T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SERTRALİNİN GC-MS SİSTEMİNDE DÜŞÜK SEVİYELERDE TAYİNİNE YÖNELİK ANALİTİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE YAPAY MİDE ORTAMINDAKİ KARARLILIĞININ TESPİT EDİLMESİ

ELİF SEDA KOÇOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. SEYFULLAH KEYF

EŞ DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEZGİN BAKIRDERE

İSTANBUL, 2016

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SERTRALİNİN GC-MS SİSTEMİNDE DÜŞÜK SEVİYELERDE TAYİNİNE YÖNELİK ANALİTİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE YAPAY MİDE ORTAMINDAKİ KARARLILIĞININ TESPİT EDİLMESİ

Elif Seda KOÇOĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması 10 Mayıs 2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Doç. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Fatma TURAK

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Yusuf DİLGİN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi _____

Prof. Dr. Fırat AYDIN

Dicle Üniversitesi _____

ÖNSÖZ

Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde Yüksek Lisans Tezi olarak yaptığım bu çalışmada danışmanlığımı üstlenerek beni yönlendiren, yakın ilgi, anlayış ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF'e,

Eş danışmanlığımı üstlenerek, bana bu yolda her zaman ve her koşulda destek veren, sonsuz bilgi ve birikimine hayran olduğum kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Sezgin BAKIRDERE'ye,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca benden yardımını ve güler yüzünü esirgemeyen sevgili Selali Dotse CHORMEY'e ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma,

Hem çalışmalarım hem de özel hayatımda her zaman yanımda olan ve bu yola beraber adım attığım arkadaşlarım sevgili Tuğçe UNUTKAN ve Hakan SERBEST'e,

Ayrıca hayatımın her aşamasında maddi ve manevi olarak yanımda olduklarını bana daima hissettiren ve her türlü fedakârlığı gösteren sevgili aileme teşekkür ederim.

Mayıs, 2016

Elif Seda KOÇOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ vii

KISALTMA LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ ix

ÇİZELGE LİSTESİ xii

ÖZET xiii

ABSTRACT xv

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 2

BÖLÜM 2

ANTİDEPRESANLAR 4

2.1 Antidepresanların Tanımı ve Tarihçesi 4
2.2 Antidepresanların Sınıflandırılması 5
2.3 Akılcı Antidepresan Kullanımı 6

BÖLÜM 3

SERTRALİN 8

3.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 8
3.2 Sertralinin Antidepresanlardaki Yeri 9
3.3 Farmakokinetik Özelliği 9
3.4 Sertralinin İlaç Endüstrisindeki Yeri 10

BÖLÜM 4

İLAÇ ETKEN MADDE MİKTAR TAYİNLERİ 11

4.1 Spektroflorimetrik Yöntemle Miktar Tayini 12
4.2 Spektrofotometrik Yöntemlerle Miktar Tayini 12
4.3 Voltametrik Yöntemlerle Miktar Tayini 15
4.4 Kromatografik Yöntemlerle Miktar Tayini 17

BÖLÜM 5

GAZ KROMATOGRAFİSİ (GC) 20

5.1 Çalışma Prensibi 20
5.2 Enstrümantasyon 20
5.2.1 Ayırma İşlemi 21
5.2.2 Taşıyıcı Gaz 21
5.2.3 Kolon 22
5.2.4 Dedektörler 22
5.2.5 Enjeksiyon Blok Türleri 23
5.3 Gaz Kromatografi ile Spektroskopik Yöntemlerin Birlikte Kullanımı 24
5.3.1 Gaz kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) 24
5.4 GC-MS ile İlgili Yapılan Çalışmalar 25

BÖLÜM 6

EKSTRAKSİYON 28

6.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu 28
6.2 İyon Değiştirme 29
6.3 Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) 30
6.4 Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE) 30

BÖLÜM 7

DENEYSEL ÇALIŞMALAR 31

7.1 Kullanılan Ekipmanlar 31
7.1.1 GC-MS Donanımı 31
7.1.2 Kullanılan Diğer Ekipmanlar 32
7.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler 32
7.3 Sertralinin GC-MS ile Tayini 33
7.4 Sertralin Etken Maddesi İçeren Film Tabletin Yapay Mide Ortamında İncelenmesi 37
7.5 Sertralin Etken Maddesi İçeren Farklı Markalara Ait İlaçlarda Miktar Tayini 43
7.6 Sertralinin Düşük Seviyelerde Tayinine Yönelik Destekleyici Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi 49
7.6.1 Yöntem Optimizasyonu 49
7.6.1.1 Ekstraksiyonda Kullanılacak Solvent Çeşidinin Belirlenmesi 49
7.6.1.2 Ekstraksiyonda Kullanılacak Tuz Çeşidinin Belirlenmesi 51
7.6.1.3 Ekstraksiyonda Kullanılacak Tuz Miktarının Belirlenmesi 52
7.6.1.4 Ekstraksiyon için Uygun Karıştırma Süresinin Belirlenmesi 54

7.6.1.5 Ekstraksiyonda Kullanılacak Destekleyici Solvent Çeşidinin Belirlenmesi 55
7.6.1.6 Ekstraksiyonda Kullanılacak Destekleyici Solvent Miktarının Belirlenmesi 57
7.7 Geliştirilen Yönteme Yönelik Analitik Uygulamalar 58
7.7.1 Sistem Analitik Performansının Değerlendirilmesi 58
7.7.2 Musluk Suyunda Sertralin Tayinine Yönelik Analitik Bir Yöntem 61
7.7.3 Atık Suda Sertralin Tayinine Yönelik Analitik Bir Yöntem 65

BÖLÜM 8

SONUÇ VE TARTIŞMA 67

KAYNAKLAR 69

ÖZGEÇMİŞ 77

SİMGE LİSTESİ

^{0}C	Derece Selsius
kg	Kilogram
mg	Miligram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
min	Dakika
nm	Nanometre

KISALTMA LİSTESİ

5-HT	5-hidroksitriptamin
ECD	Elektron Yakalama Dedektörü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
FT-IR	Fourier Dönüşüm İnfrared Spektrometresi
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografi-Kütle Spekstrometresi
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HPLC-MS/MS	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi
IR	Kırmızı Ötesi
IS	İç Standart
LOD	Gözlenebilme Limiti
LOQ	Tayin Edilebilme Limiti
MS	Kütle Spektroskopisi
MAOI	Monoamin Oksidaz İnhibitörleri
NA	Noradrenalin
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
SSRI	Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörü
TCA	Üç Halkalı Antidepresanlar
TCD	Termal İletkenlik Dedektörü
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
UPLC-MS/MS	Ultra Performans Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi
UV-VIS	Morötesi Görünür Bölge

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Sertralinin moleküler yapısı (1S,4S)-4-(3,4-diklorofenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-amin 8
Şekil 4.1 Spektrofotometre cihazı diyagramı 13
Şekil 4.2 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması 15
Şekil 5.1 Gaz kromatografisi 21
Şekil 5.2 Kolon tipleri. (a) Kapiler kolon, (b) Dolgulu kolon 22
Şekil 5.3 Enjeksiyon bölmesi buharlaştırıcısının kesiti 23
Şekil 5.4 GC-MS sistemi 25
Şekil 7.1 GC-MS cihazı 32
Şekil 7.2 Sertralin için GC-MS'te elde edilen kalibrasyon grafiği 35
Şekil 7.3 Sertralin için GC-MS'te elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği 35
Şekil 7.4 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklerin tek tek gösterimine ait kromatogramlar 36
Şekil 7.5 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklere ait kromatogramlar 37
Şekil 7.6 Sertralin için GC-MS' te elde edilen kalibrasyon grafiği 38
Şekil 7.7 GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numuneler ve 274 iyonu için elde edilen kromatogramlar 40
Şekil 7.8 30. ve 240. dakikalarda yapay mide ortamından alınmış numunelerin GC-MS sisteminde SCAN moddaki analizlerine ait toplam iyon kromatogramları 41
Şekil 7.9 30. dakikada yapay mide ortamından alınmış numunenin GC-MS cihazında analizi sonucu elde edilen etken madde sertraline ait pik ve içerdiği iyonların kütle dağılımı 42
Şekil 7.10 240. dakikada yapay mide ortamından alınmış numunenin GC-MS cihazında analizi sonucu elde edilen etken madde sertraline ait pik ve içerdiği iyonların kütle dağılımı 43
Şekil 7.11 Sertralin için GC-MS'te elde edilen kalibrasyon grafiği 44
Şekil 7.12 GC-MS sistemine gönderilen Marka A'ya ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 46
Şekil 7.13 GC-MS sistemine gönderilen Marka A'ya ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 46
Şekil 7.14 GC-MS sistemine gönderilen Marka B'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 47

Şekil 7.15 GC-MS sistemine gönderilen Marka B'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 47
Şekil 7.16 GC-MS sistemine gönderilen Marka C'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 48
Şekil 7.17 GC-MS sistemine gönderilen Marka C'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları 48
Şekil 7.18 Marka A için yapılan spike deneyi 49
Şekil 7.19 GC-MS sistemine gönderilen üç farklı solventin 274 (m/z) iyonu için elde edilen piklerinin tek tek gösterimine ait kromatogram 50
Şekil 7.20 Ekstraksiyon için en uygun solvent seçimi. Solvent numaraları: 1)1,2-diklorometan(A), 2)Etil Asetat(B), 3)Kloroform(C) 50
Şekil 7.21 GC-MS sistemine gönderilen iki farklı analitin 274 iyonu için elde edilen piklerinin tek tek gösterimine ait kromatogram 51
Şekil 7.22 Ekstraksiyon için en uygun tuz çeşidinin belirlenmesi. Tuz çeşitleri: 1)NaCl, 2)Na_2SO_4 52
Şekil 7.23 Ekstraksiyon için en uygun tuz miktarının belirlenmesi 53
Şekil 7.24 Ekstraksiyon için en uygun karıştırma süresinin belirlenmesi 54
Şekil 7.25 Ekstraksiyon için en uygun karıştırma süresinin belirlenmesi. Farklı karıştırma sürelerine göre çözeltiler: 1)0 min, 2)05 min, 3)15 min, 4)30 min, 5)60 min, 6)90 min 55
Şekil 7.26 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent çeşidinin belirlenmesi 56
Şekil 7.27 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solventin belirlenmesi. Farklı destekleyici solvent çeşitlerine göre çözelti numaraları: 1)Destekleyici içermeyen,2)Aseton,3)Asetonitril,4)Etanol,5)Metanol 56
Şekil 7.28 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent miktarının belirlenmesi 57
Şekil 7.29 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent miktarının belirlenmesi. Farklı miktarlarda destekleyici solvent içeren çözeltiler: 1)0.02 mL Etanol,2)0.05 mL Etanol,3)0.10 mL Etanol,4)0.20 mL Etanol,5)0.30 mL Etanol,6)0.50 mL Etanol,7)1.0 mL Etanol 58
Şekil 7.30 Analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (standart çözeltilere ait pik alanlarına göre) 59
Şekil 7.31 Analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (alan oranlarına göre) 60
Şekil 7.32 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklerin birleşik gösterimine ait kromatogramlar (1.0 ng/mL'den 1000 ng/mL'ye kadar olan konsantrasyon değerlerini, A'dan I'ya kadar olan harfler ifade etmektedir.) 61
Şekil 7.33 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 188 iyonu için elde edilen piklerin birleşik gösterimine ait kromatogramlar (1.0 ng/mL'den 1000 ng/mL'ye kadar olan konsantrasyon değerlerini, A'dan I'ya kadar olan harfler ifade etmektedir.) 61
Şekil 7.34 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (standart çözeltilere ait pik alanlarına göre) 62
Şekil 7.35 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (alan oranlarına göre) 63
Şekil 7.36 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogram (274 m/z, Sertralin için) 64

Şekil 7.37 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogram (188 m/z, Antrasen D-10 için) 64
Şekil 7.38 Atık suda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogramlar (274 m/z, Sertralin için)..... 66
Şekil 7.39 Atık suda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogramlar (188 m/z, Antrasen D-10 için)..... 66

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Yeni nesil antidepresan ilaçların sınıflandırılması 6
Çizelge 3.1 Sertraline ait bazı özellikler 9
Çizelge 3.2 Sertralin içeren ilaçlar 10
Çizelge 7.1 Sertralinin GC-MS sisteminde tayinine yönelik optimum cihaz parametreleri 34
Çizelge 7.2 Sertralin için GC-MS sistem analitik performansı değerleri 36
Çizelge 7.3 Yapay mide ortamı parametreleri 38
Çizelge 7.4 Seyreltme değerleri 39
Çizelge 7.5 GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numunelerin 274 iyonu için elde edilen pik alanları ……...…… 39
Çizelge 7.6 30. ve 240. dakikalarda GC-MS sistemine gönderilen numunelerin SCAN mod uygulanarak gerçekleştirilen analiz sonuçları 41
Çizelge 7.7 Numunelere ait sonuçlar ……... 45
Çizelge 7.8 Tuz miktarlarına göre elde edilen pik alanları ……..... 53
Çizelge 7.9 GC-MS sistem analitik performans değerleri ……... 60
Çizelge 7.10 Musluk suyu numunelerine ait sertralin geri kazanım yüzdeleri 63
Çizelge 7.11 Atık su numunelerine ait sertralin geri kazanım yüzdeleri 65

ÖZET

SERTRALİNİN GC-MS SİSTEMİNDE DÜŞÜK SEVİYELERDE TAYİNİNE YÖNELİK ANALİTİK YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ VE YAPAY MİDE ORTAMINDAKİ KARARLILIĞININ TESPİT EDİLMESİ

Elif Seda KOÇOĞLU

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF

Eş Danışman: Doç. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Antidepresan ilaç etken maddesi olarak kullanılan sertralin toplumumuzda yoğun stres ve çalışma temposu nedeni ile yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu kimyasalın farklı matrikslerde doğruluğu ve kesinliği yüksek tayin yöntemleri ile tayini son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla GC-MS sisteminin tüm parametreleri optimize edilerek 274 (kütle/yük) iyonu kullanıldığı bir analitik tayin yöntemi geliştirilmiştir. Optimum koşullar altında sertralin için gözlenebilme/tayin limitleri (LOD/LOQ) 1.6/5.4 ng/mL olarak bulunmuştur. Kalibrasyon grafiği 5.0-2000 ng/mL aralığında doğrusal bulunmuş olup R^2 değeri 0.9999 olarak tespit edilmiştir. Dört farklı marka ilaçta sertralin analitinin kalitatif ve kantitatif tayini ekstraksiyon sonrası optimum şartlar altında başarı ile gerçekleştirilmiştir. Matriks bileşenlerinin analit sinyali üzerine etkilerinin belirlenmesi amacı ile standart katma deneyleri yapılmıştır. Sertralin kimyasalının mide ortamında kararlılık seviyesinin belirlenmesine yönelik yapay mide ortamı oluşturulmuştur. Analitin 240 dakika boyunca yapısında bir değişiklik olup olmadığına yönelik çalışmalar yürütülmüş ve belirtilen süre sonunda sertralinin yapısında herhangi bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, sertralin etken maddesinin ekstraksiyon/önderiştirme sonrası GC-MS cihazında düşük seviyelerde tayin edilmelerine yönelik Antrasen-D10

kimyasalının iç standart olarak kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Bu doğrultuda, ekstraksiyon verimini etkileyen tüm parametreler optimize edilmiş ve optimum koşullar altında sertralin için gözlenebilme/tayin limitler (LOD/LOQ) 0.43/1.43 ng/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca, atık su ve musluk suyu örnekleri için yapılan çalışmalarda sertralin için yüksek geri kazanım verimleri elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: GC-MS, Sertralin, SSRI, Antidepresanlar, Yapay Mide Ortamı, Ekstraksiyon, Önderiştirme, Geri kazanım

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF AN ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF SERTRALINE AT TRACE LEVELS BY GC-MS AND ITS STABILITY CHECK IN SIMULATED GASRTIC JUICE SYSTEM

Elif Seda KOÇOĞLU

Department of Chemical Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr. Seyfullah KEYF

Co-Adviser: Assoc. Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE

Sertraline is widely used as an antidepressant drug substance in our society because of high level stress and work pace. Hence, the determination of this chemical with the methods having high accuracy and precision is quite important. For this purpose, a sensitive analytical method was developed for the determination of sertraline in commercial drug samples by using GC-MS. Selected Ion Monitoring mode was used at the most sensitive m/z ratio of 274 to obtain lower detection limit. Limit of detection /limit of quantitation values were obtained as 1.6/5.4 ng/mL for sertraline under the optimum conditions. Calibration plot was linear between 5.0-2000 ng/mL with the correlation coefficient of 0.9999. Validated method was successfully applied to four different brand drug samples for both qualitative and quantitative measurement of sertraline. Spiking experiments were also performed to check the effect of the matrices on the determination. In addition, simulated gastric juice experiments were performed to check the stability of sertraline in stomach for 240 min and it was observed that there is no change in the structure of the analyte. Furthermore, sertraline was determined at trace levels using the GC-MS system after extraction/preconcentration by the help of Antrasen-D10 as internal standard. For this purpose, all parameters affecting the extraction output were optimized, and

under the the optimum conditions the limit of detection and quantification values were found to be 0.43 and 1.43 ng/mL, respectively. In addition, in the studies performed for tap and waste water samples, high recovery values were obtained for sertraline.

Keywords: GC-MS, Sertraline, SSRI, Antidepressants, Simulated Gastric Juice, Extraction, Preconcentration, Recovery

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Depresyon, insanların ekonomik ve sosyal hayatlarının her ikisini de etkileyebilen ve dünya çapında yaygın olarak görülen büyük sağlık problemlerinden birisidir [1]. Çoğu depresyon vakası, serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), norepinefrin (noradrenalin, NA) ve dopamin gibi aminoasitlerin türevleri olarak bilinen üç monoamin nörotransmiterin nörokimyasındaki değişimler ile meydana gelir. Serotoninin geri alımı, merkez sinapslarda etkili bir şekilde seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) tarafından engellenir. Seçici serotonin geri alım inhibitörleri grubunda yer alan antidepresanlar bu çeşit kimyasal geçişlerin tedavisinde büyük bir etkiye sahiptir. Seçici serotonin geri alım inhibitörleri ikinci nesil antidepresan ilaçları olarak bilinir ve depresyon tedavisinde en yaygın olarak kullanılan ilaç sınıfıdır [2]. Sertralin [(1S,4S)-4-(3,4-diklorofenil)-1,2,3,4-tetrahidro-N-metil-1-naftilamin] ise, seçici serotonin geri alım inhibitörü olarak bilinen ilaçlar grubunun önemli bir üyesidir [3], [4] ve yan etkilerinin az olması sebebiyle depresyon ve diğer psikiyatrik hastalıkların tedavisinde en yaygın olarak kullanılan etken maddelerden biri haline gelmiştir [5]. Antidepresan ilaçlardaki bu aktif bileşik, depresyon, obsesif-kompülsif bozukluk, travma sonrası stres bozuklukları, sosyal anksiyete bozuklukları, menopoz sonrası psikolojik bozukluklar ve panik bozukluklar gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanıma bağlı olarak "The Food and Drug Administration" (FDA ya da USFDA) tarafından onaylanmıştır [6].

Günümüzde, antidepresanlar da dâhil olmak üzere ilaç kullanımının artışı ile birlikte bu ilaçların içerdiği etken ve yardımcı maddelerin tanımlanması ve tanımlanan bu kimyasalların da etkilerinin araştırılması birçok çalışmaya öncülük etmiştir. Böylelikle, çeşitli vitamin ve ilaçların bileşiminde bulunan farklı içeriklerin kalitatif ve kantitatif tayinleri son yıllarda oldukça popüler hale gelmiştir [7]. İlaçlarda bulunan bu aktif bileşiklerin önemi, güçlü, basit ve hassas analitik metotların geliştirilmesinde kritik bir rol oynamıştır [8].

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının ana amacı; farklı matrikslerde bulunan sertralinin düşük seviyelerde tayin edilmesine yönelik bir analitik yöntem geliştirmektir. Bu amaç doğrultusunda, geliştirilen yöntem ile sertralin etken maddesinin farklı ticari ilaçlarda yüksek doğruluk ve hassasiyette tayin edilebilmesini sağlamak, sertralinin yapay mide ortamında bozunup bozunmadığını tespit etmek ve geliştirilen ekstraksiyon/önderiştirme yöntemi ile musluk suyu ve atık su matrikslerinde bulunan çok düşük miktarlardaki sertralin etken maddesini yüksek geri kazanım yoluyla tayin edebilmek tez kapsamında hedeflenmiştir. Tüm bu çalışmalar, sertralin analitinin GC-MS (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi) sisteminde yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayinine yönelik gerçekleştirilmiştir.

1.3 Hipotez

Depresyon, çağımızda en sık rastlanan, dünya sağlık örgütü verilerine göre de ilk beşte yer alan ve bu nedenle gerek sağlık gerekse ilaç sektörüne olan ekonomik etkileri açısından dikkatle değerlendirilmesi gereken bir hastalıktır [9].

Antidepresanların ve diğer psikiyatri ilaçlarının gerekli olup olmadığı konusunda tıp dünyasında çeşitli tartışmalar ve farklı görüşler yer almaktadır. Bu tartışmalar devam ederken ülkemizde ve dünya genelinde de antidepresan kullanımı artış göstermeye devam etmektedir. Birçok ilaç çeşidi gibi antidepresanların da dünya genelinde bilinçsiz kullanımı ciddi bir problem olmakla birlikte; bu problem bilgisizlik, duyarsızlık gibi sebeplerden ötürü artarak devam etmektedir. Ayrıca gerekmediği halde antidepresanlara başlayanların birçoğunun ilaç bağımlısı olmaları ve bu ilaçları kolay kolay bırakamamaları da üzerinde tartışılması gereken bir konudur [10]. Yan etkileri

düşünüldüğünde de antidepresanlar diğer ilaç sınıflarına göre ciddi yan etkilere sahiptir. Bu etkiler intiharla sonuçlanarak ölümlere yol açabilmektedir. Bu sebeplerden ötürü bilinçli ilaç kullanımı konusuna dikkat çekmek gerekmektedir. Antidepresanların gerçek anlamda insan sağlığına etkisinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir.

Son yıllarda yeni nesil antidepresanlar olarak ortaya çıkan ve eski tip antidepresanlara göre daha az yan etkiye sahip olduğu düşünülen seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) psikolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [11]. Bu antidepresan sınıfı içerisinde yer alan önemli etken maddelerden biri de sertralindir. Günümüzde antidepresanların kullanımındaki bilinçsizlik ve sahip olduğu yan etkiler göz önünde bulundurulduğunda, bir antidepresan ilaç etken maddesi olarak sertralinin tanımlanması ve tanımlanan bu kimyasalın da etkilerinin araştırılması; bu hedefler doğrultusunda gerçekleştirilen analizlerin doğruluğu ve kesinliği de oldukça önemlidir. Bu da yeni, hızlı, kolay ve duyarlı analitik yöntemlere olan ihtiyacı artırmıştır. Bu çalışmada, sertralin ilaç etken maddesinin kalitatif ve kantitatif analizine yönelik GC-MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilen analitik bir yöntem geliştirilmiştir. GC-MS, sertralin analitinin farklı matrikslerde yüksek doğruluk ve kesinlikte tayininde kullanılan en güvenilir yöntemlerden birisidir. GC-MS sisteminin değişken tüm parametrelerinin optimize edilmesi gerekmektedir. Sertralinin vücutta biyoerişebilirliğinin tespitinde mide ortamında davranışı son derece önemlidir. Bu kapsamda yapılacak çalışmalar literatürde var olan eksikliği tamamlamada önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca, sertralinin musluk suyu ve atık su gibi farklı matrikslerde eser miktarlarda tayini, bir arıtma stratejisi olmayan bu türün çevre örneklerinde derişiminin tespitinde önem taşımaktadır.

BÖLÜM 2

ANTİDEPRESANLAR

2.1 Antidepresanların Tanımı ve Tarihçesi

Antidepresanlar, depresif bozuklukların tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Serotonin, noradrenalin ve dopamin gibi beyinde bulunan, duygu ve düşünce hayatını düzenleyen maddelerin miktarı, depresif bozukluk hastalarında azalma göstermektedir. Antidepresan ilaçlar, miktarlarında azalma görülen bu maddelerin miktarlarını arttırarak hastalıklara etki etmektedirler. Antidepresan ilaçların etkilerinin görülebilmesi için altı ay ile bir senelik zaman periyotlarında kullanılması gerekmektedir. Ayrıca, bu ilaçların depresif bozukluklar dışında diğer ruhsal ve bedensel bozukluklardaki etkilerinin de ortaya çıkarılması ile birlikte kullanımları da hızlı bir artış göstermiştir. Antidepresan ilaçlar, anksiyete bozuklukları, yeme alışkanlıklarındaki bozukluklar, cinsel durum bozuklukları, dürtü denetim bozuklukları gibi birçok teşhis grubunda kullanılmaya başlanmıştır [12].

Çok eski zamanlardan itibaren psikoaktif ilaçlar olarak adlandırılan tütün, esrar, alkol, afyon, kokain gibi maddeler insan psikolojisini farklı amaçlarla etkilemek üzere kullanılmışlardır. Psikolojiye yönelik ilaç çalışmaları ise 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren başlamış ve büyük bir hızla gelişimini sürdürmüştür [13], [14].

1940'lı yıllarda kimyasal yapı olarak nikotinik asite benzerlik gösteren ilaçların verem tedavisinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda, bu ilaçları kullanan veremli hastalarda neşe ve kendine güven duygularında artış olduğu görülmüştür. 1957-1970 yılları arasında ise ilk nesil antidepresan ilaçlar geliştirilmiştir. Bu yıllarda imipramin, amitriptilin, klomipramin gibi trisiklik antidepresanların yanısıra fenelzin ve iraniazid gibi monoaminooksidaz inhibitörleri (MAOI) de ortaya çıkmıştır. 1970-1980 yılları

arasında maprotilin, nomifensin ve viloksazin gibi çeşitleri bulunan ve noradrenalin geri alım inhibitörleri (NARI) olarak adlandırılan antidepresan grubu ilaçlar; 1980-1990 yılları arasında ise fluoksetin, paroksetin ve sertralin gibi çeşitleri bulunan ve serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) olarak adlandırılan antidepresan grubu ilaçlar piyasaya sürülmüştür. Bu dönemlerden günümüze kadar olan süreçte de çeşitli antidepresan ilaçlar piyasaya sürülmeye devam etmektedir [15].

2.2 Antidepresanların Sınıflandırılması

Antidepresan özellikli ilaçlar, çeşitli depresif durumlar ve diğer psikiyatrik bozuklukların tedavisinde yaygınlıkla kullanılmaktadır. Günümüzde, üç temel antidepresan ilaç sınıfı bulunmaktadır. Bu antidepresan ilaç sınıfları, üç halkalı antidepresanlar (TCA), monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI), noradrenalin geri alım inhibitörleri (NARI) ve seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) olarak sıralanabilir [16], [17]. 1980'den önce antidepresan ilaçları sınıfından; üç halkalı antidepresanlar, monoamin oksidaz inhibitörleri ve lityumun tedavi amaçlı kullanımı kabul görmüştür fakat bunların yan etkileri, toksisiteleri ve şiddetli ilaç etkileşimleri nedeniyle merkezi sinir sistemi üzerinde etkili olan ve kayda değer avantajları bulunan yeni antidepresan ilaç türleri ortaya çıkmıştır. Bu yeni nesil antidepresanlar, nöroadrenalin ve/veya serotonine giden yolda daha seçicilikle çalışmakta ve bu antidepresanlar içerisinde de fluoksetin, paroksetin, sertralin ve sitolopram gibi etken maddeleri içeren seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) en önemli grubu oluşturmaktadır [18-20]. Yeni nesil antidepresan ilaçların sınıflandırılmasına ilişkin detaylara Çizelge 2.1'de değinilmiştir.

Çizelge 2.1 Yeni nesil antidepresan ilaçların sınıflandırılması [21], [22].

YENİ NESİL ANTİDEPRESAN SINIFLARI	İLAÇ ETKEN MADDE ÖRNEKLERİ
Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI)	Sertralin Fluoksetin Paroksetin Sitalopram
Alfa 2 Adrenoreseptör Antagonistleri	Mianserin Mirtazapin
Seçici Noradrenerjik Geri Alım İnhibitörleri	Reboksetin Maprotilin
Noradrenalin ve Dopamin Geri Alım İnhibitörleri	Bupropion
Serotonerjik ve Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri	Venlafaksin MilnaCYPran Duloksetin
Seratonerjik İlaçlar	Nefazodon Tianeptin Trazodon Gepiron

2.3 Akılcı Antidepresan Kullanımı

Yanlış, gereksiz, etkisiz ve yüksek maliyetli ilaç kullanımı; hastalık ve ölüm oranlarında artış olması, ilaçların yan etki risklerinin artması, kaynakların bilinçsiz tüketilmesinden

dolayı temel ilaçlara bile ulaşabilirliğin azalması ve dolayısıyla tedavilerin ekonomik/sosyal maliyetlerinin artması gibi tüm dünyada farklı boyutlarda sorunlara sebebiyet vermektedir. Tüm bu sebeplerden ötürü dünya çapında çeşitli çözüm yollarının aranmasına ve geliştirilmesine başlanmıştır. Bu bağlamda, "Akılcı İlaç Kullanımı" çalışmaları son derece önem arz etmektedir [23].

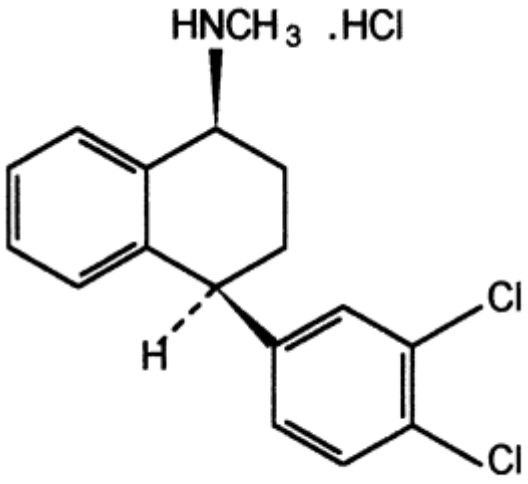
Son yıllarda diğer ilaç gruplarında olduğu gibi antidepresan ilaç kullanımında da tüketimin artışına yönelik ülkemizde ve dünya çapında endişeler sıklıkla dile getirilmektedir. Özellikle, psikiyatrik hastalıklara diğer hastalıklara göre önyargıyla yaklaşılmasından dolayı tıbbi yardımın alınması ve gerekli ilaçların gerekli dozlarda kullanılmasına yönelik sorunların ortaya çıktığı bilinen bir durumdur. Ayrıca, çoklu ilaç kullanımı, ilaçların gereksiz ve aşırı dozlarda kullanımı, tedaviye yönelik uygun olmayan reçetelendirme yapılması ve tıbbi yardıma başvurulmaksızın kişisel tedavilere yönelimin olması akılcı ilaç kullanımına uygun olmamakta, ciddi sorunlar meydana getirmektedir. Antidepresan kullanımının doğru yapılması ve tedavinin etkili olabilmesi için akılcı antidepresan kullanımı oldukça önemlidir. Antidepresanlar, antidepresan ilaç kullanacak hastanın durumuna bakılarak; ilaç tedavisi gerektirdiğinden emin olunduğu zamanlarda, uygun doz ve optimum aralıklarla, konunun uzmanı doktorlar tarafından onaylandığı durumlarda kullanılmalıdır [24].

BÖLÜM 3

SERTRALİN

3.1 Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sertralin; beyaz renkte, karakteristik kokulu, kristalize pudra formundadır. Kimyasal formülü $C_{17}H_{17}Cl_2N$'dir. (1S,4S)-4-(3,4-diklorofenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-amin şeklinde adlandırılır. Şekil 3.1'de amoksisilinin moleküler yapısı görülmektedir.



Şekil 3.1 Sertralinin moleküler yapısı (1S,4S)-4-(3,4-diklorofenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-amin [25]

Sertraline ait bazı özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sertraline ait bazı özellikler [26]

SERTRALİN	
IUPAC Adı	(1S,4S)-4-(3,4-diklorofenil)-N-metil-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-amin
Moleküler Formülü	$C_{17}H_{17}Cl_2N$
Moleküler Ağırlığı	~306.23 g/mol
Erime Noktası	243-245 °C
Görünümü	Beyaz Kristal Pudra
Vücuttan Atılımı	Çoğu dışkı ile olmak üzere, geriye kalan kısım idrarla vücuttan atılmaktadır.

3.2 Sertralinin Antidepresanlardaki Yeri

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri grubunda yer alan sertralin, serotonini seçici ve güçlü olarak hem in-vitro hem de in-vivo hayvan deneylerinde inhibe ettiği gösterilen naftilamin türevi bir antidepresan ilaç etken maddesidir [27-31]. Sertralin, naftilamin türevi olmakla birlikte serotonin geri alımında en kuvvetli ikinci inhibitördür [32].

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri, diğer antidepresan ilaç etken maddelerine göre daha az yan etkilere sahip olması nedeniyle major depresif bozukluklar başta olmak üzere diğer farklı psikolojik bozukluk tedavilerinde dünya çapında yaygın olarak kullanılan antidepresan ilaç etken maddeleridir. Monoamin Oksidaz İnhibitör (MAOI) ve Üç Halkalı Antidepresan (TCA) gruplarının beyindeki dopamin ve nöropinefrin miktarlarına etki etmesinin aksine seçici geri alım inhibitörleri doğrudan serotoninin gerialım mekanizmasında etkilidirler [33-35].

3.3 Farmakokinetik Özelliği

Sertralin, ağız yoluyla vücuda alındığında emilimi yavaş gerçekleşmektedir. En yüksek plazma konsantrasyonu 20-55 mg/L aralığında değişmekle birlikte, bu konsantrasyon değerlerine 100 mg'lık tek doz halinde alındığında yaklaşık 4-8 saatte ulaşılmaktadır.

Gıda ile birlikte alındığında biyoyararlılığı ve maksimum plazma konsantrasyonu %25 oranında artış göstermektedir. Sertralin yüksek oranda karaciğerde metabolize olmaktadır. Vücut içerisinde aktif metaboliti bulunmamakta, metabolitleri idrar ve safra ile dışarı atılmaktadır. Vücuda alınan sertralinin çok az miktarlık kısmı (<%0.2) 48 saat sonra herhangi bir değişime uğramadan idrarda görülmektedir. İlacın yarı ömrü yaklaşık olarak 25-26 saattir [27], [31], [36].

3.4 Sertralinin İlaç Endüstrisindeki Yeri

Sertralin ilk kez 1991 yılında Pfizer İlaçları Ltd. Şti. tarafından piyasaya sürülmüş olup, erişkin bireylerde major depresif bozukluk ve hem erişkin hem de çocuk yaştaki bireylerde obsesif-kompulsif bozukluk, panik bozukluğu, sosyal anksiyete bozukluğu gibi hastalıkların tedavisinde kullanımı kabul görmüş bir antidepresan ilaç etken maddesidir. Bu hastalıkların tedavisinde kullanımı FDA tarafından da onaylanmıştır. İlaç piyasasında sıklıkla **ZOLOFT®** ve **LUSTRAL®** (sertralin hidroklorür) markalarıyla yer almaktadır [21], [37]. Bu markalara ilave olarak sertralin içeren farklı ilaç markaları da bulunmaktadır. Çizelge 3.2'de Türkiye'de kullanımda olan sertralin içeren ilaçların ilaç piyasasında bulunuşlarının listesi görülmektedir.

Çizelge 3.2 Sertralin içeren ilaçlar [38]

İLAÇ	FİRMA	İLAÇ FORMU
Lustec	Biofarma	Tablet
Lustral	Pfizer	Tablet
Misol	Nobel İlaç	Tablet
Selectra	Sanovel	Tablet
Seralin	Zentiva	Tablet
Serdep	Actavis	Tablet
Serotop	Sandoz	Tablet
Serteva	MED İlaç	Tablet

BÖLÜM 4

İLAÇ ETKEN MADDE MİKTAR TAYİNLERİ

Günümüzde çeşitli amaçlar doğrultusunda ilaç kullanımı oldukça yaygın olmakla birlikte, bu durum her geçen gün daha da artış göstermektedir. İlaçların vücuda etki etmesini sağlayan kısımları ise ilaç etken maddeleridir ve her ilaç etki edeceği duruma göre farklı etken maddeler içermektedir. Bu etken maddelerin ilaç bileşimi içerisindeki miktarları da son derece önemlidir. Gereğinden fazla etken madde, ilaçların yan etkileri de göz önünde bulundurulduğunda olumsuz sonuçlara yol açabilmekte; gereğinden az etken madde miktarı ise kullanım amacı açısından herhangi bir yarar gösterememektedir. Bu sebepten ötürü, ilaç etken maddelerinin ilaç içerisinde bulunan miktarlarının tayini, hem üretim hem de piyasa kontrolleri açısından büyük önem taşımaktadır. Aynı zamanda, ilaç etken maddeleri farklı ilaçlarda farklı matriksler içerisinde bulunduğundan bunların tayinini doğrulukla gerçekleştirebilmek de bilimsel olarak önem taşımaktadır [39]. Farklı ilaç etken maddeleri için farklı tayin yöntemleri bulunmaktadır. Literatürde yer alan bu tayin yöntemleri genel olarak, spektroflorimetrik yöntem [40-42], spektrofotometrik yöntem [43], [44], voltametrik (elektrokimyasal) yöntemler [45] ve kromatografik yöntemler olarak sıralanabilir [46], [47]. Sertralin ilaç etken maddesinin de farmasötik preparatlar ve biyolojik sıvılar içerisinde bulunan örneklerinin tayini için farklı birçok yöntem literatürde yer almaktadır. Bunlardan bazıları; spektrofotometre, voltametri, HPLC ve gaz kromatografisidir. Bu yöntemlerden çoğu, yetersiz derecede duyarlılığa sahip fakat buna rağmen meşakkatli çalışma koşullarını ya da son derece gelişmiş ve özel enstrümantasyon cihazlarının kullanımını gerektiren yöntemlerdir [48-50].

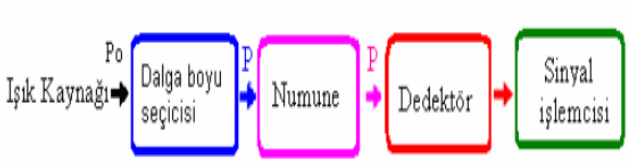
4.1 Spektroflorimetrik Yöntemle Miktar Tayini

Florimetri, kendine özgü bir yöntem olması, düşük tayin sınırlarındaki analizlere imkan vermesi, yüksek duyarlılığa sahip olması ve kolay kullanılabilir olması gibi sebeplerden ötürü ilaç aktif bileşenlerinin tayininde tercih edilen bir yöntemdir. Bu sistem derişimleri 10^{-6}–10^{-9} M olan maddelerin diğer enstrümental yöntemlere göre çok daha fazla kesinlik, doğruluk ve seçicilikle tayin edilebilmesini sağlar ve bu avantajlar da diğer yöntemlere göre florimetrinin bazı üstün özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Birçok ilaç etken maddesi molekül yapılarından ötürü floresans özellik gösterebilmektedir fakat daha duyarlı ve seçici olmasına rağmen spektroflorimetrik yönteme ilişkin çalışmalar diğer yöntemlere kıyasla literatürde daha az tercih edilen bir yöntem olarak kalmıştır [39]. Bu yöntemin sertralin tayininde kullanımına ilişkin çeşitli çalışmalar literatürde rapor edilmiştir. Örneğin;

El-Enany ve ark. [48] çalışmalarında, sertralin ilaç etken maddesinin farmasötik formülasyonlar ve biyolojik akışkanlar içerisindeki tayinine yönelik hassas, basit ve spesifik bir yöntem geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu yöntem, sertralin etken maddesinin 9-floroenilmetil kloroformat (FMOC-Cl) ile borat tampon çözeltisi (pH 8.0) içerisinde yüksek floresans özellikte ürün elde etmek reaksiyonuna ve elde edilen ürünün 265 nm'de uyarıldıktan sonra 315 nm'de floresans yoğunluğunun ölçümüne dayanmaktadır. Reaksiyon ürününün kararlılığını ve gelişimini etkileyen deneysel parametreler üzerine dikkatlice çalışılmış ve bu parametreler optimize edilmiştir. Floresans yoğunluğu ve konsantrasyona bağlı olarak oluşturulan eğri 0.05-1.0 μg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal bulunmuş, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 5.34×10^{-3} μg/mL ve 0.016 μg/mL olarak tespit edilmiştir.

4.2 Spektrofotometrik Yöntemlerle Miktar Tayini

Spektroskopi, herhangi bir örnekteki atom, molekül veya iyonların belirli bir enerji düzeyinden bir diğer enerji düzeyine geçişleri esnasında absorblanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasıdır [51]. Spektroskopi, madde ile elektromanyetik ışıma arasındaki ilişkiyi incelemenin yanı sıra madde ile diğer enerji çeşitleri arasındaki etkileşimleri de inceleyen bir analitik yöntemler grubudur [52-55].



Şekil 4.1 Spektrofotometre cihazı diyagramı [52]

Spektroskopik yöntemler, atomik ve moleküler spektroskopi olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Atomik spektroskopi yalnızca elektronlar bazında enerji düzeyleri arasındaki geçişleri incelemekle birlikte, moleküler spektroskopi elektronik düzeyler arasındaki geçişlerin yanında dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleri de göz önünde bulundurmaktadır ve bu sebepten dolayı moleküler spektrumlar, atomik spektrumlara göre daha anlaşılması güç spektrumlardır [51], [56].

Spektroskopik yöntemler içerisinde kullanım açısından en çok tercih edilen yöntemler, UV-VIS (Mor Ötesi Görünür Bölge), NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) ve IR (Kırmızı Ötesi) yöntemleridir [51].

Mor Ötesi-Görünür Bölge spektrofotometrik ölçümler kalitatif ve kantitatif analizlerde en çok tercih edilen yöntemlerden biridir [52]. UV-VIS spektroskopisi sayesinde bilinmeyen maddelerin tanımlanması sağlanabilmekte ya da bilinen maddelerin konsantrasyonları belirlenebilmektedir. Bu spektroskopi yönteminin tercih edilebilir olması için, kullanılacak solventler iyi çözme özelliği göstermeli ve geniş bir UV aralığında UV ışınını geçirebilme yeteneğine sahip olmalıdırlar [51], [57].

Nükleer Manyetik Rezonans spektroskopisi, kuvvetli bir manyetik alan içerisinde, moleküllerin yapısında bulunan belirli çekirdeklerin radyo dalgalarını absorblaması temeline dayalı yöntemdir. NMR, bir molekülün yapısında bulunan C ve H atomları hakkında bilgi sahibi olunmasını sağlar ve bu da özellikle yeni sentezlenen bileşiklerin yapılarının bilinebilmesi açısından son derece önem taşımaktadır [51].

Infrared spektroskopisi, maddenin infrared ışınlarını absorblayabilme yeteneğine sahip olmasını gerektirir. Üç temel IR bölgesi vardır; bunlar yakın IR (780-2500 nm), orta IR (2500-25000 nm) ve uzak IR (50000-100000 nm) bölgeleridir. Çok az sayıda molekül dışında tüm moleküller IR spektrumu verebilmektedirler. Moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında ve fonksiyonel grupların varlığının saptanmasında IR spektroskopisi önemli bir yere sahiptir [51].

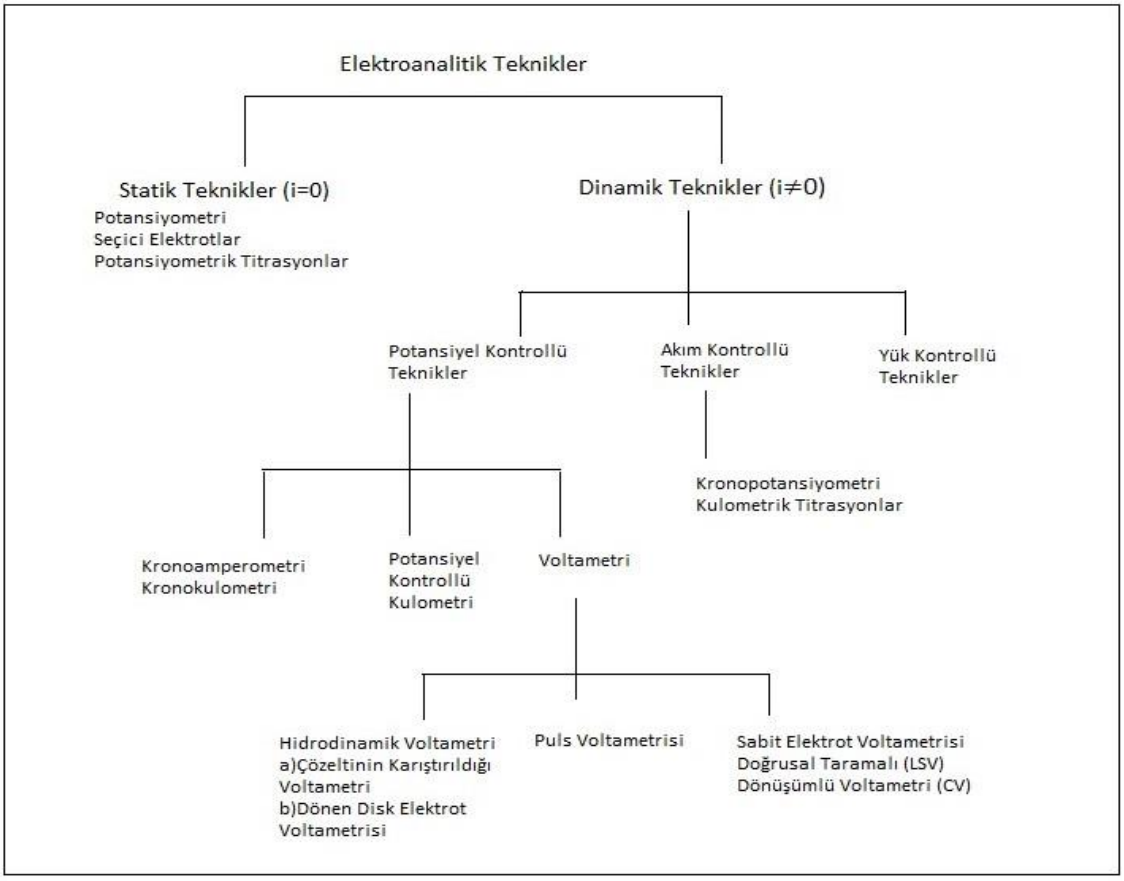
Kütle spektroskopisi, tüm spektroskopi yöntemleri arasında en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Maddelerin elementel boyutta bileşimlerinin tespit edilmesinden, kalitatif ve kantitatif analizlere, moleküllerin yapılarının belirlenmesinden, numunenin içerdiği atomlara ait izotop oranlarının tespit edilmesine kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir. Kütle spektroskopisinde yüklü parçacıklar oluşturulmakta ve oluşan bu parçacıklar m/z (kütle/yük) oranlarına göre sınıflandırılarak spektrumlar elde edilmektedir. Bu spektrumların değerlendirilmesi sonucunda maddenin kalitatif ve kantitatif tayin edilmesi sağlanmaktadır [51], [56]. Spektrometrik yöntemlerin sertralin kimyasalının tayininde kullanımına yönelik birçok çalışma literatürde yer almaktadır.

Jahangir ve ark. [58] çalışmalarında, sertralin ilaç etken maddesinin farmasotik ve kan örneklerindeki tayinine yönelik basit ve hassas spektrometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem, semantik ve kloranilik asitin, hafif alkali ortamda, 527.5 nm'de maksimum absorbansa sahip mor renkli bir kompleks vererek oluşturduğu reaksiyona bağlı olarak gerçekleşmektedir. Reaksiyonun 0.01 mg/mL konsantrasyona sahip sertraline seçici olduğu belirlenmiştir. Renk reaksiyonu, sertralinin 0.10-5.0 mg/mL konsantrasyon aralığı için % 0.19 bağıl standart sapma değeriyle Beer Kanunları'na uymaktadır. Sertralinin kan örneklerindeki miktarlarına yönelik tahmin çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Onal ve ark. [59] çalışmalarında, farmasotik preparatlar içerisindeki sertralin, fluoksetin ve venlafaksin ilaç etken maddelerinin tayinine yönelik basit ve tekrarlanabilir spektrometrik yöntemler geliştirmişlerdir. Bu yöntem, asidik tampon çözeltisi içerisinde sarı renkli iyon çifti kompleksleri üretmek amacıyla, çalışılan ilaç etken maddeleri ile iyon çifti ajanları (bromotimol mavisi, bromokresol yeşili ya da bromofenol mavisi) arasındaki reaksiyona dayanmaktadır. Kloroform ile gerçekleştirilen ekstraksiyondan sonra, iyon çifti kompleksleri optimum dalga boyunda spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Reaksiyon şartlarının optimizasyonu sağlanmıştır. Beer Kanunu 1.0-15 μg/mL konsantrasyon aralığında doğrulanmıştır. Molar absorbtivite, Sandell hassasiyeti ve LOD/LOQ değerleri belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem, ulaşılabilen bazı ticari preparatlar içerisindeki çalışmaya konu olan etken maddelerin tayini açısından başarıyla uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, HPLC yöntemiyle gerçekleştirilmiş çalışmalardan toplanan sonuçlar ile istatistiki olarak eşleştirilmiştir.

4.3 Voltametrik Yöntemlerle Miktar Tayini

Elektroanalitik kimya, bir analitin elektrokimyasal özelliklerinin elektrokimyasal bir hücre içerisinde incelenmesini sağlayan yöntemler bütünüdür. Elektroanalitik yöntemler, elektriksel etki yapılan sistemin verdiği cevabı ölçme ilkesine dayanmaktadır ve elde edilen cevap sayesinde sistemin özellikleri hakkında bilgi sahibi olunması sağlanır. Ayrıca, elektroanalitik yöntemler, uygulama kolaylığı ve düşük maliyetli olması gibi avantajlar da sağlamaktadır [60-62].



Şekil 4.2 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması [63]

Yükseltgenme ve/veya indirgenme özelliği gösterebilen organik ya da inorganik maddelerin farklı ortamlardaki çözeltilerinden optimum koşullar altında voltamogram (akım şiddeti-potansiyel eğrileri) adı verilen eğriler elde edilmektedir. Voltametri de bu eğrilere ait özelliklerin incelenmesine ve değerlendirilmesine dayanan analiz tekniği olarak adlandırılmaktadır [62], [63], [65].

Düşük derişimlerde ilaç aktif bileşenleri tayinleri yapılabilmesine imkan vermesi, analizi yapılacak örneklerin kolayca hazırlanabilir olması, zamandan tasarruf sağlaması,

ortamda bulunan safsızlıkların analiz sonuçlarını etkilememesi gibi avantajlarından dolayı voltametrik yöntem eczacılık alanında ve klinik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Farklı ilaç formülasyonlarının katkı maddeleri gibi etken madde dışında kalan kısımları genelde herhangi bir elektro aktivite göstermediğinden, bu kısımlara ayırma işlemi uygulanmaksızın voltametrik yöntemler uygulanabilmektedir [60], [66].

Izadyar ve ark. [67] çalışmalarında, iyon transferi sıyırma voltametrisi tekniğini kullanarak, içme ve nehir sularında bulunan sertralin, sitalopram ve fluoksetin gibi seçici serotonin geri alım inhibitörü sınıfındaki antidepresan etken maddelerinin tayinini gerçekleştirmişlerdir. Yaygınlıkla kullanılan bu antidepresanlar, içme suyuna karıştıkları zaman yüksek toksisitelerinden dolayı kirletici olmaktadırlar. Bu çalışmada, seçici serotonin geri alım inhibitörü grubundaki antidepresanların, katyonik formda ve nanomolar konsantrasyonlarda, hassas, ucuz ve tek kullanımlık kurşun kalem elektrodu kullanılarak tayin edilebilmesi için iyon transferi sıyırıcı voltametri yöntemi uygulanmıştır. LOD değerleri, fluoksetin, sertralin ve sitalopram ilaç etken maddeleri için sırasıyla 35, 45 ve 25 nM olarak bulunmuştur. Kurşun kalem, elektrokimyasal birikim 3,4-etilendioksitiyofen (PEDOT-C_{14}) tarafından değiştirilmiş ve sonra plastikleştirilmiş poli(vinil klorür) (PVC) ile kaplanmış membrana daldırılmıştır. Modifiye edilmiş elektrot, PVC/PEDOT-C_{14}, sıyırıcı voltametrik modunda çalıştırılmıştır. 100 nM ile 1000 nM arasında sırasıyla fluoksetin, sertralin ve sitalopram için musluk ve nehir suyu örneklerinde lineer bir akım cevabı alınmıştır. Membran kaplı elektrot ile yapılan ölçümler, bu antidepresanların lipofilikliği üzerine bilgi sağlamış ve böylelikle onların toksisiteleri ve insan sağlığına olan risklerinin daha iyi anlaşılabilmesine katkıda bulunmuştur.

Nouws ve ark. [68] çalışmalarında, sertralinin ilaç preparatları içerisindeki tayininin gerçekleştirilebilmesi için sıvı enjeksiyon kare dalga katodik sıyırma voltametrisi kullanımına dayalı bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, tepe akım yoğunluğu ve sertralin konsantrasyonu arasında oluşturulan eğri için, 0.20×10^{-6} ve 1.20×10^{-6} mol/L aralığında lineerlik göstermektedir. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1.50×10^{-7} ve 5.0×10^{-7} mol/L olarak bulunmuştur. Her saat için yetmişe yakın örnek yüksek duyarlılıkla analiz edilebilmiştir (Bağıl standart Sapma, % 2.50). Geliştirilen yöntem, ticari ürünler içerisindeki sertralin tayini için başarıyla uygulanmıştır. Sertralinin akış içerisindeki

voltametrik tayini düşük maliyetle gerçekleştirilmiş olup, genellikle analizler için kullanılan kromatografik yöntemlere bir alternatif olması sağlanmıştır.

4.4 Kromatografik Yöntemlerle Miktar Tayini

Kromatografi, ilk kez Rus botanikçi Mikhail Tswest tarafından üzerinde çalışılmış ve geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem, sabit faz ve hareketli faz olarak adlandırılan ve birbiri ile karışmayan iki fazın biraraya gelerek oluşturduğu bir sistemin kullanılması mantığına dayanır ve bu sistem kullanılarak gerçekleştirilen ayırma ve saflaştırma işlemleridir. Tswest, bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini birbirinden ayırmak amacıyla kromatografik çalışmalar üzerine yoğunlaşmıştır. Çalışmalarında kullandığı kolonda renkli bantlar oluştuğundan dolayı da bu yöntemi kromatografi olarak adlandırmıştır [51].

Kromatografi, kimyasal bileşenleri birbirinden ayırmak, birbirinden ayrılan bu kimyasal bileşenlerin tanınmasını sağlamak ve tayinini gerçekleştirebilmek amacıyla sıklıkla tercih edilen analitik bir yöntemdir. Kromatografik yöntemlerin tümünde sabit faz ve hareketli faz olarak adlandırılan iki faz bulunmaktadır. Ayrılacak karışımı oluşturan bileşenler, gaz ya da sıvı bir fazın oluşturduğu akış ile birlikte sabit faz üzerinden geçirilir; bileşenlerin sabit faz üzerindeki hareketlerinin hızlarına ve dolayısıyla sabit faz üzerindeki tutunma sürelerine göre birbirlerinden ayrılmaları sağlanır [69].

Kromatografik yöntemler kendi aralarında üç alt gruba ayrılmaktadırlar;

1) Ayrılma Mekanizmalarına Göre Kromatografik Yöntemler

- Adsorbsiyon Kromatografisi
- Partisyon Kromatografisi
- İyon Değiştirme Kromatografisi
- Jel filtrasyon Kromatografisi
- İyon Çifti Kromatografisi
- Afinite Kromatografisi

2) Uygulama Şekillerine Göre Kromatografik Yöntemler

- Düzlemsel Kromatografi

- Kâğıt Kromatografisi
- İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

- Kolon Kromatografisi
  - Gaz Kromatografisi (GC)
  - Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

3) Faz Çeşitlerine Göre Kromatografik Yöntemler

- Sıvı Kromatografisi
  - Sıvı-Katı Kromatografisi
  - Sıvı-Sıvı Kromatografisi
- Gaz Kromatografisi
  - Gaz-Katı Kromatografisi
  - Gaz-Sıvı Kromatografisi

Farklı kromatografik ayırma sistemleri ile sertralinin tayinine yönelik çalışmalar literatürde bulunmaktadır.

Xu ve ark. [70] çalışmalarında, insan plazması örneklerindeki sertralin ilaç etken maddesinin yüksek performans sıvı kromatografisi cihazı kullanılarak tayinine yönelik basit, hızlı ve hassas bir yöntem geliştirmişlerdir. Lorazepam, iç standart (IS) olarak kullanılmıştır. Numune hazırlama, etil asetat ve normal hegzanın solvent olarak kullanıldığı sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırma için ise 50 ^{0}C' de ZORBAX SB-C_{18} (4.6 x 150 mm x 5 pm) kolon kullanılmıştır. Mobil faz olarak asetonitril, 0.15 M sodyum dihidrojen fosfat ve su karışımı (36:20:44, V/V/V) 1.0 mL/dk akış hızında kolondan geçirilmiştir. Dalga boyu, 0-6.40 dakikaları arasında 240 nm; 6.40-7.0 dakikaları arasında 200 nm olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem, Çin sağlık gönüllülerinde biyoeşdeğerlik çalışmaları kapsamında başarıyla uygulanmıştır.

Urinovska ve ark. [71] çalışmalarında, ultra performans sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (UPLC-MS/MS) cihazı ile eş zamanlı tayin yapmaya yönelik hızlı ve basit bir yöntem geliştirmiş ve uygulamışlardır. Bu yöntem, yetişkin ilaçlarındaki sertralin, fluoksetin, sitalopram, paroksetin, venlafaksin gibi etken maddelerin ve

onların aktif ve aktif olmayan metabolitlerinin insan serumundaki tayinine dayanmaktadır. Serum proteinlerinin çökelmesi, çökeltme reaktifi ile sağlanmıştır. Alprenolol iç standart olarak kullanılmıştır. Kromatografik ayırma BEH C_{18} kolonla gradyanlı elüsyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Mobil faz A: % 5'lik asetonitril içerisinde 2 mmol/L amonyum asetat, % 0.10 formik asit; Mobil faz B: % 95'lik asetonitril içerisinde 2 mmol/L amonyum asetat, % 0.10 formik asit). İyonizasyon için pozitif modda elektrosprey yöntemi kullanılmıştır. Gözlemleme, çoklu reaksiyon takip işlemi ile üç-dört kutuplu tandem kütle spektrometresi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Analiz süresi beş dakika olarak belirlenmiştir. İlaçlar düşük, orta ve yüksek seviyeler olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayıları 0.995-1.0 aralığında bulunmuştur. Geliştirilen yöntem, tamamıyla uygulanmış ve rutin analizler için başarılı olarak uygulanabilmiştir.

BÖLÜM 5

GAZ KROMATOGRAFİSİ (GC)

5.1 Çalışma Prensibi

Kromatografi, ayırma ve tayin yöntemi olarak analitik kimyada yaygın olarak kullanılan, sabit ve mobil (hareketli) faz olmak üzere iki faz arasındaki dağılım mantığına dayanan bir analiz yöntemidir. Kullanılan mobil faz, gaz ise bu kromatografik yöntem gaz kromatografisi (GC) olarak adlandırılmaktadır [72].

5.2 Enstrümantasyon

Gaz kromatografisi iki kısımdan meydana gelmektedir;

1) Ayırma Kısmı

- Taşıyıcı gaz
- Akış kontrol birimi
- Enjeksiyon birimi
- Kolon fırını
- Kolon

2) Analiz Kısmı

- Dedektör
- Bilgi işlem birimi
- Kaydedici

Akış kontrol birimi; taşıyıcı gazın, sisteme tanımlanmış olan akış hızında herhangi bir değişim olmaması için, akış hızının belirlenen değerde kalmasının kontrolünü gerçekleştirmektedir.

Enjeksiyon birimi; enjekte edilen örneğin buharlaştırıp sisteme gönderilmesini sağlamaktadır.

Kolon fırını; kolon sıcaklığının kontrolünü sağlamaktadır.

Kolon; analit(ler) in ayırımlarının gerçekleştiği birimdir.

Dedektör; tayini yapılacak örneklerin konsantrasyon değerlerine göre akım veya gerilim üretilmesini sağlayan birimdir.

Bilgi işlem birimi; dedektörden alınan çıktıları kromatogramlar haline getiren ve bu kromatogramlara göre hesaplamalar yapan birimdir [73].



Şekil 5.1 Gaz kromatografisi

5.2.1 Ayırma İşlemi

Analizi yapılacak olan karışım cihaza enjekte edildikten sonra bu karışım, sistem içerisindeki kolon adı verilen ince bir boru içerisinden taşıyıcı gaz yardımıyla geçirilmekte ve örnek, kolon içerisinden geçerken karışımı oluşturan bileşenlerin birbirinden ayrılması sağlanmaktadır. Kolonda ayrılan her bir bileşene ait sinyalin yer aldığı pik şemasına da kromatogram adı verilmektedir [73], [74].

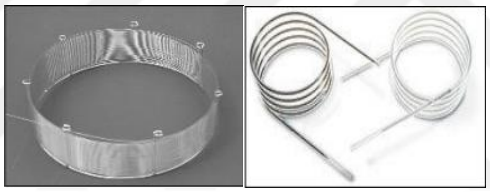
5.2.2 Taşıyıcı Gaz

Analizi yapılacak olan karışım sisteme enjekte edilmekte ve taşıyıcı gaz ile birlikte kolon içerisinde sürüklenmeye başlamaktadır. Taşıyıcı gaz, kolon içerisinde bulunan dolgu maddesi ve karışımı oluşturan madde türleriyle reaksiyona girmeyecek özellikte

yani inert özellik gösteren gazlardan seçilmelidir. Bu amaç doğrultusunda kullanılabilecek olan inert gazlar; He, Ar, N_2, H_2 ve CO_2'dir [52]. Kullanılan dedektör tipi taşıyıcı gaz seçiminde rol oynamaktadır. Ayrıca, çalışma için gerekli ayarlamaların yapılabilmesi için taşıyıcı gaz tüpü üzerinde; basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunmaktadır [73].

5.2.3 Kolon

Gaz kromatografide kullanılan kolonlar, fırın içerisinde yer almaktadır ve fırın içi sıcaklığı da cihaz tarafından kontrol altında tutulmaktadır. Ayırma işlemi için çoğunlukla iki tip kolon tercih edilmektedir. Bunlar; dolgulu ve kapiler kolonlardır (Şekil 5.2). Dolgulu kolonların iç çapı 2.0-4.0 mm, uzunlukları ise 1.50-10 m arasında olabilmektedir. Kolon hattı malzemesi, genellikle paslanmaz çelik, cam, bakır, alüminyum ya da teflon malzemeden seçilmektedir. Bu kolonların iç yüzeyi, sabit sıvı fazla kaplıdır ve homojen olarak inert katı madde ile doldurulmuştur [72].



(a)Kapiler kolon (b) Dolgulu kolon

Şekil 5.2 Kolon tipleri. (a) Kapiler kolon, (b) Dolgulu kolon [72], [75]

Kapiler kolonlar, dolgulu kolonlara oranla daha yüksek hassasiyette ve verimde ayırma gerçekleştirebilmektedirler ve dolgulu kolonlara göre daha kullanışlı oldukları bilinmektedir. Kapiler kolonlar silika malzemeden imal edilmektedirler. İç çapları 0.25-0.53 mm, uzunlukları ise 15-60 m arasında değişim göstermektedir. Kapiler kolonların iç yüzeyi ince bir film tabaka ile kaplanmıştır ve bu ince film tabaka sabit sıvı faz kullanılarak oluşturulmuştur. Bu film tabakanın kalınlığı 1 μm'dir [51], [73], [76].

5.2.4 Dedektörler

Gaz kromatografi cihazında farklı dedektörler kullanılabilmektedir. Bu dedektörler;

- Kütle Spektrometresi (MS)
- Alev İyonizasyon Dedektörü (FID)

- Elektron Yakalama Dedektörü (ECD)
- Termal İletkenlik Dedektörü (TCD)'dür.

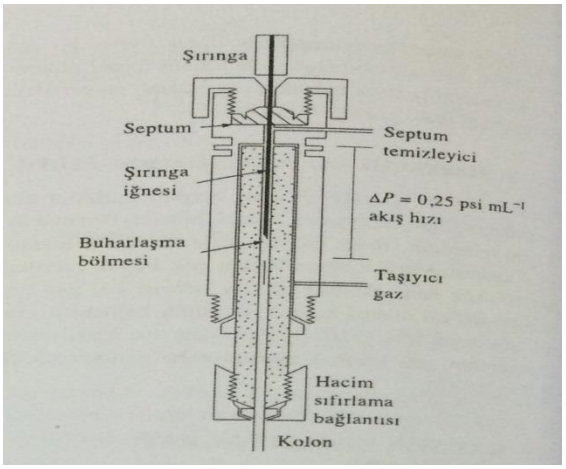
GC-MS ve GC-FID kombinasyonlarında; analizi yapılacak olan karışım kolona girmekte ve bu karışımı oluşturan bileşenler polarlık derecelerine göre kolonda ayrılarak dedektör kısmına ulaşmaktadırlar. Her iki dedektör kombinasyonu için de bu aşama aynıdır fakat bir sonraki adımda, MS dedektörü için bileşenler molekül ağırlıklarına göre parçalanırken; FID dedektörü için bileşenler alev içerisinde iyonlaştırılmakta ve iyonlaşma derecelerine göre ayrım sağlanmış olmaktadır.

GC-ECD kombinasyonunda; kolondan çıkan bileşenlere düşük enerjili β ışınları ile muamele edilmektedir. Organik madde yokluğunda, iyonizasyon sonunda sabit bir akım elde edilirken; organik madde varlığında ise, iyonizasyon sonucu akım düşmekte ve akımdaki bu azalma ölçülerek sinyal elde edilmektedir.

GC-TCD kombinasyonunda; gaz akımındaki termal iletkenliğin değişimi ölçülmektedir. Termal iletkenlik dedektörleri, diğer dedektörler kadar hassas özellikte değillerdir [51].

5.2.5 Enjeksiyon Blok Türleri

Enjeksiyon portu, kolonun üzerinde bulunur ve numune girişinin yapılabilmesi için gereklidir. Mevcut enjeksiyon yöntemleri, numunenin enjeksiyon edilebilmesi ve buharlaştırılabilmesi için ısıtılmış örnek portlarının kullanımı ile çalışmaya başlamaktadır.



Şekil 5.3 Enjeksiyon bölmesi buharlaştırıcısının kesiti [77]

Enjeksiyon portları, dolgulu kolon enjeksiyon portu ve kapiler kolon enjeksiyon portu olmak üzere iki çeşittir. Dolgulu kolon enjeksiyon portu ısıtılmakta ve ısıtma sonucunda numunenin hızlıca buharlaştırılması sağlanmaktadır. Enjektörden geçen taşıyıcı gaz da eş zamanlı olarak ısınmakta ve numunenin şırınga aracılığıyla enjeksiyonu sağlanmaktadır. Buhar faza geçen numune ile ısınmış taşıyıcı gaz kolona girerek, birlikte kolon içerisinde sürüklenmeye başlamaktadırlar. Kapiler kolon enjeksiyon portu ise kendi arasında iki alt gruba ayrılmaktadır; split ve splitless enjeksiyon portları. Split enjeksiyon yönteminde, kalibre edilmiş mikro ölçekli şırınga buharlaşma odasının içine lastik bir bölme ile birkaç mikrolitre numune hacmi sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Ayırma, ilk numune hacminin sadece küçük bir bölümünün kullanımını gerektirmektedir. Numuneden geriye kalan kısım split-line aracılığıyla atılmaktadır. Splitless enjeksiyon yönteminde ise numunenin tamamına yakını kolona girmektedir. Numunenin sisteme enjeksiyonu ve kolona girişi boyunca split-line kapalıdır. Numunenin kolona girişi tamamlandıktan sonra split-line açılarak geriye kalan numune buharlarını tasfiye etmek için kullanılmaktadır [72], [73].

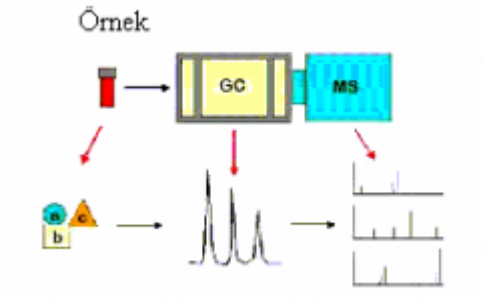
5.3 Gaz Kromatografi ile Spektroskopik Yöntemlerin Birlikte Kullanımı

Gaz kromatografi, kompleks karışımların ayrılmasında, seçici spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemlerle birleştirilerek sıklıkla kullanılabilmektedir. Günümüzde, analizi gerçekleştirilerek ayrılan bileşenlerin, kolon çıkışına bağlanmış bir dedektörle izlenmesi yaygın kullanılan bir tekniktir. Bu teknik, beraberinde bilgisayar kullanımını da gerektirmektedir. Böylelikle, bilgisayar belleğine aktarılan spektral bilgiler ve kromatogramlar kalitatif ve kantitatif tayinlerde kullanılabilir [77].

5.3.1 Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Kütle spektrometresi, analizi yapılan karışımları kütle/yük (m/z) oranlarına göre kısa sürede ayırabilen bir cihazdır. Numune öncelikle, yüksek vakum özellikli kütle spektrometresine girmekte ve bir iyon kaynağı tarafından iyonize hale getirilmektedir. İyonizasyonunu tamamlayan numunedeki güçsüz bağlar kopmakta ve dolayısıyla numunenin parçalara ayrılması sağlanmaktadır. Elde edilen bu parçalar, kütle/yük oranlarına göre sınıflandırılarak dedektöre yollanmaktadır. Böylelikle, çok kısa süre içerisinde kütle spektrumları elde edilmektedir. Bir bileşene ait kütle spektrumları, eğer analizler aynı şartlar altında gerçekleştirildiyse farklılık göstermemektedir. Bu durum,

varolan ya da sonradan satın alınarak cihaza yüklenmiş kütüphaneler sayesinde, bileşenlerin kalitatif analizlerinin yapılabilmesini sağlamaktadır. Mevcut analitik yöntemler ile kıyaslandığında, en yaygın kullanım alanına sahip yöntem kütle spektrometresidir.



Şekil 5.4 GC-MS sistemi [59]

GC-MS sisteminin organik, inorganik ve biyolojik moleküllerin yapı tayinlerinde, yoğun matriksli karışım analizlerinde kullanılması gibi daha birçok alanda uygulaması bulunmaktadır [73], [77].

5.4 GC-MS ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Pietracci ve ark. [78] çalışmalarında, sertralinin de içinde yer aldığı yeni nesil bazı antideprasan ilaç etken maddeleri ve onların metabolitlerinin plazmadaki tayinlerine yönelik GC-MS cihazı kullanımına dayanan bir yöntem geliştirmişlerdir. Numune hazırlama işlemi ter-bütil metil eter ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gaz kromatografide ayırma işlemi 23.76 dakikada tamamlanmıştır. Yöntemin duyarlılığını artırmak amacıyla kalitatif ve kantitatif analizler SIM modunda kütle seçici bir dedektör ile elektron darbeli iyonizasyon gaz kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemin uygulaması, çalışılan parametreler için lineerlik, duyarlılık, seçicilik, doğruluk, kesinlik ve geri kazanım açısından değerlendirildiğinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. LOQ değerleri 0.005-0.10 µg/mL, LOD değerleri ise 0.0025-0.05 µg/mL aralıklarında bulunmuştur. Geliştirilen yöntem hızlı ve basit bir yöntem olmakla birlikte, son dönemlerde yaygınlıkla kullanılan antidepresanların tanımlanmasına ve miktar tayinlerinin yapılmasına imkan sağlamıştır ve rutin klinik veya adli toksikoloji çalışmaları açısından kullanışlı olabilecek bir yöntemdir.

Kim ve ark. [79] çalışmalarında, sertralinin insan plazması örneklerinde GC-MS ile seçici iyon görüntüleme (SIM) modu kullanılarak tayinine yönelik bir yöntem

tanımlamışlardır. Çalışma boyunca, plazma proteinlerinin deproteinizasyonundan sonra bazik pH değerlerinde sıvı-sıvı ekstraksiyon ve daha önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında on kat daha yüksek hassasiyete sahip olan HFBA ile perfloro açillemesi kullanmışlardır. N-HFB'nin türevi olarak sertralin için SIM modda gözlenebilme limitini 0.10 ng/mL ve geri kazanımını %80-85 aralığında bulmuşlardır. Doğrusal aralık 0.999 korelasyon katsayısı ile 0.20-10.0 ng/mL aralığında bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, insan plazmasındaki sertralin tayini için geliştirilen yöntemin yeterli hassasiyet ve doğrulukta olduğu görülmüştür.

Pujadas ve ark. [80] çalışmalarında, sertralinin de içerisinde bulunduğu çeşitli psikoaktif ilaçların tükürük içerisindeki kalitatif ve kantitatif analizlerine yönelik GC-MS cihazıyla gerçekleştirilen basit ve güvenilir bir yöntem geliştirmişlerdir. İnternal standart olarak morfin, 3,4-metilendioksimetafetamin, (±)-11-nor-9-karboksi-delta-9-tetrahidrokannabinol ve klonazepam kullanılmış ve tüm bileşenler eş zamanlı katı faz ekstraksiyonu ile tükürükten ekstrakte edilmiştir. Asidik bileşenler aseton ile bazik ve nötral bileşenler ise diklorometan:izopropanol:amonyum (80:20:2, v/v/v) ile birbirinden ayrılmıştır. Kromatografide metilsilikon kılcal kolon kullanılmış ve SIM mod kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Farklı analitler için geri kazanım yüzdeleri % 44.5-97.7 aralığında, gözlenebilme limitleri ise 0.90-44.2 ng/mL aralığında bulunmuştur.

Rogowsky ve ark. [81] çalışmalarında, insan plazmasındaki sertralin ve ana metaboliti olan desmetilsertralinin tayinine yönelik yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmada hem sıvı kromatografi hem de gaz kromatografisi-kütle spektrometresi cihazları kullanılmıştır. Analizler ters faz sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiş olup gerekli olduğu durumlarda GC-MS yöntemine başvurulmuştur. LC sisteminde lineer aralık her iki analit için de 0.01-2.50 mg/mL konsantrasyon değerleri aralığında tespit edilmiştir. LOD değeri ise 0.01 mg/L olarak bulunmuştur.

Papoutsis ve ark. [82] çalışmalarında, sertralinin de içerisinde bulunduğu 11 antidepresan ilacın ve bunların 4 metabolitinin GC-MS sistemi kullanılarak eş zamanlı tayinine yönelik basit, kendine özgü ve hassas bir yöntem geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Yöntemin hassaslığını geliştirmek ve matriks etkisini azaltmak amacıyla heptaflorobütirik anhidrit kullanılarak katı faz ekstraksiyonu ile türevlendirme yapılmıştır. Protriptilin internal standart olarak kullanılmıştır. Tüm analitler için geri

kazanım yüzdeleri % 79.2-102.6 aralığında tespit edilmiştir. LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla 0.30-1.50 µg/L ile 1.0-5.0 µg/L aralığında bulunmuştur. Bu çalışma ile birlikte, geliştirilen yöntemin rutin işler için kullanılabilir uygunlukta olduğu kanıtlanmış ve 2500'den fazla klinik ve adli kan örneklerinde başarıyla uygulanmıştır.

BÖLÜM 6

EKSTRAKSİYON

Yoğun matrikse sahip örneklerde analitlerin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayin edilebilmeleri için ekstraksiyon işlemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu adımda, ilgi konusu bütün türler herhangi bir değişiklik olmaksızın matriksten çözeltiye alınmaktadır. Farklı analitik yaklaşımlar, etkili ekstraksiyon ugulama şeklini bulabilmek için kullanılabilmektedir. Ekstraksiyon uygulama şekillerinin etkinlikleri, tayin edilecek maddenin bulunduğu örnek matriksine bağlıdır. Ekstraksiyon prosedürlerinde, ana amaç yüksek ekstraksiyon verimi elde edebilmektir [83].

Sıklıkla kullanılan ekstraksiyon yöntemleri;

- Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu
- İyon Değiştirme
- Katı Faz Ekstraksiyonu
- Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu'dur [84].

6.1 Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı fazdaki analitin, sıvı olmayan ya da sıvı fazla karışım oluşturmayan organik faza geçişiyle gerçekleşen ekstraksiyon sıvı-sıvı ekstraksiyondur. Hacimce az olan organik faz ekstraksiyon kabına yerleştirilir, daha sonra yüksek hacimdeki örnek aynı kaba eklenerek; numune içindeki ekstrakte edilecek örneğin organik faza geçmesi, dolayısıyla yüksek zenginleştirme faktörlerinin elde edilmesi sağlanır [84], [85].

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır ve sertralin tayini için literatürde de bu yöntemle ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin,

Huang ve ark. [86] çalışmalarında, kapiler elektroforez ile birleştirilmiş dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemini kullanarak, sertralin tayinine yönelik yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Aseton ve diklorometan sırasıyla dağıtıcı ve ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyon ve dağıtıcı solvent karışımı hızlı bir şekilde 1.0 mL sulu örnek çözeltisine enjekte edilmiştir. Ekstraksiyondan sonra, sertralin analiti UV dedektör ile donatılmış kapiler elektroforez kullanılarak analiz edilmiştir. Sertralinin ekstraksiyonu için dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin kullanılmasıyla birlikte 74 kat geliştirilmiş hassaslık elde edilmiştir. Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon ekstrat tortusu %20 metanol içeren 5 µL suda yeniden çözülmüştür. Tayin hassaslığı, yükseltilmiş alan numune yığını (FASS) yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir. Çevrimiçi sertralin konsantrasyonu için yükseltilmiş alan numune yığını yöntemi kullanılarak hassaslıkta 11 kat gelişme elde edilmiştir. Optimum ekstraksiyon ve yığın koşulları altında, kalibrasyon eğrisi 0.01-1.0 µM aralığında lineer olarak elde edilmiştir. LOD, sinyal/gürültü oranı 3 olduğunda sertralin için 2.50 nM olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem, insan idrar örneklerinde bulunan sertralinin tayininde başarıyla uygulanmıştır.

Fernandez ve ark. [87] çalışmalarında, aralarında sertralinin de yer aldığı 6 çeşit ikinci nesil antidepresanın plazmadaki eş zamanlı tayinlerine yönelik ultrason destekli dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin kullanıldığı, fotodiod detektör ile donatılmış ultra performans sıvı kromatagrafisi cihazıyla gerçekleştirilen bir yöntem sunmuşlardır. Dağıtıcı çözücü olarak 2.50 mL asetonitril, ekstraksiyon çözücüsü olarak 0.20 mL kloroform; ayrıca 3 dakikalık ultrason karıştırması ve ekstraksiyon için pH 9.80 optimum koşullar olarak belirlenmiştir. Kullanılan yöntem ile optimum koşullarda 2.50 dakikada antidepresanlar iyi bir ayrım göstermiş ve 0.02-4.0 µg/mL aralığında iyi bir lineerlik elde edilmiştir. Tayin katsayısı 0.998'den yüksek bulunmuştur. LOD değerleri, 4.0-5.0 ng/mL aralığındadır. Ortalama geri kazanım aralığı %92.50 ile %110 olarak tespit edilmiştir. Yöntem, antidepresan kullanıcılarından alınan 20 plazma örneğinde başarıyla test edilmiştir. Gerçek örnekler, önerilen yöntemle analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar daha önceden başarıyla uygulanmış olan sıvı sıvı ekstraksiyon-gaz kromatografisi-kütle spektrometresi yöntemiyle eşleştirilmiştir.

6.2 İyon Değiştirme

İyon değiştirme reçineleri kullanılarak gerçekleştirilen bu ekstraksiyon yöntemi çok çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılabilir olan bir yöntemdir.

İletken özellikteki bir sıvı, iyon değiştirme reçinesiyle temas ettirildiğinde; verilen yüklerin sahip olduğu iyonlar reçine tarafından tutulur ve reçine de bünyesinde barındırdığı yüklerden aldığı iyonlarla aynı miktarda olan kısmını çözeltiye bırakır. Böylelikle, reçineler çözeltinin sahip olduğu tüm iyonları çözeltiden ayırabilir [84].

6.3 Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Katı faz ekstraksiyonu, özellikle çevre ve gıda analizleri olmak üzere, biyoanalitik çalışmalar, toksikoloji ve adli tıp, kozmetik, organik sentez gibi alanlarda sıklıkla tercih edilen yöntemlerden birisidir [88].

Katı faz ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyona benzerlik göstermekle birlikte, birbiriyle etkileşim halinde olan biri katı ve diğeri sıvı iki faz gerektirmektedir. Bu yöntem, numune içerisinde bulunan analit iyonlarının katı faz üzerinde tutunması ve böylelikle saflaştırma ve deriştirme olaylarının gerçekleşmesi mantığına dayanmaktadır [89], [90].

6.4 Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE)

Bulutlanma noktası ekstraksiyonu ilk kez 1982 yılında Watanebe ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır [91]. Bu yöntemin kullanımı takip eden yıllarda giderek artmış ve özellikle 2000'li yıllarda bu alandaki çalışmalar yaygınlık göstermiştir. Bulutlanma noktası ekstraksiyonu; uygulama kolaylığı, çevreye duyarlı bir yöntem olması, düşük maliyetlerle gerçekleştirilebilmesi, yüksek zenginleştirme faktörü gibi belirgin özelliklere sahiptir.

Yöntem, inorganik katyonik ve anyonik türlerin uygun bir ligantla kompleksleştirip bir yüzey aktif madde ortamına çekilmesi ve daha sonra bulutlanma noktası sıcaklığında ayrılan yüzey aktif madde fazının analit içeriğinin doğrudan ya da dolaylı olarak uygun bir tayin yöntemiyle belirlenmesine dayanır [92].

BÖLÜM 7

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu tez çalışmasında, antidepresan ilaç etken maddesi olan sertralin tayini için gaz kromatografisi-kütle spektrometresinde hassas, duyarlı analitik bir yöntem geliştirilmesine yönelik deneysel çalışmalar yapılmıştır. İlaç piyasasındaki sertralin içeren ticari bazı ilaçlardan sertralin tayini gerçekleştirilmiştir. Yapay mide ortamı hazırlanarak tayin için kullanılan ticari ilaçlardan biri, bu ortamdaki sertralin davranışının incelenmesi için kullanılmıştır. Ayrıca musluk suyu ve atık su numunelerinde bulunan sertralinin miktar tayini yapılmıştır. Çalışmalarda kullanılan tüm standartlar, sertralinin saf bir bileşiği olan 1000 mg/L sertralin hidroklorid stok çözeltisinden seyreltilerek hazırlanmıştır.

7.1 Kullanılan Ekipmanlar

7.1.1 GC-MS Donanımı

- Gaz Kromatografisi (GC): Hewlett Packard HP 6890
- Kütle Seçici Dedektör (MS): Hewlett Packard 5973
- Enjeksiyon Sistemi: Hewlett Packard HP 6890
- GC Otomatik Örnekleyici Kontrolü: Hewlett Packard G1512A
- Pompa: Hewlett Packard HP G1099-80024
- MSD ChemStation Programı



Şekil 7.1 GC-MS cihazı

7.1.2 Kullanılan Diğer Ekipmanlar

- Mikro pipet: PhysioCare Concept - Eppendorf Research Plus (100-1000 µL; 0.50-5 mL)
- Hassas terazi: Sartorius Analytic A 120 S
- pH metre: Hanna HI 2211
- Manyetik karıştırıcı: IKA (RTC basic) manyetik karıştırıcı + ETS-D5 Elektronik Kontakt Termometre
- Derin dondurucu: Uğur Derin Dondurucu UCF 1600 L
- Mikrovialler: Agilent
- Cam malzemeler: Balon joje, beher, erlen, mezür

7.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sertralin hidroklorid, Sanovel İlaç San. ve Tic. A.Ş.'den temin edilmiştir. Saf su Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarlarından A Milli-Q® Reference System cihazı

ile elde edilmiştir. Bunlara ek olarak aşağıda verilen solvent ve kimyasallar deneylerde kullanılmıştır;

- Metanol (>%99): Merck
- Asetonitril (>%99): Merck
- 1,2-Diklorometan: Merck
- Etanol: Merck
- Aseton: Merck
- Etil Asetat: Merck
- Kloroform: Merck
- Hidroklorik asit (%37): Merck
- Sodyum Klorür: Merck
- Sodyum Sülfat: Merck
- Potasyum Nitrat: Merck

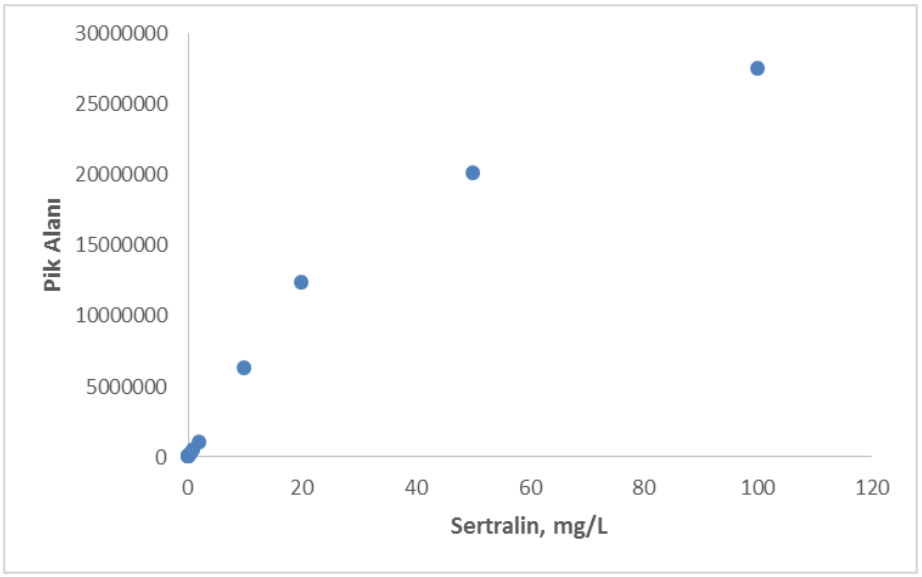
7.3 Sertralinin GC-MS ile Tayini

Sertralin analitinin GC-MS sisteminde düşük limitlerde tayin edilmesine yönelik farklı sıcaklık programları denenmiş, simetrik, keskin ve omuzsuz sinyal elde edilen program optimum olarak kabul edilmiştir. Sistem parametrelerinin optimizasyonu sonrası analitin tayin performansı belirlenmeye çalışılmıştır. Gözlenebilme limiti (LOD, Limit of Detection) ve tayin limiti (LOQ, Limit of Quantitation) hesaplamaları için belirli konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmış ve bu standart çözeltiler hazırlanırken etken madde sertralin, metanol içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan standart çözeltiler, Gaz Kromatografi Kütle Spektroskopisi cihazında optimum şartlarda sertralin içerikleri için analiz edilmiştir. GC-MS sisteminde sertralinin tayinine yönelik tespit edilen optimum parametreler Çizelge 7.1'de görülmektedir.

Çizelge 7.1 Sertralinin GC-MS sisteminde tayinine yönelik optimum cihaz parametreleri

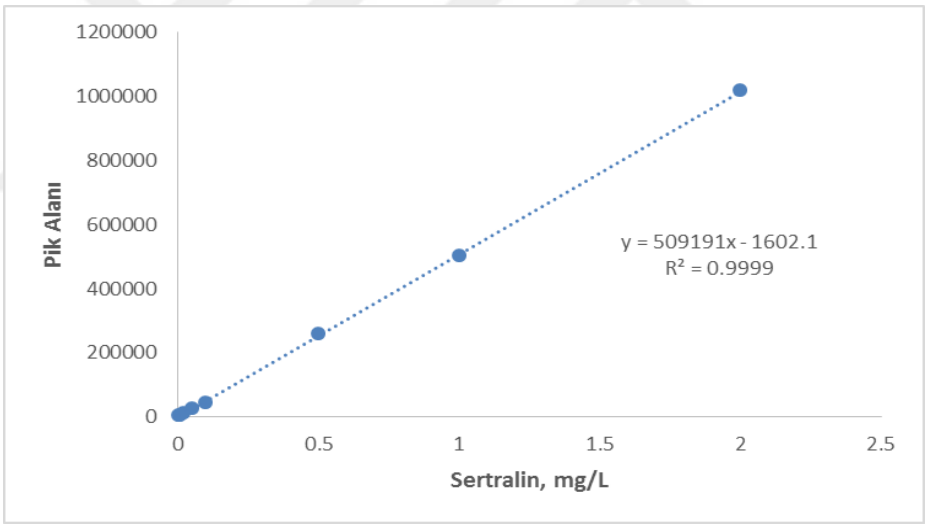
PARAMETRE	DEĞER
İğne Boyutu	10 µL
Enjeksiyon Hacmi	1.0 µL
Ön Isıtıcı	250 °C
Basınç	17,61 psi
Toplam Akış	64,4 mL/min
Mod	Splitless
Temizleme(Purge) Akışı	60 mL/min
KOLON PARAMETRELERİ	
Mod	Sabit Akış
Akış Hızı	1,8 mL/min
Basınç	17,61 psi
Ortalama Hız	50 cm/s
FIRIN PARAMETRELERİ	
Başlangıç Sıcaklığı	80 °C
0-1 min	80 °C
1-2	130 °C (50 °C hızla)
2-9	300 °C (50 °C hızla)

Düşük tayin limiti elde etmeye yönelik duyarlılığı en yüksek olan iyon 274 (m/z) SIM mod için belirlenmiştir. GC-MS sistemine gönderilen analit derişimleri ve 274 iyonu için pik alanları kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 7.2'de görülmektedir.



Şekil 7.2 Sertralin için GC-MS'te elde edilen kalibrasyon grafiği

Şekil 7.3'de görüldüğü üzere sertralin 274 iyonu için doğrusal bölge 5.0-2000 ng/mL aralığında tespit edilmiştir.



Şekil 7.3 Sertralin için GC-MS'te elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon doğrusu incelendiğinde eğim değeri 509191, R^2 değeri ise 0,9999 olarak bulunmuştur. Sistem analitik performansının tespit edilmesi amacı ile 5.0 ng/mL sertralin standart çözeltisi GC-MS sistemine beş defa gönderilmiş ve pik alanlarından hareketle standart sapma değeri tespit edilmiştir. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında aşağıda yer alan formüller kullanılmıştır.

LOD= 3xStandart Sapma (5.0 ng/mL)/Eğim (7.1)

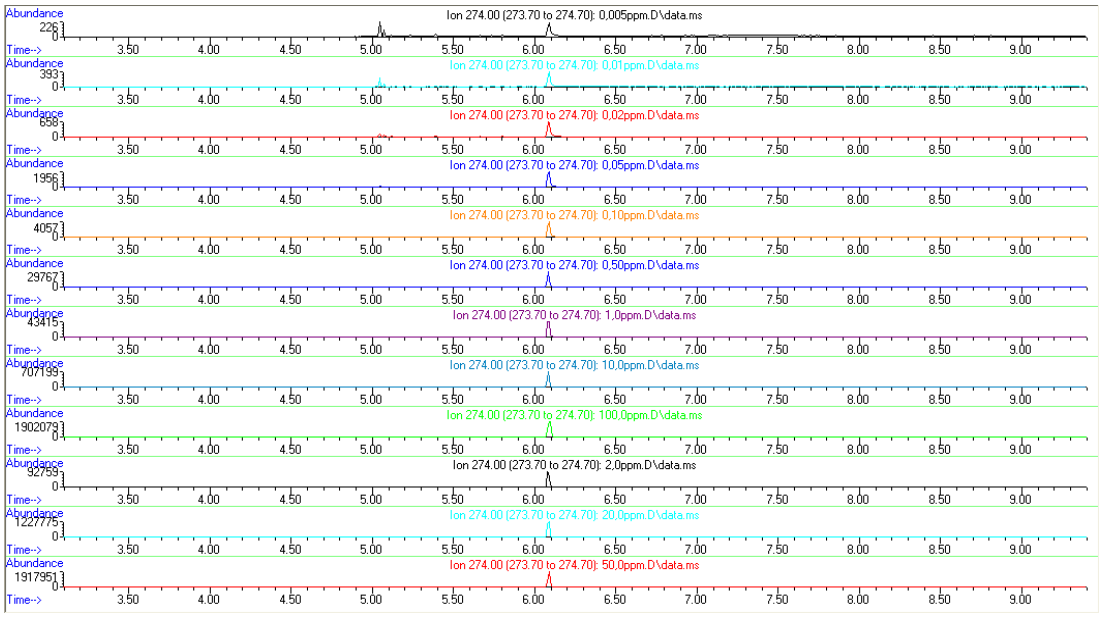
LOQ= 10xStandart Sapma (5.0 ng/mL)/Eğim (7.2)

Sistem performans değerleri Çizelge 7.2'de görülmektedir.

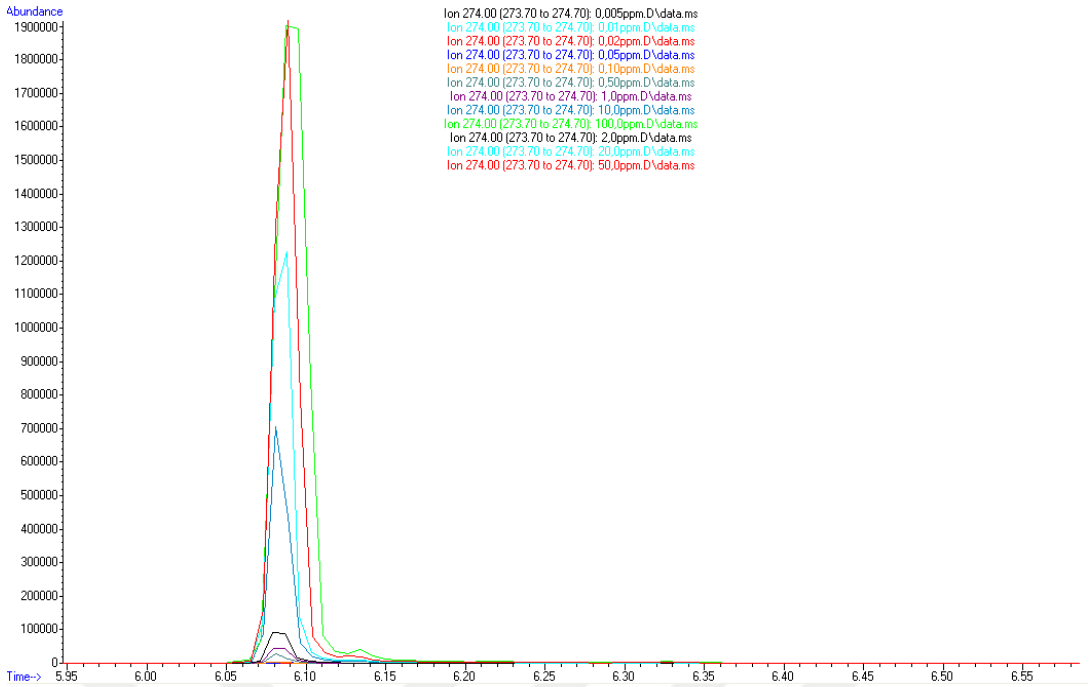
Çizelge 7.2 Sertralin için GC-MS sistem analitik performansı değerleri

	SERTRALİN
LOD	1.6 ng/mL
LOQ	5.4 ng/mL
EŞİTLİK	y = 509191x-1602,1
R^2	0,9999
DOĞRUSAL ARALIK	5.0-2000 ng/mL
%RSD	3,86-8,37 (gerçek tablet numuneleri için)

GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen pikler, tek tek ve birleşik olarak iki ayrı kromatogramda sırasıyla Şekil 7.4 ve Şekil 7.5'de gösterilmiştir.



Şekil 7.4 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklerin tek tek gösterimine ait kromatogramlar



Şekil 7.5 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklere ait kromatogramlar

7.4 Sertralin Etken Maddesi İçeren Film Tabletin Yapay Mide Ortamında İncelenmesi

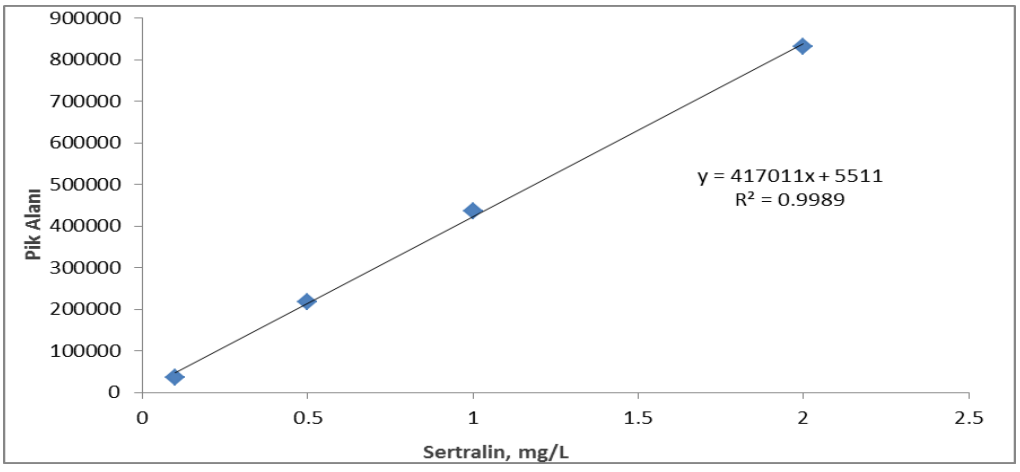
Sertralin analitinin mide ortamındaki davranışını belirlemek, yapının bozulup bozulmadığını ortaya çıkartmak maksadı ile yapay mide ortamı hazırlanarak aşağıda özetlenen çalışmalar yapılmıştır. Analizin gerçekleştirilebilmesi için gerekli olan yapay mide ortamı uygun prosedür [93] izlenerek hazırlanmıştır. Buna göre; 100 mL'lik balon joje içerisine önce 0.70 mL %35-36'lık HCl alınarak üzerine sırasıyla, joje hacminin yarısına kadar (yaklaşık 50 mL) saf su, 0.20 g NaCl ve 0.32 g pepsin enzimi eklenmiştir. Geriye kalan hacim, yine saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan karışım, uygun bir beher içerisine alınarak ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda (37 °C, 200 rpm) dengeye gelinceye kadar bekletilmiştir. Yapay mide ortamı parametreleri Çizelge 7.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 7.3 Yapay mide ortamı parametreleri [93]

PARAMETRE	DEĞER
HCl	0.70 mL (%35-36'lık)
NaCl	0.20 g
Pepsin Enzimi	0.32 g
Sıcaklık	37 °C
Karıştırma Hızı	200 rpm

Karışım dengeye ulaştığında, içerisine 25 mg sertraline eşdeğer 27,975 mg sertralin.HCl içeren film tabletten bir adet atılmıştır. Tablet çözündüğü andan itibaren 30 dakikada bir yapay mide ortamı çözeltisinden numuneler alınmış, hesaplamalarla belirlenen uygun seyreltmeler yapılmış ve GC-MS cihazında uygun yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. GC-MS cihazındaki analizler SIM mod kullanılarak gerçekleştirilmiş ve düşük tayin limiti elde etmeye yönelik duyarlılığı en yüksek olan iyon 274 (m/z) SIM tarama modu için belirlenmiştir.

Yapay mide ortamı numunelerinin analizi öncesinde, 0.10, 0.50, 1.0 ve 2.0 mg/L derişimlerindeki standart çözeltiler GC-MS sistemine gönderilmiş ve analiz sonuçlarına göre kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur. Analiz sonuçlarında elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 7.6'da görülmektedir.



Şekil 7.6 Sertralin için GC-MS' te elde edilen kalibrasyon grafiği

Yapay mide ortamından alınan ve analizi yapılacak olan numunelerin doğrusal aralıkta olması sağlanacak şekilde seyreltme yapılmıştır. Mide ortamından her 30 dakikada bir 2500 µL'lik numuneler alınıp süzüldükten sonra elde edilen süzüntülerden 250 µL alınmış ve metanol ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen 50 mL'lik çözeltilerden de 1000 µL'lik numune hacimleri viallere aktarılarak analize hazır hale getirilmiştir. Elde edilen konsantrasyon değerlerinin, sertralin 274 (m/z) iyonu için daha önceden belirlenmiş olan doğrusal bölge 5.0-2000 ng/mL aralığında olduğu görülmektedir.

GC-MS sisteminde uygun analiz konsantrasyonun bulunması için seyreltmeye ilişkin detaylar Çizelge 7.4'de verilmiştir.

Çizelge 7.4 Seyreltme değerleri

25 mg film tabletteki etken madde miktarı	25 mg Sertralin
Yapay mide ortamı hacmi	100 mL
Yapay mide ortamından alınan ilk numune hacmi	2500 µL
İlk numune süzüntüsünden alınan hacim miktarı	250 µL
Son numune hacmi	50 mL (metanolde)

GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numunelerin 274 iyonu için elde edilen pik alanları ve pik alanlarına göre hesaplanan konsantrasyonları Çizelge 7.5'de görülmektedir.

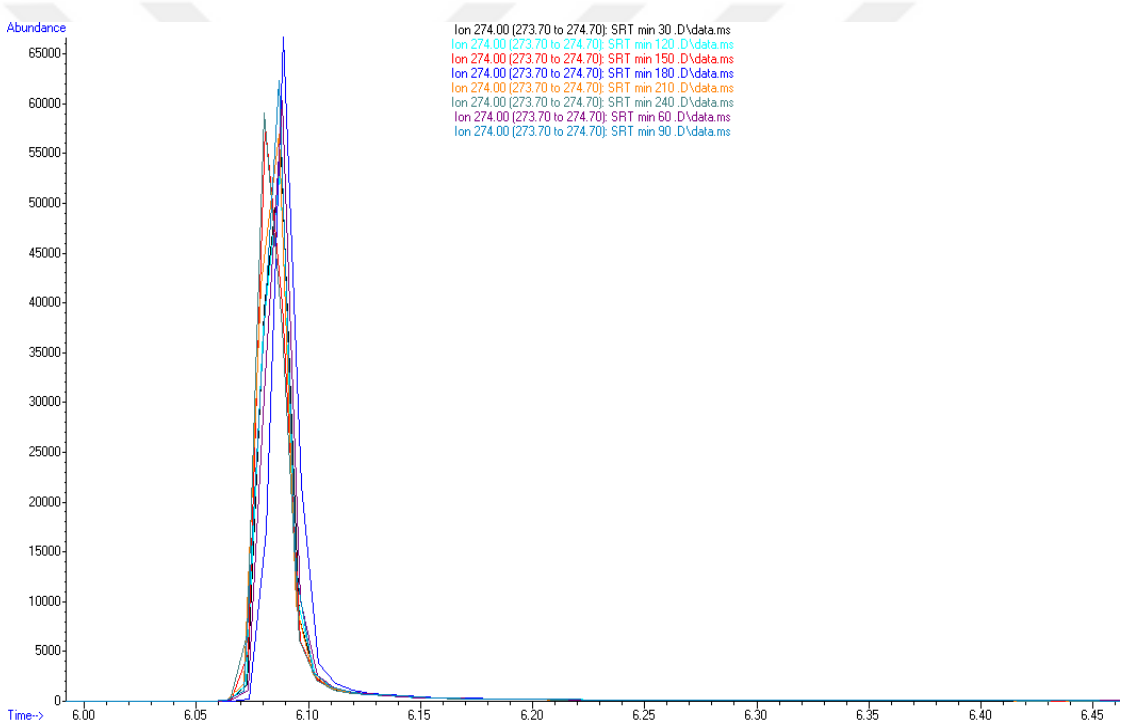
Çizelge 7.5 GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numunelerin 274 iyonu için elde edilen pik alanları

HEDEF İYON 274 (m/z)		
Zaman	Pik Alanı	Alıkonma Zamanı(Min)
30 min	505621	6.088
60 min	511377	6.081
90 min	532754	6.087
120 min	500604	6.087

Çizelge 7.5 GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numunelerin 274 iyonu için elde edilen pik alanları (devamı)

150 min	526949	6.081
180 min	526840	6.089
210 min	535953	6.079
240 min	530830	6.080

GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numuneler ve 274 iyonu için elde edilen piklerin gösterildiği kromatogramlar Şekil 7.7'de gösterilmiştir.



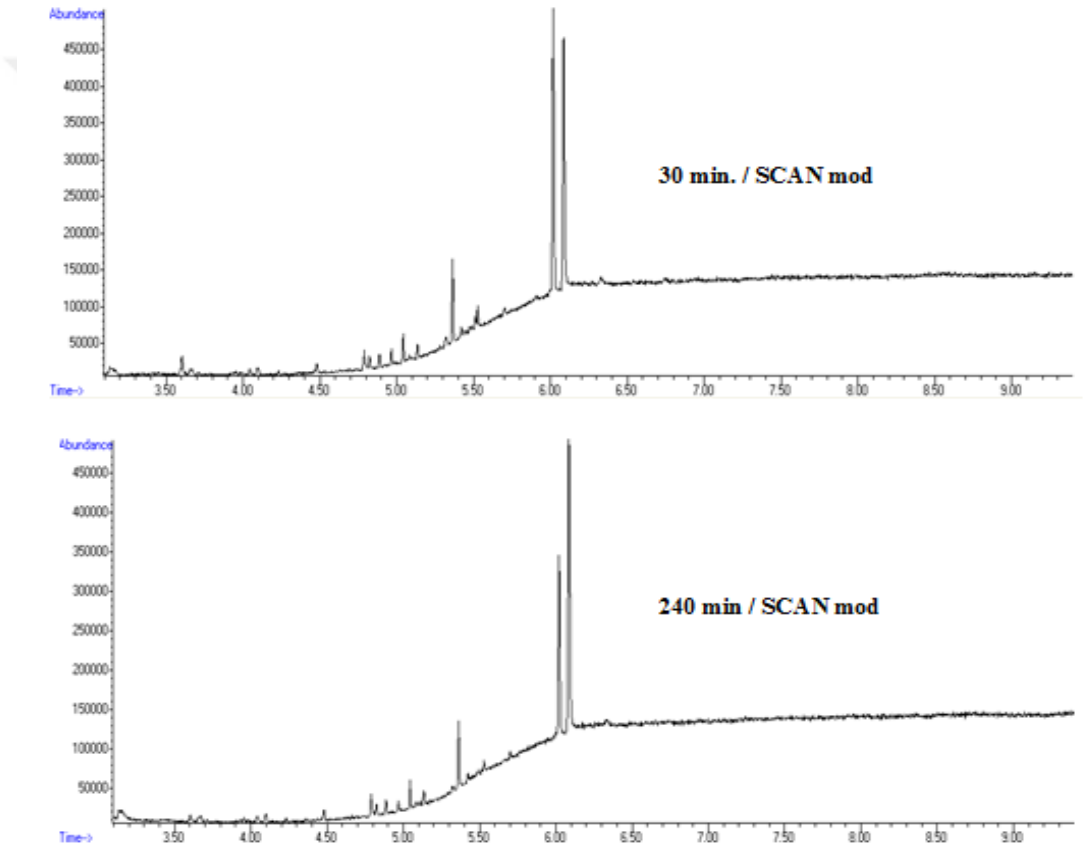
Şekil 7.7 GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numuneler ve 274 iyonu için elde edilen kromatogramlar

Ayrıca 30. ve 240. dakikalara ait numuneler, SIM mod dışında SCAN mod uygulanarak da GC-MS cihazında analiz edilmiştir. Bu analizlere ait sonuçlar Çizelge 7.6'da gösterilmiştir.

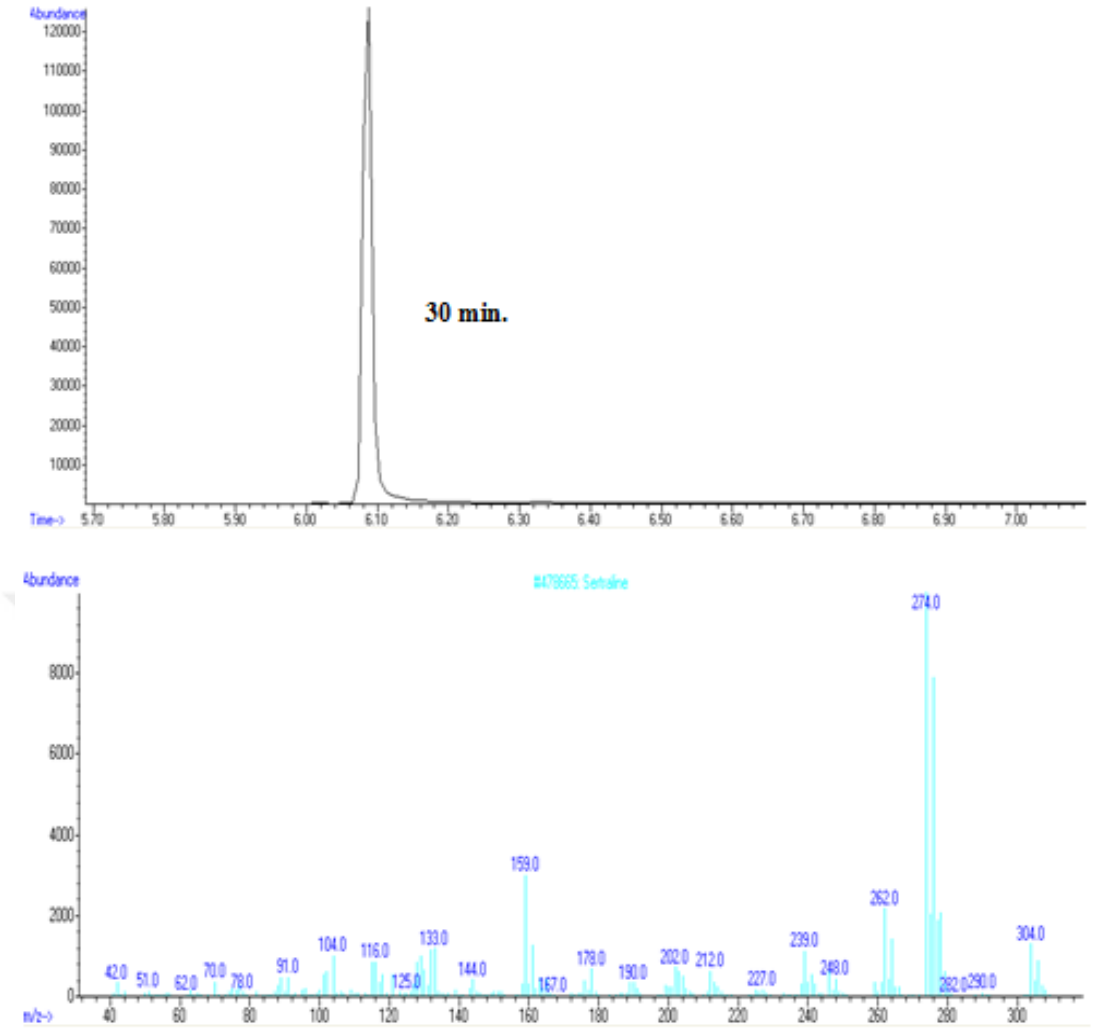
Çizelge 7.6 30. ve 240. dakikalarda GC-MS sistemine gönderilen numunelerin SCAN mod uygulanarak gerçekleştirilen analiz sonuçları

ZAMAN	PİK ALANI	ALIKONMA ZAMANI (Min)
30 min	2607259	6.083
240 min	2746218	6.085

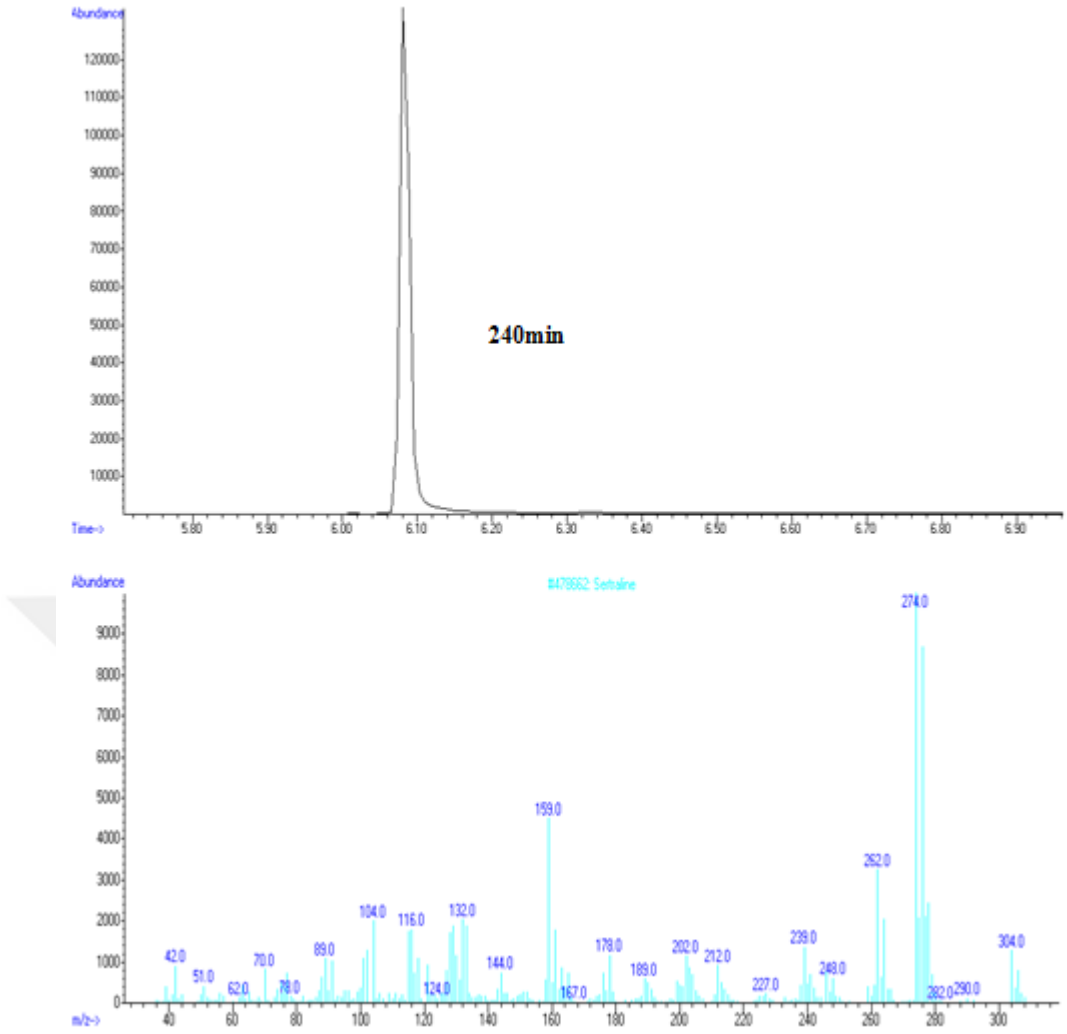
30. ve 240. dakikalarda yapay mide ortamından alınan numunelerin GC-MS sisteminde SCAN modda gerçekleştirilen analizleri sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 7.8, Şekil 7.9 ve Şekil 7.10'da gösterilmiştir.



Şekil 7.8 30. ve 240. dakikalarda yapay mide ortamından alınmış numunelerin GC-MS sisteminde SCAN moddaki analizlerine ait toplam iyon kromatogramları



Şekil 7.9 30. dakikada yapay mide ortamından alınmış numunenin GC-MS cihazında analizi sonucu elde edilen etken madde sertraline ait pik ve içerdiği iyonların kütle dağılımı



Şekil 7.10 240. dakikada yapay mide ortamından alınmış numunenin GC-MS cihazında analizi sonucu elde edilen etken madde sertraline ait pik ve içerdiği iyonların kütle dağılımı

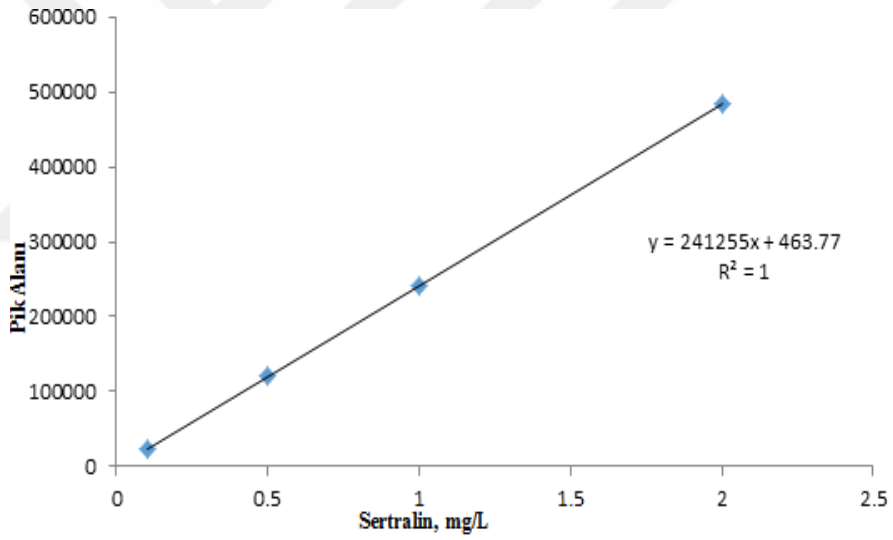
25 mg sertralin etken maddesi içeren film tabletin yapay mide ortamında gerçekleştirilen analizi sonucu, GC-MS sistemine her 30 dakikada bir gönderilen numunelerin 274 iyonu için elde edilen piklerinin birleşik gösterimine ait kromatogram (Şekil 7.7) incelendiğinde, pik alanlarında belirgin bir değişimin olmadığı görülmektedir. Pik alanları ve standart sapma değerleri de göz önünde bulundurulduğunda, 240 dakikalık analiz süresi sonunda belirtilen ilacın mide ortamında bozunmadığı tespit edilmiştir.

7.5 Sertralin Etken Maddesi İçeren Farklı Markalara Ait İlaçlarda Miktar Tayini

Değişik miktarlarda sertralin etken maddesi içerdiği iddia edilen üç farklı ilaç markasına ait film tabletler ile yapılan çalışmalar sonucunda, tabletlerin içerdiği sertralin etken

madde miktarlarının doğruluğu araştırılmıştır. Buna göre, içerisinde 50 mg sertraline eşdeğer sertralin.HCl bulundurduğu düşünülen Marka A, Marka B ve içerisinde 25 mg sertraline eşdeğer sertralin.HCl bulundurduğu düşünülen Marka C eczanelerden satın alınarak uygun deney prosedürleri uygulanmış, GC-MS sisteminde analizleri gerçekleştirilmiş ve yapılan hesaplamalarla elde edilen sonuçlar ışığında iddia edilen miktarlar ile hesaplanan miktarlar karşılaştırılmıştır. GC-MS sisteminde analizler SIM mod kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, düşük tayin limiti elde etmeye yönelik duyarlılığı en yüksek olan iyon 274 (m/z) tayinlerde kullanılmıştır.

Hesaplamalarda kullanılacak olan kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için GC-MS sistemine öncelikle 0.10, 0.50, 1.0 ve 2.0 mg/L konsantrasyonlarındaki standart çözeltiler gönderilerek kalibrasyon eğrisinden eğim ve kesim noktası değerleri bulunmuştur. Sisteme gönderilen analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen pik alanlarından hareketle elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 7.11'de görülmektedir.



Şekil 7.11 Sertralin için GC-MS'te elde edilen kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon eğrisi incelendiğinde, hesaplamalarda kullanılmak üzere eğim değeri 241255, kesim noktası değeri ise 463,77 olarak bulunmuştur.

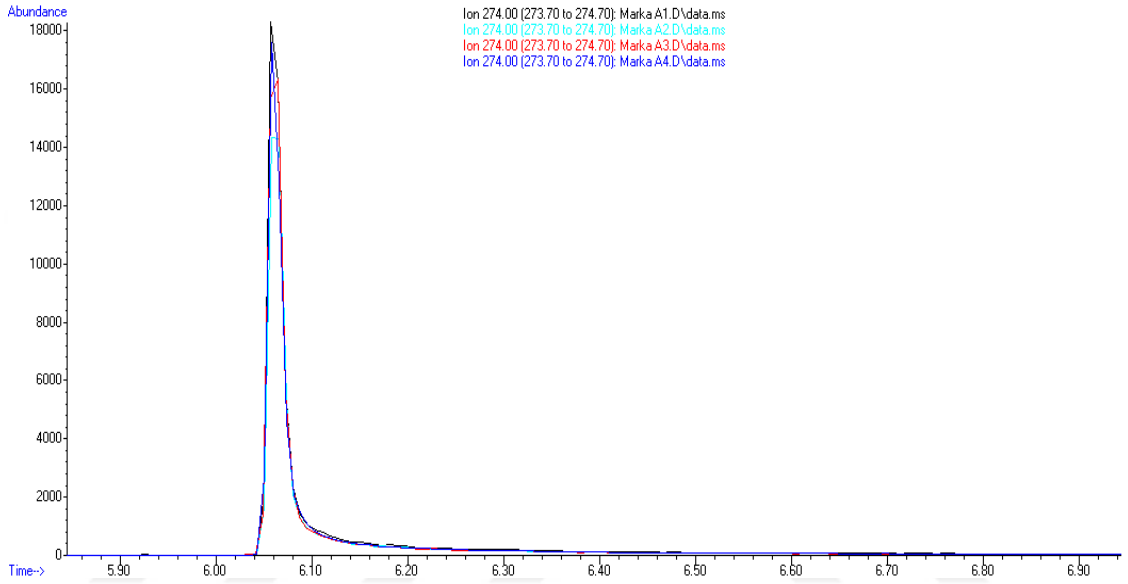
GC-MS sistemine gönderilecek ilaç numune çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan yöntemler her üç marka için de aynı olmakla birlikte, içerdikleri iddia edilen sertralin etken madde miktarları farklı olduğundan farklı seyreltme faktörleri uygulanmıştır. Buna göre, her üç markadan da ayrı ayrı birer film tablet alınarak toz haline getirilmiş ve 250 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Balon joje hacmi tamamlanmayacak şekilde, kademe kademe metanol eklenerek toz haline getirilmiş ilacın metanol içerisinde

çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmeyi hızlandırmak amacıyla ultrasonik banyo 30 dakikalık periyotlarla kullanılmıştır. Çözünme sağlandıktan sonra geriye kalan hacim metanolle 250 mL'ye tamamlanarak süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Her markaya ait süzüntülerden seyreltme faktörlerine uygun olacak miktarlarda numuneler alınarak, 50 mL'lik balon jojelere aktarılmış ve geriye kalan hacim metanol ile tamamlanmıştır. 1.0 mg/L olduğu varsayılarak hazırlanan ilaç numune çözeltilerinden 1000 µL'lik hacim viallere alınarak GC-MS sistemine gönderilmiştir. Her bir marka ilaç için dört ayrı tablet ile aynı işlemler tekrarlanmıştır. Analize gönderilecek ilaç numune çözeltilerinin, her bir markanın iddia edilen sertralin etken madde miktarına göre hesaplamaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 7.7'de özetlenmiştir.

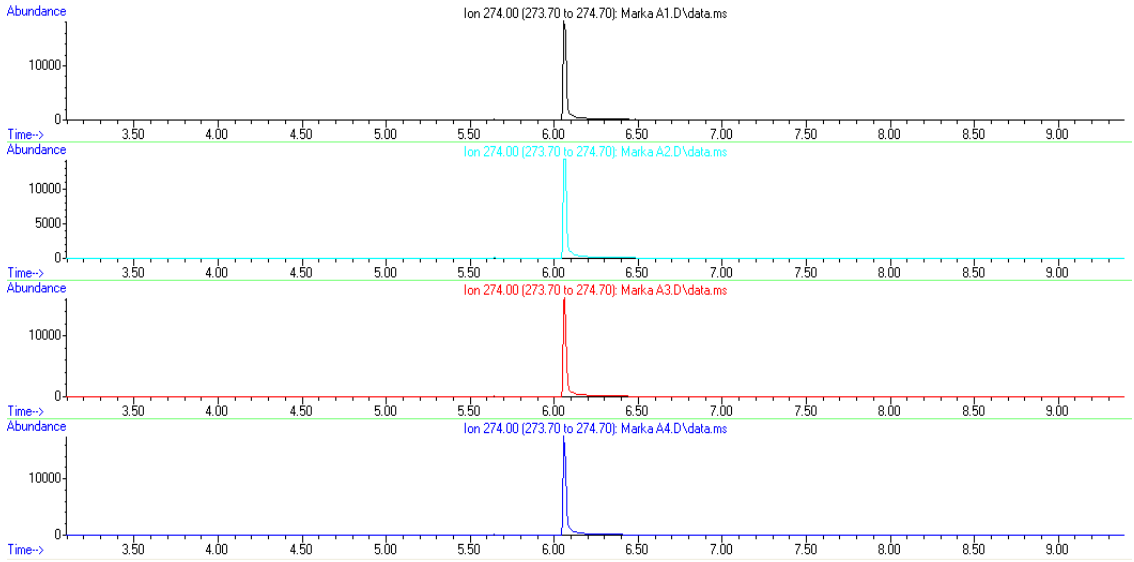
Çizelge 7.7 Numunelere ait sonuçlar

NUMUNE ADI	HESAPLANAN ETKEN MADDE MİKTARI, mg	ORTALAMA ETKEN MADDE MİKTARI, mg	STANDART SAPMA
Marka A-1	52,74	49,5	2,41
Marka A-2	47,34		
Marka A-3	49,73		
Marka A-4	48,04		
Marka B-1	49,34	49,2	1,9
Marka B-2	48,15		
Marka B-3	51,80		
Marka B-4	47,39		
Marka C-1	26,90	25,1	2,1
Marka C-2	24,57		
Marka C-3	26,65		
Marka C-4	22,40		

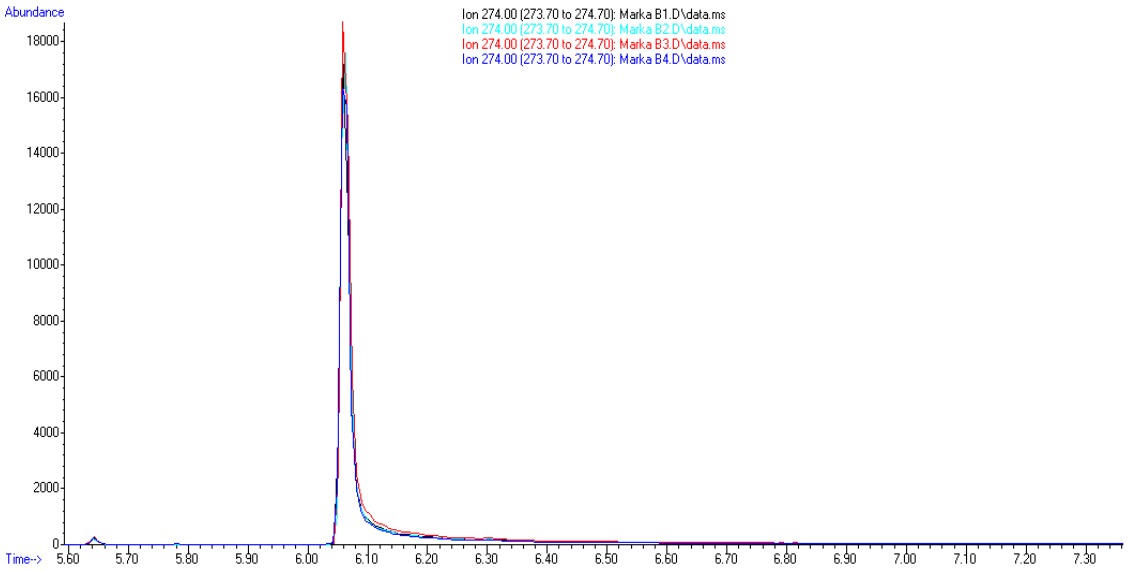
Çizelge 7.7'de yer alan sonuçlar incelendiğinde; başlangıçta film tabletlerde olduğu iddia edilen sertralin etken maddesi miktarı sırasıyla Marka A, Marka B ve Marka C için, 50 mg, 50 mg ve 25 mg olarak belirtilirken, analiz sonucunda sertralin etken maddesi miktarının Marka A içerisinde yaklaşık 49,5 mg, Marka B içerisinde yaklaşık 49,2 mg ve Marka C içerisinde ise yaklaşık 25,1 mg olduğu bulunmuştur. İlaç numune çözeltilerine ait GC-MS sisteminde elde edilen kromatagramlar Şekil 7.12, 7.13, 7.14, 7.15, 7.16 ve 7.17'de gösterilmiştir.



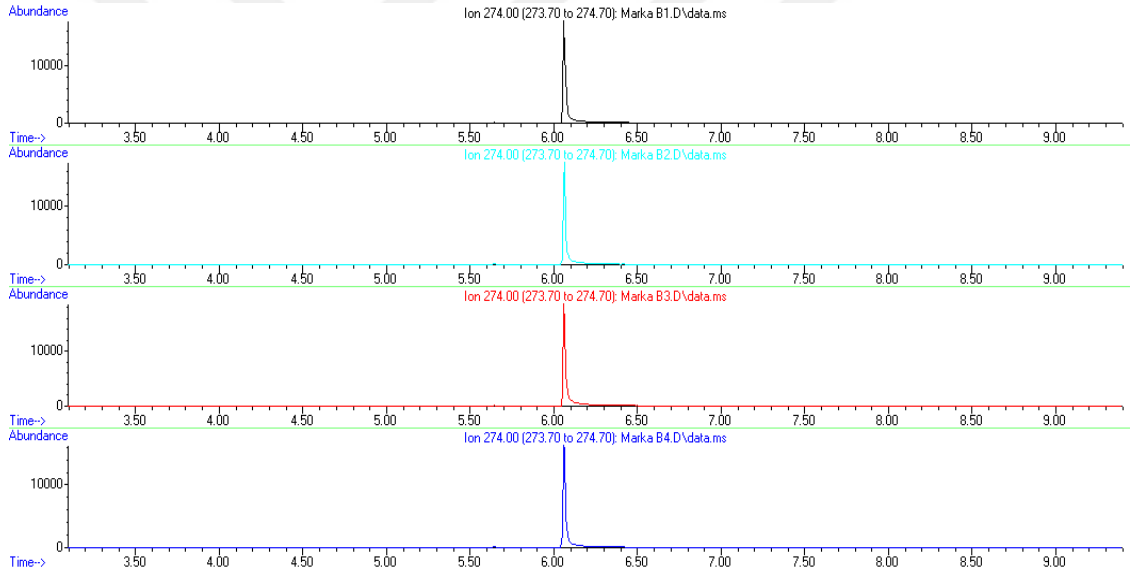
Şekil 7.12 GC-MS sistemine gönderilen Marka A'ya ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları



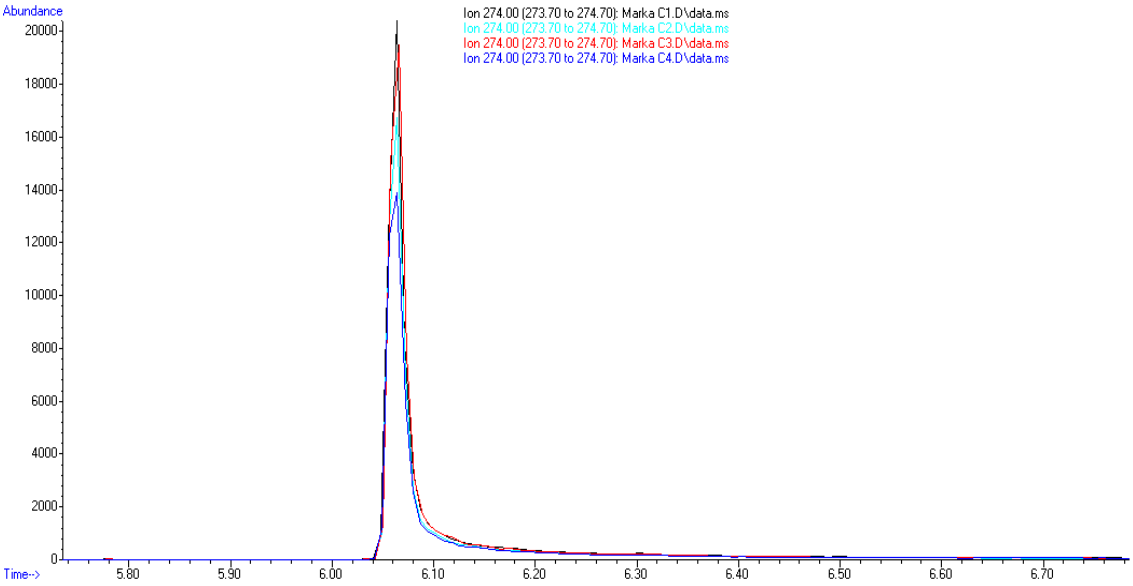
Şekil 7.13 GC-MS sistemine gönderilen Marka A'ya ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları



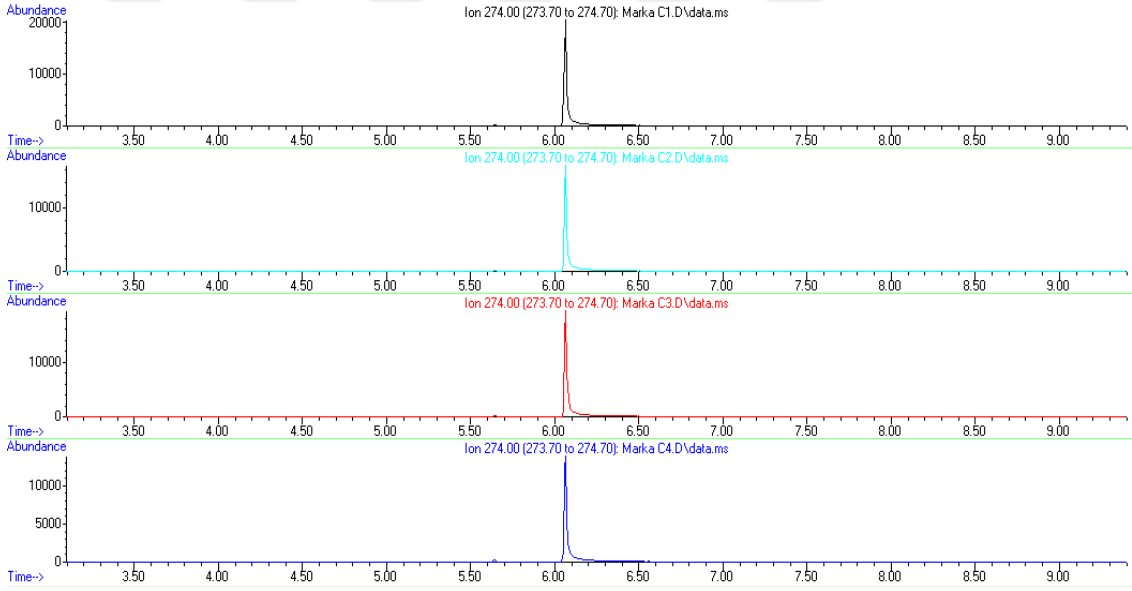
Şekil 7.14 GC-MS sistemine gönderilen Marka B'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları



Şekil 7.15 GC-MS sistemine gönderilen Marka B'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları



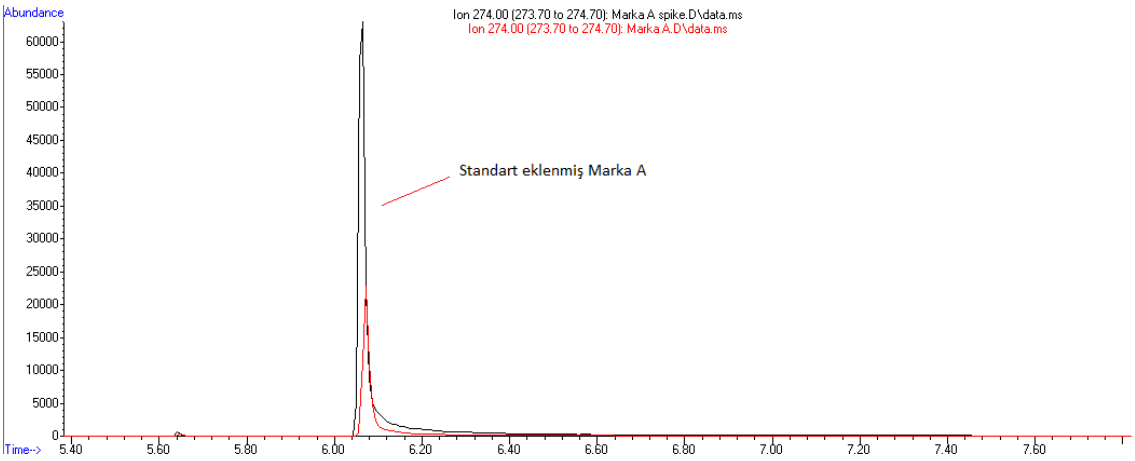
Şekil 7.16 GC-MS sistemine gönderilen Marka C'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları



Şekil 7.17 GC-MS sistemine gönderilen Marka C'ye ait dört farklı ilaç numunesinin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları

Ayrıca, matriks bileşenlerinin analit sinyali üzerine etkilerinin belirlenmesi amacı ile spike deneyi yapılmıştır.

Bu amaç doğrultusunda, 0.20 mL 10 mg/mL standart sertralin çözeltisi Marka A içeren numune içerisine eklenmiş ve spike edilmiş Marka A içeren numune analizi yapılmak üzere GC-MS sistemine gönderilmiştir. Analiz sonucunda sertralin sinyalinde herhangi bir kayma olmadığı gözlenmiştir. Analize ait GC-MS sisteminde elde edilen kromatogram Şekil 7.18'de verilmiştir



Şekil 7.18 Marka A için yapılan spike deneyi

7.6 Sertralinin Düşük Seviyelerde Tayinine Yönelik Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi

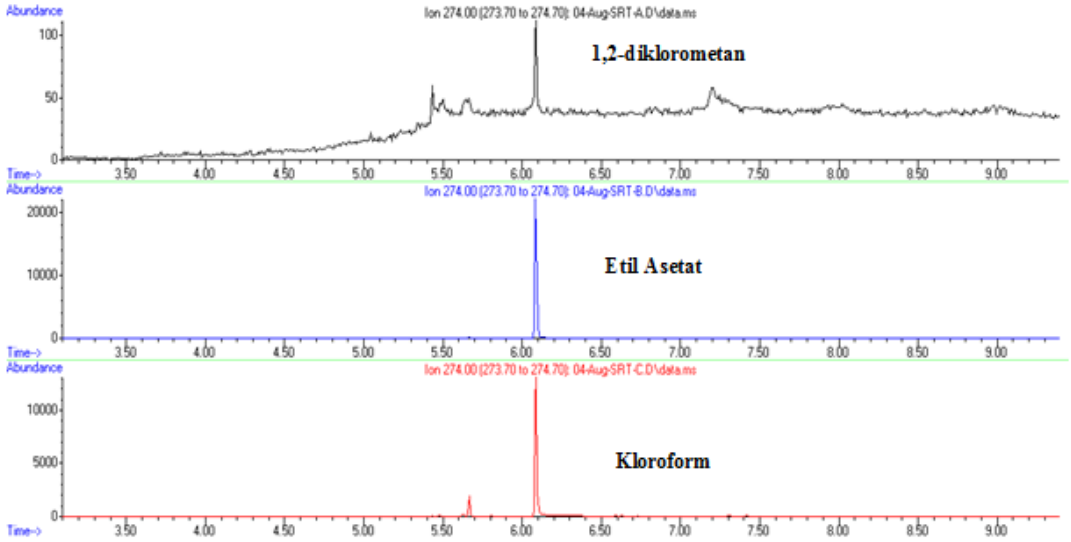
Tezin bu aşamasında sertralin etken maddesinin sıvı-sıvı ekstraksiyon/önderiştirme sonrası GC-MS cihazında düşük seviyelerde tayin edilmelerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Ekstraksiyon/önderiştirme sonrası analitin yoğun matriksten ayıklanması ve bu şekilde analit tayini üzerine matriks etkilerinin ortadan kaldırılması/azaltılması hedeflenmiştir. Ekstraksiyonda sulu çözelti içerisinde bulunan sertralinin düşük hacimli bir organik sıvı içerisine alınması ve bu şekilde önderiştirilip düşük limitlerde tayin edilmeleri yöntemin ikinci avantajı olarak ortaya çıkmıştır. Bu doğrultuda ekstraksiyon sisteminin değişken tüm parametreleri optimize edilmiştir.

7.6.1 Yöntem Optimizasyonu

7.6.1.1 Ekstraksiyonda Kullanılacak Solvent Çeşidinin Belirlenmesi

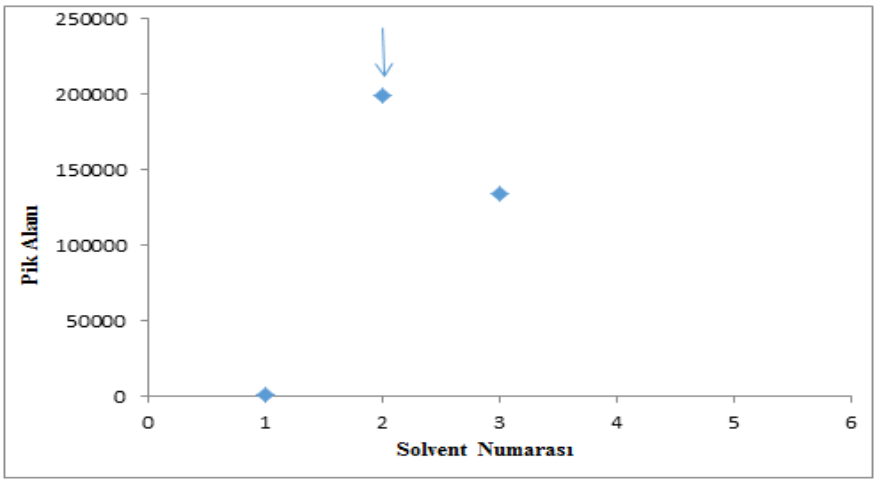
Bu çalışmada, sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için en uygun solventin belirlenmesi amaçlanmış ve bu amaç doğrultusunda 1,2-diklorometan (A), etil asetat (B) ve kloroform (C) solventleri denenmiştir. Ekstraksiyon çalışmasında su içerisinde hazırlanmış 0.10 mg/L standart çözeltisinden, her bir solvent için ayrı ayrı 10 mL alınarak 50 mL'lik santrifüj tüplerine konulmuş, üzerine 2.0 g NaCl ve sonrasında analizi gerçekleştirilecek olan A, B, C solventlerinden her bir santrifüj tüpüne tek bir solvent konacak şekilde 1.0 mL eklenmiştir. Elde edilen karışımlar, 30 dakika süre ile mekanik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma sonucunda, 50 mL'lik tüplerde oluşan fazları daha kolay görebilmek ve daha iyi ayırma sağlayabilmek için karışımlar 15

mL'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüm bu işlemler sonucunda her bir solvent için elde edilmiş olan fazlar ayrılarak ayrı ayrı viallere aktarılmış ve GC-MS cihazında analizleri gerçekleştirilmiştir. Düşük tayin limiti elde etmeye yönelik duyarlılığı en yüksek iyon olan 274 (m/z) SIM mod için belirlenmiştir. GC-MS sistemine gönderilen üç farklı solventin 274 iyonu için elde edilen kromatogramları Şekil 7.19'da gösterilmektedir.



Şekil 7.19 GC-MS sistemine gönderilen üç farklı solventin 274 (m/z) iyonu için elde edilen piklerinin tek tek gösterimine ait kromatogram

GC-MS sisteminde yapılan analizler sonucu her bir solvent için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırma grafiği Şekil 7.20'de gösterilmiştir.

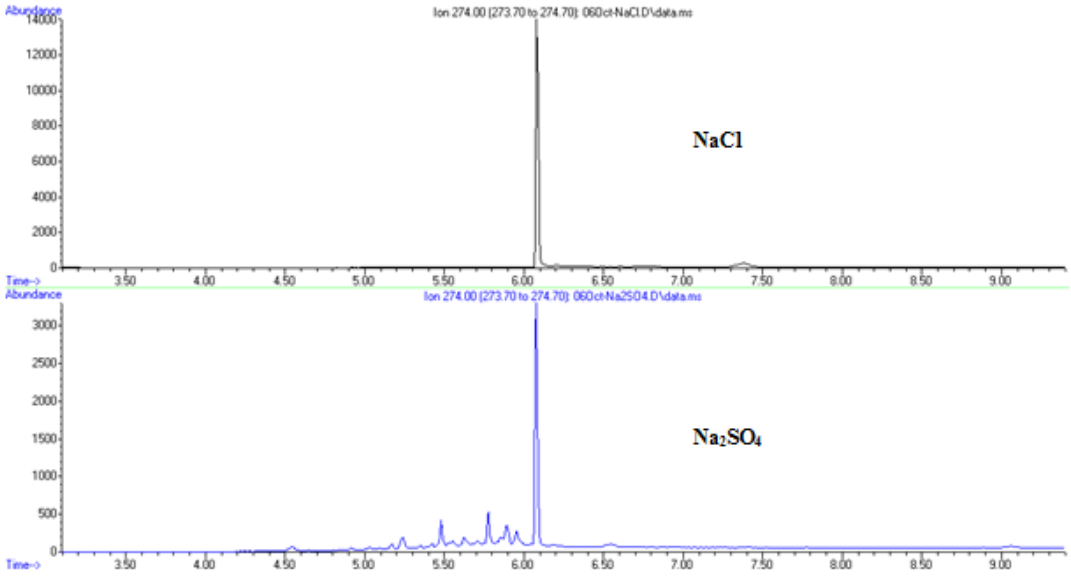


Şekil 7.20 Ekstraksiyon için en uygun solvent seçimi. Solvent numaraları: 1)1,2-diklorometan(A), 2)Etil Asetat(B), 3)Kloroform(C)

Yapılan analizler sonucu elde edilen veriler değerlendirilmiş ve bu değerlendirmeler ışığında, sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için kullanılabilecek en uygun solventin etil asetat (B) olduğu belirlenmiştir.

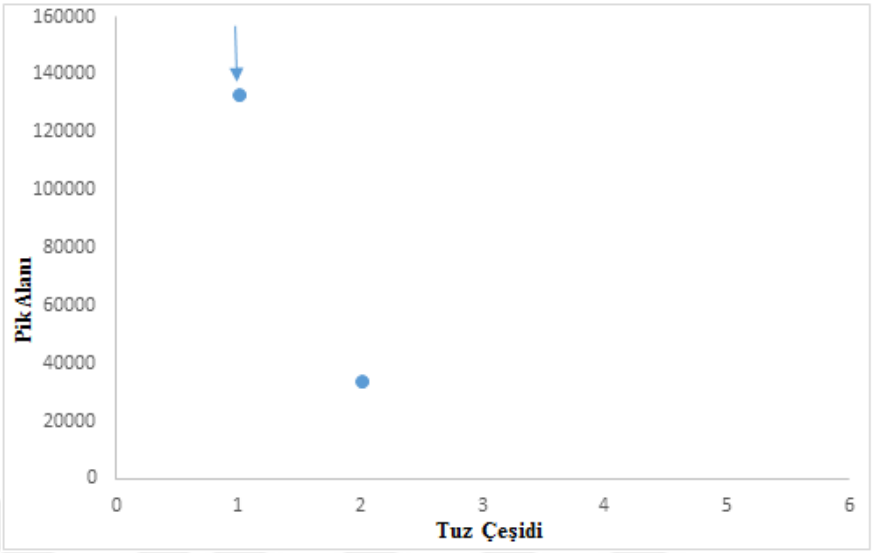
7.6.1.2 Ekstraksiyonda Kullanılacak Tuz Çeşidinin Belirlenmesi

Sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonuna yönelik optimizasyon parametrelerinden biri olan tuz çeşidinin belirlenmesi için deneysel çalışmalar yapılmıştır. 15 mL'lik deney tüpleri içerisine 10 mL 0.05 mg/L suda çözünmüş sertralin standart çözeltisi konulmuş ve her bir tüpe 0.50 g tuz ilave edilmiştir. Bu çalışmada üç farklı tuz ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Kullanılan tuzlar; NaCl, Na_2SO_4 ve KNO_3'dır. Tuzların standart çözelti içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra, daha önceki optimizasyon basamağında belirlenen etil asetat solventinden 1.0 mL çözelti üzerine eklenmiştir. Aynı prosedür tuz kullanılmadan, 0.05 mg/L suda çözünmüş sertralin standart çözeltisi üzerine sadece 1.0 mL etil asetat solventi eklenerek de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışımlar, mekanik karıştırıcıda 30 dakika süre ile karıştırılmış ve bu süre sonunda tuzsuz ve KNO_3 tuzu içeren her iki karışımda da faz ayrımı olmadığı, NaCl ve Na_2SO_4 tuzlarını içeren karışımlarda ise faz ayrımının gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Oluşan fazlar mikropipet yardımıyla alınarak viallere aktarılmış ve GC-MS cihazında analizleri gerçekleştirilmiştir. GC-MS sistemine gönderilen analitlere ait 274 iyonu için elde edilen pikler Şekil 7.21'de gösterilmektedir.



Şekil 7.21 GC-MS sistemine gönderilen iki farklı analitin 274 iyonu için elde edilen piklerinin tek tek gösterimine ait kromatogram

GC-MS sisteminde yapılan analizler sonucu her bir tuz için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırma grafiği Şekil 7.22'de görülmektedir.



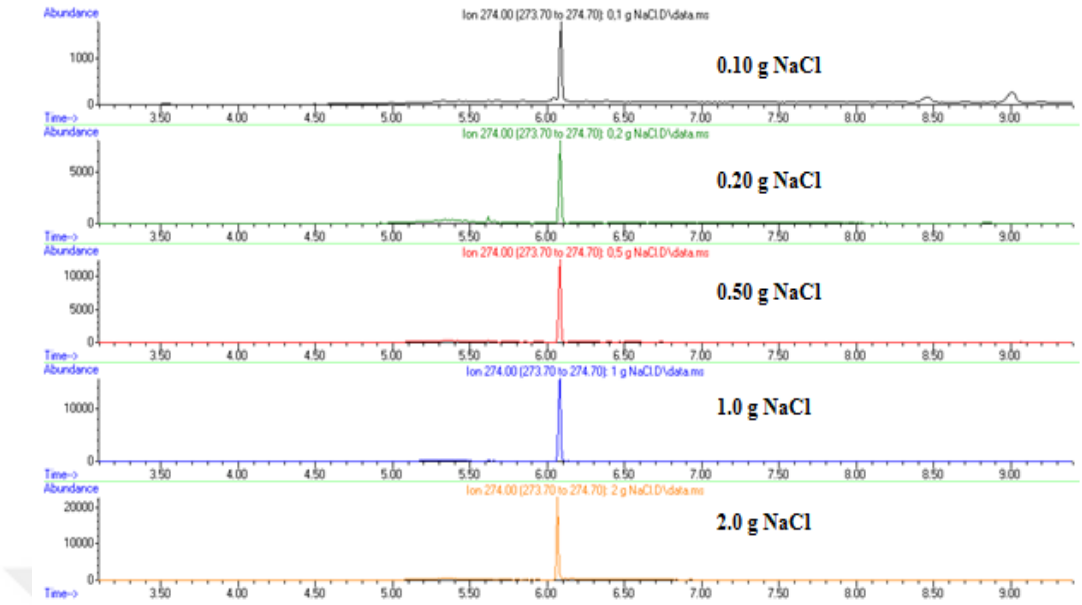
Şekil 7.22 Ekstraksiyon için en uygun tuz çeşidinin belirlenmesi. Tuz çeşitleri: 1) NaCl, 2) Na_2SO_4

Elde edilen analiz sonuçlarına göre, sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için kullanılabilecek en uygun tuzun NaCl olduğu belirlenmiştir.

7.6.1.3 Ekstraksiyonda Kullanılacak Tuz Miktarının Belirlenmesi

Sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için optimizasyon parametrelerinden biri olan tuz miktarının belirlenmesine yönelik deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 15 mL'lik deney tüplerine 10 mL 0.05 mg/L suda çözünmüş sertralin standart çözeltisi eklendikten sonra, ekstraksiyon için belirlenen en uygun tuz çeşidi olan NaCl için 0.10, 0.20, 0.50, 1.0 ve 2.0 g olacak şekilde tartımlar alınmış ve standart çözelti üzerine ilave edilmiştir. Tuzların standart çözelti içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra tüplerin her birine 1.0 mL ekstraksiyon için belirlenen en uygun solvent olan etil asetat eklenmiştir. Elde edilen karışımlar, 30 dakika boyunca mekanik karıştırıcıda karıştırılmış ve her bir karışım için faz ayrımının gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

Oluşan fazlar mikropipet yardımıyla viallere aktarılarak, GC-MS cihazında analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 7.23'de gösterilmektedir.



Şekil 7.23 Ekstraksiyon için en uygun tuz miktarının belirlenmesi

GC-MS sisteminde yapılan analizler sonucu farklı tuz miktarları için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırması Çizelge 7.8'de gösterilmiştir.

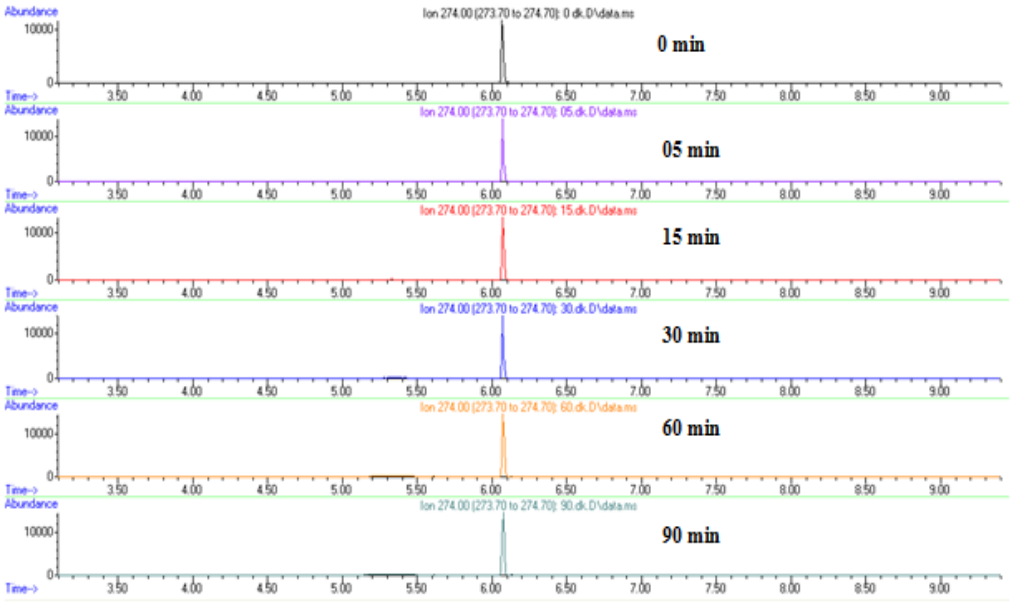
Çizelge 7.8 Tuz miktarlarına göre elde edilen pik alanları

TUZ MİKTARLARI(NaCl)	PİK ALANLARI
0.10 g	18618
0.20 g	74014
0.50 g	131979
1.0 g	172101
2.0 g	201253

Elde edilen analiz sonuçlarına göre, sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için seçilen NaCl tuzunun, ekstraksiyonda kullanılabilecek en uygun miktarının 2.0 g olduğu belirlenmiştir. 2.0 gram ilavesi ile çözeltinin doygunluğa ulaştığı görüldüğünden bu değerden büyük miktarlar çalışmada kullanılmamıştır.

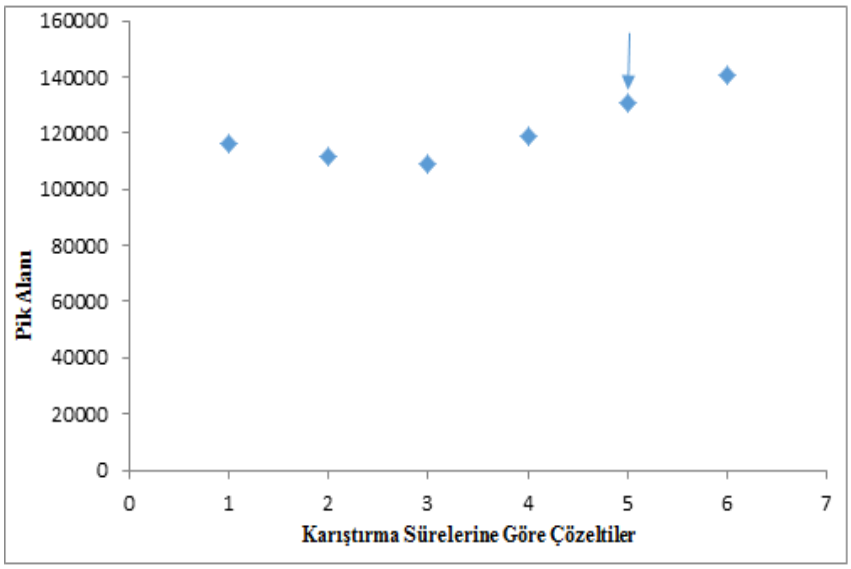
7.6.1.4 Ekstraksiyon İçin En Uygun Karıştırma Süresinin Belirlenmesi

Sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için gerekli olan optimizasyon parametrelerinden bir diğeri de karıştırma süresinin belirlenmesidir. Bu çalışmada, en uygun karıştırma süresinin tespiti için denemeler gerçekleştirilmiştir. 15 mL'lik altı deney tüpü içerisine 0.05 mg/L'lik suda çözünmüş sertralin standart çözeltisinden 10 mL konulmuş ve tüplere daha önceki optimizasyon basamaklarında belirlenen 1.0 g NaCl tuzu ile 1.0 mL etil asetat solventi eklenmiştir. Deney tüplerinden biri mekanik karıştırıcıda karıştırılmayıp oluşan fazın hemen ayrılması sağlanmış, geriye kalan deney tüpleri ise mekanik karıştırıcıya konularak sırasıyla 5, 15, 30, 60 ve 90 dakikalık karıştırma periyotları uygulanmıştır. Deney tüpleri, karıştırma sürelerini tamamladıktan sonra mekanik karıştırıcıdan alınmış ve karıştırma süreleri sonunda her bir tüpte meydana gelen fazlar mikropipet yardımıyla viallere aktarılmıştır. GC-MS cihazında gerçekleştirilen analizler sonucunda elde edilen kromatogramlar Şekil 7.24'de gösterilmektedir.



Şekil 7.24 Ekstraksiyon için en uygun karıştırma süresinin belirlenmesi

GC-MS sisteminde yapılan analizler sonucu farklı karıştırma süreleri için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırma grafiği Şekil 7.25'de gösterilmiştir.



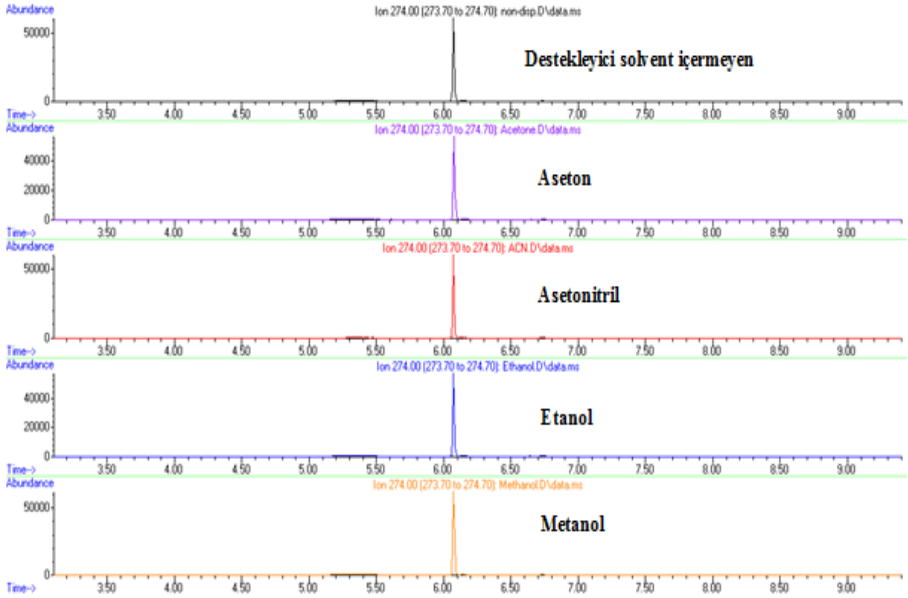
Şekil 7.25 Ekstraksiyon için en uygun karıştırma süresinin belirlenmesi. Farklı karıştırma sürelerine göre çözeltiler: 1) 0 min, 2) 05 min, 3) 15 min, 4) 30 min, 5) 60 min, 6) 90 min

Elde edilen analiz sonuçlarına göre, karıştırma süresinin ekstraksiyon verimi üzerine çok büyük bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Çözeltide bulunan analiti ekstraksiyon solventine alırken tam emin olmak için sertralinin sıvı-sıvı ekstraksiyonu için gerekli en uygun karıştırma süresinin 60 dakika olmasına karar verilmiştir.

7.6.1.5 Ekstraksiyonda Kullanılacak Destekleyici Solvent Çeşidinin Belirlenmesi

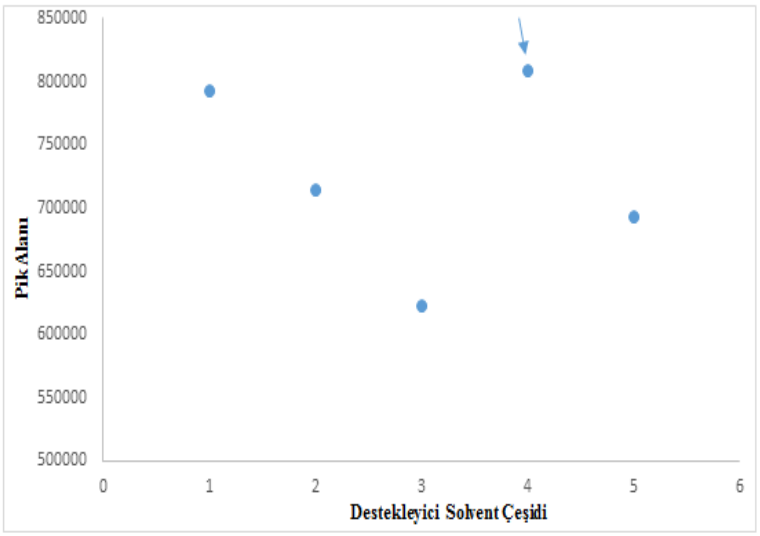
Sertralinin düşük seviyelerde tayinine yönelik geliştirilmeye çalışılan destekleyici sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi için kullanılacak destekleyici solvent çeşidinin belirlenmesi amaçlanmış ve bu doğrultuda deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, dört farklı solvent kullanılmıştır. Kullanılan bu solventler; aseton, asetonitril, etanol ve metanoldür. Daha önceki deneysel çalışmalar ile belirlenen optimum koşullar gereğince 15 mL'lik deney tüpleri içerisine 10 mL 0.05 mg/L konsantrasyona sahip suda çözünmüş sertralin standart çözeltisi konulmuş, üzerine 1.0 g NaCl tuzu ve 0.10 mL dağıtıcı solvent eklendikten sonra 1.0 mL etil asetat da eklenerek, elde edilen karışımların mekanik karıştırıcıda bir saat süreyle karışması sağlanmıştır. Destekleyici solvent içeren karışımlara referans olması açısından destekleyici solvent içermeyen tek bir numune de aynı prosedüre uygun olarak hazırlanmıştır. Karıştırma süreleri sonunda her bir tüpte meydana gelen fazlar mikropipet yardımıyla viallere aktarılmıştır.

GC-MS cihazında gerçekleştirilen analizler sonucunda elde edilen kromatogramlar Şekil 7.26'da gösterilmektedir.



Şekil 7.26 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent çeşidinin belirlenmesi

GC-MS sisteminde yapılan analizler sonucu farklı destekleyici solvent çeşitleri için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırma grafiği Şekil 7.27'de gösterilmiştir.

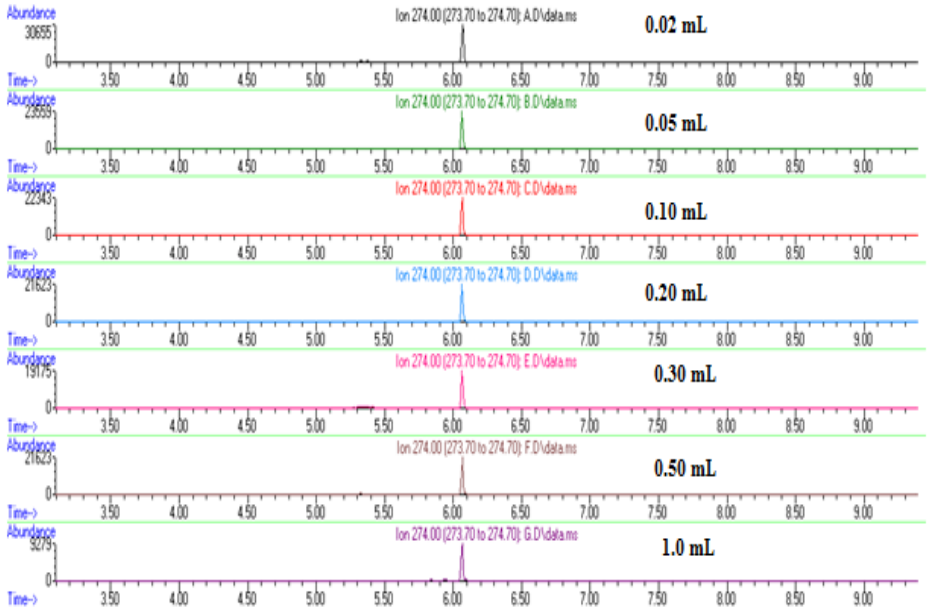


Şekil 7.27 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solventin belirlenmesi. Farklı destekleyici solvent çeşitlerine göre çözelti numaraları: 1) Destekleyici içermeyen, 2) Aseton, 3) Asetonitril, 4) Etanol, 5) Metanol

Analizler sonucu elde edilen verilere göre, sertralinin düşük seviyelerde tayinine yönelik destekleyici sıvı-sıvı ekstraksiyonu için gerekli olan en uygun destekleyici solventin etanol olduğuna karar verilmiştir.

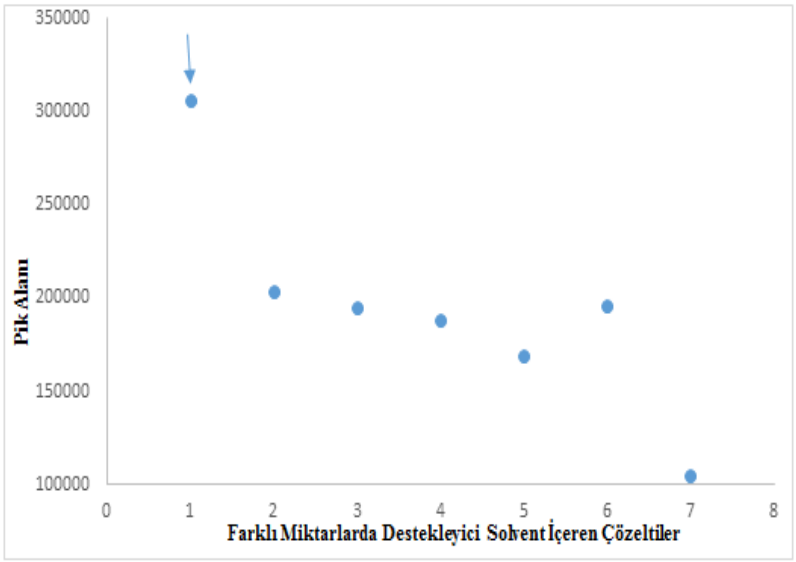
7.6.1.6 Ekstraksiyonda Kullanılacak Destekleyici Solvent Miktarının Belirlenmesi

Sertralinin düşük seviyelerde tayinine yönelik destekleyici sıvı-sıvı ekstraksiyonu için belirlenen destekleyici solventin kullanılacak miktarının belirlenmesi amaçlanmış ve bu amaç doğrultusunda deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 15 mL'lik deney tüplerine 10 mL 0.05 mg/L suda çözünmüş sertralin standart çözeltisi, 1.0 g NaCl tuzu ve üzerine destekleyici solvent olarak 0.02 mL, 0.05 mL, 0.10 mL, 0.20 mL, 0.30 mL, 0.50 mL ve 1.0 mL etanol eklenmiştir. 1.0 mL etil asetat da deney tüplerine eklenerek, tüpler bir saat süreyle mekanik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Her bir karışım için elde edilen fazlar mikropipetler yardımıyla viallere aktarılmış ve GC-MS cihazında analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 7.28'de gösterilmektedir.



Şekil 7.28 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent miktarının belirlenmesi

GC-MS sisteminde gerçekleştirilen analizler sonucunda destekleyici solvent olan etanolün farklı miktarları için ayrı ayrı elde edilen pik alanları ve bu pik alanlarına göre oluşturulan karşılaştırma grafiği Şekil 7.29'da gösterilmiştir.



Şekil 7.29 Ekstraksiyon için en uygun destekleyici solvent miktarının belirlenmesi. Farklı miktarlarda destekleyici solvent içeren çözeltiler: 1) 0.02 mL Etanol, 2) 0.05 mL Etanol, 3) 0.10 mL Etanol, 4) 0.20 mL Etanol, 5) 0.30 mL Etanol, 6) 0.50 mL Etanol, 7) 1.0 mL Etanol

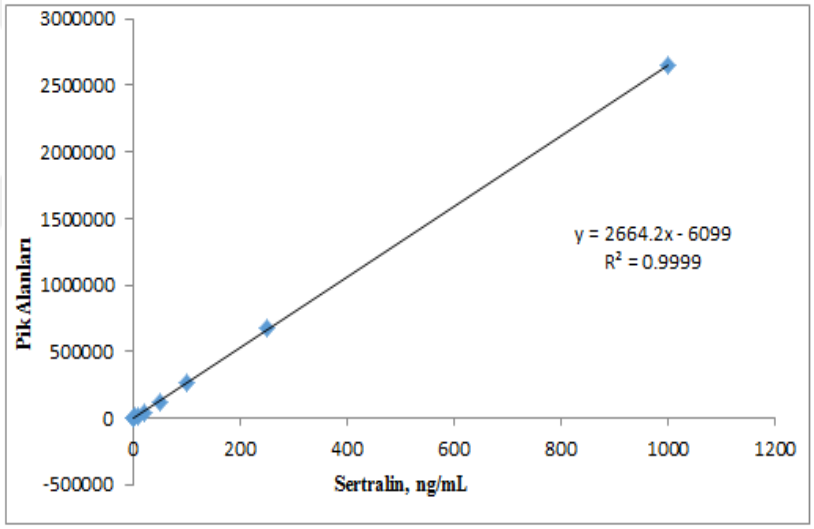
Elde edilen analiz sonuçlarına göre, sertralinin düşük seviyelerde tayinine yönelik destekleyici sıvı-sıvı ekstraksiyonu için destekleyici solvent olarak seçilen etanolün, ekstraksiyonda kullanılabilecek en uygun miktarının 0.02 mL olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmalardan, destekleyici sıvının ekstraksiyon verimi üzerine büyük bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

7.7 Geliştirilen Yönteme Yönelik Analitik Uygulamalar

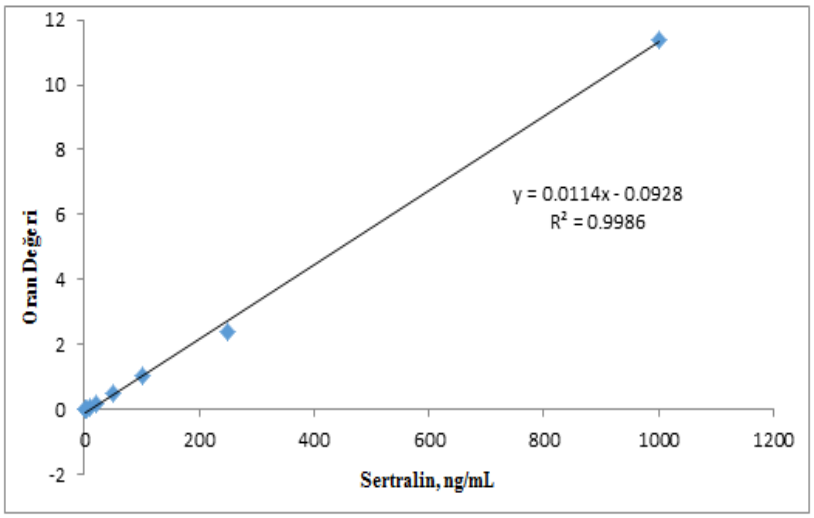
7.7.1 Sistem Analitik Performansının Değerlendirilmesi

Sertralin etken maddesinin sıvı-sıvı ekstraksiyon/önderiştirme sonrası GC-MS cihazında düşük seviyelerde tayin edilmesi amacıyla ekstraksiyon sisteminin değişken tüm parametreleri optimize edilmiş ve optimize edilmiş parametreler kullanılarak da sistem analitik performansının değerlendirilmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Buna göre; 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100, 250 ve 1000 ng/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış, bu standart çözeltilere optimizasyon basamaklarında belirlendiği üzere gerekli prosedür uygulanmıştır. Bu prosedüre göre; hazırlanan standart çözeltilerden 10 mL alınıp, üzerine sırasıyla 2.0 g NaCl, 20 µL destekleyici solvent olarak etanol ve 1.0 mL etil asetat eklendikten sonra 60 dakika süre ile mekanik karıştırıcıda karışmaları sağlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart

çözeltilerin her biri için tüm bu aşamalar sonunda faz ayrımı gözlemlenmiştir. Ayrılan fazlardan 100 µL'lik kısımlar viallere aktarılarak GC-MS cihazında analize gönderilmeden önce üzerlerine 20 µL, 1 mg/L Antrasen-D10 internal standart (IS) olarak eklenmiştir. Tayin sonuçlarının doğruluk ve duyarlılığının arttırılmasına yönelik gerçek numunelerde bulunmadığından ve analitten farklı m/z oranlarında tayin edilebildiğinden iç standart olarak Antrasen-D10 seçilmiş ve kullanılmıştır. Analizler, sertralin 274 (m/z) ve antrasen-D10 188 (m/z) iyonlarının tanımlandığı SIM mod kullanılarak GC-MS cihazında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere göre kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Bu kalibrasyon grafiklerinden biri, sertralin standart çözeltileri için konsantrasyon değerleri ve pik alanları parametreleri arasında oluşturulurken (Şekil 7.30); diğeri ise konsantrasyon ile internal standart ve standart çözeltilerin pik alanları baz alınarak elde edilen oran değerleri parametreleri arasında oluşturulmuştur (Şekil 7.31).



Şekil 7.30 Analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (standart çözeltilere ait pik alanlarına göre)



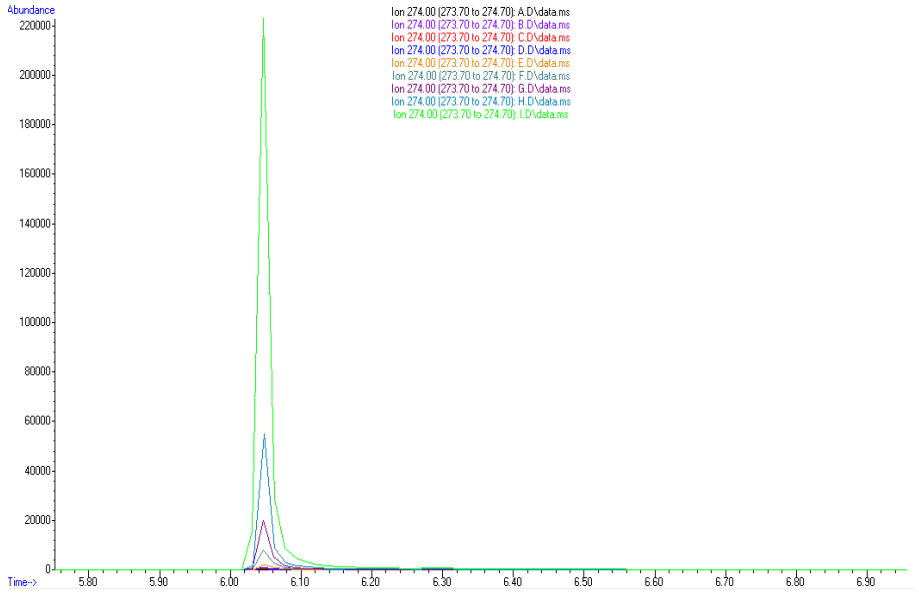
Şekil 7.31 Analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (alan oranlarına göre)

Kalibrasyon eğrileri incelendiğinde eğim değerleri sırasıyla 2664.2 ve 0.0114, R^2 değerleri ise sırasıyla 0,9999 ve 0.9986 olarak bulunmuştur. Sistem analitik performansının tespit edilmesi amacı ile 1.0 ng/mL sertralin standart çözeltisi GC-MS sistemine dört defa gönderilmiş ve pik alanlarından hareketle standart çözelti ve internal standart için standart sapma değerleri tespit edilmiştir. Elde edilen LOD ve LOQ değerleri Çizelge 7.9'da görülmektedir.

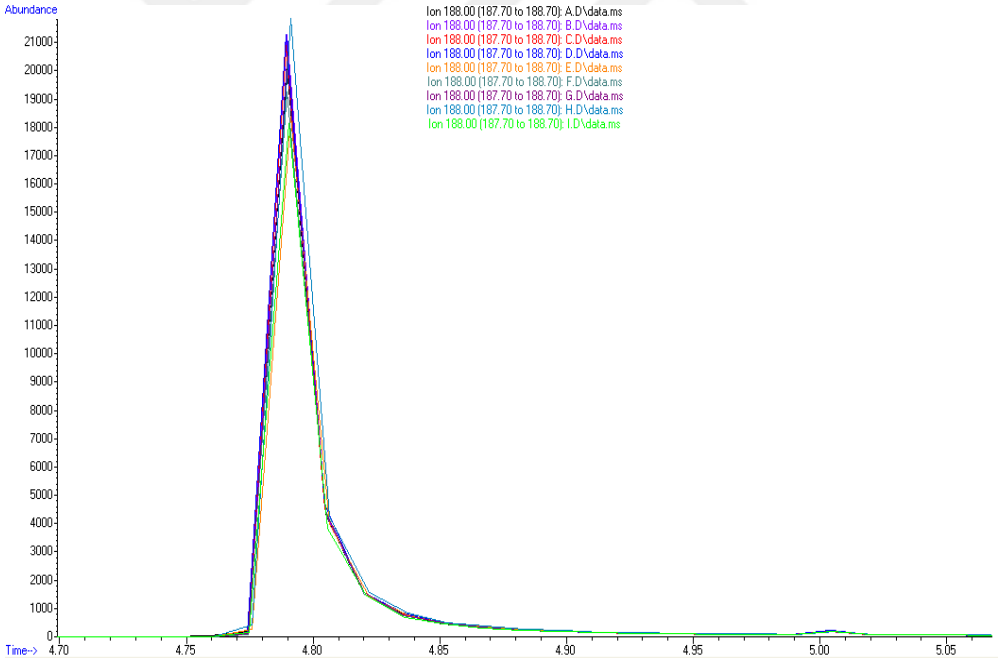
Çizelge 7.9 GC-MS sistem analitik performans değerleri

	İÇ STANDARTSIZ	İÇ STANDART KULLANILARAK
LOD	0.51 ng/mL	0.43 ng/mL
LOQ	1.70 ng/mL	1.43 ng/mL
Denklem	y = 2664.2x - 6099	y = 0.0114x - 0.0928
R^2	0,9999	0.9986

Analizler sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 7.32 ve Şekil 7.33'de gösterilmiştir.



Şekil 7.32 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 274 iyonu için elde edilen piklerin birleşik gösterimine ait kromatogramlar (1.0 ng/mL'den 1000 ng/mL'ye kadar olan konsantrasyon değerlerini, A'dan I'ya kadar olan harfler ifade etmektedir.)

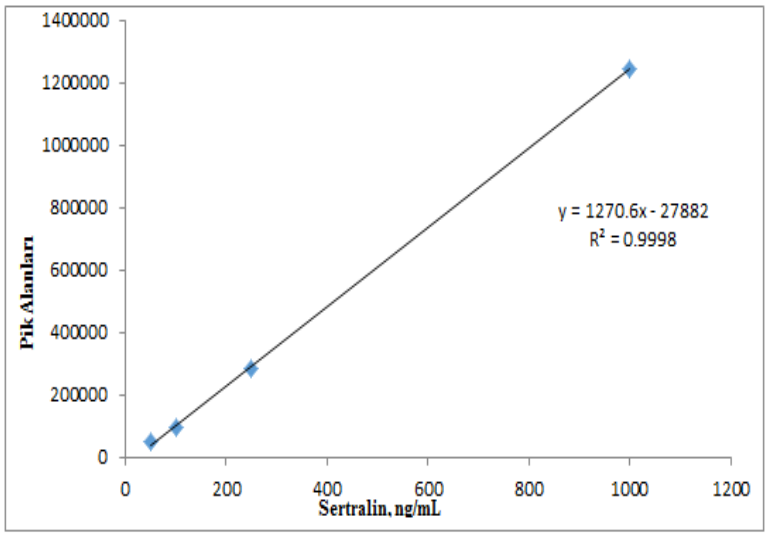


Şekil 7.33 GC-MS sistemine gönderilen farklı analit derişimleri ve 188 iyonu için elde edilen piklerin birleşik gösterimine ait kromatogramlar (1.0 ng/mL'den 1000 ng/mL'ye kadar olan konsantrasyon değerlerini, A'dan I'ya kadar olan harfler ifade etmektedir.)

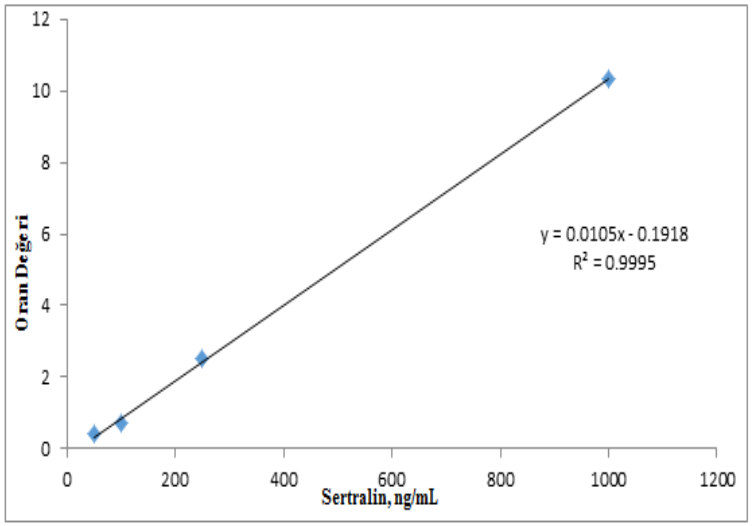
7.7.2 Musluk Suyunda Sertralin Tayini

Geliştirilen analitik tayin yöntemi musluk suyunda sertralin ilaç etken maddesinin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayininde kullanılmıştır. Bu amaçla, hesaplamalarda

kullanılmak üzere kalibrasyon doğrusu oluşturulması için 50, 100, 250 ve 1000 ng/mL konsantrasyonlardaki sertralin standart çözeltileri, ekstraksiyon/önderiştirme optimizasyon basamakları baz alınarak hazırlanmıştır. Daha sonra ekstraksiyon/önderiştirme optimizasyon basamakları, standart eklenmiş musluk suyu numunelerine uygulanmış ve eklenen standarda yönelik geri kazanım yüzdelerini tayin edebilmek amacıyla analize hazır hale getirilmiştir. Musluk suyu numunelerinin konsantrasyonları 100, 250 ve 500 ng/mL olacak şekilde standart ekleme işlemi yapılmıştır. Yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği açısından her bir konsantrasyon değeri için ikişer adet numune hazırlanmış ve analiz edilmiştir. Numunelere, analize gönderilmeden önce internal standart olarak 1.0 mg/L Antrasen-D10 eklenmiştir (100 µL standart çözelti, 20 µL internal standart). Sertralin için 274 (m/z) ve Antrasen-D10 için 188 (m/z) iyonları sisteme tanımlanarak analizler GC-MS cihazında SIM modunda gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda, standart çözeltiler ve internal standart için elde edilmiş pik alanı değerleri kullanılarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon grafiklerinden biri, sertralin standart çözeltileri için konsantrasyon değerleri ve pik alanları parametreleri arasında oluşturulurken (Şekil 7.34); diğeri ise konsantrasyon ile internal standart ve standart çözeltilerin pik alan oaranları arasında oluşturulmuştur (Şekil 7.35).



Şekil 7.34 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (standart çözeltilere ait pik alanlarına göre)



Şekil 7.35 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği (alan oranlarına göre)

Geri kazanım yüzdesi hesaplamaları, alan oranlarına göre oluşturulan kalibrasyon doğrusu baz alınarak hesaplanmıştır. Yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği açısından her bir konsantrasyon değeri için ikişer adet numune hazırlanıp analiz edildiğinden tabloda numaralandırma yapılmıştır.

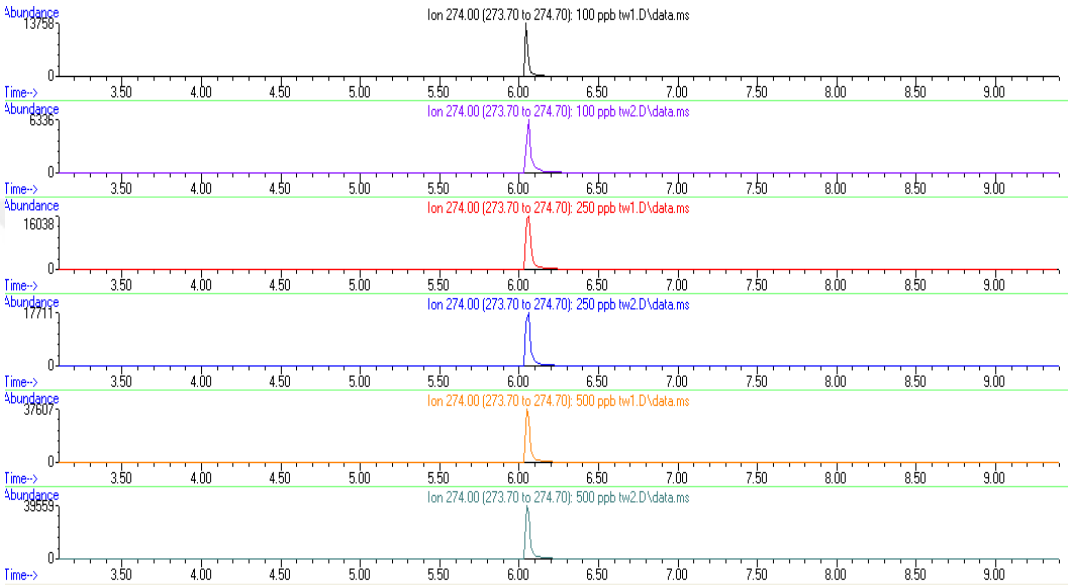
Musluk suyu numunelerine ait GC-MS cihazından elde edilen sonuçlar kullanılarak gerekli hesaplamalar yapılmış ve hesaplamalar sonucunda geri kazanım yüzdelerine ait bilgiler Çizelge 7.10'da verilmiştir.

Çizelge 7.10 Musluk suyu numunelerine ait sertralin geri kazanım yüzdeleri

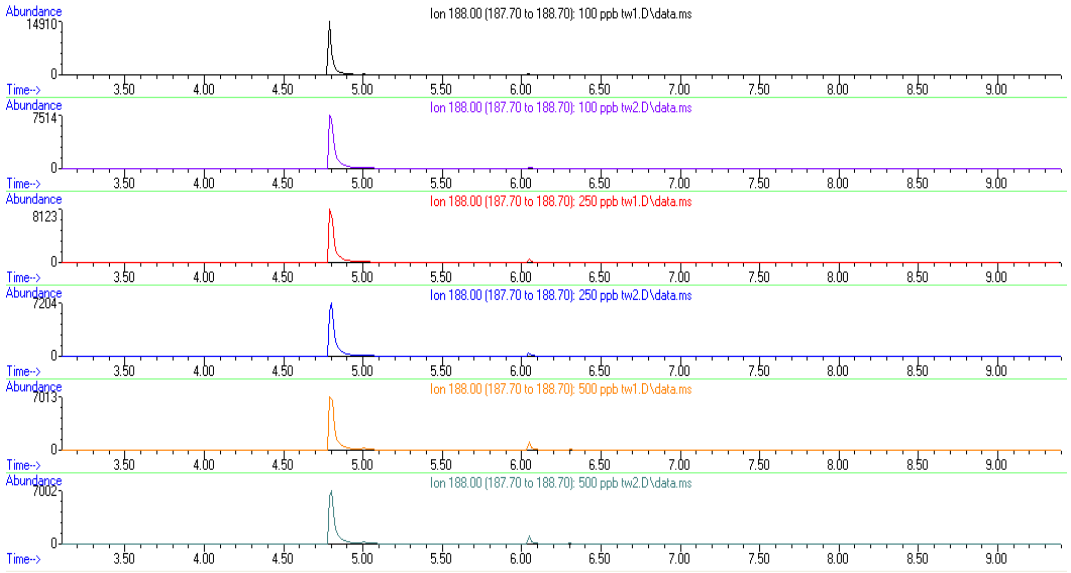
MUSLUK SUYU ÖRNEKLERİ (Konsantrasyon, ng/mL)	SERTRALİN GERİ KAZANIM YÜZDELERİ	ORTALAMA GERİ KAZANIM YÜZDELERİ
100 (1)	92.95	
100 (2)	89.44	91.19
250 (1)	86.80	
250 (2)	94.15	90.48
500 (1)	90.82	
500 (2)	100.10	95.46

Çizelgede görüldüğü üzere, 100 ng/mL konsantrasyondaki musluk suyu numunesinden sertralinin geri kazanımı ortalama %91.19 olarak bulunurken, 250 ng/mL ve 500 ng/mL için bu değerler sırasıyla %90.48 ve %95.46' dır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, musluk suyunda sertralin analitinin düşük limitlerde tayininde geliştirilen analitik tayin yönteminin güvenle kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

GC-MS sisteminden analiz sonuçlarına dair alınan kromatogramlar Şekil 7.36 ve Şekil 7.37'de verilmiştir.



Şekil 7.36 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogram (274, m/z Sertralin için)



Şekil 7.37 Musluk suyunda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogram (188 m/z, Antrasen D-10 için)

7.7.3 Atık Suda Sertralin Tayini

Geliştirilen analitik yöntemin yoğun matrikse sahip atık su örneklerinde sertralinin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayininde kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek amacı ile aşağıda ayrıntıları verilen çalışmalar yapılmıştır.

Ekstraksiyon/önderiştirme optimizasyon basamakları, standart eklenmiş atık su numunelerine uygulanmış ve eklenen standarda yönelik geri kazanım yüzdelerini tayin edebilmek amacıyla analize hazır hale getirilmiştir. Atık su numunelerinin konsantrasyonları 250 ve 500 ng/mL olacak şekilde standart ekleme işlemi yapılmıştır. Yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği açısından her bir konsantrasyon değeri için ikişer adet numune hazırlanmış ve analiz edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası alınan 100 µL örneğe 20 µL, 1 mg/mL Antrasen-D10 iç standardı ilave edilerek numuneler analiz edilmiştir. Sertralin için 274 (m/z) ve Antrasen-D10 için 188 (m/z) iyonları sisteme tanımlanarak analizler GC-MS cihazında SIM modunda gerçekleştirilmiştir.

Geri kazanım yüzdesi hesaplamaları, alan oranlarına göre oluşturulan kalibrasyon doğrusu baz alınarak hesaplanmıştır.

Yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği açısından her bir konsantrasyon değeri için ikişer adet numune hazırlanıp analiz edildiğinden tabloda numaralandırma yapılmıştır.

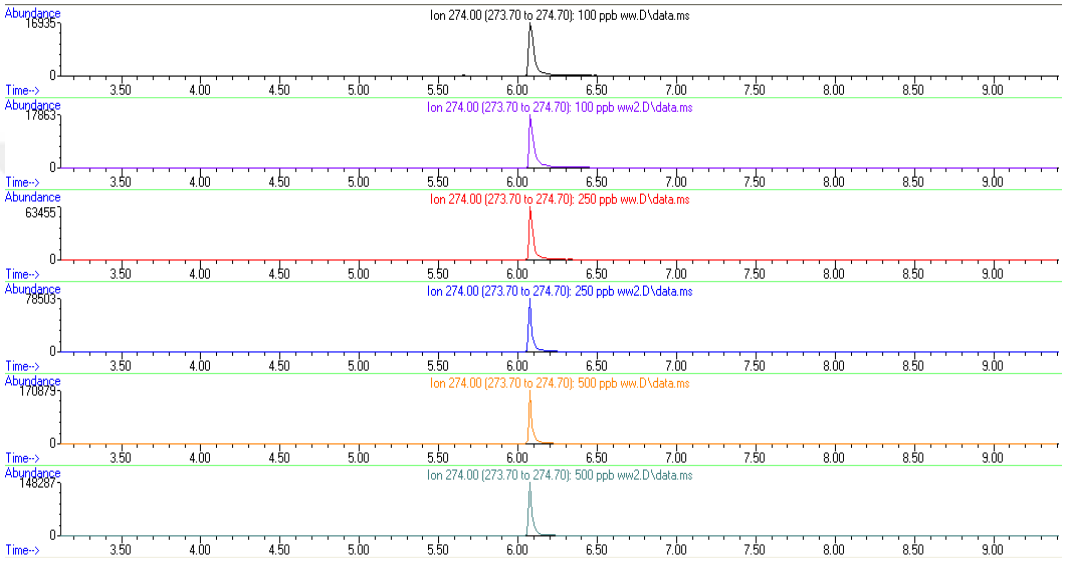
Elde edilen sonuçlara göre gerekli hesaplamalar yapılmış ve hesaplamalar sonucunda geri kazanım yüzdelerine ait bilgiler Çizelge 7.11'de verilmiştir.

Çizelge 7.11 Atık su numunelerine ait sertralin geri kazanım yüzdeleri

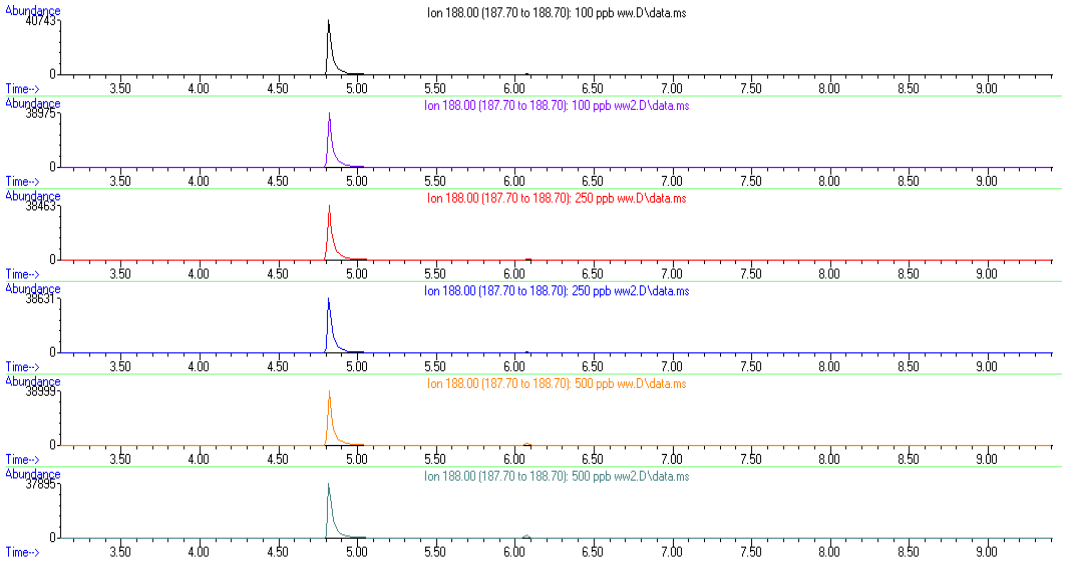
ATIK SU ÖRNEKLERİ (Konsantrasyon, ng/mL)	SERTRALİN GERİ KAZANIM YÜZDELERİ	ORTALAMA GERİ KAZANIM YÜZDELERİ
250 (1)	84.28	85.80
250 (2)	87.32	
500 (1)	95.27	92.43
500 (2)	89.59	

Standart katılmış 250 ng/mL konsantrasyondaki atık su numunesinden sertralinin geri kazanımı ortalama %85.80 olarak bulunurken, 500 ng/mL için bu değer %92.43'tür. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, optimum sıvı-sıvı ekstraksiyonu sonrası dötero antrasenin iç standart olarak kullanıldığı tayin yöntemi ile sertralinin yüksek yoğunlukta matrikse sahip atık su örneklerinde yüksek geri kazanım verimleri ile tayin edilebileceği görülmüştür.

GC-MS sisteminden analiz sonuçlarına dair alınan kromatogramlar Şekil 7.38 ve Şekil 7.39'da verilmiştir.



Şekil 7.38 Atık suda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogramlar (274 m/z, Sertralin için)



Şekil 7.39 Atık suda sertralin tayinine yönelik yapılan analizler sonucu GC-MS cihazında elde edilen kromatogramlar (188 m/z, Antrasen D-10 için)

BÖLÜM 8

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada sertralinin kantitatif ve kalitatif tayini için diğer tayin yöntemlerine alternatif olarak GC-MS sistemiyle analitik bir yöntem geliştirilmiştir. Sistemin tüm parametreleri, düşük tayin limiti elde etmek için optimize edilmiştir. Optimum koşullar altında sertralinin ekstraksiyon/önderiştirme yapılmadığı durumda LOD/LOQ değerleri sırasıyla 1.6 ng/mL/5.4 ng/mL olarak bulunmuştur. Geliştirilen doğrudan tayin yöntemi ilaç örneklerinin yapısında bulunan analitin tayininde kullanılmıştır. Günümüzde kullanımı giderek artan ilaçlar arasında olan antidepresanların kullanım doğruluğu ve yan etkilerinin doğurabileceği olumsuz sonuçlar açısından prospektüslerinde söylenen miktarlarda vücuda alınıp alınmadığı büyük önem arz etmektedir. Bu sebeple, sertralin içeren ve bazı psikolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan üç farklı marka ticari ilaçta aktif bileşen olan sertralin analitinin kalitatif ve kantitatif tayini ekstraksiyon sonrası optimum şartlar altında başarı ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan miktar analizleri sonucunda, iddia edilen miktarlar ile analiz sonucunda elde edilen miktarların birbirinden çok farklı olmadığı görülmüştür. Ayrıca, matriks bileşenlerinin analit sinyali üzerine etkilerinin belirlenmesi amacı ile spike deneyleri yapılmıştır.

Sertralin kimyasalının mide ortamında kararlılık seviyesinin belirlenmesine yönelik yapay mide ortamı oluşturulmuştur. Daha önce miktar analizi gerçekleştirilen farklı markalardaki ticari ilaçlardan rastgele biri seçilerek, seçilen bu analitin 240 dakika boyunca yapısında bir değişiklik olup olmadığına yönelik çalışmalar yürütülmüş ve belirtilen süre sonunda sertralinin yapısında herhangi bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir.

Sertralin etken maddesinin ekstraksiyon/önderiştirme sonrası GC-MS cihazında matriks etkilerinden uzak düşük seviyelerde tayin edilmelerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu doğrultuda, ekstraksiyon sisteminin değişken tüm parametreleri optimize edilerek, optimum koşullar altında sertralin için gözlenebilme/tayin limitler (LOD/LOQ) 0.43 ng/mL/1.43 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen analitik yöntem musluk suyu ve atık su örneklerine uygulanmıştır. Bu amaçla musluk suyu ve atık su örneğine optimum şartlarda tayin yöntemimiz uygulanmış ve örneklerin sertralin içermediği tespit edilmiştir. Gerçek numune analizleri için belirtilen numunelere bilinen derişimlerde standart sertralin çözeltisi spike edilerek geri kazanım verimler, tespit edilmiştir. Analizler sonrasında, musluk suyu numuneleri için; 100, 250 ve 500 ng/mL konsantrasyonlarındaki spike çalışmaları için yüzde geri kazanım değerleri sırasıyla %91.19 ± 2.48, %90.48 ± 5.19 ve %95.46 ± 6.56 olarak bulunmuştur. Atık suyu numuneleri için ise; atık suya standart katılarak hazırlanan 250 ve 500 ng/mL konsantrasyonlara sahip analitlerin geri kazanım yüzdeleri sırasıyla % 85.8 ± 2.15 ve %92.4 ± 4.02 olarak tespit edilmiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar, geliştirilen tayin yönteminin belirtilen matrikslerde sertralin tayini için yüksek doğruluk ve duyarlılıkta kullanılabileceğini kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

[1] Wille, S., (2008). Quantitative Analysis of New Generation Antidepressants Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Applications in Clinical and Forensic Toxicology, Doktora Tezi, Ghent Üniversitesi Farmasötik Bilimler Fakültesi, Belçika.

[2] Espinosa Bosch, M., Ruiz Sanchez, A.J., Sanchez Rojas, F. ve Bosch Ojeda, C., (2008). "Analytical Methodologies for the Determination of Sertraline", J. Pharm. Biomed. Anal., 48:1290–1302.

[3] Khraiwesh, A., Papoutsis, I., Nikolaou, P., Pistos, C., Spiliopoulou, C. ve Athanaselis, S., (2011). "Development and Validation of an EI-GC/MS Method for the Determination of Sertraline and Its Major Metabolite Desmethyl-Sertraline in Blood", J. Chromatogr. B., 879:2576–2582.

[4] Shahlaei, M., Rahimi, B., Nowroozi, A., Ashrafi-Kooshk, M.R., Sadrjavadi, K. ve Khodarahmi, R., (2015). "Exploring Binding Properties of Sertraline with Human Serum Albumin: Combination of Spectroscopic and Molecular Modeling Studies", Chem-Biol Interact., 242:235-246.

[5] Huang, S.W., Hsieh, M.M. ve Chang, S.Y., (2012). "Sensitive Determination of Sertraline by Capillary Electrophoresis with Dispersive Liquid–Liquid Microextraction and Field-Amplified Sample Stacking", Talanta, 101:460–464.

[6] Patel, B.N., Sharma, N., Sanyal, M. ve Shrivastav, P.S., (2009). "Analysis of Second-Generation Antidepressant Drug, Sertraline and Its Active Metabolite, N-Desmethyl Sertraline in Human Plasma by A Sensitive and Selective Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method", J. Chromatogr. B., 877:221–229.

[7] Bakirdere, S., Volkan, M. ve Ataman, O.Y., (2015). "Speciation of Selenium in Supplements by High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry", Anal. Lett., 48:1511-1523.

[8] Izadyar, A., Arachchige, D.R., Cornwell, H. ve Hershberger, J.C., (2016). "Ion Transfer Stripping Voltammetry for the Detection of Nanomolar Levels of Fluoxetine, Citalopram, and Sertraline in Tap and River Water Samples", Sensor Actuat. B Chem., 223:226–233.

[9] ÇADEM Psikoloji, Depresyon ve Tedavisi, http://www.cadempsikoloji.com/category/bireysel-terapi/depresyon, 27 Nisan 2016.

[10] Prof. Dr. Ahmet Rasim Küçükusta, Antidepresan Çılgınlığına Kim Dur Diyecek?, http://ahmetrasimkucukusta.com/2012/08/12/yazilar/tip-yazilari/ruhsal-hastaliklar/antidepresan-cilginligina-kim-dur-diyecek/, 27 Nisan 2016.

[11] E-Psikiyatri Nöropsikiyatri Portalı, Modern Çağın Salgın Hastalığı Depresyon, http://www.e-psikiyatri.com/modern-cagin-salgin-hastaligi-depresyon-33999, 27 Nisan 2016.

[12] Salkım, D., (2008). Fluoksetin ve Metaboliti Norfluoksetinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) Yöntemi ile Biyolojik Materyalde (İdrar) Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul.

[13] Erdoğan Altunöz, D., (2011). Bazı Antidepresan İlaç Etken Maddelerinin Tayini İçin Elektrokimyasal Yöntemler Geliştirilmesi ve Bunların Analitik Uygulamaları, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[14] Öztürk, M.O., Uluşahin, A., (2008). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları II, Tuna Matbaacılık, Ankara.

[15] Etöz Mavi, E., (2013). Bazı Antidepresanların Vücut Sıvılarında Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Tayini için Metot Optimizasyonu, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

[16] Berzas Nevado, J.J., Villasenor Llerena, M.J., Guiberteau Cabanillas, C., Rodriguez Robledo, V. ve Buitrago, S., (2006). "Sensitive Capillary GC-MS-SIM Determination of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: Reliability Evaluation by Validation and Robustness Study", J. Sep. Sci., 29:103-113.

[17] Stahl, S.M., (1997). Psychopharmacology of Antidepressants, Martin Dunitz, London.

[18] Wille, S.M.R., Maudens, K.E., Van Peteghem, C.H. ve Lambert, W.E.E., (2005). "Development of A Solid Phase Extraction for 13 'New' Generation Antidepressants and Their Active Metabolites for Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Analysis", J. Chromatogr. A., 1098:19-29.

[19] Pacher, P., Kohegyi, E., Kecskemeti, V. ve Furst, S., (2001). "Current Trends in the Development of New Antidepressants", Curr. Med. Chem., 8:89.

[20] Kent, J.M., (2000). SNaRIs, NaSSAs, and NaRIs: New Agents for the Treatment of Depression, Lancet, 355:911.

[21] Yüce, N.N., (2012). Depresyon Hastalarında Sertralin' nin Farmakogenetik Yönden Araştırılması ve Plazma İlaç ve Metabolitinin Tayini, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.

[22] Örsel, S., (2004). "Depresyonda Tedavi: Genel İlkeler ve Kullanılan Antidepresan İlaçlar", J. Clin. Psy., 7(4):17-24.

[23] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Akılcı İlaç Kullanımı, http://www.akilciilac.gov.tr/?page_id=81&lang=tr_TR, 20 Nisan 2016.

[24] Psikofarmakoloji Derneği, (2014). Türkiye'de Psikotrop İlaç Tüketimi ve Mevcut Uygulamaların Tıbbi, Etik ve Ekonomik Sonuçları Raporu, İstanbul.

[25] Adams, A.I.H. ve Bergold, A.M., (2001). "Assay of Sertraline in Tablets and Drug Substance by Liquid Chromatography", J. Pharm. Biomed. Anal., 26:505-508.

[26] DrugBank, Sertraline, www.drugbank.ca/drugs/DB01104, 22 Nisan 2016.

[27] Tarhan, N., (1992). Sertralin: Yeni Bir Antidepresan, Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 2-3.

[28] Leonard, B.E., (1988). "Pharmacological Effects of Serotonin Reuptake Inhibitors", J. Clin. Psychiat., 48:12-17.

[29] Murdoch, D. ve McTavish, M., (1992). "Sertraline: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Depression and Obsessive-Compulsive Disorder", Drugs, 44:604-624.

[30] Baldessarini, R.J., (1990). Tricylic Antidepressants, The Pharmacological Basis of Theraeutics, 8. Baskı, 409-410, Pergamon Press, New York.

[31] Doogan, D.B. ve Caillard, V., (1988). "Sertraline: A New Antidepressants", J. Clin. Psychiat., 49: 46-51.

[32] Stahl, S.M., (2005). Essential Psychopharmacology: The Prescriber's Guide: Antidepressants, Cambridge University Press, New York.

[33] Orhan, A., (2013). Drosophila melanogaster' de Gelişim Biyolojisi Üzerine Bazı Antidepresanların Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

[34] Preskorn, S.H., Ross, R. ve Stanga, C.Y., (2004). Antidepressants: Past, Present and Future, Springer Berlin Heidelberg, Berlin.

[35] Hecht, A., (2011). Antidepressants and Antianxiety Drugs, Infobase Publishing, New York.

[36] Savaş, H.A., Coşkun, A. ve Arkonaç, O., (1994). "Yeni Bir Antidepresan: Sertralin (Bir İnceleme)", Düşünen Adam Dergisi, 7(3):46-48.

[37] Vaswani, M., Linda, F.K. ve Ramesh, S., (2003). "Role of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Psychiatric Disorders: A Comprehensive Review", Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry., 27(1):85–102.

[38] T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, E-Reçete İlaç Listesi, http://www.titck.gov.tr/SKRS3, 19 Nisan 2016.

[39] Küçükkolbaşı, S., Gündüz, B. ve Kılıç, E., (2004). "Tabletlerde Mebendazolün Spektroflorimetrik Tayini", GÜ Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 24(3):159-174.

[40] Mohamed, A.M.I., Omar, M.A., Hammad, M.A. ve Mohamed, A.A., (2015). "Spectrofluorimetric and Micelle-Enhanced Spectrofluorimetric Methods for Determination of Felodipine and Nimodipine in Pharmaceutical Preparations and Human Plasma", Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc., 149:934-940.

[41] Walash, M.I., El-Enany, N. ve Askar, H., (2015). "Validated Spectrofluorimetric Method for the Determination of Carbamazepine in Pharmaceutical Dosage Forms After Reaction with 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-Cl)", Luminescence, 30:1119-1124.

[42] El-Enin, M.A.B.A., Hammouda, M.E.S.A.A.G., El-Sherbiny, D.T., El-Wasseef, D.R. ve El-Ashry, S.M., (2016). "Validated Spectrofluorimetric Method for Determination of Two Phosphodiesterase Inhibitors Tadalafil and Vardenafil in Pharmaceutical Preparations and Spiked Human Plasma", Luminescence, 31:173-178.

[43] Bunaciu, A.A., Aboul-Enein, H.Y. ve Fleschin, Ş., (2007). "FT-IR Spectrophotometric Analysis of Coenzyme Q_{10} (CoQ_{10}) and its Pharmaceutical Formulations", Prep. Biochem. Biotechnol., 37:59-65.

[44] Savic, I., Nikolic, G., Savic, I, ve Bankovic, V., (2008). "The Simultaneous Spectrophotometric Determination of Trimazolin and Phenylephrine Hydrochloride in Nasal Preparations", Chem. Ind. Chem. Eng. Q., 14(4): 261-264.

[45] Piech, R., Rumin, M. ve Paczosa-Bator, B., (2014). "High Sensitive Voltammetric Determination of Paroxetine on Glassy Carbon Electrode Modified with Nafion/MWCNTs", Int. J. Electrochem. Sci., 9:7528-7539.

[46] Ma, W., Cheng, L., Zhang, L.W., Zhang, Y.C., Wang, H.B., Jiao, Y.H., Dai, H.H. ve Tang, Y.Z., (2014). "Simultaneous Determination of 20 Anti-Obesity Drugs Illegally Added in Weight-Loss Functional Foods by Matrix Solid Phase Dispersion-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry", CHINESE J. ANAL. CHEM., 42(8):1161-1170.

[47] Nikolaou, P., Papoutsis, I., Dona, A., Spiliopoulou, C. ve Athanaselis, S., (2015). "Development and Validation of a GC/MS Method for the Simultaneous Determination of Levetiracetam and Lamotrigine in Whole Blood", J. Pharm. Biomed. Anal., 102:25-32.

[48] El-Enany, N.M., Abdelal, A. ve Belal, F., (2011). "Spectrofluorimetric Determination of Sertraline in Dosage Forms and Human Plasma Through Derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate", Chem. Cent. J., 5:56.

[49] Lajeunesse, A., Gagnon, C. ve Sauve, S., (2008). "Determination of Basic Antidepressants and Their N-desmethyl Metabolites in Raw Sewage and Wastewater Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry", Anal. Chem., 80:5325-5333.

[50] Koros, A., Varga, Z. ve Molnar-Perl, I., (2008). "Simultaneous Analysis of Amino Acids and Amines as Their o-phthalaldehyde-ethanethiol-9-fluorenylmethyl chloroformate Derivatives in Cheese by High-Performance Liquid Chromatography", J. Chromatogr. A., 1203:146-152.

[51] Ulaş, N., (2014). Salvia staminea Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin GC-MS, Headspace Yöntemleri Yoluyla Analizi ve Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

[52] Demirkaya, F., (2009). A, E ve K Vitaminlerinin Farmasötik Preparatlarda, İnsan Plazmasında ve Tavşan Plazmasında Farklı Analitik Yöntemlerle Miktar Analizi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

[53] Skoog, D.A. ve Leary, J.J., (1992). Principles of Instrumental Analysis, Harcourt Brace College Publishers, New York.

[54] Gündüz, T., (2002). İnstrümental Analiz, Gazi Kitapevi, Ankara.

[55] Wiberg, K., (2004). Multivariate Spectroscopic Methods for the Analysis of Solutions, Doktora Tezi, Stockholm University Department of Analytical Chemistry, Sweden.

[56] İskender, N.Y., (2007). Türkiye Doğal Viburnum L. (Caprifoliaceae) Türlerinin Uçucu Yağ Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

[57] Merck Chemicals Laboratuvar Ürünleri, UV-Spektrometresi Tanıtımı, http://www.merckmillipore.com/turkey/chemicals/uvvisspectroscopy/c__ycb.s1l_pkaaaewauıfvhtl, 26 Nisan 2014.

[58] Jahangir, M., Riaz, F. ve Chaudhry, A.H., (2011). "Spectrophotometric Determination of Sertraline in Pure and Blood Sample", J. Chil. Chem. Soc., 56:2 .

[59] Onal, A., Kepekci, S.E., Cetin, S.M. ve Erturk, S., (2006). "Spectrophotometric Determination of Certain Antidepressants in Pharmaceutical Preparations", J. AOAC Int., 89(4):966-71.

[60] Baba, B., (2007). Biga Yarımadası (Çanakkale) Sıcak Su Kaynaklarındaki Arsenik (AS)' in Voltametri ve İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Teknikleri ile Kantitatif Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

[61] Çekirdek, P., (2005). Voltametrik Metotlarla Ditiyofosfonat Anyonlarının Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[62] Henden, E., Deniz, T., Yayayürek, O. ve Erdem, N., (2005). "Sularda Arsenik Bileşimi ve Arıtımı", Ondokuzuncu Ulusal Kimya Kongresi, 30 Eylül - 4 Ekim 2005, Kuşadası.

[63] Gökmeşe, F., (2004). Bazı Naftaldimin ve Salisilaldiminlerin Çeşitli Voltametrik Tekniklerle Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[64] Yıldız, A. ve Genç, Ö., (1993). Enstrümental Analiz, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.

[65] Bocris, J.O.M. ve Reddy, A.K.N., (1970). Modern Electrochemistry, Plenum Press, London.

[66] Zuman, P. ve Brezina, M., (1962). Polarographic Analysis in Pharmacy: Progress in Polaragraphy, Intersence Publishers, New York.

[67] Izadyar, A., Arachchige, D.R., Cornwell, H. ve Hershberger, J.C., (2016). "Ion Transfer Stripping Voltammetry for the Detection of Nanomolar Levels of Fluoxetine, Citalopram, and Sertraline in Tap and River Water Samples", Sens. Actuator B-Chem., 223:226-233.

[68] Nouws, H.P.A., Delerue-Matos, C., Barros, A.A. ve Rodrigues, J.A., (2005). "Electroanalytical Study of the Antidepressant Sertraline", J. Pharm. Biomed. Anal., 39:290-293.

[69] Koyunoğlu, S., (2008). Paeonia Türleri İçerisindeki Monoterpen Glikozitlerin Yapı Tayinleri ve Kromatografik Analizleri İçin Yöntem Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[70] Xu, Z.S., Zhu, H.Y. ve Tang, C.R., (2014). "Development and Validation of a HPLC Method for Determination of Sertraline in Human Plasma and its Application to Bioequivalence Study", Lat. Am. J. Pharm., 33(2):326-31.

[71] Urinovska, R., Brozmanova, H., Sistik, P., Silhan, P., Kacirova, I., Lemr, K. ve Grundmann, M., (2012). "Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Determination of Five Antidepressants and Four Atypical Antipsychotics and Their Main Metabolites in human Serum", J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 907:101-7.

[72] Bağcıoğlu, M., (2011). Development of Chemometric Multivariate Calibration Models for Spectroscopic Quality Analysis of Biodiesel Blends, Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

[73] Kılıç, M., (2007). Bentonit Kili Üzerinde DDVP Pestisitinin Adsorpsiyon Özelliklerinin GC ve GC/MS ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

[74] Harris, W.E. ve Habbgood, H.W., (1966). Programmed Temperature Gas Chromatography, John Wiley & Sons Ltd., New York.

[75] Sigma-Aldrich, Packed GC Columns, http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/gas-chromatography/packed-gc-columns.html, 10 Nisan 2016.

[76] Lee, M., Yang, F. ve Bartle, K., (1984). Open Tubular Column Gas Chromatography Theory and Practise, Wiley, New York.

[77] Holler, Skoog ve Crouch, (2013). Enstrümantal Analiz İlkeleri, Bölüm 27-Kılıç, E., Yılmaz,H. ve Köseoğlu, F., Bilim Yayıncılık, Ankara.

[78] Pietracci, E., Bermejo, A.M., Alvarez, I., Cabarcos, P. ve Balduni, W., (2013). "Simultaneous Determination of New-Generation Antidepressants in Plasma by Gas Chromatography-Mass Spectrometry", Forensic Toxicol, 31:124-132.

[79] Kim, K.M., Jung, B.H., Choi, M.H., Woo, J.S., Paeng, K.J. ve Chung, B.C., (2002). "Rapid and Sensitive Determination of Sertraline in Human Plasma Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry", J. Chromatogr. B, 769:333-339.

[80] Pujadas, M., Pichini, S., Civit, E., Santamarina, E., Perez, K. ve De La Torre, R., (2007). "A Simple and Reliable Procedure for the Determination of Psychoactive Drugs in Oral Fluid by Gas Chromatography-Mass Spectrometry", J. Pharm. Biomed. Anal., 44:594-601.

[81] Rogowsky, D., Marr, M., Long, G. ve Moore, C., (1994). "Determination of Sertraline and Desmethylsertraline in Human Serum Using Copolymeric Bonded-Phase Extraction, Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry", J. Chromatogr. B, 655:138-141.

[82] Papoutsis, I., Khraiwesh, A., Nikolaou, P., Pistos, C. ve Spiliopoulou, C., (2012). "A Fully Validated Method for the Simultaneous Determination of 11 Antidepressants Drugs in Whole Blood by Gas Chromatography-Mass Spectrometry", J. Pharm. Biomed. Anal., 70:557-562.

[83] Bakırdere, S., (2009). Speciation Studies Using HPLC-ICP-MS and HPLC-ES-MS, Doktora Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[84] Caner, C., (2015). Bazı Metal İyonlarının Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu ile Zenginleştirilerek USN-ICP-OES Cihazı ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.

[85] Agudo, M., Rfos, A., ve Valcarcel, M., (1993). "Continuous Liquid-Liquid Extraction for Preconcentration with On-Line Monitoring", Anal. Chem., 65:2941-2943.

[86] Huang, S.W., Hsieh, M.M. ve Chang, S.Y., (2012). "Sensitive Determination of Sertraline by Capillary Electrophoresis with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Field-Amplified Sample Stacking", Talanta, 101:460-464.

[87] Fernandez, P., Taboada, V., Regenjo, M., Morales, L., Alvarez, I. ve Carro, A.M., (2016). "Optimization of Ultrasound Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of Six Antidepressants in Human Plasma Using Experimental Design", J. Pharm. Biomed. Anal., 124:189-197.

[88] Fritz, J.S., (1999). Analytical Solid Phase Extraction, Wiley-VCH, New York.

[89] Karatepe, A., (2006). Chromosorb-105 Reçinesi ve Membran Filtre Kullanılarak Bazı Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi ve Türlemesi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

[90] Hasercan Şahinbaş, D., (2011). Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bazı Metal İyonların Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

[91] Watanabe, H. ve Tanaka, H., (1978). "A Non-Ionic Surfactant as A New Solvent for Liquid-Liquid Extraction of Zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphtol", Talanta, 25(10):585–589.

[92] Yılmaz, Ö., (2012). Çevresel Su Örneklerinde Spektroskopik (FAAS) Eser Siyanür Tayini için Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE) ile Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

[93] Galia, E., Nicolaides, E., Hörter, D., Löbenberg, R., Reppas, C. ve Dressman, J.B., (1998). "Evaluation of Various Dissolution Media for Predicting in Vivo Performance of Class I and II Drugs", Pharm. Res., 15 (5):698-705.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif Seda KOÇOĞLU

Doğum Tarihi ve Yeri : 08.06.1988 / Bakırköy

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : eskocoglu_@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2016
Lisans	Kimya	Yıldız Teknik Üniversitesi	2013
Lise	Fen Bilimleri	Avcılar Süleyman Nazif Lisesi	2005

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2012	İ.Ü. C.T.F. Biyokimya ABD	Stajyer

ÖDÜLLERİ

1. Koçoğlu, E.S., Bakırdere, S. ve Keyf, S., (2016). En İyi Poster Ödülü (İkincilik), "Sertralinin GC-MS Sisteminde Düşük Seviyelerde Tayinine Yönelik Analitik Yöntem Geliştirilmesi ve Yapay Mide Ortamındaki Kararlılığının Tespit Edilmesi", ESAN-2016 IV. Eser Analiz Kongresi, 19 Mayıs - 22 Mayıs 2016, Sakarya.