerdir. Maddenin maksimum absorpsiyonunun bulunduğu dalga boyunda çalışma olanağı sağlayan bu dedektörler, hassasiyet artırdığı için ve düşük dalga boyunda çalışabildiği için son derece önemlidir [31].



Şekil 2.5. HPLC UV-Görünür bölge dedektörler

Ditod-Array dedektörler değişken dalga boylu UV-Visible dedektörlerdir. Hem sabit hem de taramalıdalga boylarında incelemeye müsait olan dedektörlerdir. Diyod-Array dedektörler seçimlilik ve hassasiyet açısından değişken dalga boylu UV dedektör ile aynıavantajlara sahiptir. Ayrıca aynı anda spektrumun bütün dalga boylarında piklerin ölçümü yapılabilir, tek bir enjeksiyonla maksimum dalga boyu saptanabilir, birden fazla dalga boyunda kromatogramların ve kromatogramlardaki piklerin UV-görünür bölge spektrumları alınabilir. Bunlara ek olarak; kromatografik olarak ayrılmamış piklerin nicel analizi, spektrumların çakıştırılması yöntemi ile pik saflığının tespiti ve pikin kimliğinin doğrulanması yapılabilir [30].

### 2.3.3. Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin uygulama alanları

HPLC, yapıları benzer kimyasal türlerin ayrılması ve saflaştırılması işlemlerinde güçlü ve kullanışlı bir araçtır. Buna ek olarak ayrılan türlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde de kullanılan bir yöntemdir [30].

Kimyasal Ayırma belirli bir bileşiğin, sabit ve hareketli faz üstünde, ayırt edici bir hareket sabitesinin olduğu göz önünde bulundurularak yapılan ayırmadır. Kiral bazlı ayırımları yapmak da mümkündür.

Saflaştırma her hangi bir karışım içerisindeki hedef bir bileşiğin, diğer bileşiklerden ya da safsızlıklardan ayrılmasıdır. Saflaştırma işleminde, saflaştırılacak bileşiğin özelliklerine uygun hareketli faz ve kolon seçimi yapıldığında iyi bir ayırım gerçekleştirilebilir ve ayrıca yüksek saflık elde edebilmek içinde diğer bileşiklerin kolon içerisindeki göç hızlarının yeteri derecede birbirinden farklı olması gerekmektedir.

Kalitatif analiz az sayıda ve bilinen türleri içeren karışımlardaki bileşenlerin varlığını tanımak amacıyla HPLC yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Örneğin, tek bir kromatogramla, bir protein hidrolizatında 30 kadar amino asit yeterince kesin bir şekilde görülebilir. Kromatografi kolonu doğrudan ultraviyole, infrared veya kütle spektrofotometrelerine bağlanmasıyla bu sınırlamalar önemli ölçüde aşılmıştır. Böylece oluşturulan ikili cihazlar, karmaşık karışımlardaki bileşenlerin tanınmasında güçlü araçlar olarak kullanılır. Bu tip ayırmalar yapılırken en çok dikkat edilmesi gereken nokta, bilinen bir örneğin verdiği pikin kesin olarak saptanmış olmasıdır. Ancak yine de kesin bir sonuç elde etmek için, birkaç yöntemin karşılaştırmalı olarak denenmesi gerekmektedir [31].

Kantitatif analizde HPLC kullanımı hızlı büyümesini kısmen hızına, basitliğine ve ayırmalarda yaygın uygulanabilen bir araç oluşuna bağlıdır. Ancak, ayrılan türler hakkında kantitatif bilgi vermeseydi, bu denli yaygınlaşması mümkün olamazdı. Kantitatif analizde, analit pikinin yüksekliği veya alanının bir veya daha çok sayıda

standart değerleriyle karşılaştırılması temeline dayanır. Şartlar uygun biçimde denetlenirse, bu parametrelerin ikisi de derişim ile doğrusal olarak değişir [30].

## **BÖLÜM 3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. Kullanılan Cihazlar**

- HPLC cihazı (Shimadzu)
  - a)Shimadzu hazne tablası
  - b)Shimadzu DGU-20A<sub>5</sub>
  - c)LC-20AD sıvı kromatografi
  - d)SPD-M20A diyot dizi dedektörü shimadzu
  - e)CTO-10AS UP kolon haznesi
  - f)SIL 20A HT otomatik örnekleyici
  - g)LG bilgisayar
- UV Spektrofotometre (Shimadzu 2401 PC)
- Hassas Terazi ( Precisa XB220A)
- Otomatik pipet ( Ependorf )
- Ultra saf su cihazı (milli-Q advantage A10)
- pH metre (WTW pH 720)
- Mobil faz süzme ünitesi

### **3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Deksrabeprazol Sodyum standartı, Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Asetonitril, potasyum hidroksit, potasyum dihidrojen fosfat, dipotasyum hidrojen fosfat Merck saflıktadır.

### 3.3. Çözeltiler

#### 3.3.1. Deksrabeprazol sodyum standart çözeltisi

5,00 mg deksrabeprazol sodyum tam olarak tartıldı, 50 mL'lik balonjojede çözücü olarak asetonitril kullanılarak hacmine tamamlandı (0,1 mg/mL deksrabeprazol sodyum).

#### 3.3.2. Hareketli faz çözeltisinin hazırlanması

Hareketli faz çözeltisi olarak 50:50 (v/v) oranında asetonitril ve fosfat tampon çözeltisi (pH 7,0) kullanıldı. 2 lt'lik balonjojeye yaklaşık 1800 mL distile su konuldu, üzerine 5,45 g potasyum dihidrojen fosfat ve 1,05 g dipotasyum hidrojen fosfat ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Behere alınan ve pH metrede 1 N potasyum hidroksit çözeltisi ile pH'si 7'e ayarlanan çözelti 2 L'lik balonjoje de distile su ile hacmine tamamlandı. Mavi bant süzgeç kağıdı ile nuçedemn süzüldü.

#### 3.3.3. Potasyum hidroksit çözeltisi

1 N'lik potasyum hidroksit çözeltisi hazırlamak için 11,20 g potasyum hidroksit 200 mL'lik balonjojede distile su içerisinde çözülerek hacmine tamamlandı.

### 3.4. Analiz Yönteminin Geliştirilmesine İlişkin Çalışmalar

Deksrabeprazol sodyum etkin maddesinin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile analizinin yapılabilmesi için dedektör, kolon, hareketli faz sistemi, dalgaboyu, hareketli faz akış hızı gibi kromatografik koşullar belirlenmiştir. Örneklerin hazırlanmasında ise 0,45 RC enjektör filtresi kullanılmıştır. Belirlenen şartlar altında geliştirilen yöntem valide edilerek ilaç maddelerinin tabletlerinden hazırlanan karışıma uygulandı.



### 3.4.1. Kromatografik koşulların belirlenmesi

Literatür çalışmaları incelenerek elde edilen veriler doğrultusunda HPLC çalışmaları C18 kolonda yapıldı. Farklı oranlarda asetonitril, fosfat tamponu (pH = 7,0) karışımı hareketli faz sistemleri denendi, bu kompozisyonlarda pik girişimlerinin olmamasına ve analiz süresinin optimum olmasına dikkat edilerek alıkonma zamanı ve çalışılacak dalga boyu belirlendi. Sonuçlar Bölüm 4.1' de verilmiştir.

### 3.5. Yöntem Validasyonu

USP'de verilen tanıma göre bir analitik yöntemin geçerlilik testi yani validasyonu, bir analiz yönteminin performans özelliklerini, belirlenen ve gerekli koşullarda sağladığını göstermek için yapılan işlemlerin tamamıdır [36]. Analitik yöntemin uygun ve kabul edilebilir olduğunu göstermek için kullanılan parametreler:

- Seçicilik
- Doğrusallık
- Gün içi kesinlik
- Günler arası tekrarlanabilirlik
- Çözelti kararlılığı (Saklanan örneklerin stabilitesi)
- Doğruluk (Geri kazanım)
- Yöntemin sağlamlığı
- Uygunluk testi

Metot geliştirme işlemi yapıldıktan sonra ilaç uygulamaları için Uluslararası Harmonizasyon Konferansında (ICH) belirlenen parametrelere göre metot validasyonu yapıldı.

#### 3.5.1. Seçicilik

Seçicilik birbirinden ayırt edilen ya da edilemeyen kimyasal içerikler için kullanılan bir parametredir. Etkin maddeyi değişik interferanslar varlığında doğru ve seçici ölçülebilirliğini tanımlar. Seçicilik optimum ayırma ve kolon koşullarının seçimiyle

elde edilir. Amaç, ilacın içindeki yardımcı maddeler ve çözücüler ile etkin maddenin birbirinden ayrı bir şekilde tanımlanabilir olmasıdır. Bunun için özellikle likid kromagrafide uygun kolon ve kromatografik koşulları, mobil faz bileşimi, kolon sıcaklığı ve dedektör dalga boyu seçilmelidir [37].

Yöntemin seçiciliğinin tayini amacıyla hareketli faz ve çözücüden kaynaklanabilecek herhangi bir girişimin olup olmadığı araştırıldı. İlgili kromatogram Bölüm 4.2.1’de verilmiştir.

### **3.5.2. Doğrusallık**

Doğrusal aralık, çalışılan yöntemin kabul edilebilir tekrarlanabilirlik ve duyarlılıkta sonuçlar verdiği konsantrasyon aralığıdır. Düşük derişimden en yüksek derişime doğru standart çözeltiler hazırlanarak yöntemin doğrusal olduğu aralık belirlenerek çözeltilerin derişimine karşı ölçüm yapılan cihazın cevabından grafik çizilerek kalibrasyon eğrisi türetilir. En küçük kareler yöntemi esas alınarak kalibrasyon eğrisinin regrasyon analizi yapılır ve eğrinin doğru denklemi elde edilir. Kalibrasyon doğrusundan elde edilen eğim, doğrusallığın matematiksel bir ölçüsüdür [30].

Doğrusal konsantrasyon aralığının tespiti için deksrabeprazol sodyumu 5 farklı konsantrasyonda içeren çözeltiler ile enjeksiyonlar yapıldı. Doğrusallık sonuçlarının pik alan oranları, standart sapma, % RSD hesaplanarak grafiksel değerlendirilmesi yapıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.2’de verilmiştir.

### **3.5.3. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik (Metodun Kesinliği)**

Gün içi kesinlik, deney sonucunda elde edilen değerlerin birbirine olan yakınlığı ile ve bağıl standart sapma (% RSD) ile verilir. Günler arası tekrarlanabilirlik ise aynı laboratuarda güvenilir sonuçlar alınabilmesi için yapılır. Farklı koşullarda aynı yöntemle hazırlanan örneklerden elde edilen sonuçların uyumunu ifade eder [30, 38]. 0,10 mg/mL konsantrasyonda deksrabeprazol sodyum içeren çözeltiler ile çalışıldı.

Gün ve günler arası tekrarlanabilirlik için birbirini takip eden iki günde 6 şar farklı örnek analizlendi, pik alanları ölçüldü. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.2.4'de verilmiştir.

#### **3.5.4. Çözelti kararlılığı**

Saklanan örneklerde analiz süresince etkin maddenin bozunmadan stabil kaldığını tespit etmek için, yöntem geliştirirken stabilite testleri yapılmalıdır. Stabilite çalışmalarında derişimi bilinen çözeltiler kullanılır [30].

Çözelti kararlılığının analizi için kullanılan deksrabeprazol sodyum standart çözeltileri oda sıcaklığında 24 saat ve buzdolabında karanlıkta 1 ay bekletildi. Bulunan sonuçlar Bölüm 4.2.5'da verilmiştir.

#### **3.5.5. Doğruluk (Geri Kazanım)**

Analitik metodun doğruluğu, analiz sonucunda bulunan değerin referans kabul edilen bir değere, yakınlığıdır ve % geri kazanım olarak ifade edilir. Doğruluk değerlendirilmesi numune preparatın etkinliğini ölçer [38]. Doğruluk çalışması için deksrabeprazol sodyumun 0,088 mg/mL, 0,110 mg/mL ve 0,132 mg/mL konsantrasyonlarda üçer tane hazırlanan çözeltiler sisteme enjeksiyon edilmek suretiyle kromatogramları alındı, pik alanları yardımıyla konsantrasyonları ölçü eğrisi kullanılarak hesaplandı. Deneysel konsantrasyonların teorik konsantrasyonlara oranı sonucu ortaya çıkan % geri kazanımlar Bölüm 4.2.3'de verilmiştir.

#### **3.5.6. Yöntemin sağlamlığı (Güvenilirlik)**

Güvenilirlik testleri, yöntemde ufak değişiklikler yapıldığı zaman sonuçların nasıl etkilendiğini göstermek için yapılmıştır. Sıvı kromatografisinde akış hızı, dedektör dalga boyu veya mobil faz bileşiminin gerçek değerinden toleranslar ölçüsünde sapması sonucu analizlerin bu saptamalardan ne kadar etkilenip etkilenmediğini tespit edilir [38].

Geliştirilen metodun hareketli faz içindeki tampon çözelti bileşiminde ( $\pm 0,6$ ), kolonun sıcaklığında ( $\pm 2,5$  °C), akış hızında ( $\pm 0,1$  °C), ve hareketli faz bileşenlerinin oranlarında küçük değişiklikler yapılarak, farklı kolon kullanılarak yöntemin sağlamlığı araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Bölüm 4.2.6’da verilmiştir.

### **3.5.7. Uygunluk testi**

Uygunluk testi için alıkonma zamanı ( $t_R$ ), kuyruklanma faktörü (T) ve teorik plaka sayısı (N) değerleri Bölüm 4.2.7’de verilmiştir.

## **3.6. Ticari Tablet Üründe Deksrabeprazol Sodyumun Analizi**

### **3.6.1. Geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz**

Deksrabeprazol Sodyum etkin maddesini bir tablette 10,0 mg olarak içeren enterik kaplamalı ilaç eczaneden temin edilerek, ortalama tablet ağırlığını belirlemek için 20 adet tablet tek tek tartıldı, kaplı tabletin ortalama ağırlığı 146 mg olarak belirlenmiştir.

Ortalama ağırlığı 146 mg olarak belirlenmiş tabletlerden iki tanesi 200 mL’lik balonjojeye konularak üzerine bir miktar asetonitril ilave edilir. Ara ara çalkalamak üzere 15 dakika karıştırılır ve balonjoje çözücü ile hacmine tamamlanır. 0,45  $\mu$ m RC enjektör filtresi kullanılarak süzülür, vialer aktarılır. Örnekler geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz edilir. Tablet tozu karışımındaki etkin madde konsantrasyonu hesaplandı. Elde edilen sonuçlar, 6 adet tayin üzerinden hesaplanan ortalamalar, %RSD Bölüm 4.3’de verilmiştir.

### **3.6.2. Kıyas yöntemi ile tayin**

Bu tez çalışmasında ilacın tek başına HPLC ile tayinine ilişkin bir çalışma yöntemi olmadığından kıyas yöntemi olarak uygulanması kolay ve basit bir UV spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve sonuçlar Bölüm 4.3.2’de verilmiştir.

### 3.6.2.1. Çözeltiler

Deksrabeprazol sodyum çözeltisi hazırlamak için 5,00 mg deksrabeprazol sodyum tam olarak tartıldı. 50 mL'lik balonjojede asetonitril ile çözülerek hacmine tamamlandı. Daha sonra bu çözeltiden 1 mL alınarak 10 mL'lik balonjojeye aktarıldı ve yine asetonitril ile hacmine tamamlanarak konsantrasyonu 0,01 mg/mL olan çözelti elde edildi ve analiz yapıldı.

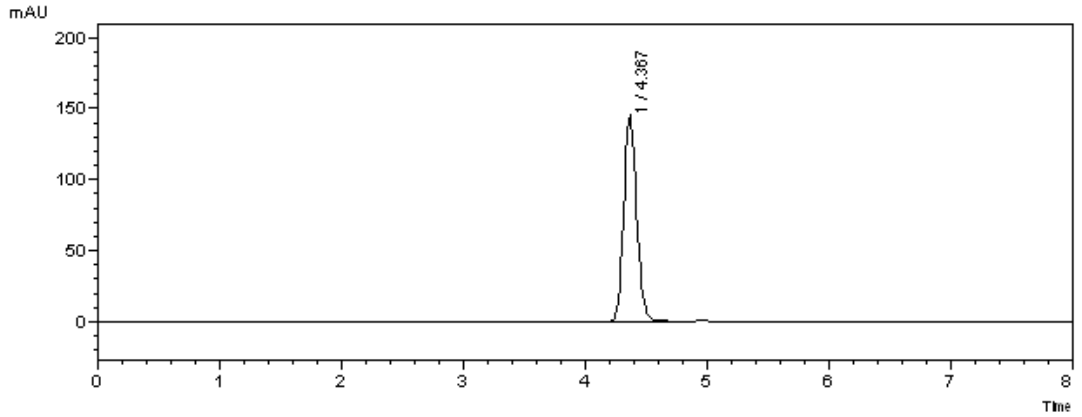
Ortalama ağırlığı daha önceden belirlenmiş olan tabletlerden iki tanesi 200 mL'lik balonjojeye konularak üzerine bir miktar asetonitril ilave edildi. Ara ara çalkalamak üzere 15 dakika karıştırıldı ve balonjoje asetonitril ile hacme tamamlanarak tablet çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu çözeltiden alınan 1 mL çözelti 10 mL'lik balonjojeye aktarılarak asetonitril ile hacmine tamamlanır ve 0,45 µm RC enjektör filtresi kullanılarak süzülür, küvete aktarıldı. Örnekler geliştirilen kıyas yöntemi ile analiz edilir. Tablet tozu karışımındaki etkin madde konsantrasyonu hesaplanır.

## BÖLÜM 4. BULGULAR

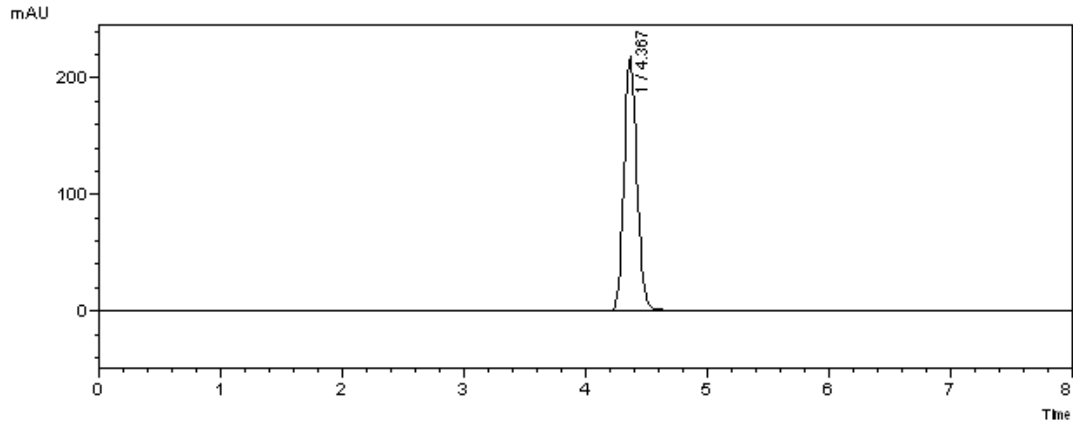
### 4.1. Kromatografik Koşulların Belirlenmesi

#### 4.1.1. Dedektör ve dalgaboyu seçimi

Gerek rasemik karışım rabeprazol gerekse deksrabeprazol için yapılan literatür araştırmaları etkin maddenin analizi için en çok kullanılan ve en uygun dedektörün UV dedektör olduğunu gösterdiği için bu çalışmada da UV dedektör kullanılmıştır. 254 ve 272 nm dalga boyunda yapılan ön denemeler sonucunda 272 nm’de gözlenen deksrabeprazol pikininin 254 nm’de gözlenene göre daha büyük olması nedeniyle 272 nm uygun dalga boyu olarak seçilmiştir. Dalga boylarında alınan ölçümlerin kromatogramları Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 254 nm’de 0,10 mg/mL deksrabeprazol sodyum kromatogramı



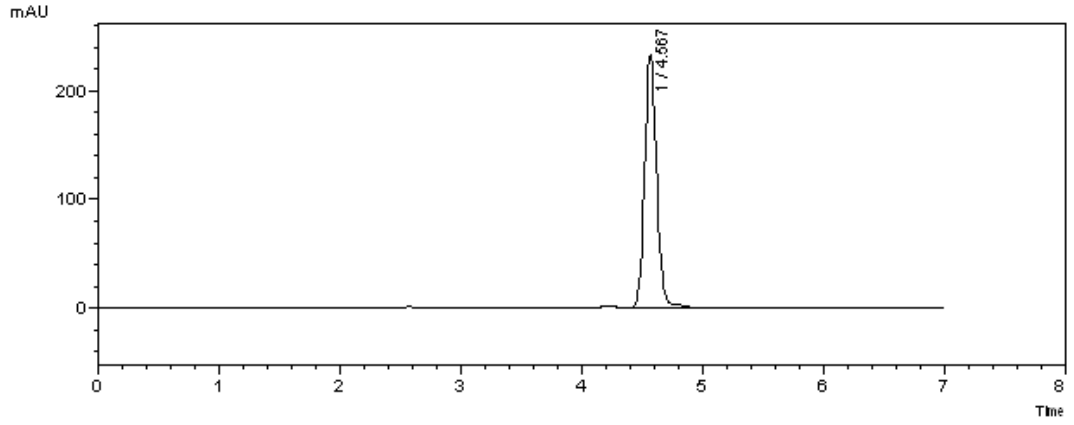
Şekil 4.2. 272 nm de 0,10 mg/mL deksrabeprazol sodyum kromatogramı

#### 4.1.2. Kolon seçimi

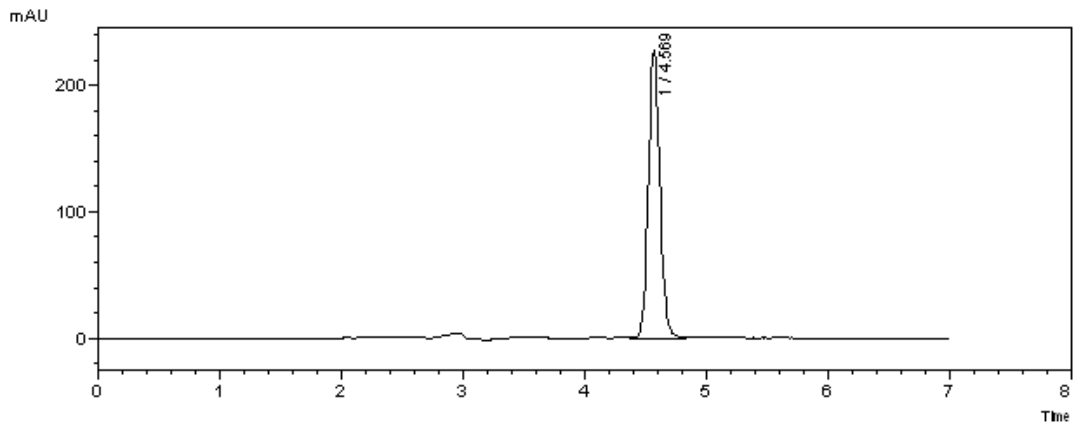
GI Sciences Inertsil C<sub>18</sub> (250mmx4,6 mm, 5 $\mu$ ) HPLC kolonu ile yaptığımız ön çalışmalarda uygun ve geliştirilebilir sonuçlar alınmış olması nedeniyle çalışmaya ilgili kolon ile devam edilmiştir.

#### 4.1.3. Hareketli faz bileşiminin belirlenmesi

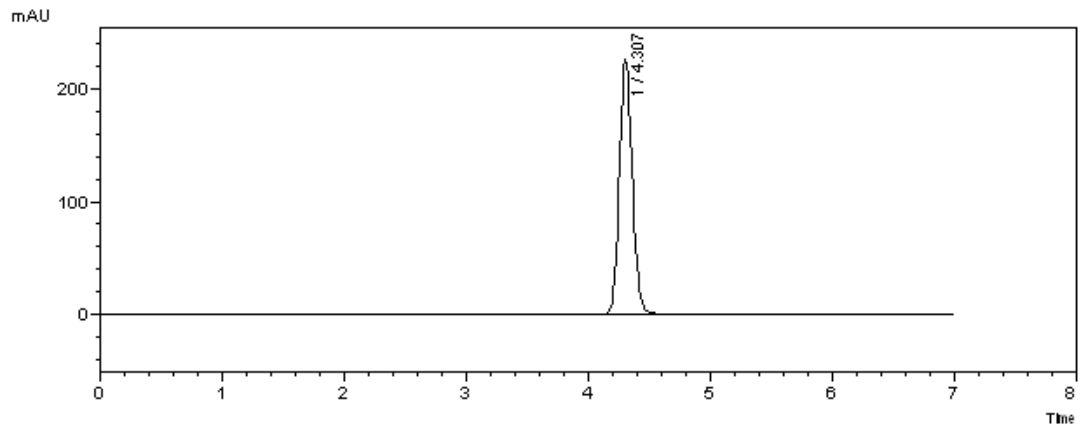
Yapılan literatür taramalarında deksrabeprazolün kimyasal yapısı gereği stabilitesi pH fonksiyonuna duyarlı olması sebebiyle asidik koşullarda kolaylıkla degrade olabilmektedir. Bu nedenle literatürler esas alınarak pH=7,0 olan fosfat tamponu tercih edilmiştir ve uygun sonuç alınması nedeniyle de çalışmaya bu pH'da devam edilmiştir. Hareketli faz bileşimi için ise asetonitril ve tamponun birebir oranında kullanıldığında ve 1 mL/dak akış hızında uygun geldiği görüldüğü için mobil faz oranı bu şekilde devam edilmiştir. Örneklerin hazırlanmasında ise öncelikle fosfat tamponu, sonra 50:50, 70:30, 80:20 oranındaki asetonitril: fosfat tamponu karışımları daha sonra da metanol çözücü olarak denenmiştir. Elde edilen kromatogramların uygun olmaması sebebiyle sadece asetonitrilde çözümlenerek de deneme yapılmıştır. Bu şekilde elde edilen kromatogram daha uygun olduğu için örneklerin hazırlanmasında asetonitril kullanılmasına karar verildi. Denemelerden elde edilen kromatogram örnekleri Şekil 4.3., 4.4. ve 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Deksrabeprazol sodyumun pH=7,0 fosfat tamponu içerisindeki çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4.4. Deksrabeprazol sodyumun metanol içerisindeki çözeltisine ait kromatogram



Şekil 4.5. Deksrabeprazol sodyumun asetonytril içerisindeki çözeltisine ait kromatogram

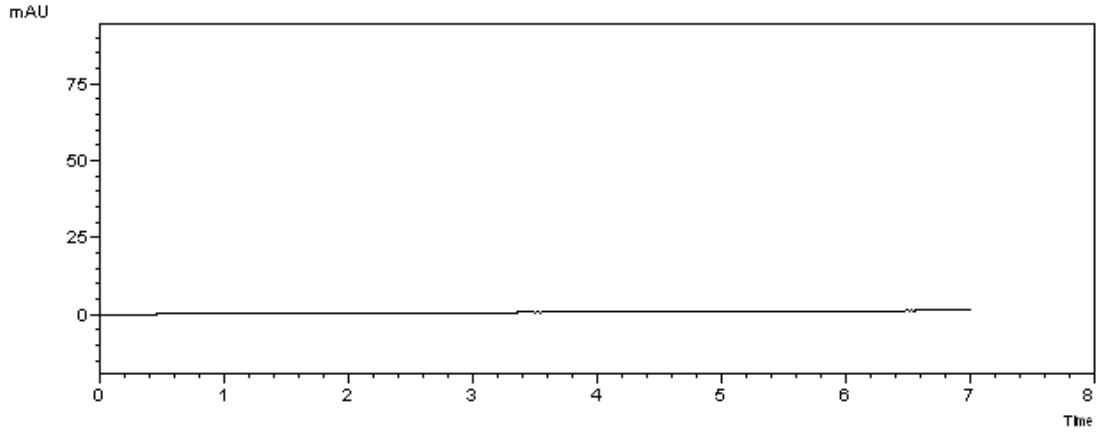


## 4.2. Geliştirilen Yöntemin Validasyonu

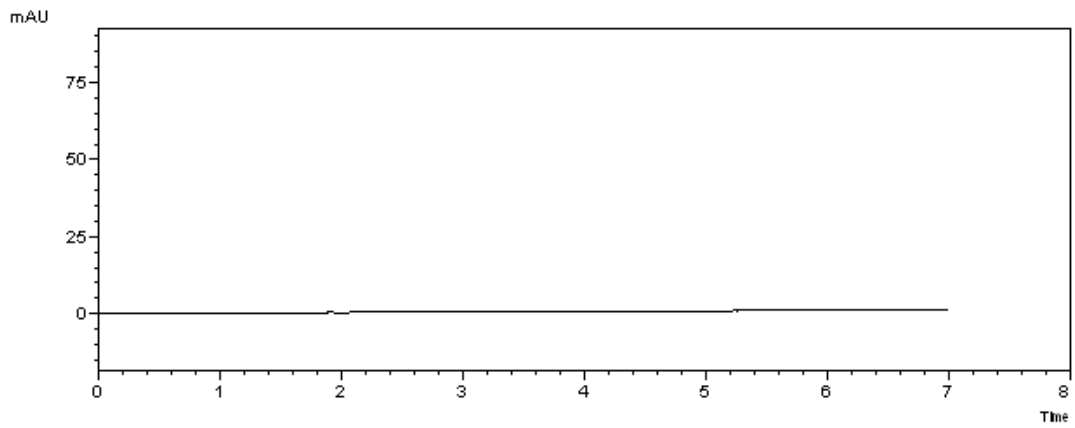
Geliştirilen yöntemin validasyonu için Bölüm 3.5’de anlatıldığı gibi çalışılmıştır.

### 4.2.1. Seçicilik

Kolona hareketli faz ve çözücü olarak kullanılan asetonitril enjekte edilerek, etkin pikinin görüldüğü dakikada örneklerden kaynaklanan herhangi bir pik olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.).



Şekil 4.6. Hareketli faz enjeksiyonuna ait kromatogram



Şekil 4.7. Çözücü asetonitril enjeksiyonuna ait kromatogram

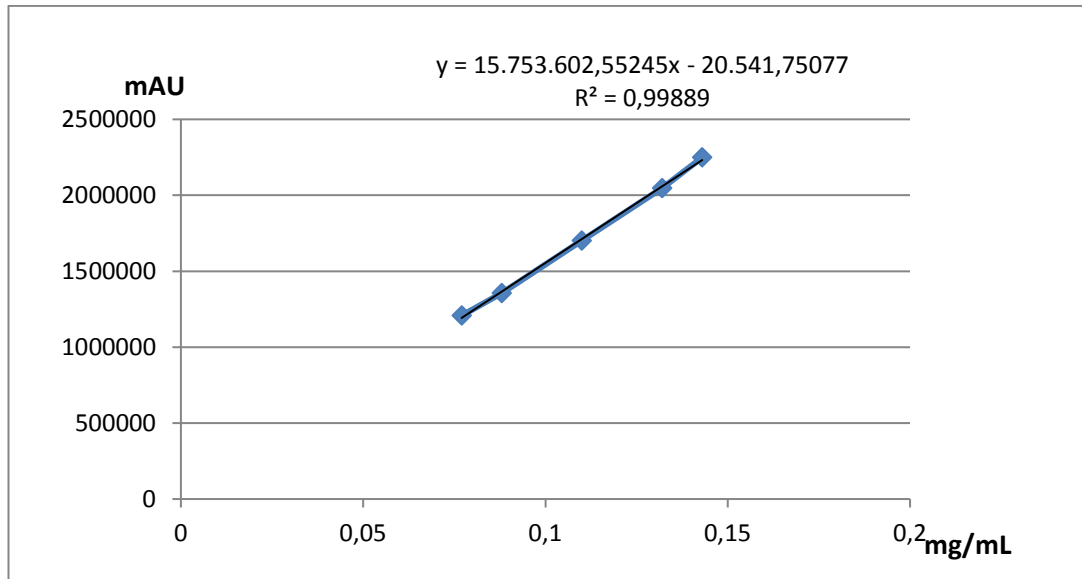
#### 4.2.2. Doğrusallık

Deksrabeprazol sodyum için 0,077-0,143 mg/mL konsantrasyon aralığında değişen 5 farklı konsantrasyondaki çözeltiler ile Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı gibi çalışıldı. Her konsantrasyon enjeksiyonu sonucu elde edilen ortalama pik alanları değerleri ile belirtilen konsantrasyon değerleri arasında çizilen ölçü eğrisi Şekil 4.8.’de verilmiştir.

Tablo 4.1.’de pik alanları ve ortalamaları ve RSD değerleri, Şekil 4.8.’de ise en küçük kareler yönteminden hesaplanan doğru denkleminde ( $y=mx+n$ ,  $y$ =alan değerleri,  $m$ =eğim,  $n$ =kesim noktası,  $x$ =konsantrasyon) elde edilen değişkenler ve korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) verilmiştir.

Tablo 4.1. Deksrabeprazol sodyumun 0,077-0,143 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrilerine ait pik alanı değerleri ve istatistiksel verileri

$C_{\text{mg/mL}}$	0,077	0,088	0,110	0,132	0,143
1	1208188	1354413	1712229	2047335	2256082
2	1208447	1355788	1696775	2045335	2249436
3	1206724	1357703	1697544	2047375	2241944
Ortalama	1207786	1355968	1702183	2046682	2249154
RSD (%)	0,076	0,121	0,512	0,057	0,314
Hesaplanan doğru denklemi					
$y=15753602,55x-20541,750$					



Şekil 4.8. Deksrabepazol sodyumun 0,077-0,143 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrisi

### 4.2.3. Doğruluk

Bölüm 3.5.5’de belirtildiği gibi değişik konsantrasyonlarda enjekte edilen çözeltilerin standart kalibrasyon grafiğinden hesaplaması ile yapıldı. Bu amaçla 0,088, 0,110 ve 0,132 mg/mL konsantrasyonlarda çözeltiler kolona enjekte edilerek ve geri kazanım yüzdeleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 4.2.’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Deksrabepazol sodyum için geri kazanım çalışması sonuçları

Alınan Konsantrasyon (mg/mL)	Bulunan Konsantrasyon (mg/mL)	% Elde edilebilirlik
0,088	0,08960	101,814
0,088	0,08919	101,357
0,088	0,08928	101,460
0,11	0,1107	100,614
0,11	0,1093	99,364
0,11	0,1105	100,500
0,132	0,1312	99,381
0,132	0,1317	99,785
0,132	0,1339	101,451
<b>Ortalama</b>		100,727

#### 4.2.4. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik

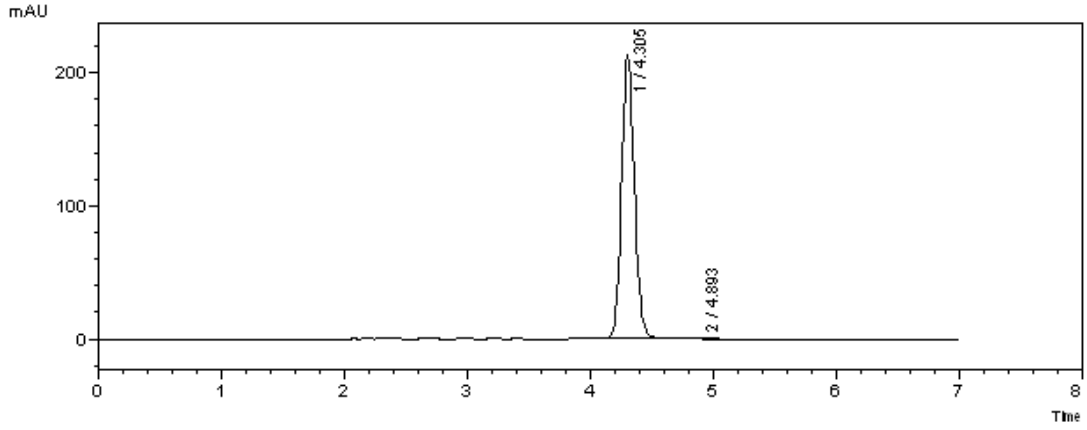
0,10 mg/mL konsantrasyonda deksrabepazol sodyum içeren çözeltiler Bölüm 3.5.3'de anlatıldığı gibi çalışıldı. Aynı gün içinde yapılan analizlere ait bağıl standart sapma değerleri ve farklı günlerde yapılan analizlere ait bağıl standart sapma değerleri Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Gün içi ve günler arası analiz tekrarlanabilirliği

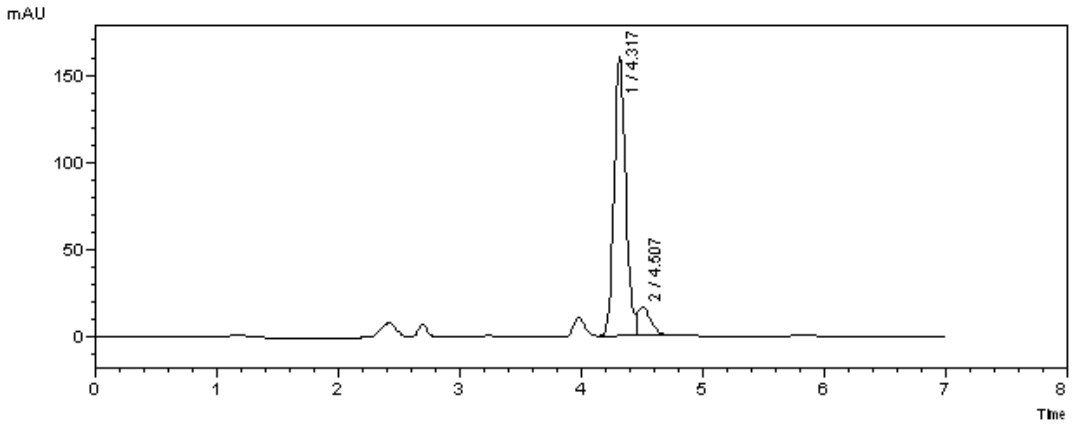
Konsantrasyon (mg/mL)	Gün içi etkin madde pik alanı	Gün İçi bulunan konsantrasyon (mg/mL)	Günler arası etkin madde pik alanı	Günler arası bulunan konsantrasyon (mg/mL)
0,100	1535810	0,0993	1535840	0,0993
0,100	1541053	0,0996	1534436	0,0992
0,100	1548417	0,1001	1532193	0,0990
0,100	1551570	0,1003	1534840	0,0992
0,100	1531518	0,0990	1546080	0,0999
0,100	1541955	0,0997	1532194	0,0990
<b>Ortalama</b>	1541720,5	0,0996	1535930,5	0,0993
<b>% RSD</b>	0,49	0,49	0,34	0,34

#### 4.2.5. Çözelti kararlılığı

Çözeltilerin kararlılığının tespiti için standart çözeltiler oda sıcaklığında 24 saat, +4 °C karanlıkta 1 ay bekletilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda bu şartlar altında 24 saat oda sıcaklığında bekletilen standart çözeltide minimal düzeyde bozunma pikine rastlanırken, buzdolabında bir ay bekletilen çözeltide bozulmalar görülmüştür. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.9. ve 4.10.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Oda sıcaklığında 24 saat bekletilen standarta ait kromatogram



Şekil 4.10. Buzdolabında karanlıkta 1 ay bekletilen standarta ait kromatogram

#### 4.2.6. Yöntemin sağlamlığı

Hareketli faz içindeki tampon çözelti pH'sinde ( $\pm 0,5$ ), kolonun sıcaklığında ( $\pm 2,5$  °C), akış hızında ( $\pm 0,1$  mL/dk), ve hareketli faz bileşenlerinin oranlarında küçük değişiklikler yapılarak yöntemin sağlamlığı araştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.4.'de görülmektedir.

Tablo 4.4. Yöntemin sağlamlık parametreleri

Mobil faz oranındaki değişim (v/v)	Deksrabepazol Sodyum Alıkonma Zamanı
pH 7,0 tamponu:ACN	
56:44	4,34
64:36	4,21
Kolon sıcaklığı °C	
27,5	4,31
22,5	4,32
Akış hızı	
0,9 mL/dk	4,36
1,1 mL/dk	3,94

#### 4.2.7. Uygunluk testi

Geliştirilen yöntemde elde edilen uygunluk testi parametreleri değerleri Tablo 4.5.'de verilmiştir.

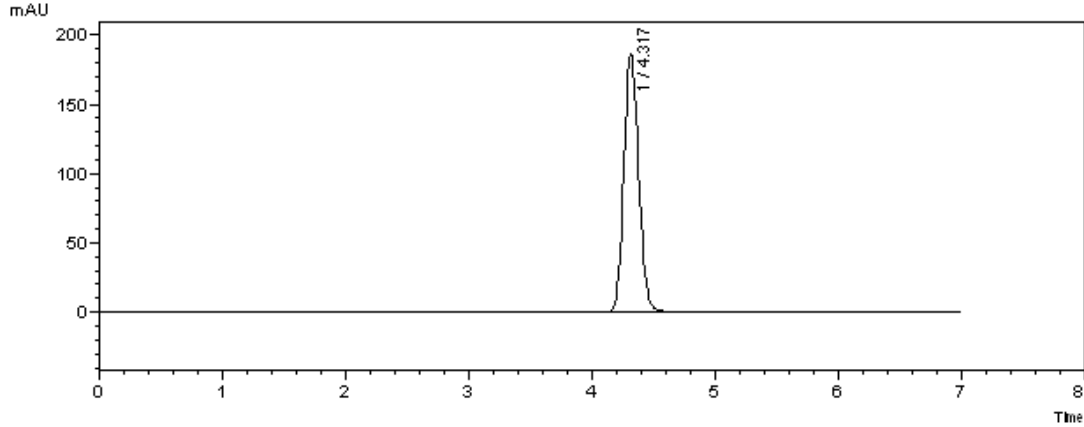
Tablo 4.5. Sistem uygunluk parametreleri

	Etkin madde
Alıkonma zamanı ( $t_R$ )	4,323
Teorik Plaka Sayısı (N)	5532
Kuyruklanma Faktörü (T)	1,169

### 4.3. Ticari Tablet Üründe Deksrabepazol Sodyumun Analizi

#### 4.3.1. Geliştirilen HPLC Yöntemi ile Analiz

Deksrabepazol Sodyum etkin maddesini içeren tabletler Bölüm 3.6.1'de anlatıldığı gibi geliştirilen yöntem ile analiz edilerek ilaç içerisindeki etkin maddenin miktarları tayin edilmiştir (Şekil 4.11.). Elde edilen sonuçlar altı adet enjeksiyon üzerinden hesaplanan ortalamalar, %RSD Tablo 4.6.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Tablet ürününe ait HPLC kromotogram örneği

Tablo 4.6. Tablet örneğinin geliştirilen metot ile analiz sonuçları

Örnekten elde edilen etkin madde pik alanı	Tablet örneğinde bulunan konsantrasyon (mg/mL)
1539628	0,09951
1553822	0,10043
1554608	0,10048
1542785	0,09971
1554880	0,10049
1537776	0,09939
<b>Ortalama</b>	0,1000
<b>%RSD</b>	0,52

#### 4.3.2. Kıyas Yöntemi ile Ölçü Eğrisinin Hazırlanması ve Regresyon Analizi

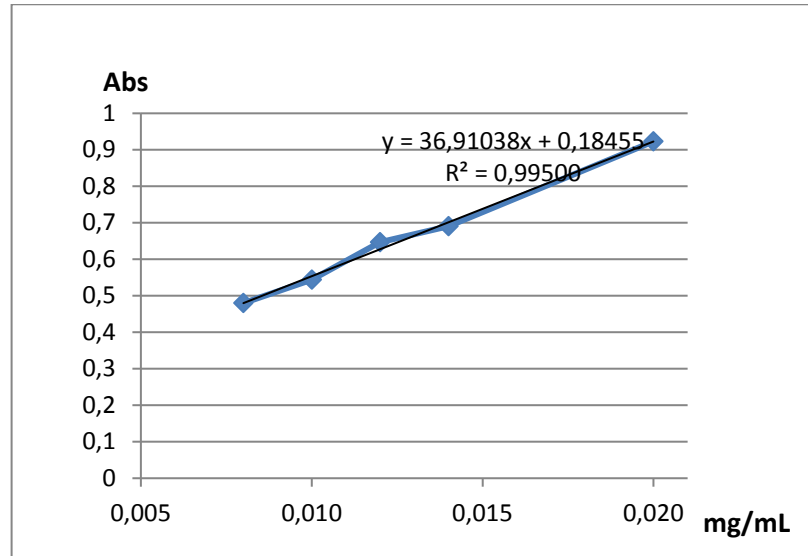
Kıyas yöntemi olarak UV spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Deksrabeprazol sodyumun asetonitril içerisindeki çözeltinin UV spektrumunu alınmış ve maksimum absorbansı 280 nm de yaptığı gözlemlenmiştir. Bölüm 3.6.2’de anlatıldığı gibi çalışılarak öncelikle absorbans değerleri ile konsantrasyonların doğrusal olduğu alan tespit edildi. Bu nedenle deksrabeprazol sodyumun 0,008 mg/mL ile 0,020 mg/mL konsantrasyonları arasında çalışma yapıldı. İlgili konsantrasyonlara karşı ölçülen absorbans değerleri ile oluşturulan ölçü eğrilerine en küçük kareler yöntemi

uygulanarak en uygun doğru denklemi ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) hesaplandı. Elde edilen ortalama değerler ile çizilen ölçü eğrileri Tablo 4.7. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Deksrabeprazolun 0,08-0,020 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrilerine ait değerler

Hazırlanan konsantrasyon (mg/mL)	Elde edilen ortalama konsantrasyon (mg/mL)	Elde edilen ortalama absorbens
Teorik	Deneysel	(mAU)
0,008	0,008	0,480
0,01	0,01	0,544
0,012	0,013	0,647
0,014	0,014	0,691
0,02	0,02	0,923

Elde edilen doğru denklemi  $y = 36,91038x + 0,18455$



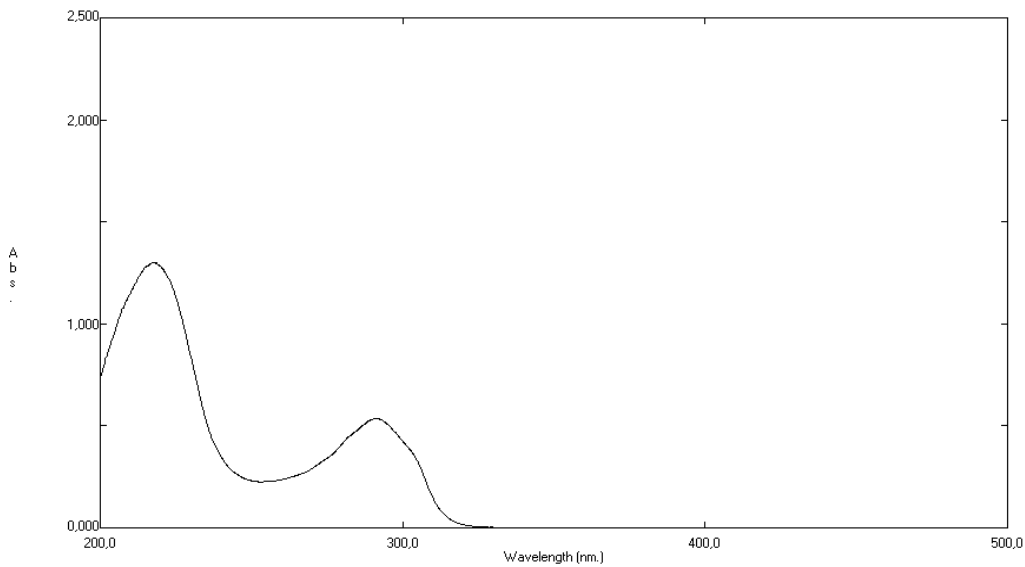
Şekil 4.12. Deksrabeprazol sodyumun 0,008-0,02 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ölçü eğrisi

#### 4.3.2.1. Kıyas yöntemi olarak geliştirilen UV spektrofotometrik yöntem ile analiz

Deksrabeprazol Sodyum etkin maddesini içeren tabletler Bölüm 3.6.2' de anlatıldığı gibi geliştirilen yöntem ile analiz edilerek ilaç içerisindeki etkin maddenin miktarları tayin edilmiştir (Şekil 4.13.). Elde edilen sonuçlar altı adet absorbens üzerinden



hesaplanan ortalamalar, SD, %RSD Tablo 4.8.'de verilmiştir. Her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar 6 adet tayin üzerinden hesaplanan ortalamalar SD, %RSD, sonuçları Tablo 4.9.'da verilmiştir. Geliştirilen yöntemler ile elde edilen sonuçların ortalama yönünden karşılaştırılması t-testi (Student t-testi), standart sapmalar yönünden karşılaştırılması F testi (Fisher test) uygulanarak yapıldı. Tablo 4.9.'da görüldüğü gibi hesaplanan t- ve F- değerleri % 95 olasılık düzeyi ve 5 deneme için ilgili cetvellerde bildirilen değerlerden daha küçük olduğundan geliştirilen HPLC yöntemi ile kıyas yöntemi arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.



Şekil 4.13. Tablet ürününe ait UV kromotogram örneği

Tablo 4.8. UV spektroskopik yöntemle elde edilen veriler

Alınan Konsantrasyon (mg/mL)	Etkin madde absorpsiyonu	Tablet örneğinde Bulunan Konsantrasyon (mg/mL)	Geri kazanım%	Ölçülen miktar (mg)
0,010	0,553	0,0103	103,172	10,317
0,010	0,552	0,0103	102,985	10,298
0,010	0,548	0,0102	102,239	10,224
0,010	0,536	0,0100	100,000	10,000
0,010	0,540	0,0101	100,746	10,075
0,010	0,553	0,0099	99,450	9,945
Ortalama	0,544	0,0102	101,440	10,144
SD				0,157
% RSD				1,55

Tablo 4.9. Ticari tablette geliştirilen yöntemle elde edilen analiz sonuçları ve bu sonuçların geliştirilen kıyas yöntemiyle elde edilenlerle istatistiksel olarak karşılaştırılması

	HPLC Yöntemi	UV-VIS Spek. Yöntemi
1	9,951	10,317
2	10,043	10,299
3	10,048	10,224
4	9,971	10,000
5	10,049	10,075
6	9,939	09,945
Ortalama	10,00	10,144
Geri kazanım %	100,01	101,44
SD	0,052	0,157
RSD	0,52	1,55
t testi		2,133
F testi		4,554

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Peptik asit hastalıkları günümüzde önemli sağlık sorunlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Proton pompa inhibitörleri peptik ülser ve gastroözefageal reflü hastalığında en etkili sınıf ilaçlardır. Deksrabeprazol sodium ise düşük doz ile etkin tedavi sağlayarak geleneksel proton pompası inhibitörlerinin önüne geçmektedir.

Yapılan literatur araştırmalarında bu molekülü tek başına içeren farmasötik formlar için geliştirilmiş yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışması yer almaması, böyle bir çalışma yapmamızı teşvik etmiştir.

Bu çalışmada sadece deksrabeprazol içeren farmasötik preparatta basit, hızlı ve kesinliği yüksek bir HPLC yöntemi geliştirildi ve geliştirilen yöntemin validasyonu yapıldı.

Çalışılan doğrusal konsantrasyon aralığı 0,077-0,143 mg/mL'dir. Geliştirilen yöntemin validasyon çalışmaları sonucunda yöntemin tekrarlanabilirliğini belirlemek için aynı günde ve farklı günde analizler yapıldı. Yöntemin doğruluğunu belirlemek amacıyla yapılan çalışma sonucunda geri kazanım ortalama %100,64 olarak hesaplandı. Kalibrasyon eğrilerine ait doğru denklemi  $y=15753602,55x-20541,750$  ve  $R^2$  değeri 0,998'dir.

Kıyas yöntemi olarak UV-VIS spektrofotometrik bir yöntem geliştirildi, geliştirilen bu yöntemde 280 nm dalgaboyunda çalışıldı ve doğrusal konsantrasyon aralığı 0,008-0,020 mg/mL olarak bulunmuştur. Geliştirilen HPLC yöntemi ve kıyas yöntemi olarak geliştirilen UV-VIS spektrofotometrik yöntem 10,0 mg deksrabeprazol içeren tablet formundaki ürüne uygulandı ve ortalama geri kazanım

sonuçları HPLC yönteminde %100,01 UV spektroskopik yönteminde %101,44 olarak bulundu.

Kıyas yöntemi ile geliştirilen HPLC yönteminin karşılaştırılması için Student-t ve Fisher-F testi kullanılmış, sonuçlar kıyaslanmış ve bulunan sonuçlar altı deneme için verilen teorik değerlerden ( $t=2,133$ ;  $F=4,554$ ) küçük olduğundan ortalamalar ( $t$ -testi) ve standart sapmalar ( $F$ -testi) yönünden anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Sonuç olarak bu çalışmada, deksrabeprazol sodyum analizlerinde kullanabilecek kolay, hızlı, ekonomik, tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği yüksek, bir yöntem geliştirilmiş ve geliştirilen bu yöntem valide edilmiştir. Tablo 5.1.'de görüldüğü gibi geliştirilen ve validasyonu yapılan yöntem rutin analizlerinde güvenle kullanılabilir.

Tablo 5.1. Optimize edilmiş kromatografik koşullar

Parametreler	Optimize Koşullar
HPLC sistemi	Shimadzu LC-20AD
Kolon	Gl Sciences Inertsil C18 ( 250mmx4,6 mm, 5 $\mu$ )
Hareketli Faz	50:50 (v/v) oranında asetonitril:fosfat tampon çözeltisi (pH 7,0)
Akış Hızı	1 mL/dk
Sıcaklık	25 °C
Dedektör ve dalga boyu	UV dedektör ve 272 nm
Enjeksiyon Hacmi	10 $\mu$ L

## KAYNAKLAR

- [1] [www.sindirimsistemi.org.](http://www.sindirimsistemi.org.), Erişim Tarihi: 11.11.2017.
- [2] [www.medicalpark.com.tr/ulcer-nedir/hg-149.](http://www.medicalpark.com.tr/ulcer-nedir/hg-149.), Erişim Tarihi: 11.11.2017.
- [3] [www.reflüameliyati.net.](http://www.reflüameliyati.net.), Erişim Tarihi: 13.11.2017.
- [4] [www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet119/kub/farmakolojiközellikler.](http://www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet119/kub/farmakolojiközellikler.), Erişim Tarihi: 13.11.2017.
- [5] Bak, Hüseyin., Benzimidazol ile İmidazoltriazepin Bileşiklerinin Genel Özellikleri ve Benzimidazoltriazepin Türevlerinin Sentez Çalışmaları, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitirme Ödevi, Kayseri, Haziran, 2014.
- [6] Enumula, Sreenivasulu., Anees, Pangal., Muiz, Gazge., Javed, A.Shaikh., Khursheed, Ahmed., Diverse, Pharmacological Aspects of Benzimidazole Derivatives, Research Journal of Chemical Sciences 4(4):78-88, 2014.
- [7] Onuk, Gören, A, F., Alendronatın Neden Olduğu Mide Hasarının Mekanizmasının ve Buna Karşı Koruyucu İlaçların Araştırılmasına Yönelik Bir Araştırma, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2006.
- [8] Özden, Ali, Proton Pompa İnhibitörleri ve Kullanım Güvenilirliği Konusundaki Yeni Bilimsel Veriler, Güncel Gastroenteroloji Dergisi, 20/2, Haziran, 2016.
- [9] Shin, J.M., Kim, N., Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Proton Pump İntibitörs, J. Neurogastroenterol Matil, 19 (1):p, 25-35, 2013.
- [10] Sachs, G., Shin, J.M., Howden, C.W.,The Clinical Pharmacology of Proton Pmp İnhibitors, Aliment Pharmacol Ther, 23 Suppl 2:p. 2-8, 2006.
- [11] Özden, Ali., Proton Pompa İnhibitörleri ve Kullanım Güvenilirliği, Güncel Gastroenteroloji Dergisi 17/3, Eylül, 2013.

- [12] Sohan, S. C., Amir, I. M., Ganesh, R. P., Sagar, B. W., Stability-Indicating TLC-Densitometric Method For Estimation of Dextrabeprazole and Domperidone in Pharmaceutical Dosage Form, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 40:4, 337-346, November, 2010.
- [13] [www.chemspider.com/chemical-structure.8082507.html](http://www.chemspider.com/chemical-structure.8082507.html), Erişim Tarihi: 15.11.2017.
- [14] [www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov), Erişim Tarihi:15.11.2017.
- [15] [www.shreejipharma.lookchem.com/products/CasNo-117976-906deksrabeprazole-sodium-109334261.html](http://www.shreejipharma.lookchem.com/products/CasNo-117976-906deksrabeprazole-sodium-109334261.html), Erişim Tarihi: 15.11.2017
- [16] [www.accessdata.fda.gov/drugsutftda-docs/label/1999/209731b1.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsutftda-docs/label/1999/209731b1.pdf), Erişim Tarihi:18.11.2017.
- [17] Bhandari, Aakanksha.,Bhandari, Monika.,Bhandari, Anil., Dextrabeprazole: A New Emerging Approach in Treatment of Git Disorder, *International Research Journal Of Pharmacy*, 2 (3), 2011, 29-30.
- [18] [www.drugupdate.com/generic/view/1235/Deksrabeprazole-sodium-Domperidone](http://www.drugupdate.com/generic/view/1235/Deksrabeprazole-sodium-Domperidone)., Erişim Tarihi: 16.11.2017..
- [19] [www.ilactr.com/atc/C090304.html](http://www.ilactr.com/atc/C090304.html)., Erişim Tarihi: 14.11.2017.
- [20] [www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet-d119/kt/yan-etkileri](http://www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet-d119/kt/yan-etkileri)., Erişim Tarihi: 01.12.2017.
- [21] [www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet-d119/kt/nasil-kullanilir](http://www.ilacrehberi.com/v/rabby-d-10-mg-enterik-kapli-tablet-d119/kt/nasil-kullanilir)., Erişim Tarihi: 01.12.2017.
- [22] Sohan S. C., Amir I. M., Ganesh, R. P., Sagar B. W., Simultaneous Spectrophotometric Estimation of Dextrabeprazole İn Capsule Dosage Form, *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*, 2010, 2 (2), 31-34.
- [23] Rao, A.S.,Rao, Punna, AML., Dadhich, A.S., Rao, M.K., Simultaneous Determination of Dextrabeprazole and Domperidone in Capsule Form By Using HPTLC and Mass Confirmation By HPTLC-MS, *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2016, 6(4), 869-878.
- [24] Kim, M., Yu, S.K., Truong, Q.K., Mai, X.L., Chung, H.K., Kang, J.S., Kim K.H., Determination of rabeprazole enantiomers in commercial tablets using immobilized cellulose-based stationary phase, *Archives of Pharmacal Research*, March 2017, Volume 40, Issue 3, pp 373–381, February, 2017.

- [25] Sharma, S., Sharma, M.C., Sharma, A.D., Facile and Rapid Simultaneous Estimation of Dexrabeprazole and Domperidone by RP-HPLC assay Method in Combined Dosage Form-In Application Dissolution Assessment, Drug Invention Today, 3(6), 98-99, 2011.
- [26] Shedpure, P.S., Dole, M.N., Sawant, S.D., Patel, P.A., Spectrometric Determination Of Dexrabeprazole Sodium in Bulk Tablet Dosage Form By First Order Derivative Spectroscopy And Area Under The Curve, International Journal Of Pharmacy&Technology, Vol.3, Issue No.2, 2565-2573, June-2011.
- [27] Patil, K.R., Rane, V.P., Yeole, R.D., Sangshetti, J.N., Shinde, D.B., Validated Chiral LC Method For Dexrabeprazole On Reverse Phase Amlylose Based Stationary Phase, Journal of the Chilean Chemical Society 56, N° 2 , p: 706-708, 2011.
- [28] Devi, G.K., Rajitha G., Validated RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation Of Dexrabeprazole And Domperidone İn Bulk Tablet Dosage Form, International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis, Vol 5, Issue 2, p:111-115, 2015.
- [29] Orbey, M. T., ve ark, Analitik Kimya Pratikleri, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No 3, Ankara, 2012.
- [30] Katanalp, Fatma., Antitiroid Bir İlaç Olan Metimazol' ün Farmasötik Preparatlarda ve Plazmada Miktar Tayini, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2006.
- [31] Şenol, Onur., Tiyamin ve Pridoksin Etkin Maddelerinin Farmasötik Preparatlarda HPLC Yöntemi İle Analizi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2010.
- [32] Adıgüzel, Canhasan., Etodolak'ın Stabilitate Göstergeli Sıvı Kromatografisi İle İlaç Dozaj Şekillerinden Tayini, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2009.
- [33] Kılıçer, Mehmet Can., Geleneksel Yollarla Üretilen Reçel Örneklerindeki Hidroksimetilfurfural'ın Miktar Tayini, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Bitirme Ödevi, Mayıs, 2011.
- [34] Yıldız, Tuğba., Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntılarının HPLC Yöntemiyle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ocak, 2014.

- [35] Şen, Filiz., İnek Sütlerinde Bazı Penisilin Kalıntılarının HPLC Yöntemiyle Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2013.
- [36] Validation of Analytical Procedures. Proceedings of the International Conference on Harmonisation (ICH). Commission of the European Communities, 1996.
- [37] Hansen, H.A. , Emborg, C. “Experimental design in the development and characteriation of a HPLC method for aminoacids” Journal of Chromatography A, 626, 2,171-180, 1992.
- [38] Semah, Eral., Parasetamol, kafein ve propifenazon içeren tabletlerin HPLC ile analizinin faktöriyel tasarım ile optimizasyonu, Yıldık Teknik Üniversitesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tez, 2007.



## ÖZGEÇMİŞ

Ebru Nurdan ŐENTÖRK, 03.08.1992'de Samsun'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2010 yılında Esenyurt Lisesi'nden mezun oldu. 2010 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nü 2014 yılında bitirdi. 2014 yılında Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nde Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nde Yüksek Lisans eğitimini sürdürmektedir.