



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

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**FARMASÖTİK FORMLARDA OLMESARTAN
MEDOKSOMİL, HİDROKLOROTİYAZİD VE
SAFSIZLIKLARIN YÜKSEK BASINÇLI SIVI
KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİYLE TAYİNİ**

ÇAĞLAR SAÇINTI

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

EYLÜL 2014



**FARMASÖTİK FORMLARDA OLMESARTAN MEDOKSOMİL,
HİDROKLOROTİYAZİD VE SAFSIZLIKLARIN YÜKSEK BASINÇLI SIVI
KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİYLE TAYİNİ**

Çağlar SAÇINTI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2014

Çağlar SAÇINTI tarafından hazırlanan "Farmasötik Formlarda Olmesartan medoksomil, Hidroklorotiyazid ve Safsızlıkların Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemiyle Tayini" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof.Dr. Nilgün GÜNDEN GÖĞER

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

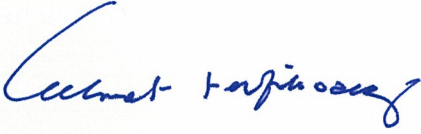
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan: Prof.Dr. M. Tefvik ORBEY

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

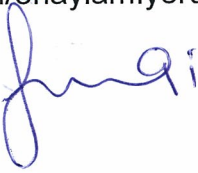
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof.Dr. Bengi USLU

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç.Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Çağlar SAÇINTI

29.09.2014

FARMASÖTİK FORMLARDA OLMESARTAN MEDOKSOMİL,
HİDROKLOROTİYAZİD VE SAFSIZLIKLARIN YÜKSEK BASINÇLI SIVI
KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİYLE TAYİNİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Çağlar SAÇINTI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2014

ÖZET

Çalışmamızda antihipertansif etkili ilaç etken maddeleri, *Olmесartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* ve bu etken maddelerin safsızlıklarının aynı anda tayinleri amacıyla bir Agilent 1100 serisi HPLC yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Çalışmada hareketli faz olarak 0,020 M NaH₂PO₄ çözeltisi ve asetonitril ile bir gradient akış sistemi oluşturulmuştur. Sabit faz olarak Agilent Zorbax Sb-C18 (4,6X150 mm, 5 µm) kolon seçilmiştir. UV dedektör dalga boyu 215 nm'ye ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 25°C, otomatik örnekleyici sıcaklığı ise 25°C'dir. Her çözelti için enjeksiyon hacmi 4,0 µL'dir. Çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. *Olmесartan medoksomil*, *Olmесartan medoksomil safsızlık A*, *Olmесartan medoksomil safsızlık B*, *Hidroklorotiyazid*, *Hidroklorotiyazid safsızlık A*, *Hidroklorotiyazid safsızlık B* pikleri için alıkonma zamanları sırasıyla 10,49; 15,87; 21,98; 5,29; 4,87 ve 4,60 dakikadır. *Olmесartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* için % geri kazanım sonuçları sırasıyla %93,3 ve %99,0 olarak hesaplanmıştır. Dedeksiyon Limiti değerleri *Olmесartan medoksomil*, *Olmесartan medoksomil safsızlık A*, *Olmесartan medoksomil safsızlık B*, *Hidroklorotiyazid*, *Hidroklorotiyazid safsızlık A*, *Hidroklorotiyazid safsızlık B* için sırasıyla 0,07 µg/mL; 0,10 µg/mL; 0,10 µg/mL; 0,40 µg/mL; 1,40 µg/mL ve 0,76 µg/mL'dir. Sonuçta *Olmесartan medoksomil*, *Hidroklorotiyazid* ve safsızlıklarının tayinlerinde kullanılabilecek hızlı, seçici, doğru, tekrarlanabilir ve duyarlı bir tayin yöntemi geliştirilmiştir.

Bilim Kodu :1.004
Anahtar Kelimeler :Olmесartan medoksomil, Hidroklorotiyazid, Safsızlık, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
Sayfa Adedi :71
Danışman : Prof. Dr. Nilgün Günden GÖĞER

ANALYSIS OF OLMESARTAN MEDOXOMIL, HYDROCHLOROTHIAZIDE, AND
RELATED IMPURITIES IN PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS BY HPLC

(M. Sc. Thesis)

Çağlar SAÇINTI

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

ABSTRACT

In this study, an analytical method for *Olmesartan medoxomil*, *Hydrochlorothiazide*, and related impurities in antihypertensive drugs was developed and validated. An Agilent 1100 series HPLC system was used for quantitative analysis. The analytical column used in these experiments was Agilent Zorbax Sb-C18 5 µm 4,6 x 150 mm and its temperature had been kept at 25°C. Gradient elution was performed and the mobile phase consists of 0,020 M NaH₂PO₄ and acetonitrile. Samples were solved in acetonitrile and 4 µL was found to be the optimum injection volume providing repeatable injections. The elution was monitored at 215 nm by an Agilent UV diode-array detector. The retention times of *Olmesartan medoxomil*, Olmesartan impurity A, Olmesartan impurity B, *Hydrochlorothiazide*, Hydrochlorothiazide impurity A, and Hydrochlorothiazide impurity B were 10,49; 15,87; 21,98; 5,29; 4,87 ve 4,60 respectively. The recovery of *Olmesartan medoxomil* and *Hydrochlorothiazide* were 93,3 and 99,0%. The limit of detection (LOD) for *Olmesartan medoxomil*, Olmesartan impurity A, Olmesartan impurity B, *Hydrochlorothiazide*, Hydrochlorothiazide impurity A, and Hydrochlorothiazide impurity B were 0,07; 0,10; 0,10; 0,40; 1,40 and 0,76 µg/mL respectively. On the basis of obtained results, it can be said that the analytical HPLC method for *Olmesartan medoxomil*, *Hydrochlorothiazide*, and related impurities is fast, selective, accurate, repeatable, and sensitive.

Science Code : 1.004

Key Words : Olmesartan medoxomil, Hydrochlorothiazide, Impurity, and HPLC.

Page Number : 71

Supervisor : Prof. Dr. Nilgün Günden GÖĞER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hipertansiyon.....	3
2.2. Olmesartan Medoksomil (OLM).....	5
2.2.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri	5
2.2.2. Farmakolojik özellikleri	6
2.2.3. Safsızlıkları.....	9
2.3. Hidroklorotiyazid (HCT).....	13
2.3.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri	13
2.3.2. Farmakolojik özellikleri	13
2.3.3. Safsızlıkları	15
2.4. Hipersar Plus Tabletle İlgili Genel Bilgiler.....	16
2.4.1. Türkiye’de OLM ve HCT içeren preparatlar	17
2.5. Analiz Yöntemleri.....	18
2.6. Kromatografi.....	22
2.6.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Gereç.....	25

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	25
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	25
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Çözeltilerin hazırlanması.....	26
3.2.2. HPLC yönteminin optimizasyonu	27
3.2.3. Kromatografik sistem uygunluk testleri.....	29
3.2.4. HPLC yöntemi validasyon çalışmaları	29
4. BULGULAR.....	35
4.1. Kromatogramlar, Kalibrasyon Doğruları ve Doğrusal Parametreler.....	35
4.1.1. Olmesartan medoksomil.....	36
4.1.2. Hidroklorotiyazid.....	37
4.1.3. OLM safsızlık A.....	38
4.1.4. OLM safsızlık B.....	39
4.1.5. HCT safsızlık A.....	40
4.1.6. HCT safsızlık B.....	41
4.2. Kromatografik Sistem Uygunluk Test Sonuçları.....	43
4.3. Validasyon Parametreleri.....	44
4.3.1. Doğruluk (Geri kazanım).....	44
4.3.2. Kesinlik	45
4.3.3. Seçicilik.....	48
4.3.4. LOD/LOQ Değerleri.....	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	71

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Türkiye'de OLM ve HCT içeren preparatlar	17
Çizelge 2.2. Kromatografik analiz yöntemleri	18
Çizelge 2.3. Spektrofotometrik analiz yöntemleri	21
Çizelge 2.4. Elektrokimyasal analiz yöntemleri	21
Çizelge 3.1. Gradient zaman programı	28
Çizelge 3.2. HPLC koşulları.....	28
Çizelge 4.1. Olmesartan medoksomil ve safsızlıkları için elde edilen doğrusal parametreler.....	42
Çizelge 4.2. Hidroklorotiyazid ve safsızlıkları için elde edilen doğrusal parametreler.....	42
Çizelge 4.3. OLM medoksomil ve safsızlıkları için kromatografik sistem uygunluk test sonuçları	43
Çizelge 4.4. Hidroklorotiyazid ve safsızlıkları için kromatografik sistem uygunluk test sonuçları	43
Çizelge 4.5. OLM medoksomil için geri kazanım sonuçları.....	44
Çizelge 4.6. OLM safsızlık A için geri kazanım sonuçları.....	44
Çizelge 4.7. OLM safsızlık B için geri kazanım sonuçları.....	44
Çizelge 4.8. HCT için geri kazanım sonuçları	45
Çizelge 4.9. HCT safsızlık B için geri kazanım sonuçları	45
Çizelge 4.10. OLM medoksomil için tekrarlanabilirlik sonuçları.....	45
Çizelge 4.11. OLM safsızlık A için tekrarlanabilirlik sonuçları	46
Çizelge 4.12. OLM safsızlık B için tekrarlanabilirlik sonuçları	46
Çizelge 4.13. HCT için tekrarlanabilirlik sonuçları	46
Çizelge 4.14. HCT safsızlık A için tekrarlanabilirlik sonuçları	47
Çizelge 4.15. HCT safsızlık B için tekrarlanabilirlik sonuçları	47

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.16. Bozundurma çalışması sonuçları.....	57
Çizelge 4.17. LOD ve LOQ değerleri.....	57

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Olmesartan medoksomilin kimyasal yapısı	5
Şekil 2.2. Olmesartan trifenil karbinolün kimyasal yapısı	9
Şekil 2.3. Olmesartan tritilin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.4. Olmesartan asitin kimyasal yapısı	11
Şekil 2.5. Olmesartan laktonun kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.6 Hidroklorotiyazidin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.7. Klorotiazidin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.8. Salmidid kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.9. HPLC sistemi.....	24
Şekil 3.1. Hareketli faza (Asetonitril) ait kromatogram.....	27
Şekil 4.1. OLM medoksomil (140 µg/mL), OLM safsızlık A (50 µg/mL), OLM safsızlık B (50 µg/mL), HCT (160 µg/mL), HCT safsızlık A (10 µg/mL), HCT safsızlık B (60 µg/mL) içeren çözeltinin kromatogramı.....	35
Şekil 4.2. OLM medoksomil (82,8 µg/mL) kromatogramı	36
Şekil 4.3. OLM medoksomil için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	36
Şekil 4.4. HCT (82,8 µg/mL) kromatogramı	37
Şekil 4.5. HCT için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	37
Şekil 4.6. OLM safsızlık A (36,0 µg/mL) kromatogramı.....	38
Şekil 4.7. OLM safsızlık A için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	38
Şekil 4.8. OLM safsızlık B (33,3 µg/mL) kromatogramı	39
Şekil 4.9. OLM safsızlık B için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	39
Şekil 4.10. HCT safsızlık A (100,0 µg/mL) kromatogramı.....	40

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. HCT safsızlık A için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.	40
Şekil 4.12. HCT safsızlık B (32,1 µg/mL) kromatogramı.....	41
Şekil 4.13. HCT safsızlık B için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu.....	41
Şekil 4.14. Etken maddeler ve safsızlıklarının seçicilik kromatogramı.....	48
Şekil 4.15. Olmesartan medoksomilin asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	49
Şekil 4.16. Olmesartan medoksomilin %3 lük H ₂ O ₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	49
Şekil 4.17. Olmesartan medoksomilin %30 luk H ₂ O ₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	50
Şekil 4.18. Olmesartan medoksomilin 0,1 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	50
Şekil 4.19. Olmesartan medoksomilin 1,0 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	51
Şekil 4.20. Olmesartan medoksomilin 0,1 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	51
Şekil 4.21. Olmesartan medoksomilin 1,0 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	52
Şekil 4.22. Olmesartan medoksomilin 100°C de bir gün bekletildikten sonra asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı..	52
Şekil 4.23. Hidroklorotiyazidin asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	53
Şekil 4.24. Hidroklorotiyazidin %3 lük H ₂ O ₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	53
Şekil 4.25. Hidroklorotiyazidin %30 luk H ₂ O ₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	54
Şekil 4.26. Hidroklorotiyazidin 0,1 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	54
Şekil 4.27. Hidroklorotiyazidin 1,0 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	55

Şekil	Sayfa
Şekil 4.28. Hidroklorotiyazidin 0,1 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	55
Şekil 4.29. Hidroklorotiyazidin 1,0 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	56
Şekil 4.30. Hidroklorotiyazidin 100°C de bir gün bekletildikten sonra asetonytril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
mEq	Miliekivalent
mm Hg	Milimetre Cıva
Rs	Rezolüsyon (Kolon Ayırma Gücü)
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
µm	Mikrometre
UV	Ultraviyole
g	Gram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
PTFE	Poli tetra floro etilen
dak.	Dakika
nm	Nanometre
ppm	Parts per million
M	Molar
µL	Mikrolitre
LOQ	Limit of Quantitation
LOD	Limit of Detection
Dt	Herhangi bir t zamanında bulunan pik alanı
Di	Başlangıçta bulunan pik alanı
k'	Kapasite faktörü
α	Seçicilik faktörü
N	Tabaka sayısı
H	Tabaka yüksekliği
HCT	Hidroklorotiyazid
OLM	Olmesartan medoksomil

1. GİRİŞ

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar içinde en yaygın olanıdır. Çalışmamızda hipertansiyon tedavisinde kullanılan ve *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* birlikte içeren farmasötik tabletlerde etken madde ve safsızlıkların tayinleri planlanmıştır.

Olmesartan medoksomil hipertansiyon tedavisinde kullanılan anjiyotensin II reseptör antagonisti bir ilaç etken maddesidir. Hem hipertansif ve hem de normotansif hastalarda, arteriyel kan basıncını düşürür. *Hidroklorotiyazid* ise yine hipertansiyon tedavisinde kullanılan ve “Diüretikler” sınıfında yer alan bir ilaç etken maddesidir. Diüretikler, bütün hipertansiyon şekillerinde gerek sistolik ve gerekse diyastolik kan basıncını düşürürler. Bu iki etken maddenin birlikte verilmesi kan basıncını, bu etken maddelerin her birinin tek başına yaptığından çok daha güçlü bir şekilde düşürür.

Çalışmamızda *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* içeren farmasötik tabletlerde bu etken maddeler ve safsızlıklarının tayinleri amacıyla duyarlı, doğru, tekrarlanabilir ve hızlı bir Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi geliştirilmesi ve valide edilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipertansiyon

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar içinde en yaygın olanıdır. Arteriyel kan basıncının yükselmesi damar çeperinde patolojik değişikliklere ve sol ventrikülde hipertrofiye neden olur. Hipertansiyon inmelerin en temel nedenidir; koroner arter hastalığına yol açar, sonuçta miyokard infarktüsü ve ani kalp durmaları neden olur; kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği ve dissekan aort anevrizması gibi patolojilerin gelişimine de katkıda bulunur [1].

Hipertansiyon esansiyel ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Temel nedeni belli olmayan esansiyel hipertansiyon, olguların yaklaşık %95'ini oluşturur. Olguların geri kalan %5'inde hipertansiyon; başta bazı böbrek hastalıkları, renovasküler hastalıklar ve bazı endokrin hastalıklar olmak üzere arteriyel kan basıncını yükselttiği bilinen primer patolojik bozukluklara bağlıdır. Kombinasyon tipi oral kontraseptif haplar, kortikosteroidler, siklosporin, MAO inhibitörleri, eritropoitein ve sempatomimetik ilaçlara veya efervesan haplar içinde aşırı sodyum alınmasına bağlı olarak ilaca-bağımlı geçici sekonder hipertansiyon da gelişebilir [2].

Esansiyel hipertansiyonda kan basıncı yükselmesi total periferik damar rezistansının yükselmesine bağlıdır; ancak az sayıdaki bazı olgularda kalp debisi veya dolaşan kan hacmi de yükselmiş olabilir. Esansiyel hipertansiyonun patojenezinde heredite; olguların yarıya yakın bir bölümünde rol oynar [2].

Esansiyel hipertansiyon uzun yıllar semptomsuz veya komplikasyonsuz olarak seyreder; bu sırada hastalığın tek göstergesi diyastolik ve/veya sistolik kan basıncının yükselmiş olmasıdır. Daha sonra, uzun süren kan basıncı yüksekliğinin uç-organların (kalp, böbrek ve beyin gibi) arterleri, diğer yapılar ve myokard üzerindeki zararlı etkisine bağlı olarak yukarıda sayılan ciddi komplikasyonlar ortaya çıkmaya başlar. Hipertansiyonun gelişme hızı bireyler arasında büyük değişkenlik gösterir. Semptomsuz dönemde hastaya tedaviyi benimsetmek güç olur; bu nedenle hipertansiyon tedavisinde uyunç sorunu önem kazanır [2].

Çeşitli ülkelerde arteriyel hipertansiyonun erişkinlerde nüfus içinde görülme sıklığı (prevelansı) %15-30 kadardır. 40 yaşın altında seyrek görülür; 40 yaşın üstünde prevelans yaş ile orantılı bir şekilde artar ve 65 yaşın üstünde %50'yi geçer. 1993 yılında 25-65 yaş grubunda 4.034 kişide yaptırılan bir taramada 46 yaşın üstündekilerde diyastolik basınç yükselmesi (91 mm Hg veya daha fazla) %22 oranında ve sistolik kan basıncı yükselmesi (145 mm Hg veya daha fazla) 45-56 yaş arasında %30 ve 56 yaşın üstünde %55 oranında bulunmuştur [2].

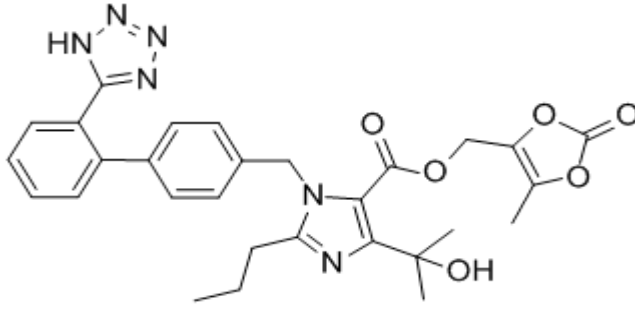
Esansiyel hipertansiyonun patojenezi çok faktörlü ve karmaşıktır. Genetik faktörler, dolayısıyla kalıtımın önemi vardır. Patojenezde rol oynayan diğer faktörler şunlardır: **(i)**Renin-anjiotensin sistemin aşırı etkinliği (ancak düşük etkinlik durumu yani hiperenine mi halinde de gelişebilir), **(ii)**Sempatoadrenal sistemin aşırı etkinliği (çok özel durumlarda rol oynayabilir), **(iii)**Sodyum atılımının (natriürezis'in) bozulması (arteriyel kan basıncının yükselmesi ve vücutta sodyumun ve sıvı hacminin artması normalde böbrekten sodyum atılımını artırarak kan basıncını normal düzeyde tuttuğu halde bazı hipertansiyonlularda bu durumda natriürezis yeterince artmaz), **(iv)**Baroseptörlerin basınca duyarlılığının azalması sonucu barostat'ın yüksek basınç düzeyine ayarlanmış olması **(v)**İntraselüler Na^+ ve Ca^{2+} düzeyinin artması: Damar düz kaslarında Na^+ - Ca^{2+} değiş tokuşunun ve ayrıca Na^+ - K^+ değiş tokuşunun bozulması hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} düzeyini artırarak arteriyelleri sürekli büzülme durumuna sokabilir. **(vi)**Obezite, insüline rezistans ve hiperinsülinemi, metabolik sendrom, potasyum alımının azalması, diyetle sodyum alımının artması (bazı hastalarda) kan basıncı yükselmesine yatkınlık yaratabilir.

Antihipertansif ilaçlar, vazodilatör etkilerini oluşturma mekanizmaları ve primer etki yerlerine göre 8 gruba ayrılırlar:

- I. Diüretikler
- II. Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokörleri
- III. Kalsiyum kanal blokörleri
- IV. Adrenerjik reseptör blokörleri
- V. Adrenerjik nöron blokörleri
- VI. Santral etkili sempatolitik ilaçlar ve diğer sempatolitikler
- VII. Direkt etkili vazodilatörler ve potasyum kanalı açıcı ilaçlar
- VIII. Sadece hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar[2].

2.2. Olmesartan medoksomil (OLM)

2.2.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri



Şekil 2.1. Olmesartan medoksomilin kimyasal yapısı

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

Kapalı formülü: $C_{29}H_{30}N_6O_6$

Molekül ağırlığı: 558,585 g/mol

Çözünürlüğü: Pratikte suda çözünmez, metanolde kısmen çözünür.

Rengi: Beyaz veya hemen hemen beyaz

Formu: Kristal toz [3].

2.2.2. Farmakolojik özellikleri

Olmesartan medoksomil hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç etken maddelerindendir. Hem hipertansif ve hem de normotansif hastalarda, arteriyel kan basıncını, tedavinin başlangıcında varolan anjiyotensin etkinliğinin büyüklüğü ile orantılı bir derecede düşürür [2].

Olmesartan hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir anjiyotensin II reseptör antagonistidir. Diğer anjiyotensin II reseptör antagonistleriyle karşılaştırıldığında, *Olmesartan medoksomil* oral yoldan verilen ve gastrointestinal absorpsiyonu sırasında *Olmesartana* dönüşen bir ön ilaç (prodrug)'dur. Karaciğerde daha ileri düzeyde metabolize olmaz, sitokrom P-450 etkileşimleri göstermez, safra ve renal yolla elimine edilir. Araştırmalar günde bir kez verilen 20 mg *Olmesartan*'ın sistolik kan basıncında yaklaşık ortalama 15 mm Hg ve diyastolik kan basıncında 12 mm Hg azalma sağladığını ortaya koymuştur. Günde bir kez 20-40 mg dozda verilen *Olmesartan* günlük tek doz halinde verilen 50-100 mg Losartanla karşılaştırıldığında diyastolik kan basıncını anlamlı ölçüde daha fazla düşürür. Karşılaştırmalı bir diğer çalışmada, *Olmesartan*'ın başlangıç dozunun diyastolik kan basıncını düşürme bakımından Losartan (50 mg), İrbesartan (150 mg) ve Valsartan (80 mg) gibi diğer anjiyotensin II antagonistlerinin başlangıç dozlarına göre daha etkili azalma sağladığı ileri sürülmüştür. *Olmesartan* anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE)'yi inhibe etmediği için bradikinin birikimine neden olmaz; bu nedenle, teorik olarak ACE inhibitörlerinin neden olduğu aşırı bradikinin birikimi ile ilişkili olduğu ileri sürülen öksürük ve anjiyoödeme yol açmaz. Buna rağmen, anjiyotensin II reseptör antagonistlerinin nadiren anjiyoödeme neden oldukları bildirilmiştir. Diğer anjiyotensin II reseptör antagonistleri gibi, *Olmesartan* da kan glukoz veya lipid metabolizmasını önemli ölçüde etkilemez. *Olmesartan* (Benicar®) ABD'de FDA tarafından Nisan 2002'de onaylanmıştır. Türkiye'de hipertansiyon indikasyonu için Sağlık Bakanlığı'nca 20 Temmuz 2005'te onaylanmıştır.

Etki mekanizması

Olmesartan anjiyotensin II'yi vasküler düz kasta bulunan AT₁ reseptör alt tipini bloke ederek antagonize eder. AT₁ ve AT₂ olmak üzere iki anjiyotensin reseptörü tanımlanmıştır; *Olmesartan*'ın AT₁ reseptörüne olan afinitesi AT₂ reseptörüne kıyasla 12.500 kat daha fazladır. AT₂ reseptör alt tipinin kardiyovasküler homestaza aracılık ettiği gösterilememiştir. Anjiyotensin II, renin-anjiyotensin sisteminin esas vazoaktif hormonudur; hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliğinin patofizyolojisinde önemli rol oynar.

Potent bir vazokonstriktör olmanın yanı sıra, anjiyotensin II, aldosteron sentez ve saliverilmesinin uyarılması, kalp stimülasyonu ve renal sodyum absorpsiyonu gibi etkiler de gösterir. *Olmesartan*, anjiyotensin II'nin etkisini bloke ederek, kalp hızında belirgin bir değişiklik olmaksızın sistemik vasküler rezistansı azaltır. *Olmesartan*'ın AT₁ reseptörlerini bloke etmesine yanıt olarak dolaşımdaki renin ve anjiyotensin II düzeyleri yükselir, fakat bu artışlar *Olmesartan*'ın hipotansif etkisini ortadan kaldıramaz. *Olmesartan* anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)'yi inhibe etmediği için bradikinin yıkılımını inhibe etmez. ACE inhibitörlerine benzer şekilde, anjiyotensin II antagonistleri sol ventrikül hipertrofisini azaltır, insülin rezistansının kötüleşmesine veya lipid profilinin bozulmasına yol açmaz ve genelde seksüel disfonksiyona neden olmaz.

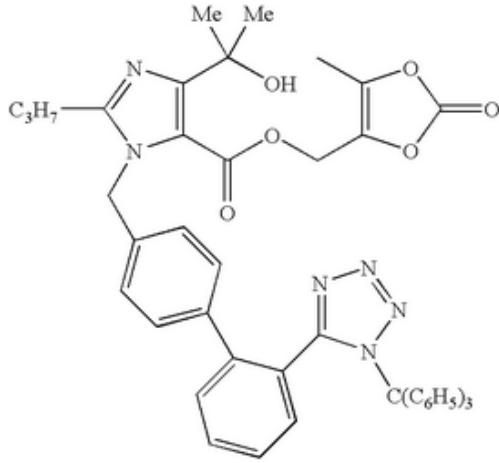
Farmakokinetik

Olmesartan medoksomil oral yoldan kullanılır. Gastrointestinal sistemden absorpsiyonu sırasında hızla ve tam olarak *Olmesartana* dönüştürülür (de-esterifiye edilir). *Olmesartan*'ın mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %26'dır. Doruk konsantrasyonlarına dozun alınmasından yaklaşık 2 saat sonra ulaşır. Besinler biyoyararlanımını etkilemez. *Olmesartan* plazma proteinlerine yüksek oranda (%99) bağlanır. *Olmesartan* bifazik olarak elimine edilir ve terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 13 saattir. Günde tek doz halinde verildiğinde kararlı düzeylere 35 günde ulaşır ve plazmada birikmez. Verilen dozun hemen hemen yarısı (%35-50) idrarla atılırken, geri kalanı safraya yoluyla feçes içinde elimine edilir.

Özel popölasyonlar: *Olmesartan*ın farmakokinetiği yaşı ve 65 yaşından daha genç hastalar arasında farklılık göstermez. Orta düzeyde hepatik yetmezliği olan hastalarda *Olmesartan*ın eğrinin altında kalan alan (AUC) değeri normal kontrollere kıyasla %60 daha yüksektir. Ağır hepatik yetmezliği olan hastalarda araştırılmamıştır [4].

2.2.3. Safsızlıkları

Olmesartan trifenil karbinol (OLM safsızlık A)



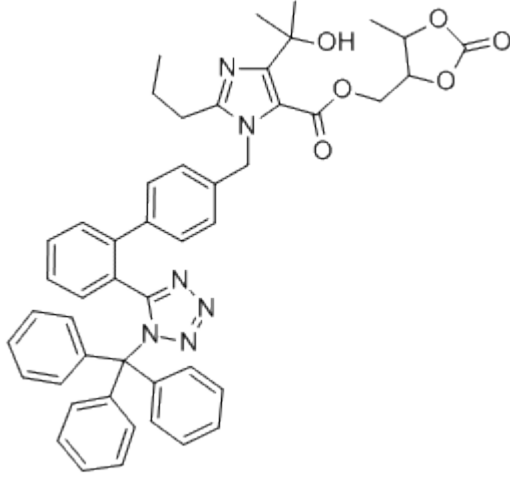
Şekil 2.2. Olmesartan trifenil karbinolün kimyasal yapısı

Kimyasal adı: (5-metil-2-okso-1,3-dioksolen-4-il) metoksi-4-(1-hidroksi-1-metiletil)-2-propil-1-{4-[2-(tetrazol-5-il)-fenil] fenilmetilimidazo-5 karboksilat} trifenilkarbinol

Kapalı formülü: C₄₅H₄₄N₆O₆

Molekül ağırlığı: 764,87 g/mol

Olmesartan tritil (OLM safsızlık B)



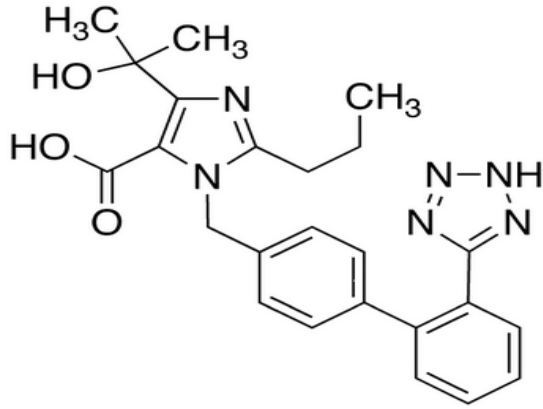
Şekil 2.3. Olmesartan tritilin kimyasal yapısı

Kimyasal adı: (5-metil-2-okso-1,3-dioksol-4-il)metil-4-(1-hidroksi-1-metiletil)-2-propil-1-[[2'-[(2-trifenilmetil)-2H-tetrazol-5-il]bifenil-4-il]metil]-1H-imidazol-5-karboksilat [5].

Kapalı formülü: C₄₈H₄₄N₆O₆

Molekül ağırlığı: 800,9 g/mol

Olmesartan asit



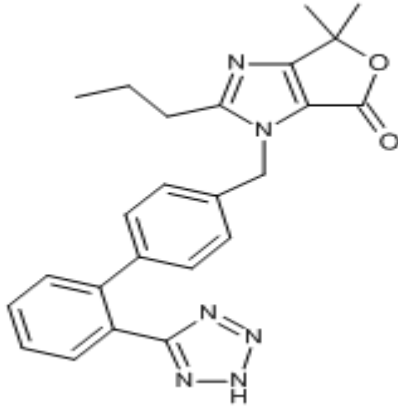
Şekil 2.4. Olmesartan asitin kimyasal yapısı

Kimyasal adı: 4-(1-Hidroksi-1-metiletil)-2-propil-1-[[2'-(1H-tetrazol-5-il)[1,1'-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazol-5-karboksilik asit [3].

Kapalı formülü: $C_{24}H_{26}N_6O_3$

Molekül ağırlığı: 446,5 g/mol

Olmesartan lakton



Şekil 2.5. Olmesartan laktonun kimyasal yapısı

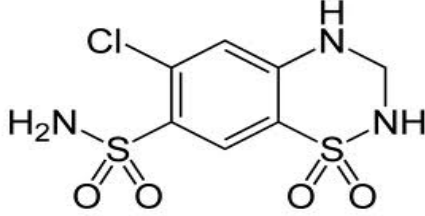
Kimyasal adı: 4,4-dimetil-2-propil-1-({4-[2-(2H-1,2,3,4-tetrazol-5-il)fenil]fenil}metil)-1H,4H,6H-furo[3,4-d]imidazol-6-on [5].

Kapalı formülü: C₂₄H₂₃N₆O₂

Molekül ağırlığı: 427,478 g/mol

2.3. Hidroklorotiyazid (HCT)

2.3.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri



Şekil 2.6. Hidroklorotiyazidin kimyasal yapısı

Kimyasal adı: 6-kloro-3,4-dihidro-2h-1,2,4-benzotiadiazin-7-sülfonamid-1,1-dioksit

Kapalı formülü: $C_7H_8ClN_3O_4S_2$

Molekül ağırlığı: 297,74 g/mol

Çözünürlüğü: Suda az çözünür, metanolde kısmen çözünür, asetonda çözünür.

Rengi: Beyaz veya hemen hemen beyaz.

Formu: Kristal toz [6, 7].

2.3.2. Farmakolojik özellikleri

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ve “Diüretikler” sınıfında bulunan ilaç etken maddelerindendir. Diüretikler, bütün hipertansiyon şekillerinde gerek sistolik ve gerekse diyastolik kan basıncını düşürürler. Hafif hipertansiyon olgularında tek başlarına kullanıldıklarında, yaptıkları kan basıncı düşmesi genellikle yeterli derecede olur ve başka bir hipertansif ilaç kullanılmasına gerek kalmayabilir. Orta ve ağır hipertansiyon olgularında, diğer bir gruptan bir antihipertansif ilaçla birlikte (kombine) kullanılırlar.

Diüretiklerin antihipertansif etki yapmalarında esas olarak su ve tuz kaybı, hipovolemi ve ekstrasellüler sıvı azalmasına (hacim deplasyonuna) neden olmaları ve daha uzun sürede gelişen vazodilatasyon rol oynar [2].

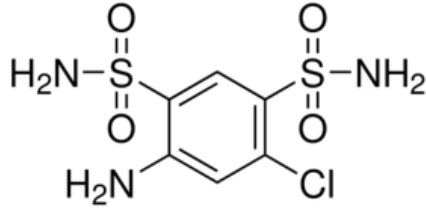
Hidroklorotiazid, tiazid grubu diüretiklerdendir. Tiazid yapılı diüretikler renal distal tubuluslardan sodyum ve klorür iyonlarının reabsorbsiyonunu inhibe ederek vücuttan su atılımını artırır. Natriüretik etkilerine, sekonder potasyum ve bikarbonat kaybı eşlik eder ve bunun sonucunda hafif bir hipokalemik, hipokloremik, metabolik alkaloz ortaya çıkar. Tiazidler kalsiyum ve ürik asit itrahını da azaltırlar. Tiazidler genelde normal kan basıncını değıştirmezler. Diüretikler kronik olarak alındıklarında periferik vasküler dirençte azalmaya neden olurlar. Periferik vasküler dirençte yaptıkları azalmanın kesin mekanizması bilinmemektedir; bununla birlikte, kan basıncını düşürebilmeleri için böbreklerden üriner sodyum atılımı gerekir. Diüretiklerin başlangıçtaki kan basıncını düşürücü etkileri kalp debisini, plazma hacmini ve ekstraselüler sıvı hacmini düşürmelerine bağlıdır. Sonunda kalp debisi normale döner, plazma ve ekstraselüler sıvı hacim değeri normalden hafifçe düşük düzeylerde kalır, fakat periferik vasküler direnç, kan basıncının düşük düzeyde kalmasına neden olacak şekilde düşer. Tiazid yapılı diüretikler glomerüler filtrasyon hızını da azaltırlar; bu durum, renal zafiyeti olan hastalarda diüretik ilacın efikasitesinin daha düşük olmasına katkıda bulunur. Plazma hacmindeki değışiklikler plazma renin aktivitesinde ve aldosteron salgılanmasında artışa yol açar. Aldosteron salgılanmasındaki bu artış tiazid diüretiklerle ilişkili potasyum kaybına katkıda bulunur. Diüretikler genelde sol ventrikül hipertrofisini (LVH), glukoz toleransını ve lipid anomalilerini daha da kötüleştirebilirler.

Farmakokinetik

*Hidroklorotiazid*in gastrointestinal kanaldan absorbsiyonu verildiğı farmasötik şekle ve verilen doza bağlı olarak değışkenlik gösterir. Sistemik biyoyararlanımı yaklaşık %50-60'tır. Etkisi oral yolla verildikten 2 saat sonra başlar ve doruk etki düzeyine 4 saatte ulaşır. Toplam etki süresi 6-12 saattir. İlaç plasentayı aşar, fakat kan-beyin engelini geçemez. Anne sütüne geçebilir. *Hidroklorotiazid* metabolize olmaz ve esas olarak idrarla değışmeden atılır; verilen dozun %61'i 24 saatte elimine olur[4].

2.3.3. Safsızlıkları

Klorotiazid (HCT Safsızlık A)



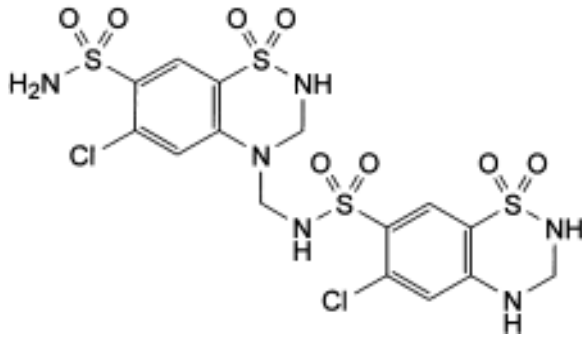
Şekil 2.7. Klorotiazidin kimyasal yapısı

Kimyasal Adı: 4-Amino-6-kloro-1,3-benzendisülfonamid

Kapalı formülü: C₇H₆N₃ClO₄S₂

Molekül ağırlığı: 295,72 g/mol

Salamide (HCT Safsızlık B)



Şekil 2.8. Salamidin kimyasal yapısı

Kimyasal Adı: 4-amino-6-klorobenzen-1,3-disülfonamid

Kapalı formülü: C₆H₈ClN₃O₄S₂

Molekül ağırlığı: 285,73 g/mol

HCT Safsızlık C

Kimyasal Adı: 6-kloro-N-[(6-kloro-7-sülfamil-2,3-dihidro-4-H-1,2,4-benzotiadiazin-4-yl1,1-dioksit)metil]-3,4-dihidro-2H-1,2,4- benzotiadiazin-7-sülfonamid,1-dioksit [7].

2.4. Hipersar Plus Tabletle İlgili Genel Bilgiler

Hipersar Plus Tablet, kan basıncının düşürülmesine yardımcı olan iki farklı etken madde (*Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid*) içeren bir ilaçtır ve Hipersar Plus 28 ve 84 film tablet halinde kullanıma sunulmuştur.

Bu etken maddelerden *Olmesartan medoksomil*, anjiyotensin-II reseptör antagonistleri isimli bir ilaç grubuna aittir. Bu ilaç kan damarlarını gevşeterek kan basıncını düşürür.

Diğer etken madde olan *Hidroklorotiyazid* ise idrar söktürücü (diüretikler) isimli bir ilaç grubuna aittir. İdrara çıkma sıklığını artırır ve bu yolla kan basıncını düşürür.

Bu iki farklı etken maddenin birlikte verilmesi kan basıncını, bu etken maddelerin her birinin tek başına yaptığından çok daha güçlü bir şekilde düşürür [4].

2.4.1. Türkiye’de OLM ve HCT içeren preparatlar

Türkiye’de OLM ve HCT içeren preparatlar, Çizelge 2.1.’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Türkiye’de OLM ve HCT içeren preparatlar

Farmasötik Form	İçerik	Firma
HİPERSAR PLUS FİLM TABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	UFSA
HİPERSAR PLUS FİLM TABLET 20 mg/12.5mg 84 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	UFSA
HİPERSAR PLUS FİLM TABLET 20 mg/25mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	UFSA
HİPERSAR PLUS FİLM TABLET 20 mg/25mg 84 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	UFSA
İMPROVE PLUS FİLM TABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	ABDİ İBRAHİM
İMPROVE PLUS FİLM TABLET 20 mg/25 mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	ABDİ İBRAHİM
OLGEN PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/12.5mg28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	GENERİCA
OLGEN PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/25 mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	GENERİCA
OLMEDAY PLUS FİLM TABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	İNVENTİM
OLMEDAY PLUS FİLM TABLET 20 mg/25mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	İNVENTİM
OLMETEC PLUS FİLM KAPLITABLET 20 mg/12.5mg 84 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	DAIICHI SANKYO
OLMETEC PLUS FİLM KAPLITABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	DAIICHI SANKYO
OLMETEC PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/25mg 84 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	DAIICHI SANKYO
OLMETEC PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/25mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	DAIICHI SANKYO
OLMYSAR PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	BİLİM
OLMYSAR PLUS FİLM KAPLI TABLET 20 mg/25mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	BİLİM
OXAP PLUS FİLM TABLET 20 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	ZENTIVA
OXAP PLUS FİLM TABLET 20 mg/25mg 28 tablet/kutu	20 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	ZENTIVA
OXAP PLUS FİLM TABLET 40 mg/12.5mg 28 tablet/kutu	40 mg Olmesartan medoksomil 12,5 mg Hidroklorotiazid	ZENTIVA
OXAP PLUS FİLM TABLET 40 mg/25mg 28 tablet/kutu	40 mg Olmesartan medoksomil 25 mg Hidroklorotiazid	ZENTIVA

2.5. Analiz Yöntemleri

Olmesartan ve *Hidroklorotiyazid*in farklı matrislerde tayinleri amacıyla kullanılan analiz yöntemleri ve bu yöntemlere ilişkin bilgiler özetlenerek Çizelge 2.2., Çizelge 2.3. ve Çizelge 2.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Kromatografik analiz yöntemleri

Tarih/ Kaynak	Matriks	Yöntem	Kolon, Boyut, İç Çap, Partikül Büyükliği	Analit	Çalışma Aralığı	LOD	LOQ
2011[3] EP	-	HPLC	4,6x100 mm	OLM	-	-	-
2011[3] EP	-	Headspace GC	30 mX 0,53 mm	OLM	-	-	-
2009[6] BP	-	HPLC	4,6x100 mm	HCT	-	-	-
2013[8]	Film tablet	HPLC-DAD	Zorbax SB-C8 4,6x250 mm 5 µm	HCT	10–200 µg/mL	0,12 µg/mL	0,40 µg/mL
2013[9]	Tablet	HPLC-DAD	Phenomenex Luna 4,6x250 mm 5 µm	HCT	12,5–62,5 µg/mL	0,03 µg/mL	0,10 µg/mL
2013[10]	Film tablet	LC-DAD	XSelect RP18 250mmX4,60mm 5 µm C18 250 mmX3 mm 5 µm	OLM HCT	0,5–20 µg/mL	OLM 0,01 µg/mL HCT 0,12 µg/mL	OLM 0,03 µg/mL HCT 0,40 µg/mL
2013[11]	İnsan plazması	UPLC– MS/MS	C18 50mmX2,0mm 1,7 µm	OLM	0,2–500 ng/mL	0,06 ng/mL	0,20 ng/mL
2013[12]	İdrar	UPLC– MS/MS	Acquity BEH C18 50mmX2,0mm 1,7 µm	OLM	0,2–500 ng/mL	1,3 ng/mL	4,0 ng/mL
2013[13]	Tablet	HPLC	C18 250mmX4,6mm 5 µm	OLM	0,06-10,0 µg/mL	0,02 µg/mL	0,06 µg/mL
2013[14]	İnsan plazması	UPLC– MS/MS	C18 100mmX4,6mm 5 µm	HCT	1,0-499,15 ng/mL	0,3 ng/mL	1,0 ng/mL
2013[15]	İnsan Serumu	HPLC–ECL	C18 250 mmX4,6mm 5 µm	HCT	0,005-25 ng/mL	0,2 ng/mL	0,7 ng/mL
2013[16]	Tablet	HPLC-DAD	C18 250 mmX4,6mm 5 µm	OLM	0,557–5,62 µg/mL	0,07 µg/L	0,22 µg/L
2013[17]	Tablet	HPLC	4,6mmX250 mm 5 µm	OLM	50–300 µg/mL	5 µg/mL	15 µg/mL
2012[18]	Tablet	RP-HPLC	RP18 4,6mmX50mm 5,0 µm	HCT	1,25–40,0 µg/mL	0,08 µg/L	0,26 µg/L
2012[19]	İnsan plazması	RP-HPLC	Shim-pack 250 mmX4,6 mm, 5 µm	HCT	0,31–3,12 µg/mL	0,043 µg/mL	1,140 µg/mL
2012[20]	-	RP-HPLC	C18	HCT	5–45 µg/mL	-	-
2012[21]	Tablet	RP-HPLC	250 mmX4,6 mm, 5 µm	OLM	8–60 µg/mL	-	-
2012[22]	Tablet	RP-HPLC	150 mmX4,6 mm, 5 µm	OLM OLM IMP A-G	250–1000 µg/mL	OLM IMP A-G 0,01; 0,011; 0,01; 0,012; 0,011; 0,01 0,011 µg/mL	OLM IMP A-G 0,032; 0,032; 0,03; 0,035; 0,032; 0,032 0,034 µg/mL

Çizelge 2.2. (devam) Kromatografik analiz yöntemleri

2008[40]	Tablet	RP-HPLC	C18 200mmX4,6mm, 5 µm	HCT	78–234 µg/mL	-	-
2007[41]	Tablet	HPLC	200mmX4,6 mm 5 µm	OLM HCT	OLM 0,2–6 µg/mL HCT,1–4 µg/mL	-	-
2007[42]	Tablet	HPTLC	-	OLM HCT	OLM 500-750 ng/spot HCT 100-600 ng/spot	OLM 170 ng/spot HCT 30 ng/spot	OLM 500 ng/spot HCT 100 ng/spot
2007[43]	-	RP-HPLC	C8 250mmX4,6mm	HCT	0,62-3,12 µg/mL	0,0185 µg/mL	0,0563 µg/mL
2007[44]	Tablet	HPLC	20mm×4,6 mm 5 µm	HCT HCT IMP A	100-1250 µg/mL 1,0-12,5 µg/mL	0,005 µg/mL	0,05 µg/mL
2006[45]	Tablet	RP-HPLC	C-18 20cm×4,6 mm 5 µm	HCT	10-150 µg/mL	0,4 µg/mL	0,9 µg/mL
2006[46]	-	RP-LC	C18 150mmX4,6 mm 5,0 µm	HCT	8,75-16,25 µg/mL	-	-
2003[47]	Tablet	HPLC	-	HCT	0,5-12 µg/mL	0,005 µg/mL	0,025 µg/mL
2002[48]	Tablet	HPLC	C-18 15 cmX4,6 mm 5 µm	HCT	1-20 µg/mL	-	-
2001[49]	Tablet	HPLC	-	HCT	-	-	-
2001[50]	Tablet	HPLC	C-18 15 cmX6 mm 5 µm	HCT	2,0-20,0 µg/mL	0,088 µg/mL	0,91µg/mL
2000[51]	Tablet	HPLC	-	HCT	0,5–2 µg/mL	HCT 0,05 µg/mL	HCT 0,17 µg/mL
1999[52]	Film tablet	HPLC-DAD	C18 50 mmX2,0mm 1,7 µm	HCT	6,2–25,0 µg/mL	HCT 0,58 µg/mL	HCT 1,95 µg/mL

Çizelge 2.3. Spektrofotometrik analiz yöntemleri

Tarih/ Kaynak	Matriks	Yöntem	Dalga Boyu	Analit	Çalışma Aralığı	LOD	LOQ
2009[6] BP	-	UV-VIS Spektrofotometri	273-232 nm	HCT	-	-	-
2009[6] BP	-	Infrared Absorpsiyon Spektrofotometri	-	HCT	-	-	-
2012[53]	Tablet	UV-VIS Spektrofotometri	251-276 nm	HCT	1,0-30,0 µg/mL	0,32 µg/mL	0,97 µg/mL
2011[54]	Tablet	UV-VIS Spektrofotometri	266-289,4 nm	HCT	1,0-10,0 µg/mL	0,33 µg/mL	0,10 µg/mL
2011[55]	Tablet	UV-VIS Spektrofotometri	218-272 nm	HCT	1-20, µg/mL 1-25 µg/mL 1-40 µg/mL	1,1 µg/mL 1,7 µg/mL 0,3 µg/mL	3,6 µg/mL 5,2 µg/mL 1 µg/mL
2010[33]	Tablet	UV-VIS Spektrofotometri ve HPLC	236,5 nm 254 nm 271 nm	HCT	5-25 µg/mL 10-50 µg/mL 5-25 µg/mL	-	-
2010[56]	Tablet	UV Spektrofotometri	260-272,8 nm	OLM HCT	10-30 µg/mL	0,41 µg/mL 0,44 µg/mL	1,25 µg/mL 1,33 µg/mL
2009[57]	Tablet	UV-VIS Spektrofotometri	237 nm	OLM	5,0-30,0 µg/mL	0,14 µg/mL	0,43 µg/mL
1999[58]	Film tablet	UV-VIS Spektrofotometri	282,6 nm	HCT	18,50-42,20 µg/mL	1,57 µg/mL	5,23 µg/mL

Çizelge 2.4. Elektrokimyasal analiz yöntemleri

Tarih/ Kaynak	Matriks	Yöntem	Analit	Çalışma Aralığı	LOD	LOQ
2013[59]	Tablet	DiferansiyelPuls voltametrisi	HCT	3,0- 75 µmol/L	1,2 µmol/L	4,0 µmol/L
2013[60]	İnsan Serumu ve tablet	Voltametri	HCT	-	0,1 µmol/L	0,3 µmol/L

2.6. Kromatografi

Kromatografi, kompleks karışımlarda bulunan bileşenleri ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Tüm kromatografik ayırmalarda numune, gaz veya sıvı (ya da süperkritik bir akışkan) olan bir mobil faz ile taşınır. Bu mobil faz, bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş (ve kendisiyle karışmayan) bir sabit faz içinden geçmeye zorlanır. Sabit ve mobil fazlar, numune bileşenlerinin bu fazlarda farklı oranlarda dağılacağı şekilde seçilir. Kromatografik ayırma sırasında sabit faz tarafından kuvvetle tutunan numune bileşenleri, mobil fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık, sabit faz tarafından zayıfça tutunan bileşenler, hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu, numune bileşenleri kalitatif ve/veya kantitatif olarak analiz edilebilen farklı bantlar ve bölgeler şeklinde ayrılırlar.

Kromatografik yöntemler için çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. Bu sınıflandırmalardan birinde hareketli ve sabit fazların fiziksel olarak nasıl temas ettirildikleri esas alınır. Kolon kromatografide sabit faz ince bir kolonda tutulur ve hareketli faz yer çekimi veya basınç etkisiyle bu kolondan geçirilir. Düzlemsel kromatografide ise, sabit faz düz bir yüzeyde veya bir kağıdın gözenekleri arasında tutulur. Bu durumda hareketli faz, sabit faz üzerinde kılcal etki veya yerçekimi etkisi ile hareket eder.

Kromatografinin daha temel bir sınıflandırması, kullanılan sabit ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelere göre yapılır: Sıvı kromatografi, gaz kromatografi ve süperkritik akışkanlı kromatografi [61].

2.6.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografinin geliştiği ilk yıllarda, kolon veriminin, taneciklerinin boyutunun azaltılması ile önemli ölçüde artacağı fark edildi. Ancak, tanecik çapı 3-10 µm kadar küçük olan dolgu maddelerinin üretim teknolojisinin gelişmesi ve kullanılması 1960'lı yılların son dönemlerine kadar başaramadı. Bu teknoloji, klasik yer çekimi-akışlı sıvı kromatografinin aksine, yüksek basınçta çalışan, gelişmiş cihazlara ihtiyaç göstermektedir. Hareketli fazın sıvı olduğu dört ana başlık altında incelenir. Bunlar, **dağılma kromatografisi**, **adsorpsiyon kromatografisi**, **iyon değiştirme kromatografisi** ve **boyut eleme kromatografisi**dir. Bunlar bir birini tamamlama eğilimindedir. Örneğin, mol kütlesi, 10.000 g dan daha büyük maddeler için **eleme kromatografi** daha çok kullanılır. Daha küçük mol kütleli iyonik türler için, **iyon değiştirme kromatografi** yaygın bir şekilde kullanılır. Küçük, polar, ancak iyonik olmayan türler için en iyi yöntem, **dağılma kromatografisi**dir. Ayrıca, bu işlem, homolog serilerin ayrılması için çoğu zaman kullanışlıdır. **Adsorpsiyon kromatografi**, çoğu zaman polar olmayan türlerin, yapısal izomerlerin ayrılması ve alifatik hidrokarbonlar gibi bileşik sınıflarının alifatik alkollerden ayrılması için seçilir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin yaygın kullanılmasının sebepleri, duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen türlerin ayrılmasına uygun olması ve geniş bir aralıktaki maddelere uygulanabilirliğidir.

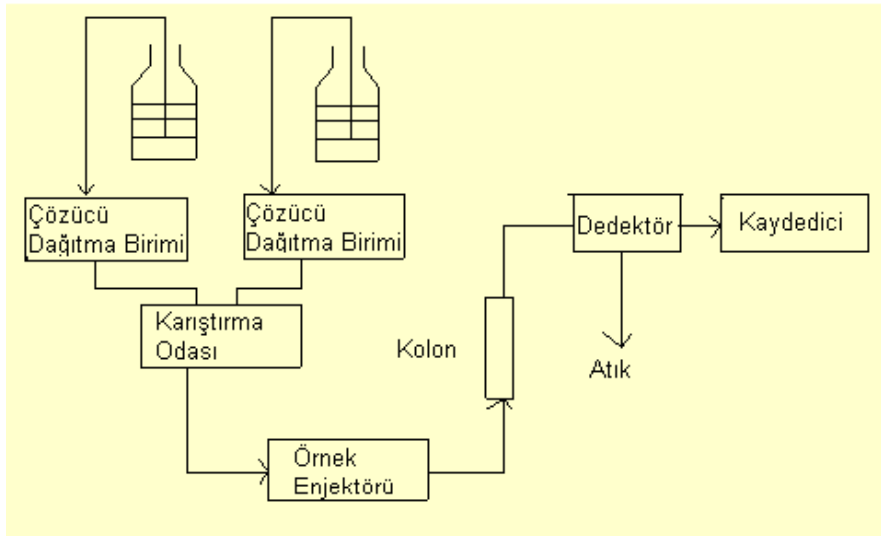
Bir HPLC cihazı kolon, dedektör, pompa ve enjektör olmak üzere 4 ana bölümden oluşur. Bu 4 ana bölüme ek olarak otomatik örnekleyici de bulunmaktadır.

Çözücü içinde çözünmüş bileşenler, kolon içerisinde bulunan sabit faz ile farklı etkileşimlere girerek, değişik hızlarda ilerleyerek, kolonu farklı zamanlarda terk ederler ve böylece birbirlerinden ayrılmış olurlar. Burada taşıyıcı faz olan sıvı, pompalarla kolona basıldığından yüksek akış hızındadır. Böylece ayırma daha kısa sürede ve tam olarak gerçekleşmektedir. Ayrılan bileşen, kolon çıkışına bağlanan uygun bir dedektörle tespit edilip, derişimiyle orantılı olarak kaydedilir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, hareketli ve sabit fazın polaritesine göre normal faz ve ters faz şeklinde iki sınıfa ayrılır. Normal faz kromatografide sabit faz polar, hareketli faz nispeten apolar iken; ters faz kromatografide hareketli faz polar, sabit faz ise nispeten apolardır.

Bir kromatografik sistem, şu kısımlardan oluşur:

- Hareketli Faz Hazneleri
- Pompalama Sistemleri
- Akış Kontrolü ve Programlama Sistemleri
- Numune Enjeksiyon Sistemleri
- Sıvı Kromatografi Kolonları
 - Analitik Kolonlar
 - Emniyet Kolonları
 - Kolon Termostatları
- Dedektörler [61].



Şekil 2.9. HPLC sistemi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Olmesartan medoksomil (Nobel)
Hidroklorotiyazid (Nobel)
Olmesartan Trifenilkarbonil (Nobel)
Olmesartan Tritel (Nobel)
Klorotiazid (Nobel)
Salamid (Nobel)
Potasyum Dihidrojen Fosfat (Fisher Scientific Company)
Hipersar Plus Film Tablet¹
Asetonitril (Merck)
Ortofosforik asit (Merck)

3.1.2. Kullanılan cihazlar

HPLC (Agilent Technologies, 1100 series)
Kolon (Agilent Zorbax Sb-C18 5 µm 4,6x150 mm)
Hassas terazi (Precisa 290-9844\R)
Ultrasonik Banyo (Bondelin Sonorex Super 10 P)
Vakum pompası
Otomatik pipet (Brand Handy Step)
Filtre kağıdı (Milipore 0,45 µm)
Enjektör filtresi (0.45 µm PTFE)
Manyetik karıştırıcı (Dragon Lab)
Etüv

¹ Her bir tablet 20 mg Olmesartan medoksomil, 12,5 mg Hidroklorotiyazid içerir.

3.2. Yöntem

Çalışmamızda HPLC yöntemi kullanılmıştır.

3.2.1. Çözeltilerin hazırlanması

Farmasötik tablet çözeltisi

10 adet tablet hassas terazide tartıldı, toz haline getirildi ve bu karışımdan 83,0 mg tartıldı. Bu miktar 7,6 mg *Olmesartan medoksomil* ve 4,8 mg *Hidroklorotiyazide* karşılık gelmektedir. Üzerine 10,0 mL asetonitril eklendi ve 20 dakika ultrasonik banyoda karıştırıldı. Asetonitril ile 50,0 mL hacme tamamlandı. Böylece 152 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 96 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içermesi (farmasötik form üzerinde belirtilen değerlere göre) beklenen bir çözelti elde edildi.

Olmesartan medoksomil ve Hidroklorotiyazid içeren stok çözelti

40,0 mg *Olmesartan medoksomil* ve 40,0 mg *Hidroklorotiyazid* hassas terazide tartıldı ve 50 mL lik balon jojeye alındı. Üzerine 10,0 mL asetonitril eklendi ve ultrasonik banyoda 5 dakika karıştırıldı. Asetonitril ile 50,0 mL hacme tamamlandı. Böylece 800 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 800 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren bir çözelti elde edildi.

Safsızlıkları içeren stok çözelti

10,0 mg OLM Safsızlık A (*Olmesartan Trifenilkarbonil*), 10,0 mg OLM Safsızlık B (*Tritil Olmesartan*), 2,0 mg HCT Safsızlık A (*Klorotiazid*), 12,0 mg HCT Safsızlık B (*Salamid*) hassas terazide tartıldı ve 20 mL lik balon jojeye alındı, üzerine asetonitril eklendi ve ultrasonik banyoda 5 dakika karıştırıldı. Asetonitril ile 20,0 mL ye tamamlandı. Böylece 500 µg/mL OLM Safsızlık A, 500 µg/mL OLM Safsızlık B, 100 µg/mL HCT Safsızlık A, 600 µg/mL HCT Safsızlık B içeren bir çözelti elde edildi.

Kalibrasyon çözeltileri

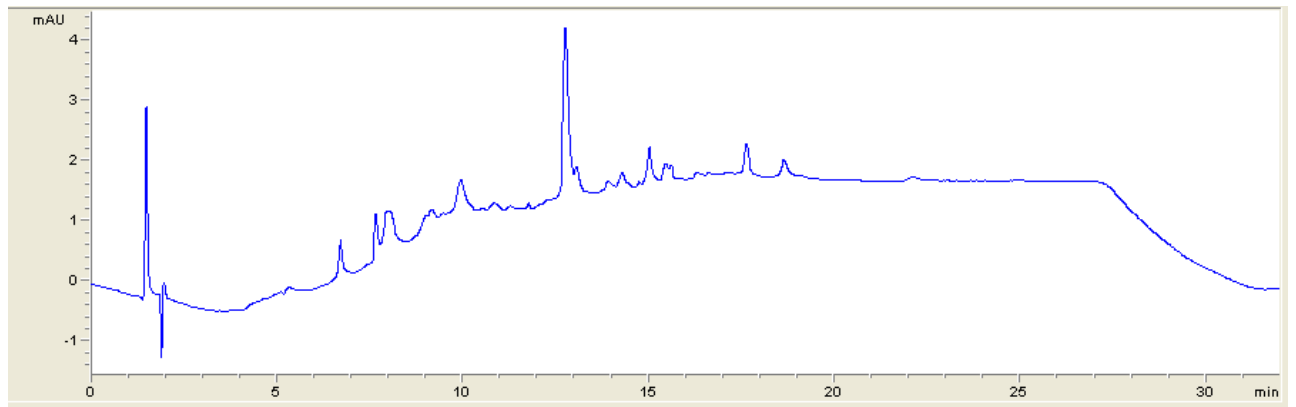
10 mL lik 6 adet balon joje alındı. 152 µg/mL *Olmeseartan medoksomil* ve 96 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren farmasötik tablet çözeltisinden her bir balon jojeye 2,0 mL konuldu. Üzerine, birinci balon joje hariç, 800 µg/mL *Olmeseartan medoksomil* ve 800 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren çözeltiden her bir balon jojeye sırasıyla 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mL konuldu. Sonra 500 µg/mL OLM Safsızlık A, 500 µg/mL OLM Safsızlık B, 100 µg/mL HCT Safsızlık A, 600 µg/mL HCT Safsızlık B içeren çözeltiden birinci balon joje hariç her bir balon jojeye sırasıyla 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ve 1,0 er mL eklendi ve her bir balon joje 10,0 mL hacme asetonitril ile tamamlandı. Her bir çözelti 0.45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi. Bu şekilde hazırlanan çözeltiler kromatografik sisteme enjekte edildi. Her bir analite ait pik alanı değerleri elde edildi. Derişime karşı (x ekseni) pik alanı değerleri (y ekseni) ile her bir analit için kalibrasyon doğruları standar ekleme yöntemiyle oluşturuldu.

3.2.2. HPLC yönteminin optimizasyonu

Yöntem optimizasyonunda Bölüm 3.2.1.'de hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır. Bir parametre optimize edilirken tüm diğer parametreler sabit tutulmuştur.

Hareketli faz seçimi

Çalışmada asetonitril ve metanol çözücüleri denenmiş ve hareketli faz A olarak asetonitril seçilmiştir.



Şekil 3.1. Hareketli faza (Asetonitril) ait kromatogram

Hareketli faz B olarak 0,020 M potasyum dihidrojen fosfat (pH=2,5) seçilmiştir. pH=2,0, 2,5 ve 3,0 denenmiş ve en uygun ortam pH'sı olarak pH=2,5 seçilmiştir. Sonuçta hareketli fazın gradient kullanılmasına karar verilmiştir. Hareketli Faz A ve Hareketli Faz B'den oluşan Gradient program Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir. HPLC koşulları ise Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Gradient zaman programı

Zaman (dak.)	Akış Hızı (mL/dak)	Hareketli Faz A (%)	Hareketli Faz B (%)	Dalga Boyu (nm)
15	1	20	80	215
25	1	20	80	215
30	1	90	10	215
32	1	90	10	215

Dalga boyu seçimi

Literatürde *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazide* ait çalışmalarda kullanılan dalga boyları denenmiş ve sonuçta 215 nm dalga boyunda çalışılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.2. HPLC koşulları

Hareketli Faz A	Asetonitril
Hareketli Faz B	0,020M Potasyum Dihidrojen Fosfat (pH= 2,5)
Dalga Boyu	215 nm
Enjeksiyon Hacmi	4 µL
Hareketli Faz Akış Hızı	1 mL/dak.
Dedektör	UV

3.2.3. Kromatografik sistem uygunluk testleri

Önerilen yöntemin kromatografik şartları sağlayıp sağlamadığını değerlendirmek için elde edilen kromatogramlardan hareketle, her bir analit için Rezolüsyon(R_s), pik genişliği(W), pik simetrisi(A_s), sinyal/gürültü oranı(S/N), kuyruklanma faktörü ve tabaka sayısı(N) değerleri hesaplanmıştır.

3.2.4. HPLC yöntemi validasyon çalışmaları

Tipik bir analitik yöntemin validasyon parametreleri şunlardır:

- 1.Doğruluk(Accuracy)
- 2.Kesinlik(Precision)
- 3.Secicilik(Selectivity, Spesifity)
- 4.LOD(Teşhis Sınırı)
- 5.LOQ(Tayin Alt Sınırı)
- 6.Doğrusallık(Linearity)
- 7.Duyarlık(Sensitivity)
- 8.Çalışma Aralığı(Range)
- 9.Sağlamlık(Robustness)
- 10.Tutarlık(Ruggedness)
- 11.Stabilite(Stability) [62].

USP tarafından 10. ve 11. parametreler, zorunlu validasyon parametreleri arasında verilmemiştir [63].

1. Doğruluk

Bir analitik yöntemin doğruluğu, elde edilen değerlerin gerçek değere veya referans kabul edilmiş olan değere yakınlığının ölçüsüdür. Doğruluk bir takım yaklaşımlarla gösterilebilir. Çalışmamızda, doğruluk geri kazanım yöntemiyle tayin edilmiştir.

Etken maddeler %50, %100 ve %150 derişimde ve her bir safsızlığın %65, %100 ve %130 derişim seviyelerine tekabül edecek şekilde aşağıda anlatıldığı gibi çözeltiler elde edildi.

Stok çözeltiler

41,4 mg *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* 50,0'şer mL lik balon jöjelere, 12,0 mg OLM Safsızlık A (*Olmesartan Triphenyl Carbinol*), 11,1 mg OLM Safsızlık B (*Tritil Olmesartan*) ve 10,7 mg HCT Safsızlık B (*Salamid*) 20,0'şer mL lik balon jöjelere alındı, üzerine asetonitril eklendi ve ultrasonik banyoda 5 dakika karıştırıldı. Sonra her bir balon jöje hacmine asetonitril ile tamamlandı. 828'şer µg/mL lik *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid*, 600,0 µg/mL OLM Safsızlık A, 555,0 µg/mL OLM Safsızlık B ve 535,0 µg/mL HCT Safsızlık B içeren stok çözeltiler elde edildi.

Dilüsyonlar

828 µg/mL lik *Olmesartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* içeren stok çözeltilerden 10'ar mL lik balon jöjelere 0,5; 1,0 ve 1,5 mL alınarak hacim asetonitril ile 10,0 mL ye tamamlandı. Böylece 414,0; 828,0 ve 1242,0 µg/mL lik derişimde çözeltiler elde edildi.

600 µg/mL lik mg OLM Safsızlık A içeren stok çözeltiden 10'ar mL lik balon jöjelere 0,4; 0,6 ve 0,8 mL alınarak hacim asetonitril ile 10,0 mL ye tamamlandı. Böylece 24,0; 36,0 ve 48,0 µg/mL lik derişimlerde çözeltiler elde edildi.

555 µg/mL lik mg OLM Safsızlık B içeren stok çözeltiden 10'ar mL lik balon jöjelere 0,4; 0,6 ve 0,8 mL alınarak hacim asetonitril ile 10 mL ye tamamlandı. Böylece 22,2; 33,3 ve 44,4 µg/mL lik derişimlerde çözeltiler elde edildi.

535 µg/mL lik mg HCT Safsızlık B içeren çözeltiden 10'ar mL lik balon jöjelere 0,4; 0,6 ve 0,8 mL alınarak hacim asetonitril ile 10 mL ye tamamlandı. Böylece 21,4; 32,1 ve 42,8 µg/mL lik derişimlerde çözeltiler elde edildi.

Her bir çözelti 0.45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi. Bu şekilde hazırlanan çözeltiler kromatografik sisteme enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarından hareketle geri kazanım değerleri hesaplandı.

2. Kesinlik

Kesinlik, yöntemin çalışılan koşullar altında tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür. Bu çalışmada eneksiyon kesinliği (cihaz kesinliği) tayin edilmiştir.

Bölüm 3.2.1.de hazırlanan kalibrasyon çözeltisi yarı yarıya asetonitril ile seyreltilerek 190,4 µg/mL *Olmeseartan medoksomil*, 179,2 µg/mL *Hidroklorotiyazid*, 50 µg/mL OLM Safsızlık A, 50 µg/mL OLM Safsızlık B, 10 µg/mL HCT Safsızlık A, 60 µg/mL HCT Safsızlık B içeren çözelti hazırlandı. 0.45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi. Bu şekilde hazırlanan çözelti kromatografik sisteme enjekte edildi. Bu çalışma 6 kez tekrarlandı ve elde edilen pik alanı ve alıkonma zamanı değerlerinin Standart Sapma ve Bağlı Standart Sapma değerleri hesaplandı.

3. Seçicilik

Yöntemin seçiciliği, analizi yapılacak numunede var olan ve analizi yapılacak maddeyi girişim yapabilen diğer bileşenlerden ayrı olarak ölçebilme kabiliyetidir. Çalışmamızda seçicilik, Rezolüsyon ve Seçicilik Faktörleri hesaplanarak ve bunu gösteren bir kromatogram verisi ile tayin edilmiştir.

Seçiciliği gösteren kromatogramı elde etmek için Bölüm 3.2.1.de hazırlanan kalibrasyon çözeltilerden 150,4 µg/mL *Olmeseartan medoksomil*, 139,2 µg/mL *Hidroklorotiyazid*, 40,0 µg/mL OLM Safsızlık A, 40,0 µg/mL OLM Safsızlık B, 8,0 µg/mL HCT Safsızlık A, 48,0 µg/mL HCT Safsızlık B içeren çözelti kullanıldı. 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi ve kromatografik sisteme enjekte edildi. Birbirini izleyen iki pik arasındaki Rezolüsyon ve Seçicilik Faktörü değerleri hesaplandı.

Seçicilik için ayrıca bozundurma çalışmaları yapılmıştır [63]. Çözeltiler asetonitril, asidik(0,1 M HCl, 1,0 M HCl), bazık(0,1 M NaOH ve 1,0 M NaOH) ve farklı derişimlerdeki (%3 ve %30) H₂O₂ ortamlarında bir saat bekletilmiştir. Katı etken maddeler ise 100°C altında 24 saat bekletilmiştir. Bekletilen katı etken maddeler ile hazırlanan çözeltiler analiz edilmiştir.

Olmesartan medoksomil ve Hidroklorotiyazid bozundurma çalışması çözeltileri

1000 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 1000 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren çözeltilerden 1'er mL alınarak 10'ar mL lik balon jojelere aktarıldı ve her bir balon joje sırasıyla Asetonitril, %3 lük H₂O₂, %30 luk H₂O₂, 0,1 M HCl, 1,0 M HCl, 0,1 M NaOH ve 1,0 M NaOH ile 10,0 mL ye tamamlandı. Birer saat bekletilerek 0.45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi. Bu şekilde hazırlanan 100 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 100 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren çözeltiler kromatografik sisteme enjekte edildi.

50,0 mg *Olmesartan medoksomil* ve 50,0 mg *Hidroklorotiyazid* hassas terazide tartıldı 1 gün süreyle 100°C ortamında bekletildi ve 50 mL lik balon jojeye alındı. Üzerine 10 mL asetonitril eklendi ve 5 dak. ultrasonik banyoda karıştırıldı. Asetonitril ile 50,0 mL hacme tamamlandı. Böylece 1000 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 1000 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren birer adet çözelti elde edildi. Elde edilen bu çözeltilerden 1'er mL alınarak 10'ar mL lik balon jojelere aktarıldı ve hacim Asetonitril ile 10,0 mL ye tamamlandı. Birer saat bekletilerek 0.45 µm PTFE filtreden süzülerek viallendi. Bu şekilde hazırlanan 100 µg/mL *Olmesartan medoksomil* ve 100 µg/mL *Hidroklorotiyazid* içeren çözeltiler kromatografik sisteme enjekte edildi.

Standart çözeltiler yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmış ve sisteme enjekte edilerek 2 tekrarlı yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların %sapma değerlerinin hesaplanması için Eş. 3.1. kullanılmıştır:

$$\text{Sapma (\%)} = \frac{(D_t - D_i) \times 100}{D_i} \quad (3.1)$$

D_t : Herhangi bir t zamanında bulunan pik alanı

D_i : Başlangıçta bulunan pik alanı

4. LOD(Teşhis sınırı)

Analizi yapılan örneğin belirttiği fakat nicel sınırlar içine girmediği en alt derişimdir. Çeşitli yollarla bulunabilir. Çalışmamızda LOD değerleri sinyal/gürültü oranına dayanan bir yolla bulunmuştur. Bu uygulama sadece zemin gürültüsü olan analitik yöntemlerde uygulanabilir. Analitin bilinen düşük derişimde bir çözeltisinin sinyali ile kör numunenin sinyalinin karşılaştırılarak analitin teşhis edilebilecek en düşük derişimi hesaplanır. İlgili cihaz yazılımı kullanılarak sinyal/gürültü oranı hesaplatılır. LOD değeri için 2:1 veya 3:1 sinyal/gürültü oranı kabul edilebilir orandır. [64].

Çalışmamızda da her bir analit için LOD değerleri, Eş 3.2.e göre bulunmuştur:

$$\text{LOD } (\mu\text{g/mL}) = \frac{3 \times \text{Derişim}}{\text{Sinyal/Gürültü Oranı}} \quad (3.2.)$$

5. LOQ(Tayin alt sınırı)

Analizin yapılan maddenin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği, doğrusallık sınırları içinde olmayan fakat kalibrasyon doğrusunun en alt derişimini oluşturan veya onun da altında olabilen derişim düzeyidir. LOQ'nün bulunmasında da cihazla veya hesaplama ile yapılabilecek pek çok yöntem söz konusudur. Bu çalışmada LOQ değeri de sinyal/gürültü oranına dayanan yolla bulunmuştur. LOQ değeri için 10:1 sinyal/gürültü oranı kabul edilebilir orandır[64].

Çalışmamızda da her bir analit için LOQ değerleri, Eş 3.3.ye göre bulunmuştur.

$$\text{LOQ } (\mu\text{g/mL}) = \frac{10 \times \text{Derişim}}{\text{Sinyal/Gürültü Oranı}} \quad (3.3.)$$

6. Doğrusallık (Linearity)

Derişime karşı, analit cevabının doğru orantılı olarak artması ve çizilen grafikte cevap noktalarının düz bir çizgi üzerinde yer almasıdır. Korelasyon(r) ve/veya tanımlayıcılık(r^2) katsayısı doğrusallığı veren parametrelerdir. Bu çalışmada r ve r^2 değerleri analit derişiminin ölçülen değerlere karşı regresyon analizi ile matematiksel olarak hesaplanmıştır. r ve r^2 değerlerinin 1'e yakınlığı doğrusallığın göstergesidir. Bu işlem her bir analit için yapılmıştır.

7. Duyarlılık

Duyarlılık, doğrusallığın geçerli olduğu aralıktaki doğru denleminin eğimidir. Aynı zamanda LOD değerleri de duyarlılığın göstergesidir. Bu çalışmada duyarlılık LOD değerleri ile gösterilmiştir. Eğim ne kadar yüksekse ve LOD ne kadar düşükse yöntem o kadar duyarlıdır.

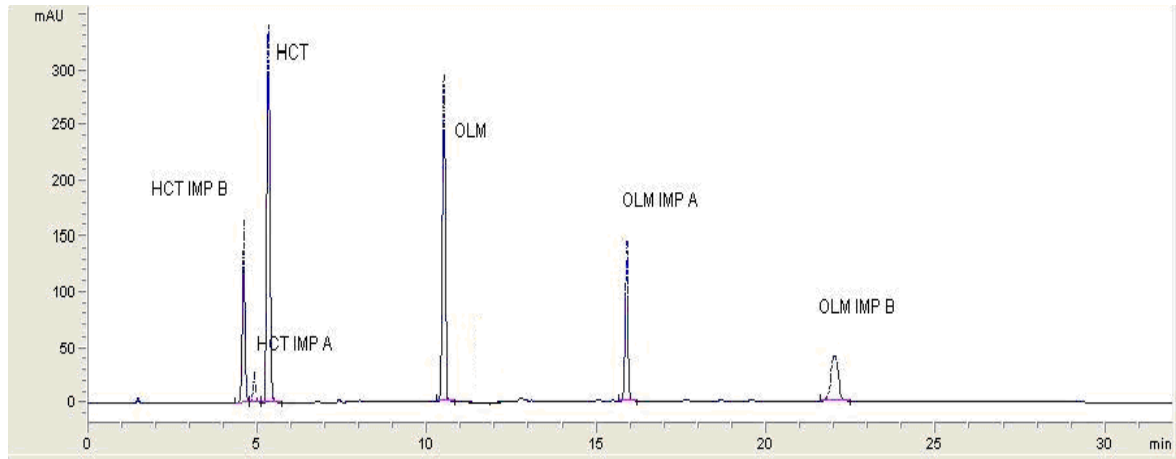
8. Çalışma aralığı

Yeterli doğruluk ve duyarlılıkta doğrusallığa sahip yöntemin geçerli olduğu alt ve üst sınırlar arasında yer alan derişim aralığıdır. Burada çalışma aralığı, her bir analit için yöntemin doğruluğu bulunduktan sonra belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kromatogramlar, Kalibrasyon Doğruları ve Doğrusal Parametreler

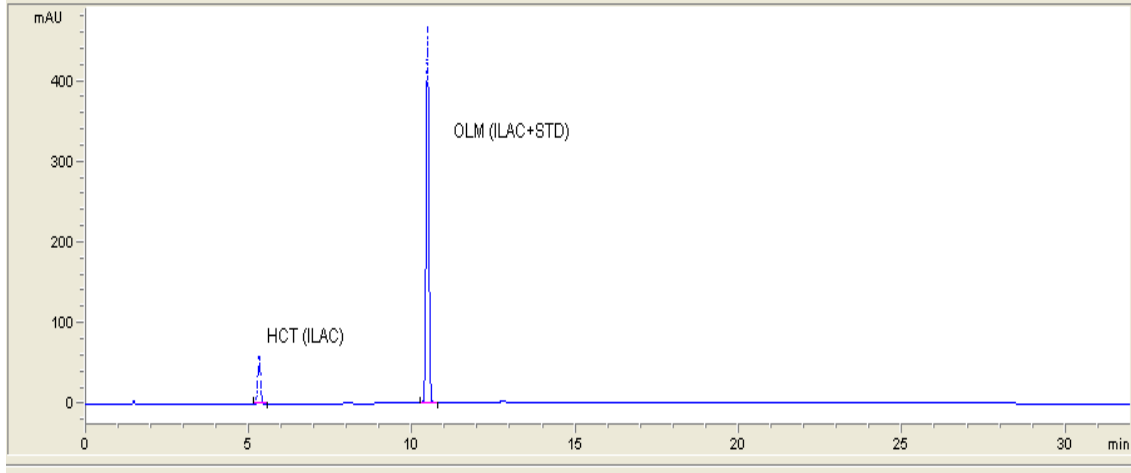
Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan çözelti sisteme enjekte edildiğinde elde edilen etken madde ve safsızlıkların kromatogramı Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. OLM medoksomil (140 µg/mL), OLM safsızlık A (50 µg/mL), OLM safsızlık B (50 µg/mL), HCT (160 µg/mL), HCT safsızlık A (10 µg/mL), HCT safsızlık B (60 µg/mL) içeren çözeltinin kromatogramı

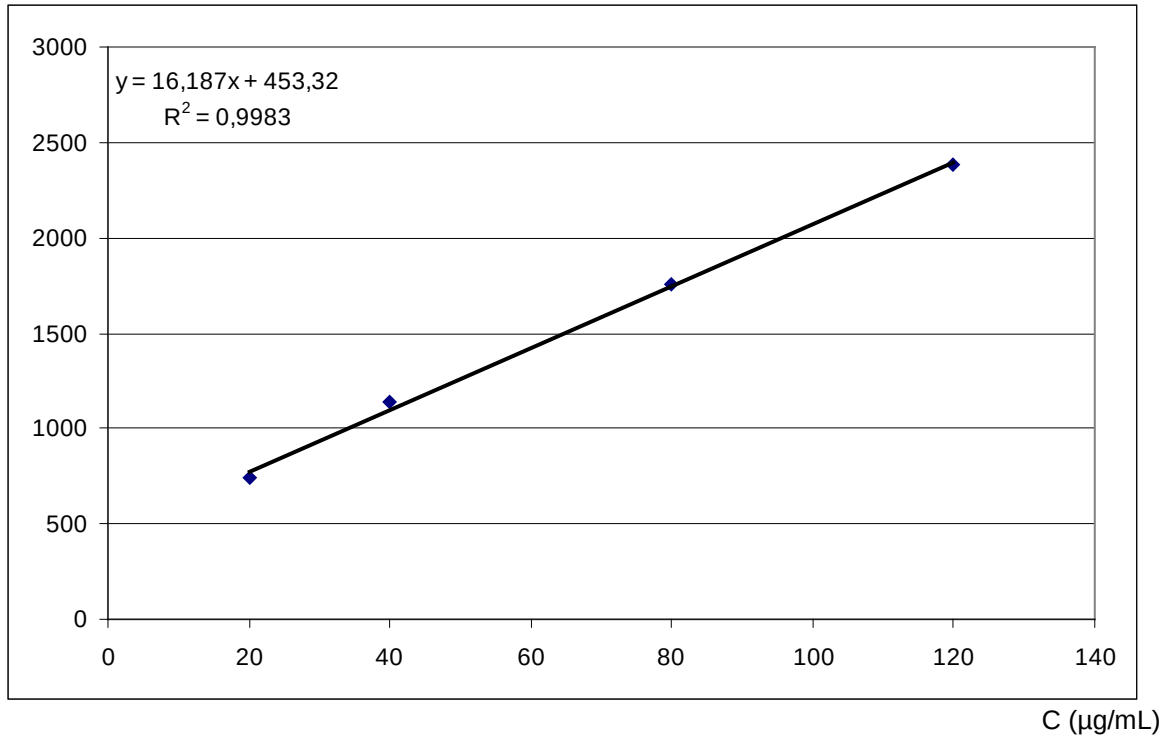
4.1.1. Olmesartan medoksomil

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan *OLM medoksomilin* kromatogramı Şekil 4.2.de, 20,0; 40,0; 80,0; 120,0 µg/mL konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.3.de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. OLM medoksomil (82,8 µg/mL) kromatogramı

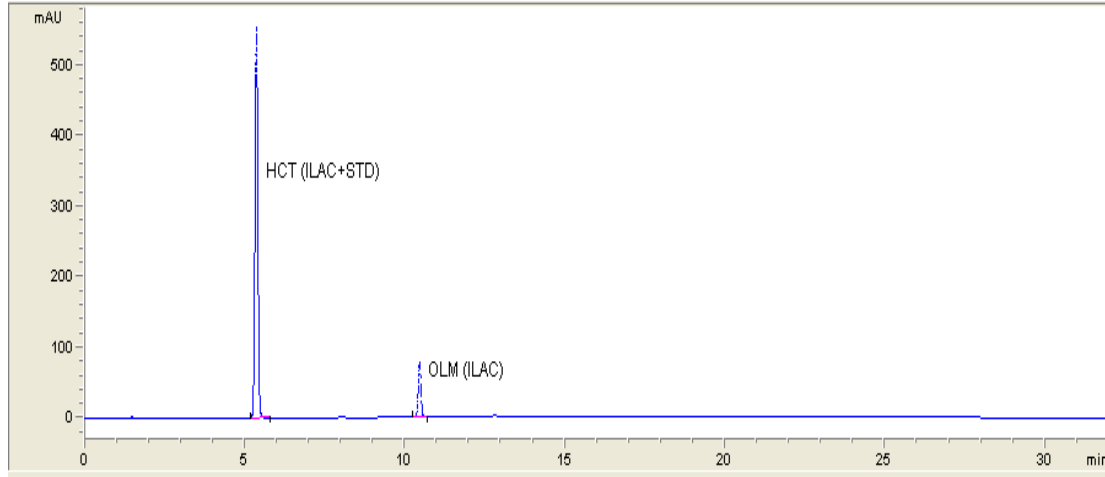
Pik alanı



Şekil 4.3. OLM medoksomil için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

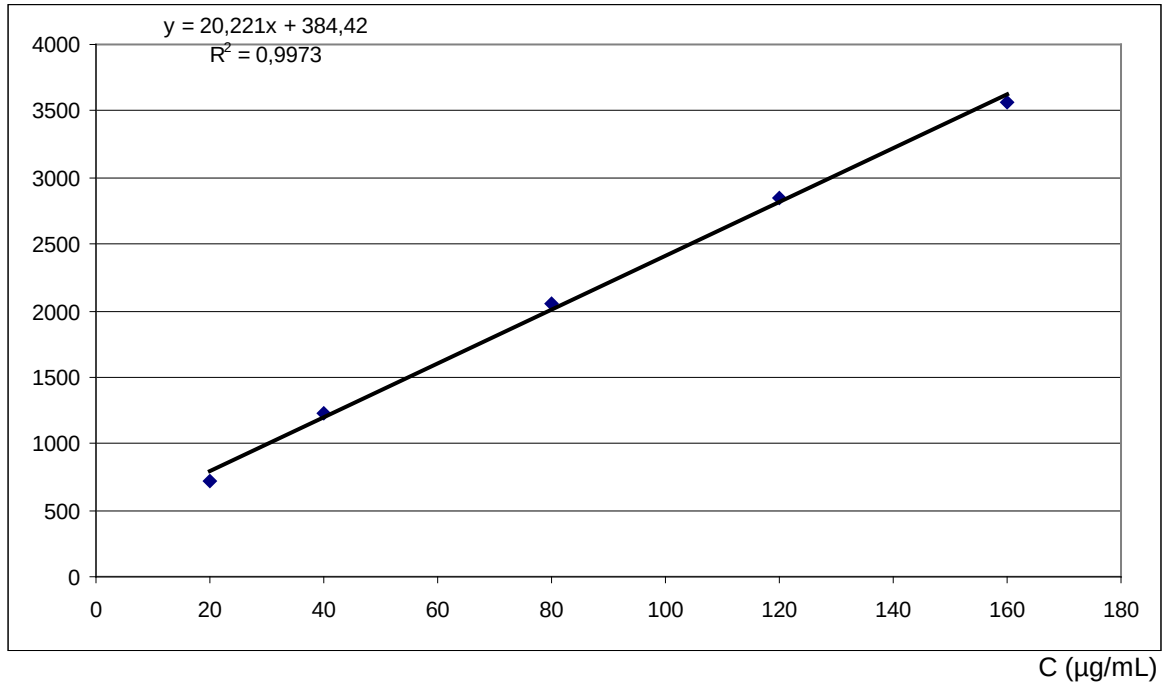
4.1.2. Hidroklorotiyazid

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan *Hidroklorotiyazid*in kromatogramı Şekil 4.4.de, 20,0; 40,0; 80,0; 120,0; 160,0 µg/mL konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.5.de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. HCT (82,8 µg/mL) kromatogramı

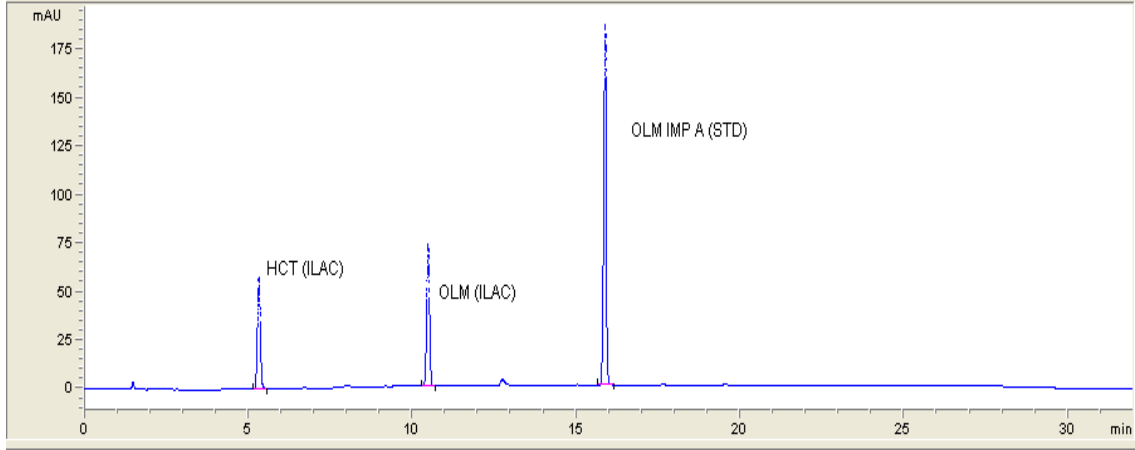
Pik alanı



Şekil 4.5. HCT için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

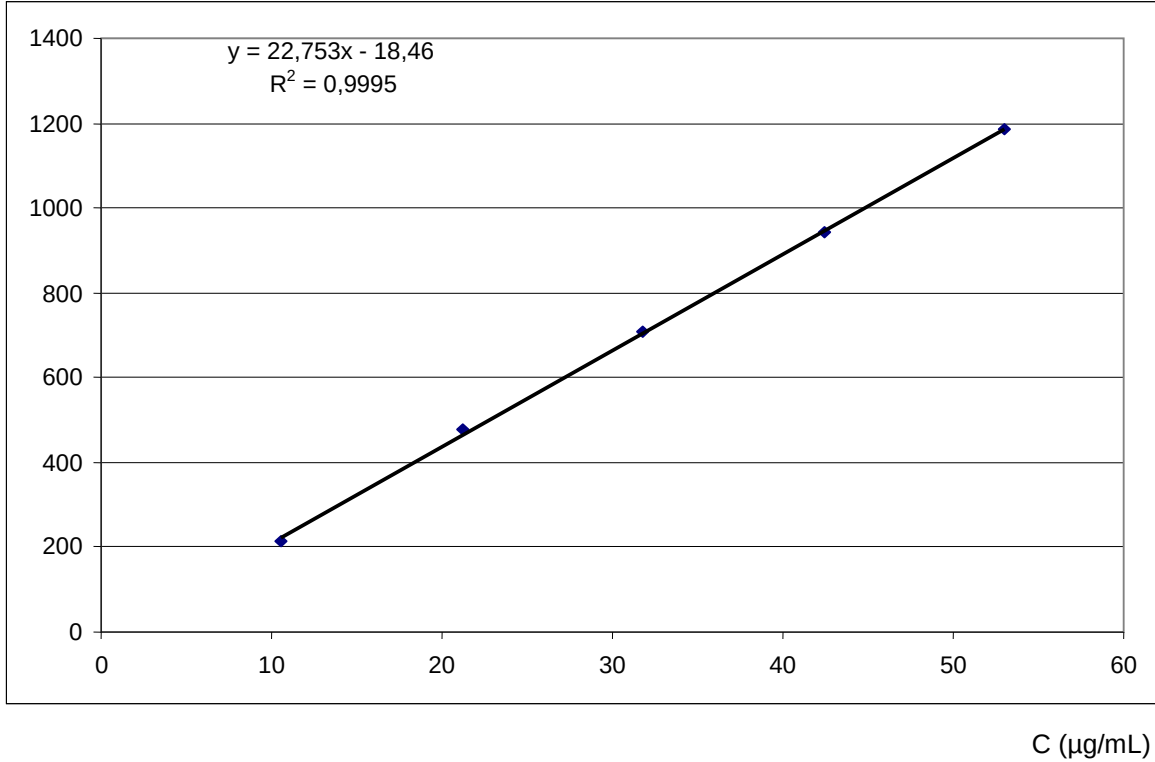
4.1.3. OLM safsızlık A

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan OLM Safsızlık A'nın kromatogramı Şekil 4.6.da, 10,6; 21,2; 31,8; 42,4; 53,0 µg/mL konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.7.de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. OLM safsızlık A (36,0 µg/mL) kromatogramı

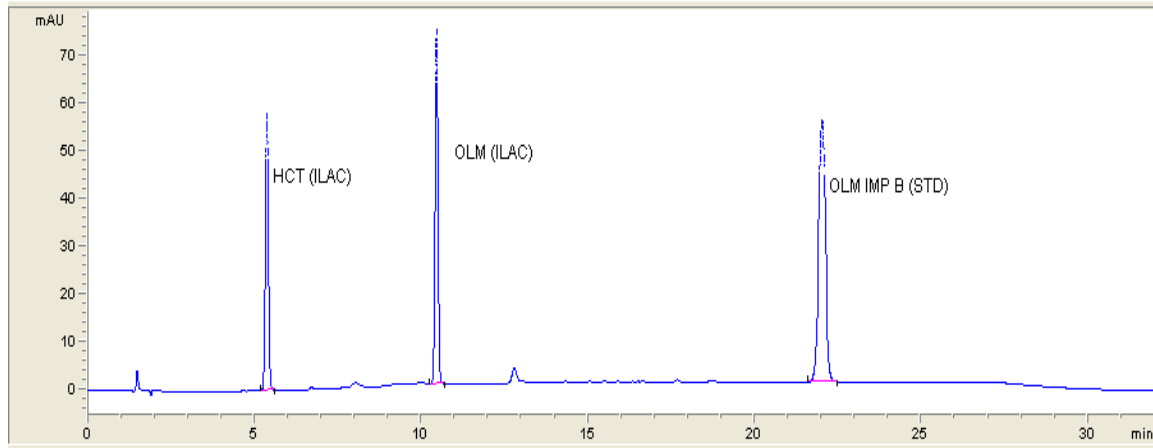
Pik alanı



Şekil 4.7. OLM safsızlık A için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

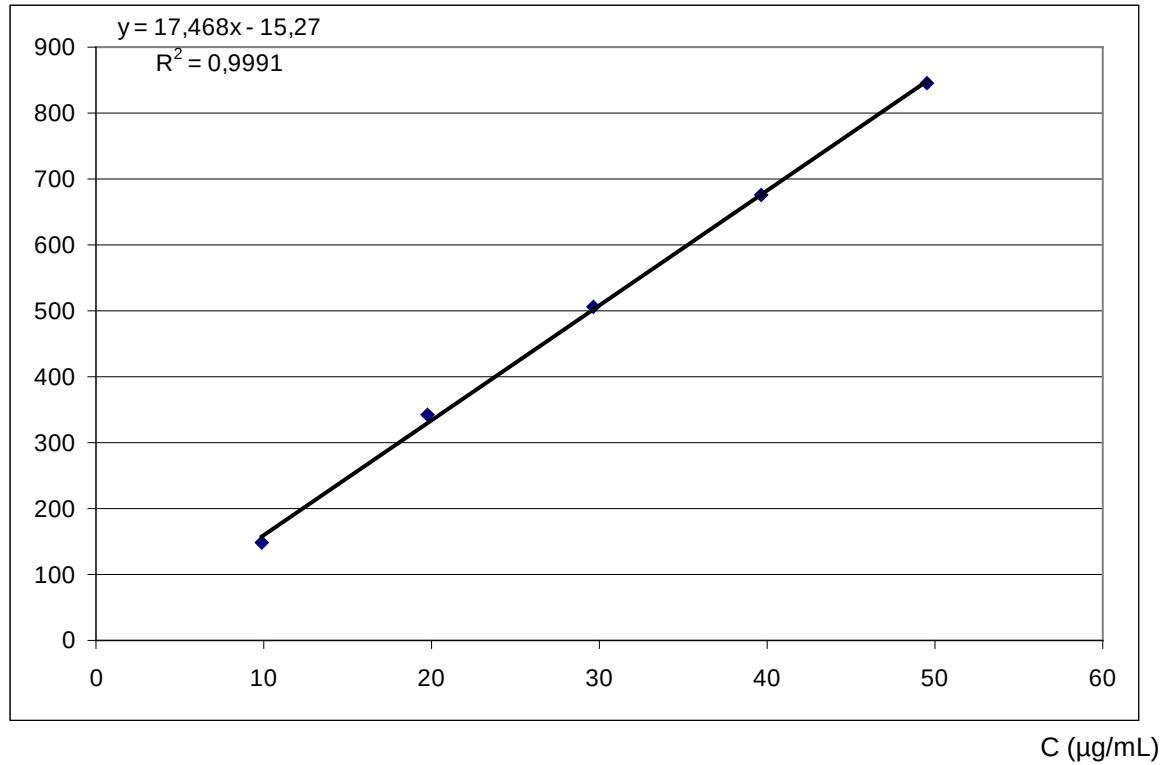
4.1.4. OLM safsızlık B

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan OLM Safsızlık B'nin kromatogramı Şekil 4.8.de, 9,9; 19,8; 29,7; 39,6; 49,5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.9.de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. OLM safsızlık B (33,3 $\mu\text{g/mL}$) kromatogramı

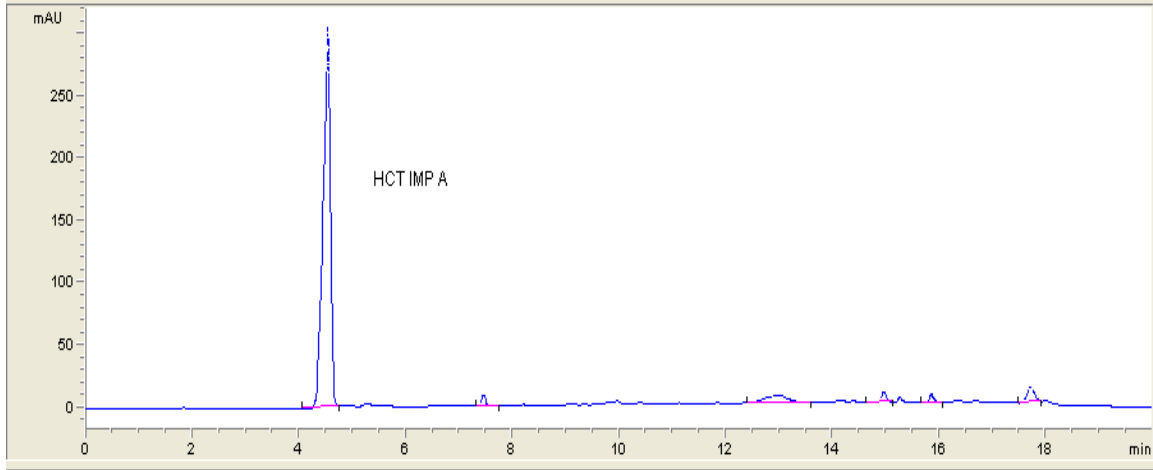
Pik alanı



Şekil 4.9. OLM safsızlık B için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

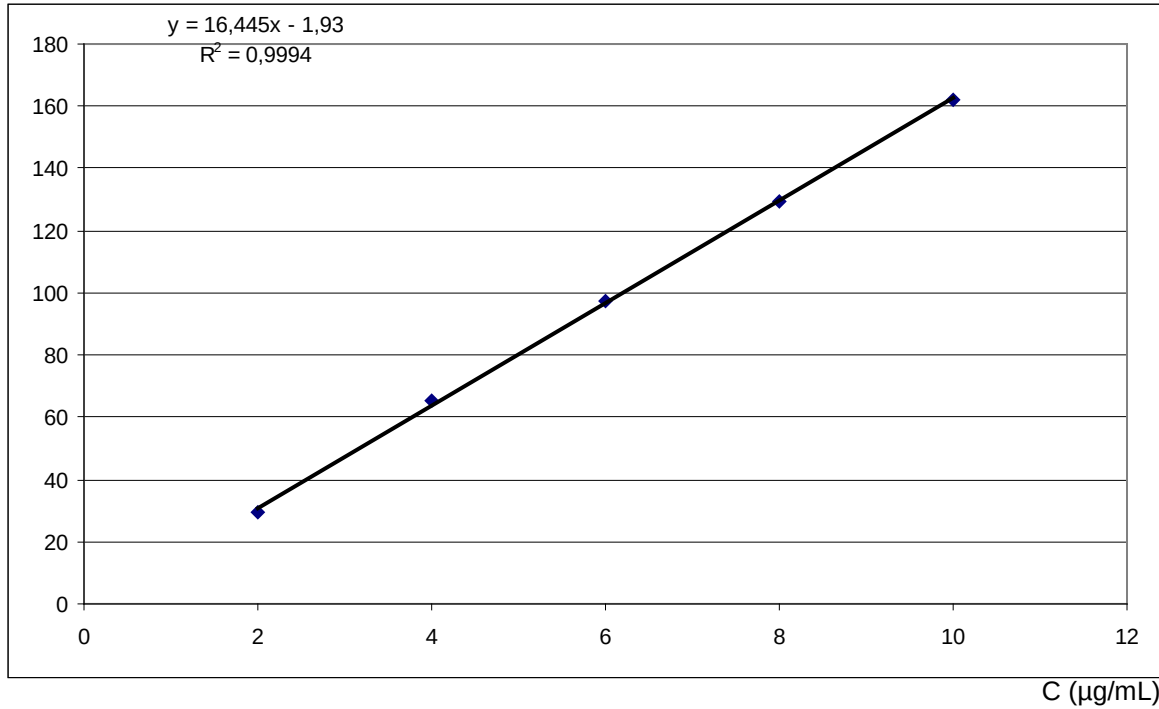
4.1.5. HCT safsızlık A

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan HCT Safsızlık A'nın kromatogramı Şekil 4.10.de, 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 µg/mL konsantrasyon aralığındaki kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.11.de gösterilmiştir.



Şekil 4.10. HCT safsızlık A (100,0 µg/mL) kromatogramı

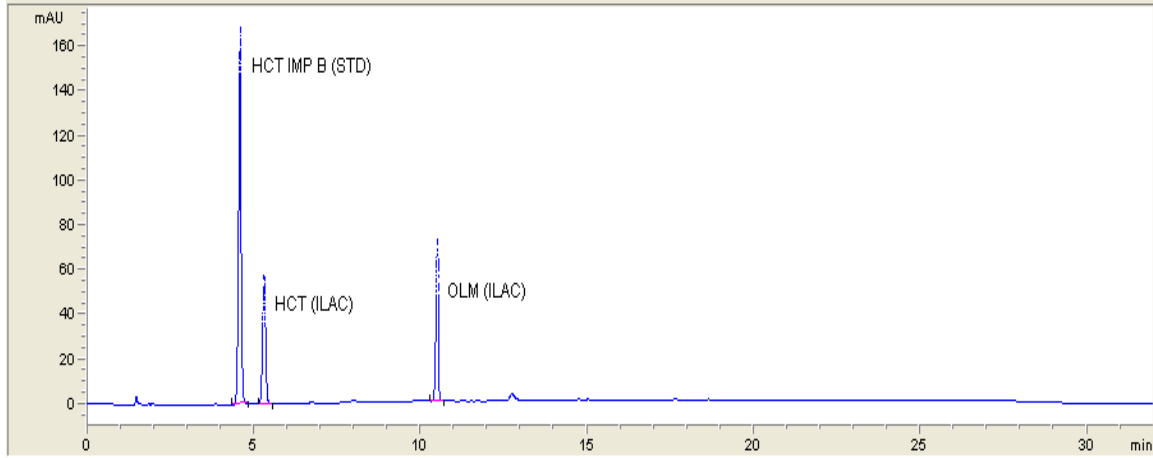
Pik alanı



Şekil 4.11. HCT safsızlık A için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

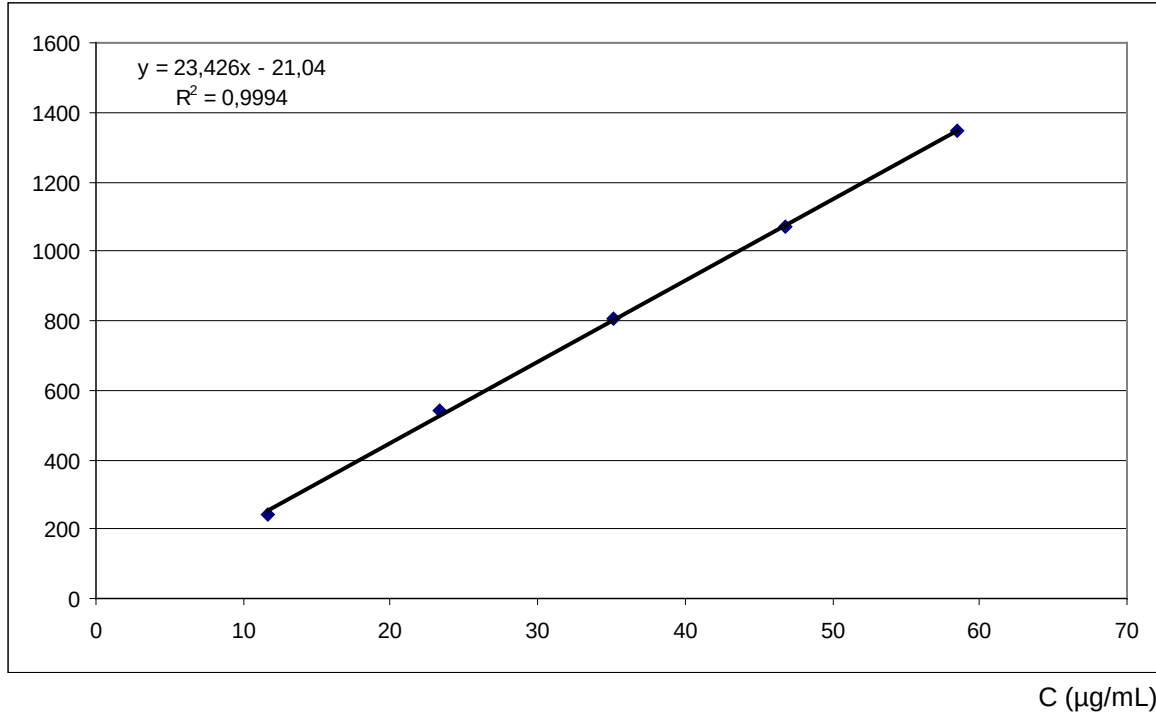
4.1.6. HCT safsızlık B

Bölüm 3.2.1.de anlatıldığı gibi hazırlanan HCT Safsızlık B'nin kromatogramı Şekil 4.12.de, 11,7; 23,4; 35,1; 46,8; 58,5 µg/mL konsatrasyon aralığında kalibrasyon doğrusu ise Şekil 4.13.de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. HCT safsızlık B (32,1 µg/mL) kromatogramı

Pik alanı



Şekil 4.13. HCT safsızlık B için standart ekleme yöntemi ile elde edilen kalibrasyon doğrusu

Olmesartan medoksomil ve *Hidroklorotiyazid* ile safsızlıklarına ait doğrusal parametreler, Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *Olmesartan medoksomil* ve safsızlıkları için elde edilen doğrusal parametreler

	OLM medoksomil	OLM Safsızlık A	OLM Safsızlık B
Doğrusal çalışma aralığı(µg/ml)	20-140	10-50	10-50
Eğim	16,187	22,753	17,468
Kesişim	453,32	-18,48	-15,27
Korelasyon katsayısı	0,9983	0,9995	0,9991
Farmasötik tablet çözeltisinden geldiği varsayılan miktar (µg/ml)	30	-	-
Kalibrasyon doğrusu ile bulunan sonuç (µg/ml)	28,0	-	-
% Geri kazanım	93,3	-	-
Bias (% sapma)	6,7	-	-

Çizelge 4.2. *Hidroklorotiyazid* ve safsızlıkları için elde edilen doğrusal parametreler

	Hidroklorotiyazid	HCT Safsızlık A	HCT Safsızlık B
Doğrusal çalışma aralığı(µg/ml)	20-160	2-10	10-60
Eğim	20,221	16,445	23,426
Kesişim	384,42	-1,93	-21,04
Korelasyon katsayısı	0,9973	0,9994	0,9994
Farmasötik tablet çözeltisinden geldiği varsayılan miktar (µg/ml)	19,2	-	-
Kalibrasyon doğrusu ile bulunan sonuç (µg/ml)	19,0	-	-
% Geri kazanım	99,0	-	-
Bias (% sapma)	1,0	-	-

4.2. Kromatografik Sistem Uygunluk Test Sonuçları

Çalışmada optimize edilen kromatografik parametreler kullanılarak kromatografik Sistem Uygunluk Testleri yapılmış ve sonuçlar, Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. OLM medoksomil ve safsızlıkları için kromatografik sistem uygunluk test sonuçları

Parametreler	OLM medoksomil	OLM Safsızlık A	OLM Safsızlık B
Teorik tabaka sayısı(N)	42015	41083	49435
Kapasite faktörü(k')	1,284	2,46	3,795
Pik Asimetrisi(As)	0,986	0,989	1,018
Pik Genişliği(W)	0,086	0,099	0,232
Seçicilik faktörü(α)	1,915	1,542	
Rezölüsyon(R_s)	34,151	21,661	
Kuyruklanma Faktörü	1,009	1,015	0,999

Çizelge 4.4. Hidroklorotiyazid ve safsızlıkları için kromatografik sistem uygunluk test sonuçları

Parametreler	HCT Safsızlık B	HCT Safsızlık A	Hidroklorotiyazid
Teorik tabaka sayısı (N)	17898	15988	20538
Kapasite faktörü (k')	0,186	0,068	0,159
Pik Asimetrisi (T)	1,015	1,028	0,964
Pik Genişliği(W)	0,085	0,091	0,087
Seçicilik faktörü (α)	2,326	2,333	
Rezölüsyon (R_s)	2,737	2,746	
Kuyruklanma Faktörü	0,985	0,954	1,02

4.3. Validasyon Parametreleri

4.3.1. Doğruluk (Geri kazanım)

Bölüm 3.2.4.'te anlatıldığı gibi hazırlanan *OLM medoksomil*, OLM safsızlık A, OLM safsızlık B, *HCT*, HCT safsızlık A ve HCT safsızlık B çözeltilerine ait geri kazanım sonuçları sırası ile Çizelge 4.5., 4.6., 4.7., 4.8. ve 4.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. OLM medoksomil için geri kazanım sonuçları

	Eklenen Etken Madde (µg/mL)	Hesaplanan Etken Madde (µg/mL)	Geri Kazanım(%)	Bias (% sapma)
%50	41,4	41,3	99,7	0,2
%100	82,8	80,0	97	3,4
%150	124,2	121,3	97,7	2,3
Ortalama Geri Kazanım(%)			98,1	
Güven Aralığı (p=0,05)			97,18-99,02	

Çizelge 4.6. OLM safsızlık A için geri kazanım sonuçları

	Eklenen Etken Madde (µg/mL)	Hesaplanan Etken Madde (µg/mL)	Geri Kazanım(%)	Bias (% sapma)
%65	24	26	108	-8,3
%100	36	38	105	-5,6
%130	48	50	104	-4,2
Ortalama Geri Kazanım(%)			105,7	
Güven Aralığı (p=0,05)			104,3-107	

Çizelge 4.7. OLM safsızlık B için geri kazanım sonuçları

	Eklenen Etken Madde (µg/mL)	Hesaplanan Etken Madde (µg/mL)	Geri Kazanım(%)	Bias (% sapma)
%65	22,2	23,8	106	-7,2
%100	33,3	35,1	105	-5,4
%130	44,4	45,7	103	-2,9
Ortalama Geri Kazanım(%)			104,7	
Güven Aralığı (p=0,05)			103,72-105,68	

Çizelge 4.8. HCT için geri kazanım sonuçları

	Eklenen Etken Madde (µg/ml)	Hesaplanan Etken Madde (µg/ml)	Geri Kazanım(%)	Bias (% sapma)
% 50	41,4	43,0	104	-3,9
% 100	82,8	81,8	99	1,2
% 150	124,2	132,5	107	-6,7
Ortalama Geri Kazanım(%)			103,3	
Güven Aralığı (p=0,05)			100,65-105,95	

Çizelge 4.9. HCT safsızlık B için geri kazanım sonuçları

	Eklenen Etken Madde (µg/ml)	Hesaplanan Etken Madde (µg/ml)	Geri Kazanım (%)	Bias (% sapma)
% 65	21,4	24,0	112	-12,1
% 100	32,1	34,0	106	-5,9
% 130	42,8	45,0	105	-5,1
Ortalama Geri Kazanım(%)			107,7	
Güven Aralığı (p=0,05)			105,23-110,17	

4.3.2. Kesinlik

Bölüm 3.2.4.'te anlatıldığı gibi hazırlanan çözeltilere ait kesinlik (enjeksiyon tekrarlanabilirliği) sonuçları sırası ile Çizelge 4.10., 4.11., 4.12., 4.13., 4.14. ve 4.15.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. OLM medoksomil için tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	1375,5	10,488
2	1384,6	10,486
3	1386,4	10,491
4	1382,3	10,500
5	1388,8	10,491
Ortalama	1383,5	10,491
Standart Sapma	5,1	0,005
% Bağıl Standart Sapma	0,4	0,050

Çizelge 4.11. OLM safsızlık A için tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	760,1	15,865
2	766,2	15,864
3	766,8	15,868
4	764,7	15,863
5	767,4	15,864
Ortalama	765	15,865
Standart Sapma	2,9	0,002
% Bağlı Standart Sapma	0,4	0,010

Çizelge 4.12. OLM safsızlık B için tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	513,4	21,985
2	517,5	21,981
3	517,7	21,988
4	515,8	21,980
5	517,9	21,979
Ortalama	516,5	21,98
Standart Sapma	1,9	0,004
% Bağlı Standart Sapma	0,4	0,002

Çizelge 4.13. HCT için tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	1687,3	5,295
2	1698,9	5,290
3	1700,4	5,293
4	1693,6	5,289
5	1701,5	5,285
Ortalama	1696,3	5,290
Standart Sapma	5,9	0,004
% Bağlı Standart Sapma	0,3	0,080

Çizelge 4.14. HCT safsızlık A için tekrarlanabilirlik sonuçları

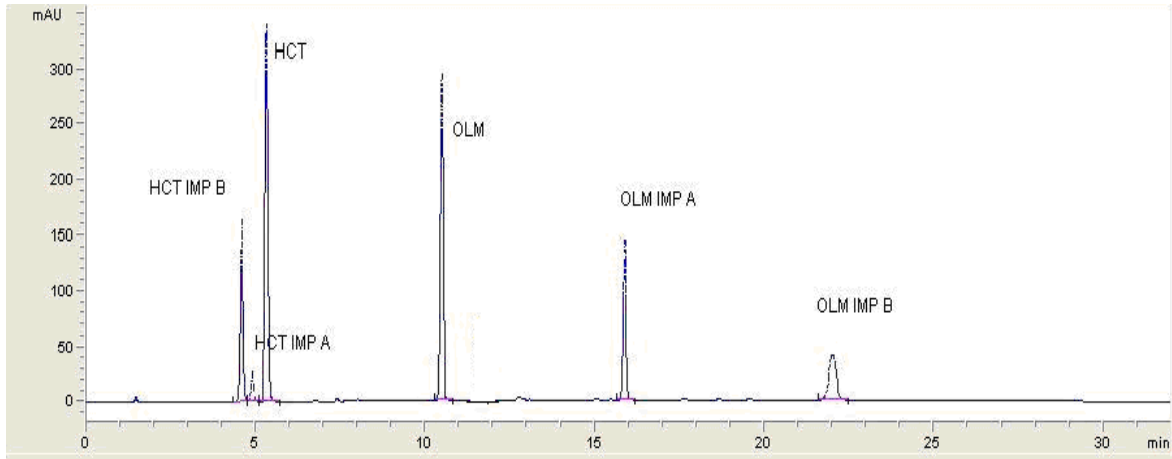
Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	129,1	4,877
2	129,9	4,873
3	130	4,877
4	129,5	4,872
5	130,2	4,870
Ortalama	129,7	4,874
Standart Sapma	0,4	0,003
% Bağlı Standart Sapma	0,3	0,060

Çizelge 4.15. HCT safsızlık B için tekrarlanabilirlik sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Alan	Alıkonma Zamanı
1	844,1	4,562
2	843,1	4,559
3	843,5	4,562
4	840,9	4,559
5	844,1	4,556
Ortalama	843,1	4,600
Standart Sapma	1,3	0,002
% Bağlı Standart Sapma	0,15	0,040

4.3.3. Seçicilik

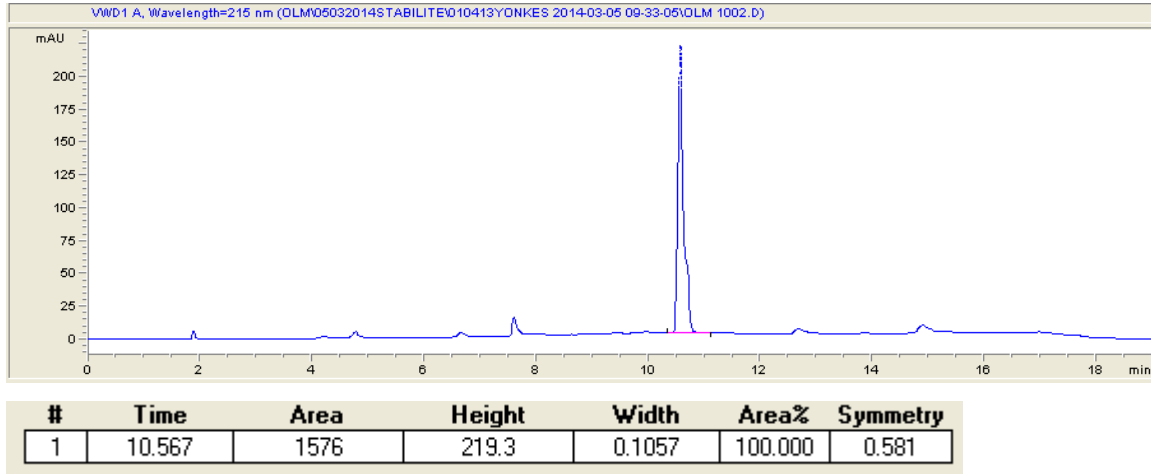
Bölüm 3.2.4.'te anlatıldığı gibi hazırlanan *OLM medoksomil*, OLM safsızlık A, OLM safsızlık B, *HCT*, HCT safsızlık A ve HCT safsızlık B çözeltilerine ait kromatogram Şekil 4.14.de gösterilmiştir. Seçiciliğin göstergesi olan R_s değerleri Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir.



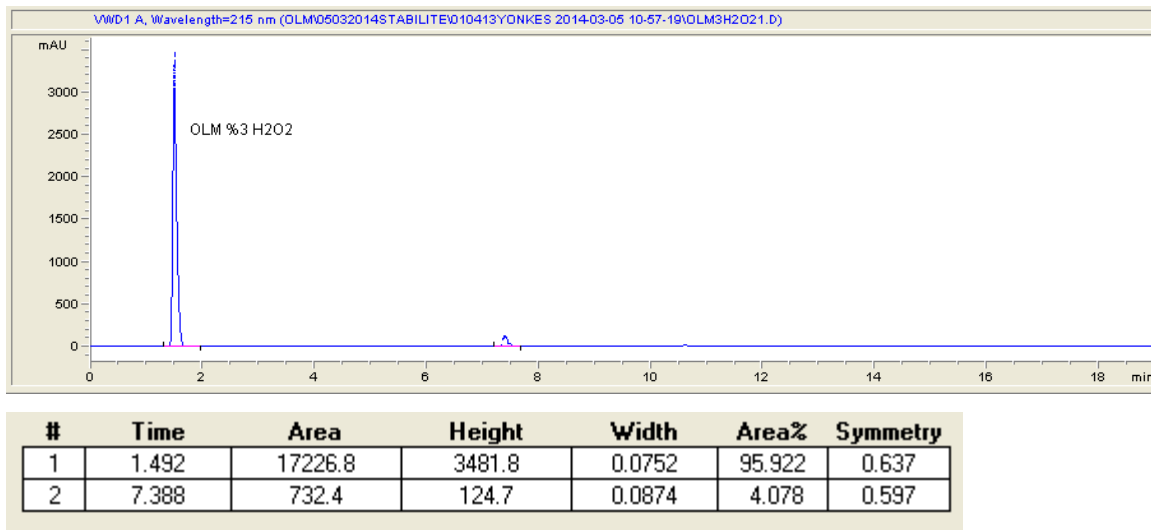
Şekil 4.14. Etken maddeler ve safsızlıklarının seçicilik kromatogramı

Ayrıca seçicilik için yapılan bozundurma çalışmalarında Bölüm 3.2.4.'te anlatılan yol izlenmiş ve H_2O_2 ortamında etken maddelerin tamamen bozunduğu gözlenmiştir. Asidik (0,1 M HCl, 1,0 M HCl) ve bazik (0,1 M NaOH ve 1,0 M NaOH) ortamlarda da etken maddelerin büyük oranda bozunduğu ve çıkış zamanlarının değiştiği gözlenmiştir. 100°C'de bekletilen katı etken maddeler ile hazırlanan çözeltilerin stabil kalabildiği gözlenmiştir.

Bozundurma çalışması sonuçları değiştirilen parametreler belirtilerek Şekil 4.15., 4.16., 4.17., 4.18., 4.19., 4.20., 4.21., 4.22., 4.23., 4.24., 4.25., 4.26., 4.27., 4.28., 4.29. ve 4.30.'da gösterilmiştir.

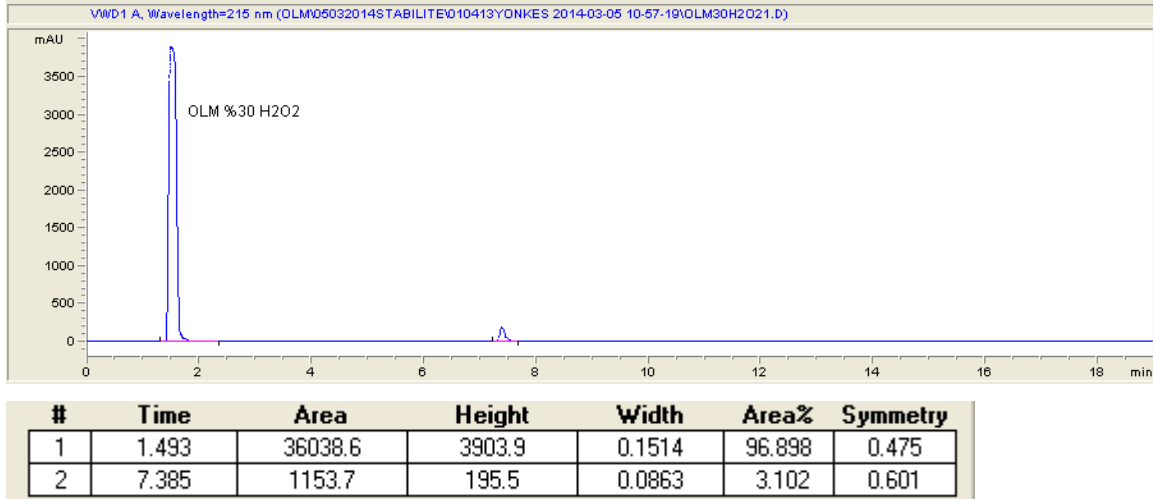


Şekil 4.15. Olmesartan medoksomilin asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı



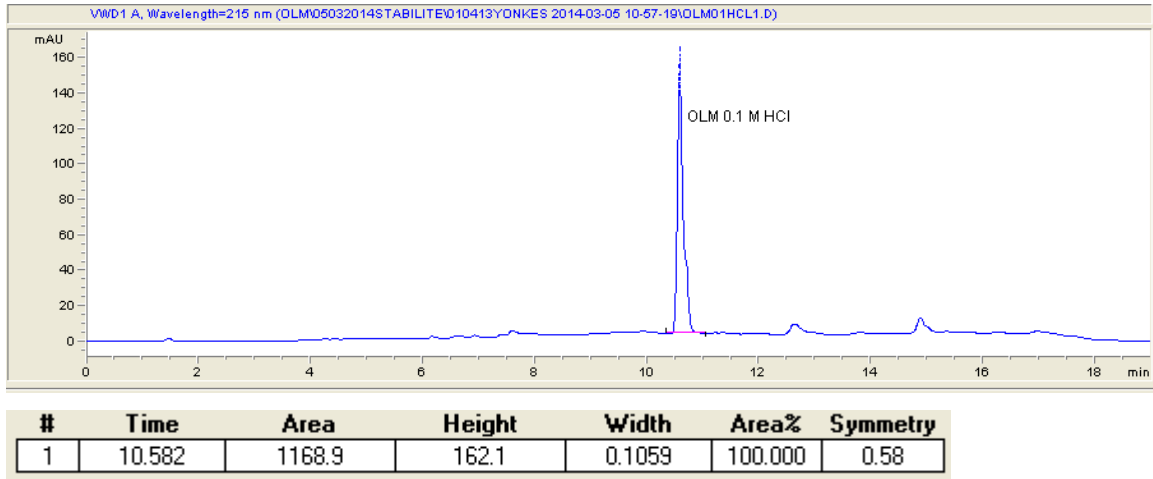
Şekil 4.16. Olmesartan medoksomilin %3 lük H₂O₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.

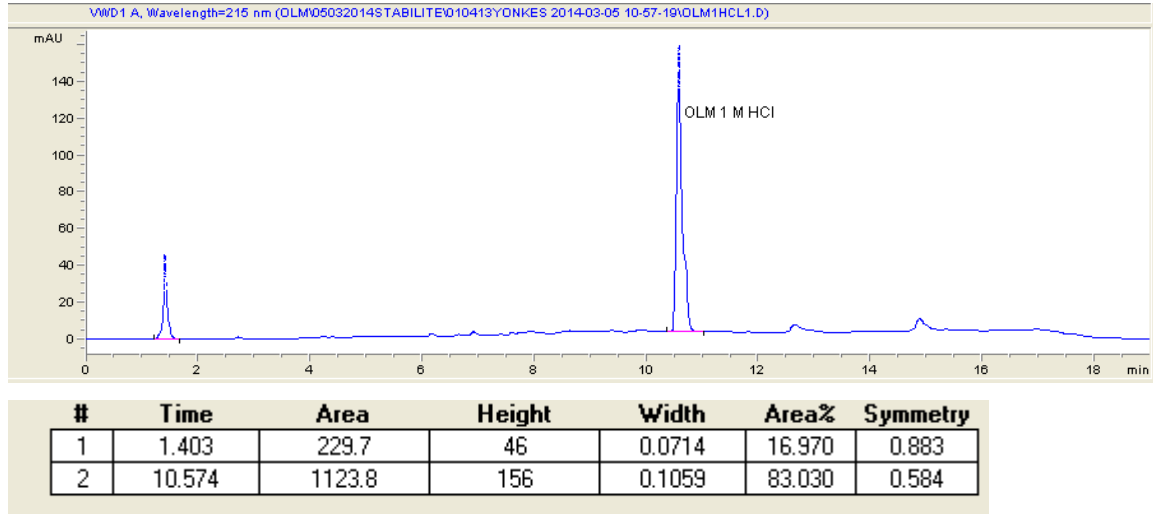


Şekil 4.17. Olmesartan medoksomilin %30 luk H₂O₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

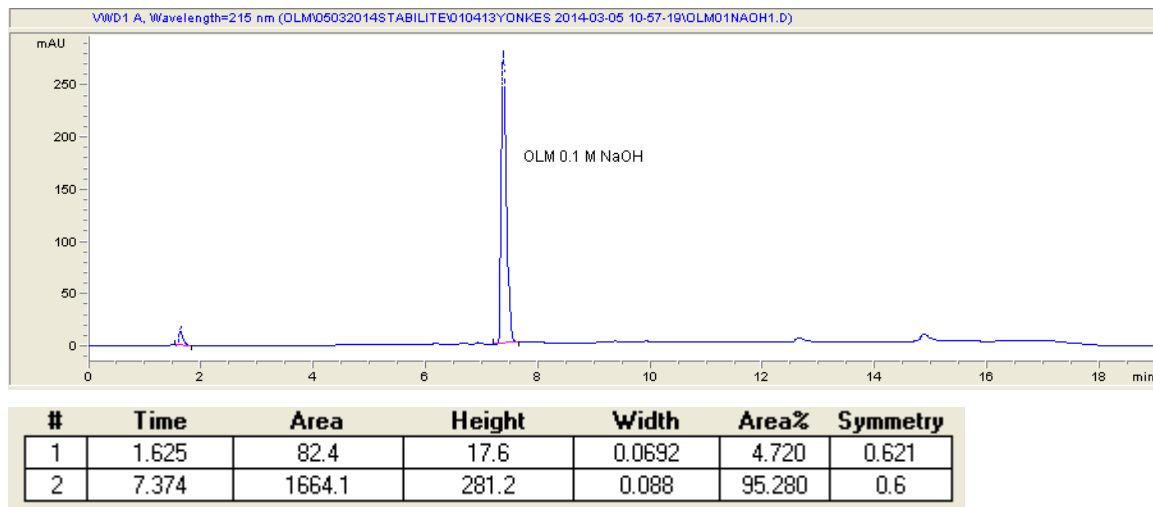
Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 4.18. Olmesartan medoksomilin 0,1 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

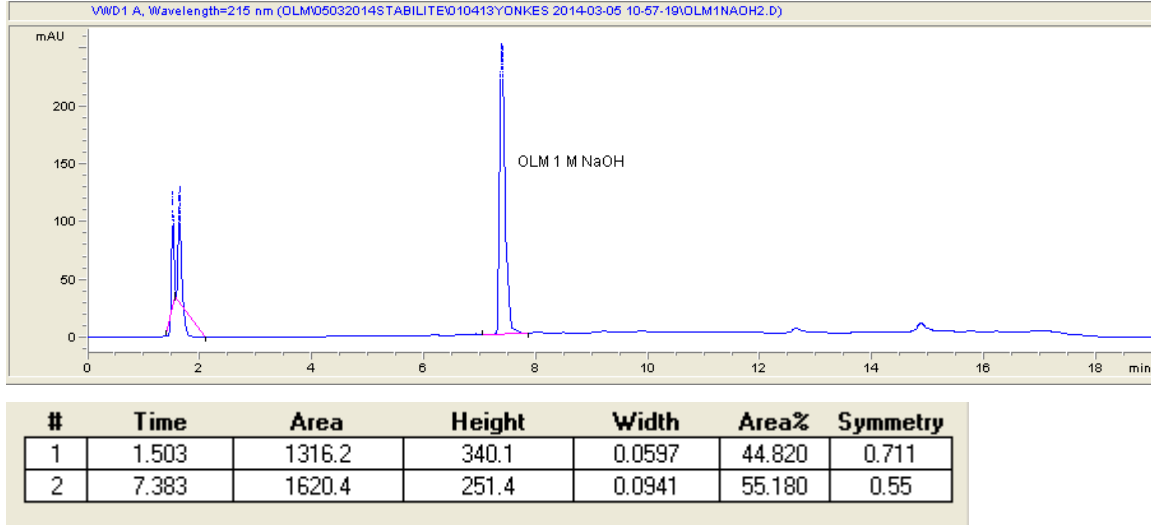


Şekil 4.19. Olmesartan medoksomilin 1,0 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı



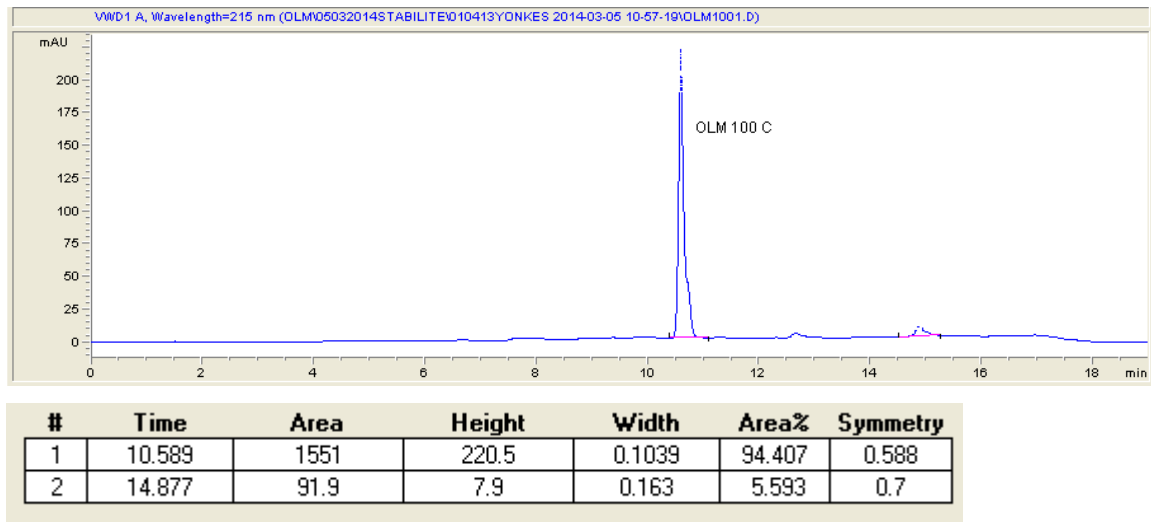
Şekil 4.20. Olmesartan medoksomilin 0,1 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.

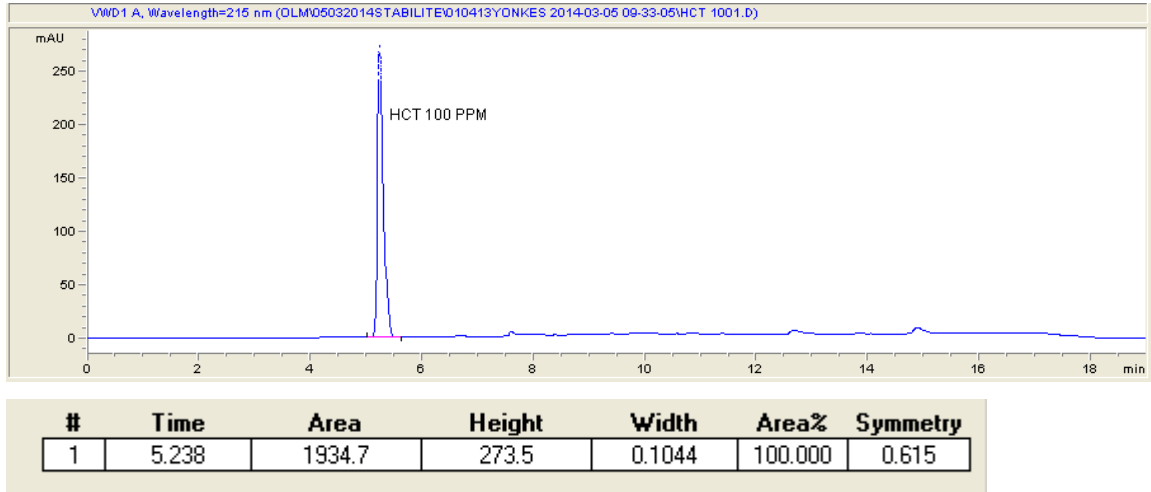


Şekil 4.21. Olmesartan medoksomilin 1,0 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

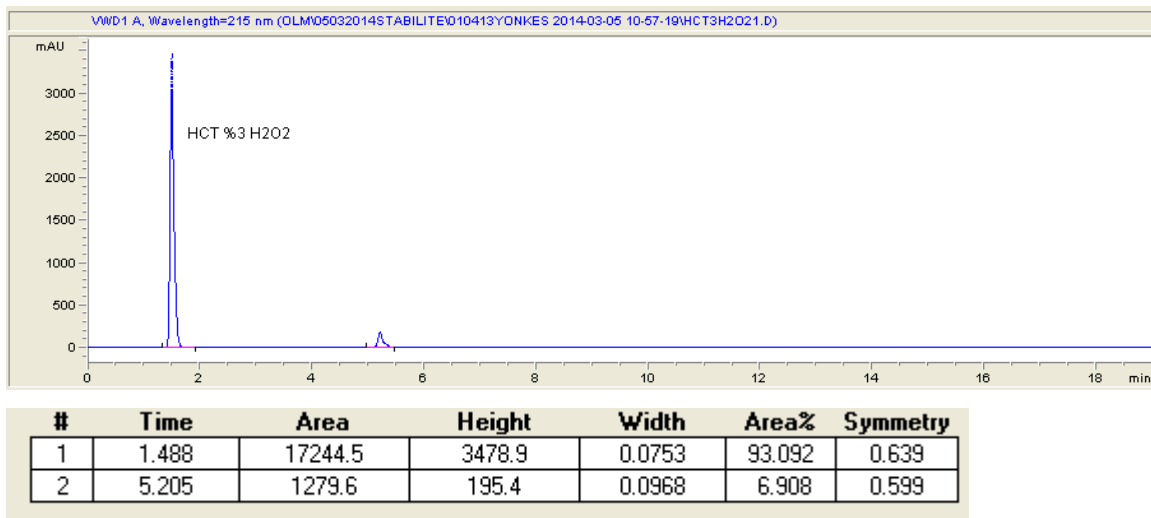
Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 4.22. Olmesartan medoksomilin 100 °C de bir gün bekletildikten sonra asetoniitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

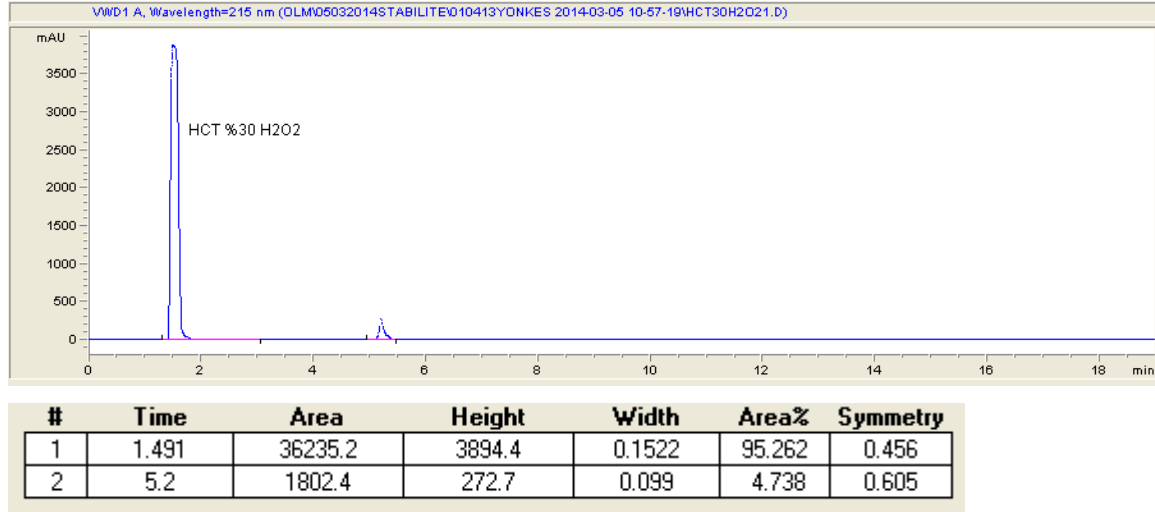


Şekil 4.23. Hidroklorotiyazidin asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı



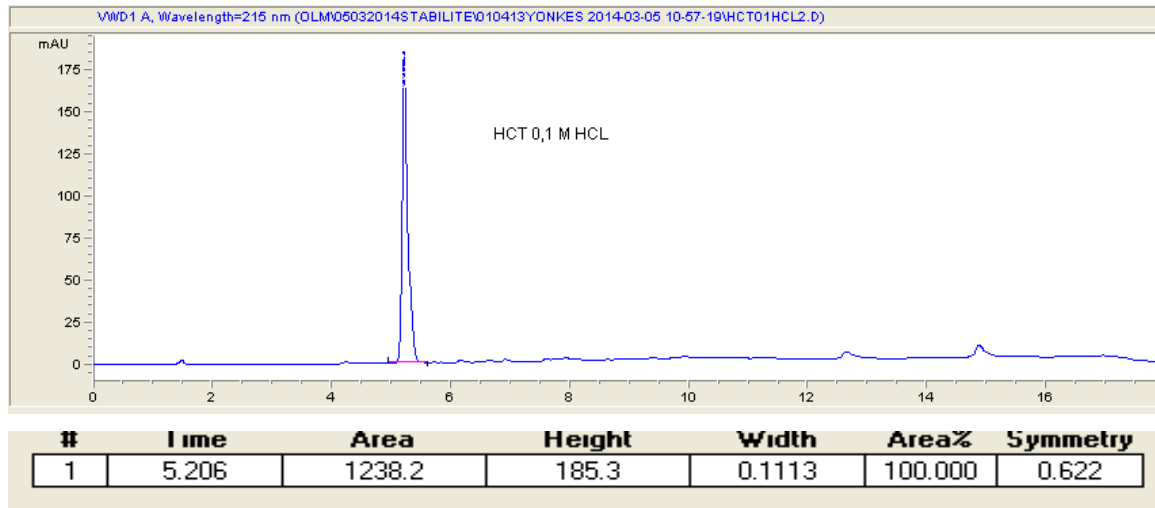
Şekil 4.24. Hidroklorotiyazidin %3 lük H₂O₂ ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.

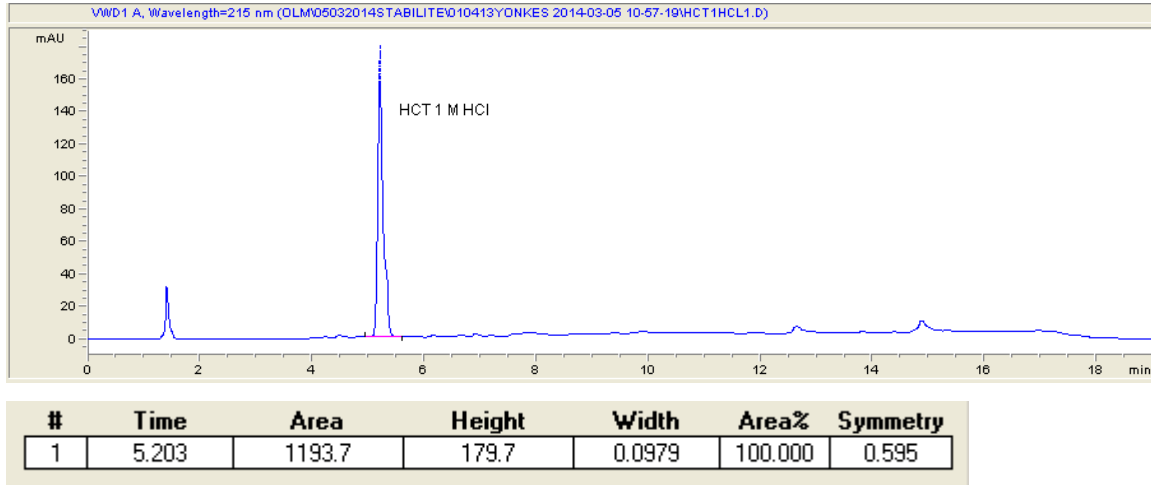


Şekil 4.25. Hidroklorotiyazidin %30 luk H_2O_2 ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

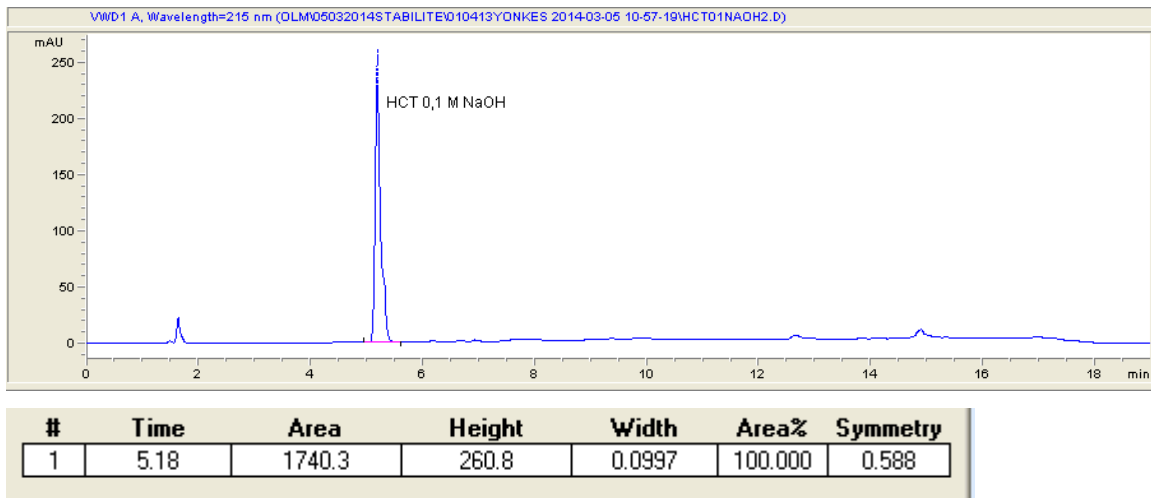
Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.



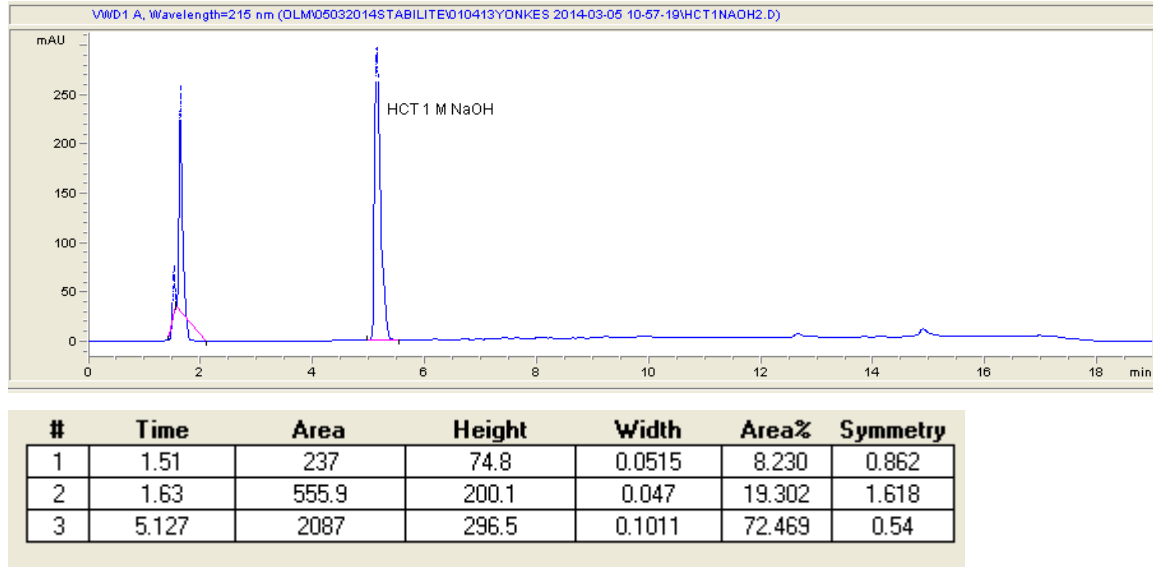
Şekil 4.26. Hidroklorotiyazidin 0,1 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı



Şekil 4.27. Hidroklorotiyazidin 1,0 M lık HCl ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

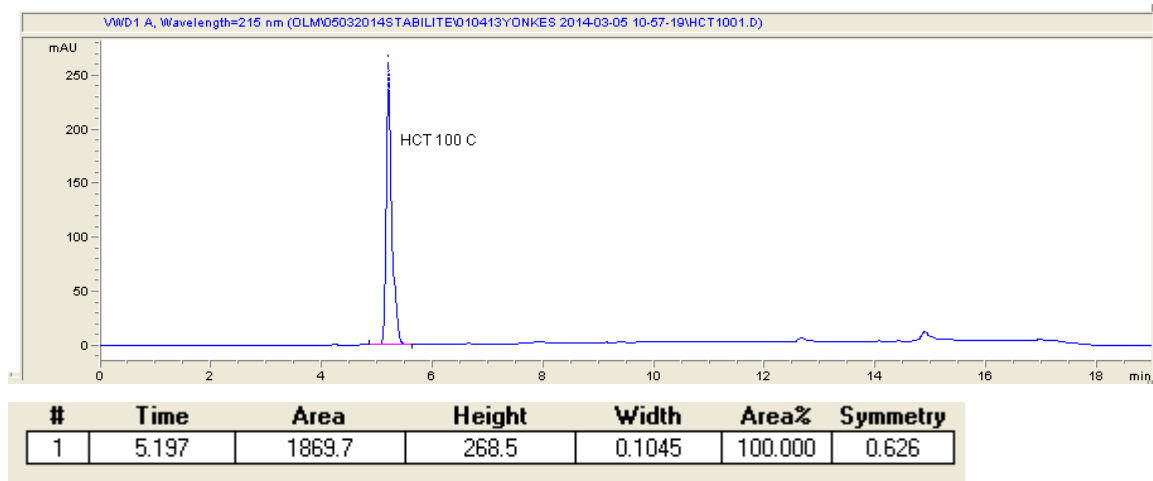


Şekil 4.28. Hidroklorotiyazidin 0,1 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı



Şekil 4.29. Hidroklorotiyazidin 1,0 M lık NaOH ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

Piklerin çıkış zamanı ve piklerin alan değerleri göz önüne alındığında etken maddenin tamamen bozunduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 4.30. Hidroklorotiyazidin 100°C de bir gün bekletildikten sonra asetonitril ile hazırlanan 100 ppm lik çözeltisinin kromatogramı

Bölüm 3.2.4.'te anlatıldığı gibi hazırlanan *OLM medoksomil* ve *HCT* çözeltilerine ait bozundurma çalışması sonuçları Çizelge 4.16.'da gösterilmiştir. Çizelge 4.16.'da görülen pozitif sonuçlar, sapmanın artış yönünde olduğunu, negatif sonuçlar ise sapmanın azalış yönünde olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.16. Bozundurma çalışması sonuçları

	Başlangıç	%3 lük H ₂ O ₂	%30 lük H ₂ O ₂	0,1 M HCl	1,0 M HCl	0,1 M NaOH	1,0 M NaOH	100 °C
OLM medoksomil Pik Alanı / %Sapma	1568,55	Tamamen Bozundu		1164,25/ -25,8	1121/ -28,5	Tamamen Bozundu		1549,8/ -1.2
HCT Pik Alanı / %Sapma	1934,2			1236/ -36,1	1192,85/ -38,3	1739,4/ -10,1	Tamamen Bozundu	1873,15/ -3.2

4.3.4. LOD ve LOQ Değerleri

LOD ve LOQ tayininde Bölüm 3.2.4.'de anlatılan yol izlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.17.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. LOD ve LOQ değerleri

	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
OLM medoksomil	0,02	0,07
OLM Safsızlık A	0,03	0,10
OLM Safsızlık B	0,03	0,10
HCT	0,13	0,40
HCT Safsızlık A	0,42	1,40
HCT Safsızlık B	0,23	0,76

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda antihipertansif etkili ilaç etken maddeleri olan *Olmесartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* ile bazı safsızlıklarının ayrımı ve miktar tayini için bir Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir.

Türkiye’de *Olmесartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid*i farklı derişimlerde içeren birçok farmasötik tablet çeşitli firmalar tarafından kullanıma sunulmuştur. Literatürde bu iki etken maddenin birlikte bulunduğu farmasötik formlarda miktar tayini amacıyla geliştirilen yöntemler mevcuttur. Bunlar Yüksek Basıncılı Sıvı kromatografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerdir. *Olmесartan* ve safsızlıkları ve *Hidroklorotiyazid* ve safsızlıkları tayinleri için HPLC yöntemleri mevcuttur. Ayrıca OLM-HCT ve HCT safsızlık A içeren bir HPLC çalışması da vardır. Ancak bu etken maddelerin ve safsızlıklarının ayırma ve tayinlerinin aynı anda gerçekleştirildiği bir yöntem literatür taramalarımızda rastlanmamıştır.

Çalışmamızın hedefi, *Olmесartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* içeren kombine farmasötik tabletlerde ve bu etken maddelerin safsızlıklarıyla birlikte bulundukları ortamda ayırmak ve her bir analitin kantitatif tayinlerini gerçekleştirmektir. Her iki etken madde için EU 2011 ve BP 2009 çeşitli safsızlıklar tanımlamıştır [3, 7]. Çalışmamızda bu safsızlıklardan sadece bir kısmı analiz edilebilmiştir. Bunun sebebi safsızlıkların teminindeki güçlüklerdir.

Farmasötik formların içerebilecekleri safsızlıklar, etken maddelerin bazı bozunma ürünlerinden oluştuğu için safsızlıkların kimyasal yapıları etken maddelere benzer. Bu durum da bir ayırma yöntemi geliştirilmesinde zorluklarla karşılaşılmasına sebep olmaktadır. Çalışmamızda *Olmесartan medoksomil*, OLM Safsızlık A, OLM Safsızlık B ve *Hidroklorotiyazid*, HCT Safsızlık A, HCT Safsızlık B analitlerinin birbirlerinden ayrılmalrı için kromatografik koşullar optimize edilmiştir. Çalışmada hareketli faz olarak 0,020 M NaH₂PO₄ çözeltisi ve asetonitril ile bir gradient akış sistemi oluşturulmuştur. Sabit faz olarak Agilent Zorbax Sb-C18 (4,6X150 mm, 5 µm) kolon seçilmiştir. UV dedektör dalga boyu 215 nm. ye ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 25°C, otomatik örnekleyici sıcaklığı ise 25°C’dir. Her çözelti için

enjeksiyon hacmi 4,0 µL'dir. Daha sonra ayrılan analitlerin miktar tayinleri amacıyla saf standartlardan hareketle kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir analitin miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, etken maddeleri içeren farmasötik tablet çözeltisi matriks olarak kullanılmış, normalde bir tablette bulunmaması gereken safsızlıklar, ve standart etken madde çözeltileri, bu çözeltiliye eklenmiştir. Böylece olası matriks etkisini de elimine eden standart ekleme yöntemi kullanılarak hem geri kazanım ve hem de tabletin içerdiği etken madde miktarları tayin edilmiştir. Sonuçlar, geri kazanım sonuçları şeklinde % olarak ifade edilmiştir. Ayrıca saf standart etken maddelerden hazırlanan sentetik çözelti de üzerine standart etken madde çözeltileri ve safsızlıklar eklenerek analiz edilmiştir. Her iki çalışmanın karşılaştırılması, farmasötik tablet matriksinden gelen herhangi bir girişim olmadığını göstermektedir.

Kalibrasyon ve % geri kazanım bölümünde, elde edilen doğrusal grafiklerin eğiminden yola çıkılarak, standart ekleme yöntemi ile her bir etken madde için % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler *Olmessartan medoksomil* için %93,3 ve *Hidroklorotiyazid* için %99,0 olarak hesaplanmıştır.

Doğruluk ve geri kazanım testlerinde, yöntemin çalışma aralığını kapsayan üç ayrı derişimde etken maddeler için (%50, %100 ve %150), safsızlıklar için (%65, %100 ve %130) geri kazanım çalışması yapılmıştır. Elde edilen geri kazanım yüzdelerinin limitler içerisinde olduğu görülmüştür.

Önerilen Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi yöntemi, doğruluk, kesinlik, seçicilik, duyarlılık ve doğrusallık açısından valide edilmiş elde edilen sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur. Validasyonun seçicilik parametresinde bütün analitler için uygun teorik plaka sayısı, pik asimetrisi, rezolüsyon, seçicilik ve kuyruklanma faktörlerinin sağlandığı ve analitlerin alıkonma zamanında çözücü ve diğer bileşenlere ait herhangi bir girişimin olmadığı saptanmıştır. Ayrıca seçicilik için bozundurma çalışmaları yapılmış ve çözeltiler asidik, bazik ve H₂O₂ ortamlarında bir saat bekletilmiş; katı etken etken maddeler 100°C'de 24 saat bekletilmiştir. H₂O₂ ortamında etken maddelerin tamamen bozunduğu gözlenmiştir. Asidik ve bazik ortamlarda da etken maddelerin büyük oranda bozunduğu ve çıkış

zamanlarının değiştiği gözlenmiştir. 100°C’de bekletilen katı etken maddeler ile hazırlanan çözeltilerin stabil kalabildiği gözlenmiştir. Bozundurma sonucu oluşan ürünlerin standart safsızlıklarla uyumlu olup olmadığına bakılmamıştır.

Kesinlik parametresi için, cihaz kesinliği (enjeksiyon tekrarlanabilirliği) testi çalışılmıştır. Cihaz kesinliği testinde her bir analit için elde edilen pik alanlarının ve alıkonma zamanlarının bağıl standart sapması belirtilen kriterlere uygundur.

Doğrusallık çalışmasından elde edilen regresyon doğrularında, her bir etken madde ve safsızlıklar için bulunan korelasyon katsayıları(r) 0,995 değerinden büyüktür.

Ayrıca önerilen kromatografik yöntem için Sistem Uygunluk Testleri yapılmış ve bütün analitler için uygun teorik plaka sayısı, pik asimetrisi, rezolüsyon, seçicilik ve kuyruklanma faktörlerinin sağlandığı gözlenmiştir

Olmeseartan medoksomil, Olmeseartan medoksomil safsızlık A, Olmeseartan medoksomil safsızlık B, Hidroklorotiyazid, Hidroklorotiyazid safsızlık A, Hidroklorotiyazid safsızlık B pikleri için alıkonma zamanları sırasıyla 10,491; 15,865; 21,980; 5,290; 4,874 ve 4,600 dakikadır. Kromatografi süresi relatif olarak uzun olmakla birlikte ayırma başarılıdır. *Olmeseartan medoksomil* ve *Hidroklorotiyazid* için % geri kazanım sonuçları sırasıyla %93,3 ve %99,0 olarak hesaplanmıştır. LOD değerleri *Olmeseartan medoksomil, Olmeseartan medoksomil safsızlık A, Olmeseartan medoksomil safsızlık B, Hidroklorotiyazid, Hidroklorotiyazid safsızlık A, Hidroklorotiyazid safsızlık B* için sırasıyla 0,07 µg/mL; 0,10 µg/mL; 0,10 µg/mL; 0,40 µg/mL; 1,40 µg/mL ve 0,76 µg/mL’dir. Bu değerler, etken maddeler için literatür verileriyle uyumludur.

Sonuçta geliştirilen yöntem düşük standart sapma değerleriyle kesinlik ve tekrarlanabilirlik, % geri kazanım çalışmaları sonuçları ile doğruluk ve düşük LOD değerleri ve kalibrasyon doğrularının eğim değerleriyle duyarlılık, 1’e yakın korelasyon katsayısı(r) değerleri ile doğrusallık açısından olumludur ve rutin analizler için önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Bökesoy, T.A., Çakıcı, İ. ve Melli, M. (2000). *Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Ders Kitabı*. Ankara: Gazi Kitapevi, 393.
2. Kayaalp, S.O. (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (Onikinci Baskı) Ankara: Pelikan Yayıncılık, 357-367.
3. European Pharmacopoeia, (2011). European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 4347-4348.
4. Üstüneş, L., (2013). Rx Media Pharma. İnter Aktif İlaç Bilgi kaynağı.
5. Hedvati, L. and Pilarsky G. Trityl, (2005). Olmesartan medoxomil is reacted with an acid in a water miscible organic solvent, separating the precipitate of triphenyl carbinol from the solution of olmesartan medoxomil; solution of olmesartan medoxomil is treated with a base to obtain a precipitate of olmesartan medoxomil US 11/217,472.
6. Rahway, N.J., (2006). *The Merck Index*, An Encyclopedia of Chemicals Drugs and Biologicals 14th Edition, Merc&Co Inc., 827.
7. British Pharmacopoeia, (2009). Her Majesty's Stationery Office, Volume 1-2, London.
8. Shaalan, R.A., Belal, T.A., El Yazbi, F.A. and Elonsy. S.M. (2013). Validated stability indicating HPLC-DAD method of analysis for the antihypertensive triple mixture of amlodipine besylate, valsartan and hydrochlorothiazide in their tablets. *Arabian Journal of Chemistry*, 1–14.
9. Tengli, A.R., Gurupadayya, B.M. and Soni, N. (2013). Simultaneous estimation of hydrochlorothiazide, amlodipine, and losartan in tablet dosage form by RP-HPLC. *International Journal of Pharmaceutical Analysis*, 4, 33-38.
10. Kurbanoglu, S. Gumustas, M. and Ozkan, S.A. (2013). Simultaneous estimation and validation of some binary mixtures of antihypertensive drugs by RP-LC methods using two new generation silica columns. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 198–201.
11. Qi, W., Zhao, Q., Jiang, J. and Hu, P., (2013). Simultaneous determination of olmesartan and amlodipine in human plasma and urine by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 938, 27–34.
12. Maggio, R.M., Rivero, M.A. and Kaufman, T.S. (2013). Simultaneous acquisition of the dissolution curves of two active ingredients in a binary pharmaceutical association, employing an on-line circulation system and chemometrics-assistance. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 51– 58.

13. Hamrapurkar, P.D. and Gadapayale, K.K. (2013). Optimization and validation of RP- HPLC stability indicating method for determination of olmesartan medoxomil and its degraded product. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 11, 137-147.
14. Singh, B., Lokhanda, R., Dwivedi, A., Sharma, S. and Dubey, N., (2013). Improved simultaneous quantitation of candesartan and Hydrochlorthiazide in human plasma by UPLC–MS/MS and its application in bioequivalence studies. *International Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1-9.
15. Sun, Y., Zhang, Z., and Zhang, X. (2013). Electrogenerated chemiluminescence detector based on ruimmobilized in cation exchange resin for high-performance liquid chromatography: An approach to stable detection. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 116, 361–364.
16. Dubey, N., Dubey, N., Mandhanya, M. and Jain, D.K. (2013). Cleaning validation for residual estimation of olmesartan medoxomil on stainless steel surface of pharmaceutical manufacturing equipments using swab sampling and HPLC-DAD method. *Bulletin of Faculty of Pharmacy*, 51, 95–100.
17. Sheth, A., Patel, K.N., Badmanaban, R., Doshi, N., Shah, N. (2013). Simultaneous estimation of olmesartan medoxomil and indapamide from bulk and commercial products using a validated reverse phase high performance liquid chromatographic technique. *Chronicles of Young Scientists*, 4(1), 69-73.
18. Wahajuddin, A., Singh, S.P., Raju, K.S.R., Nafis, A. and Jain, G.K. (2012). Simultaneous determination of nine model compounds in permeability samples using RP-HPLC: Application to prove the cassette administration principle in single pass intestinal perfusion study in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 67, 71– 76.
19. Salama, I. (2012). Simultaneous HPLC–UV analysis of telmisartan and hydrochlorothiazide in human plasma. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 49, 19–24.
20. Sharma, M., Kothari, C., Sherikar, O., Mehta, P. (2012). Concurrent estimation of amlodipine besylate, hydrochlorothiazide and valsartan by RP-HPLC, HPTLC and UV–Spectrophotometry. *Journal of Chromatographic Science*, 52(1), 27-35.
21. Patel, M.M., Patel, D.D. (2012). Simultaneous estimation of metoprolol succinate and olmesartan medoxomil in pharmaceutical dosage form by RP-HPLC. *Chromatography*, 3(8).
22. Rao, C.K., Kumar, K.K., VijayaLaxmi, M., Srinivasulu, P., Madhusudhan, G., Mukkanti, K., Srinivas, K.S.V. (2012). Development and validation of stability indicating LC method for olmesartan medoxomil. *American Journal of Analytical Chemistry*, 3, 153-160.

23. Raj, S., Kumari, K.S., Rao b A.N., Reddy b, I.U., Raju, M.N. (2014). Development of a stability indicating UPLC method for determination of olmesartan medoxomil and its degradation products in active pharmaceutical ingredient and dosage forms. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35, 1011–1026.
24. Chabukswar, A.R., Kuchekar, B.S., Jagdale, S.C., Mehetre, D.M., More, M.S. and Lokhande, P.D. (2011). Development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous estimation of Olmesartan Medoxomil and Amlodipine Besylate in tablet dosage form. *Archives of Applied Science Research*, 2 (4), 307-312.
25. Kadrile, D.P., Kalyane, N.V., Thakkar, T.H., Patel, M.R. and Moradiya, R.K. (2011). Simultaneous estimation of amlodipine besylate and olmesartan medoxomil drug formulations by HPLC and UV-spectrophotometric methods. *J. Pharm. Sci. & Res*, 2(9), 599-514.
26. Patil, P.S., More, H.N., Pishwkar, S.A. (2011). RP-HPLC Method for simultaneous estimation of amlodipine besylate and olmesartan medoxomil from tablet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 146-149.
27. Sangoi, M.S., Wrasse-Sangoi, M., Oliveira, P.R., Todeschini, V., Rolim, C.M.B. (2011). Rapid simultaneous determination of aliskiren and hydrochlorothiazide from their pharmaceutical formulations by monolithic silica hplc column employing experimental designs. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(17), 1976–1996.
28. Jain, P.S., Patel, M. K., Gorle, A.P., Chaudhari, A.J., Surana S.J. (2011). Stability-indicating method for simultaneous estimation of olmesartan medoxomile, amlodipine besylate and hydrochlorothiazide by rp-hplc in tablet dosage form. *Journal of Chromatographic Science*, 50(8), 680-687.
29. Hacıoğlu, F., Önal A. (2011). Determination of eprosartan mesylate and hydrochlorothiazide in tablets by derivative spectrophotometric and high-performance liquid chromatographic methods. *Journal of Chromatographic Science*, 50(8), 688-693.
30. Varghese, S.J., Ravi, T.K. (2011). Quantitative simultaneous determination of amlodipine, valsartan, and hydrochlorothiazide in “exforge hct” tablets using high-performance liquid chromatography and high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(12), 981-994.

31. Vignaduzzo, S.E., Castellano, P.M., Kaufman, T.S. (2011). Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of amlodipine, hydrochlorothiazide, and valsartan in tablets of their novel triple combination and binary pharmaceutical associations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(19), 2383-2395.
32. Mhaske, R.A., Sahasrabudhe, S., Mhaske A.A., and Garole D.J. (2011) RP-HPLC Method for simultaneous determination of atorvastatin calcium, olmesartan medoxomil, candesartan, hydrochlorothiazide and chlorthalidone-application to commercially available drug products. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3), 793-801.
33. Wankhede, S.B., Raka, K.C., Wadkar S.B., Chitlange, S.S. (2010) Spectrophotometric and hplc methods for simultaneous estimation of amlodipine besilate, losartan potassium and hydrochlorothiazide in tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(1), 136–140.
34. Joshi, S.J., Karbhari, P.A., Bhoir, S.I., Bindu, K.S., Das C. (2010). RP-HPLC method for simultaneous estimation of bisoprolol fumarate and hydrochlorothiazide in tablet formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52(3), 362-371.
35. Carlucci, G., Federico, L.D., Luliani, P. (2010). HPLC-DAD method for the simultaneous determination of zofenopril and hydrochlorothiazide in oral pharmaceutical formulations. *Liquid Chromatography*, 33(12), 1717-1722.
36. Wankhede, S.B., Wadkar, S.B., Raka, K.C., Chitlange, S.S. (2009). Simultaneous estimation of amlodipine besilate and olmesartan medoxomil in pharmaceutical dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(5), 563–567.
37. Bari, P.D., Rote, A.R. (2009) RP-LC and HPTLC methods for the determination of olmesartan medoxomil and hydrochlorothiazide in combined tablet dosage forms. *Chromatographia*, 69, 1469-1472.
38. Brijesh, S., Patel, D.K., Ghosh, S.K. (2009). Development of reverse-phase HPLC method for simultaneous analysis of metoprolol succinate and hydrochlorothiazide in a tablet formulation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8(6), 539-543.
39. Trivedi, P., Kartikeyan C., Kachave, R., Bhadane, R. (2009). Stability-indicating assay method for estimation of olmesartan medoxomil and its metabolite. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 32(10), 1516-1526.
40. Tian, D.F., Tian, X.L., Wang, Z.Y., Mo, F.K. (2008). Simultaneous determination of valsartan and hydrochlorothiazide in tablets by RP-HPLC. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(3), 372–374.

41. Sagirli, O., Önal, S., Toker, E., Şensoy, D. (2007). Simultaneous HPLC analysis of olmesartan and hydrochlorothiazide in combined tablets and in vitro dissolution studies. *Chromatographia*, 66(3-4), 213-218.
42. Shah, N.J., Suhagia, B.N., Shah R.R., Patel, N.M. (2007). Development and validation of a simultaneous HPTLC method for the estimation of olmesartan medoxomil and hydrochlorothiazide in tablet dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(6), 834–836.
43. Bhat. R.L., Godge. R.K.,Vora. A.T., Damle M.C. (2007). Validated RP-HPLC method for simultaneous determination of telmisartan and hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 30(20), 3059–3067.
44. Ivanović, D., Medenica, M., Jančić, B., Knežević, N., Malenović, A., and Milic, J. (2007). Validation of an analytical procedure for simultaneous determination of hydrochlorothiazide, lisinopril, and their impurities. *Acta Chromatographica*, 8.
45. Patel. L.J., Suhaqia, B.N., Shah, P.B., Shah, R.R. (2006). Simultaneous estimation of bisoprolol fumarate and hydrochlorothiazide in tablet dosage form by RP-HPLC method. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(5), 635–638.
46. Baing, M.M., Vaidya, V.V., Sane, R.T., Menom, S.N., Dalvi, K. (2006). Simultaneous RP-LC determination of losartan potassium, ramipril, and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparations. *Chromatographia*, 64(5-6), 293-296.
47. Ertürk, S., Çetin S.M., Atmaca, S. (2003). Simultaneous determination of moexipril hydrochloride and hydrochlorothiazide in tablets by derivative spectrophotometric and high-performance liquid chromatographic methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33(3), 505-511.
48. Erk. N., (2002). Spectrophotometric analysis of valsartan and hydrochlorothiazide. *Analytical Letters*, 35(2), 283-302.
49. Zecevic, M., Zivanovic, Lj., Agatonovic-Kustrin, S., Minic, D. (2001). The use of a response surface methodology on HPLC analysis of methyl dopa, amiloride and hydrochlorothiazide in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24(5-6), 1019-1025.
50. Erk. N., (2001). Analysis of binary mixtures of losartan potassium and hydrochlorothiazide by using high performance liquid chromatography, ratio derivative spectrophotometric and compensation technique. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24(4), 603-611.

51. Carlucci, G., Palumbo, G., Mazzeo, P., Quaglia, M.G. (2000). Simultaneous determination of losartan and hydrochlorothiazide in tablets by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23(1), 85-189.
52. Panderi, I.E. and Parissi-Poulou, M. (1999). Simultaneous determination of benazepril hydrochloride and hydrochlorothiazide by micro-bore liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21, 1017–1024.
53. Belal, T.S., Daabees, H.G., Abdel-Khalek, M.M., Mahrous, M.S. and Khamis, M. (2012). New simple spectrophotometric method for determination of the binary mixtures (atorvastatin calcium and ezetimibe; candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide) in tablets. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3 (2), 118–126.
54. Abdelwahab, N.S. (2011). Spectrophotometric methods for simultaneous determination of Carvedilol and Hydrochlorothiazide in combined dosage form. *Arabian Journal of Chemistry*, 1–6.
55. Rao, K.S., Panda, M., Keshar, N.K., (2011). Spectrophotometric methods for the simultaneous estimation of losartan potassium and hydrochlorothiazide in tablet dosage forms. *Chronicles of Young Scientists*, 2(3), 155-160.
56. Bari, P.D., Rote, A.R. (2010) Spectrophotometric Estimation of Olmesartan Medoxomil and Hydrochlorothiazide in Tablet. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(1), 111–113.
57. Mehulkumar, P., Ramesh, V., Kumar, V.V., Srinivas, R. and Diwan, P.V. (2009). Simultaneous spectroscopic estimation of amlodipine besylate and olmesartan medoximil in tablet dosage form. *Asian J. Res. Chem.*, 2, 127-131.
58. Panderi, I.E. (1999). Simultaneous determination of benazepril hydrochloride and hydrochlorothiazide in tablets by second-order derivative spectrophotometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21, 257–265.
59. Santos, M.C.G., Tarley, C.R.T., Dall'Antonia, L.H. and Santori, E.R. (2013). Evaluation of boron-doped diamond electrode for simultaneous voltammetric determination of hydrochlorothiazide and losartan in pharmaceutical formulations. *Sensors and Actuators B*, 188, 263– 270.
60. Nezhadali, A. and Mojarab, M. (2013). Computational study and multivariate optimization of hydrochlorothiazide analysis using molecularly imprinted polymer electrochemical sensor based on carbon nanotube/polypyrrole film. *Sensors and Actuators B*, 1–40.
61. Skoog D.A., Holler F.J. and Nieman T.A., *Estrümantal Analiz İlkeleri*. (Çev. Kılıç E., Köseoğlu F., Yılmaz H.). Ankara: Bilim Yayıncılık. 675-727.

62. Gülhane Askeri Tıp Akademisi. (2011). *İlaçların Analiz ve Kalite Kontrollerinde Kullanılan Analitik Yöntemlerin Geçerliliği (Validasyon)*. Ankara: Gata Basımevi, 1-40.
63. The United States Pharmacopoeia XXXI. (2009). USP 31, Validation of Compendial Methods, The United States Pharmacopeial Convection, Inc, 1225.
64. İnternetURL:http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf. Accessed: 2014-07-20. (Archived by WebCite® at <http://www.webcitation.org/6RCwvQxG3>)
http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.ich.org%2Ffileadmin%2FPublic_Web_Site%2FICH_Products%2FGuidelines%2FQuality%2FQ2_R1%2FStep4%2FQ2_R1__Guideline.pdf&date=2014-07-20 Son Erişim Tarihi: 20.07.2014

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı Adı : SAÇINTI, Çağlar
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 10/07/1983 Ankara
Medeni hali : Bekâr

**Eğitim Derecesi****Okul/Program****Mezuniyet yılı**

Yüksek Lisans

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Devam Ediyor

Lisans

Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü

2004

Lise

Batıkent Lisesi

2000

İş Deneyimi, Yıl**Çalıştığı Yıl****Görev**

2007

Düzen Norwest Laboratuvarı

Kimyager

2007'den beri

Jandarma Kriminal Daire Başkanlığı

Kimyager

Yabancı Dili

İngilizce



GAZİ GELECEKTİR..

