



İlaç Formülasyonundaki Asetilsalisilik Asit, Parasetamol ve Kafeinin Kemometrik Metotlarla Tayini

Determination of Acetylsalicylic Acid, Paracetamol and Caffeine in Drug Formulation with Chemometric Methods

Güzide Pekcan Ertokuş^{1*}, Ayşe Merve Akkaya¹, Ziya Mermertaş¹, Reciyе Kurşunlu¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32260, Isparta, TÜRKİYE

Sorumlu Yazar / Corresponding Author *: guzideertokus@sdu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 30.11.2017

Kabul Tarihi / Accepted: 04.09.2018

DOI:10.21205/deufmd.2019216118

Araştırma Makalesi/Research Article

Atıf şekli/ How to cite: PEKCAN ERTOKUŞ, G., AKKAYA, A.M., MERMERTAŞ, Z., KURŞUNLU, R. (2019). İlaç Formülasyonundaki Asetilsalisilik Asit, Parasetamol ve Kafeinin Kemometrik Metotlarla Tayini. DEUFMD, 21(61), 185-194.

Öz

Bu çalışmada, tablet ilaç numunesinde bulunan parasetamol, asetilsalisilik asit ve kafein etken maddelerinin ultraviyole spektrofotometrisi yöntemi ile elde edilen sonuçlarının kemometrik metotlarla birlikte değerlendirilmesi ile tayini gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmada maddelerin tek tek saf haldeki spektrumları elde edildikten sonra her bir ilaç etken maddesinden alınarak sentetik karışım hazırlanmıştır. Bir sonraki aşamada tablet numunesi analizi yapılmıştır. Kemometrik yöntemlerden, temel bileşen regresyonu yöntemi (PCR) ve kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS), sentetik karışım ve tablet numunesindeki miktar tayininde başarı ile uygulanmıştır. Elde edilen veriler, istatistik olarak incelendiklerinde hem hesaplanan geri kazanım değerleri yüksek hem de standart sapmalar yeterince küçüktür. Ayrıca yöntemin uygunluğu açısından F-testi uygulanmış ve sonuçlar uyumlu bulunmuştur. Uygulanan kemometrik yöntemler yardımıyla elde edilen sonuçlar son derece hızlı, basit ve güvenilir sonuçlardır.

Anahtar Kelimeler: Asetilsalisilik asit, Parasetamol, Kafein, Kemometri

Abstract

In this study, the results of ultraviolet spectrophotometry of paracetamol, acetylsalicylic acid and caffeine active substances in tablet drug sample were evaluated together with chemometric methods. In the experimental study, the synthetic mixtures were prepared by taking each drug from the active ingredient after obtaining the individual pure spectra of the substances. At the next stage, a tablet sample analysis was performed. From the chemometric methods, the principle component regression method (PCR) and the partial least squares method (PLS) have been successfully applied in the quantification of the synthetic mixtures and the tablet sample. When the data obtained are statistically analyzed, both the calculated recovery values are high and the standard deviations are small enough. In addition, F-test was applied in terms of the suitability of the method and the results were found to be compatible. The results obtained with the help of applied chemometric methods are very fast, simple and reliable results.

Keywords: Acetylsalicylic acid, Paracetamol, Caffeine, Chemometry

1. Giriş

Parasetamol, ağrı kesici özelliği olan bir ilaç türüdür. Oral yolla alındığında, gastrointestinal sistemde hızla emilir. İlaç, alındıktan 30-60 dakika aralığında maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır [1,2]. Literatürde üç etken maddenin hem farklı kemometrik hem de diğer analitik yöntemlerle analizleri mevcuttur. Parasetamol, UV Spektroskopisi [3,4,5,6,7] ile, HPLC [7] yöntemi ile, Yakın-infrared spektroskopisi [8] ile tayin edilmiştir. Asetilsalisilik asit, ağrı kesici bir ilaç türü olup aynı zamanda kan seyreltici ve kalp krizine karşı da kullanılır [9]. Asetilsalisilik asit, spektroeletrokimyasal [9], UV-spektroskopi [10], raman spektroskopisi ve kapiler elektroforez [11], ince tabaka kromatografisi [12], yakın-IR spektroskopisi [13] yöntemleri ile incelenmiştir. Kafein, diğer ağrı kesici ilaçlarla birlikte kullanıldığında merkezi sinir sistemini uyarıcı bir ilaç türüdür [14]. Kafein de literatürde farklı yöntemlerle analiz edilmiştir. Bu yöntemler, UV-spektroskopisi [15,16], HPLC yöntemi [17,18,19] ve bu yöntemler birlikte de kullanılabilen sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon yöntemidir [20].

Kemometrik kalibrasyon yöntemleri, kompleks karışımındaki her bir bileşenin miktarını belirlemek için kullanılan en güvenilir yöntemlerden kabul edilir. İki veya daha fazla aktif bileşiği içeren karışımlarda bu aktif bileşiklerin hiçbir ayırma kullanılmaksızın analizi analitik kimyanın temel problemlerinden biridir. Karışım halindeki numunelerin analizi için çeşitli kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı çalışmalarda bazı durumlarda bahsedilen bu yöntemlerin iyi sonuçlar vermediği durumlarda mevcuttur. Ayrıca daha düşük miktarlarda numunelerin analizi için ileri düzeyde analitik cihazlar kullanılmasına rağmen kemometri ile klasik analitik cihazlardan elde edilen verilerin çeşitli matematiksel algoritmalara tabi tutularak yöntemlerin hassasiyeti ve sonuçların doğruluğu arttırılmaya çalışılmaktadır. Böylelikle yapılan işlem diğer analitik yöntemlere göre hem daha ucuz hem daha hızlı hem de doğruluk derecesi yeterli boyutta olmaktadır. İlaç numunelerinin analizinde en çok kabul gören kemometrik yöntemler ise kısmi en küçük kareler yöntemi

(PLS) ve temel bileşen regresyonu (PCR) dir [21,22]. Kemometrik hesaplamalara geçmeden ön basamak olarak temel bileşen analizi (PCA) işlemi yapılmıştır. Böylelikle elde bulunan verilerin miktarı hesaplanabilir boyuta getirilmiştir. Orijinal değişkenler yerine tahmin değişkenlerinin ilk birkaç bileşeni esas alınarak tahmin değişkenlerinin sayısı azaltılmıştır ve yeni temel bileşenler (PC) oluşturulmuştur [23].

Bu çalışmanın temel amacı kemometrik yöntemlerle tablet örneğindeki (Multicold® efervesan tablet) asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafein tayinini istatistiksel olarak gerçekleştirmektir. Önerilen UV spektroskopi tekniğini kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyonu (PCR) ile desteklenerek, uygulanan yöntem, hassasiyet, doğruluk, seçicilik kazandırılmış ve uygulanan kemometrik yöntemlerle başarılı sonuçlar elde edildi. Bu çalışmada, herhangi bir ayırma yöntemi kullanılmadan ticari bir tablet formülasyonunda, asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafeinin eşzamanlı olarak saptanması için kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) ve temel bileşen regresyonu (PCR) başarıyla gerçekleştirildi. Yöntemlerin doğrulanması için ortalama geri kazanımlar (%) ve kemometrik yöntemlerinin standart sapması hesaplandı. Elde edilen sonuçlar birbiri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Sonuçlara varyans analizi uygulanarak, uygulanan yöntemler arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı incelendi [24,25,26]. Elde edilen F değerleri, F tablosundan ($\alpha:0,05$) okunan değerlerle kıyaslandı.

2. Materyal ve Metot

2.1. Cihaz

Ultra Viyole Absorbans ölçümleri için spektrofotometre cihazı olarak UV 1700 Pharmaspec Shimadzu (Shimadzu, Kyoto, Japan) kullanılmıştır.

2.2. Kemometrik program

Cihazdan okunan absorbans değerleri ile konsantrasyon değerleri elimizde lisansı bulunan Minitab 17 [27] paket programı ile kemometrik olarak değerlendirilmiştir.

2.3. Kullanılan kimyasallar

Deney aşamasında kullanılan analitik saflıktaki asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafeinin ve hidroklorik asit Aldrich marka saf

maddelerdir. Bütün maddelerin 100 ppm olacak şekilde 0,1 M HCl ile stok çözeltileri hazırlanmış ve deneyde hazırlanan diğer çözeltiler bu stok çözeltiden hazırlanmıştır.

2.4. Yöntem

Ultra Viyole Spektrofotometrisi yönteminde ilk adıma cihazın kalibrasyonu ile başlanır. Kalibrasyon işlemi aynı zamanda da çözücümüz olan 0,1 M HCl kullanılır. Böylelikle girişim etkileri yok edilir. İkinci adımda, önce ilaç maddelerinin tekli halde spektrum okumaları yapılır. Bu adım sırasında stok maddelerinden derişimleri 5-30 ppm arasında olacak hazırlanır. Diğer adımda, ilaç maddelerinin sentetik karışımları (tablo 2.) hazırlanır ve absorbens değerleri okunur. En son adımda tablet örneği (Multicold® efervesan tablet) için absorbens okuması yapılmıştır. Efervesan tablet numunesi paketinin tamamı, ağız havanda ezildikten sonra homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan toz karışım 0,1 M HCl ile çözeltilisinde çözülmüş ve 100 mL ye tamamlanmıştır. Magnetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırılmış ve 10 mL alınarak absorbens okuması yapılmıştır. Bu işlem 5 kez tekrarlanmıştır.

3. Bulgular

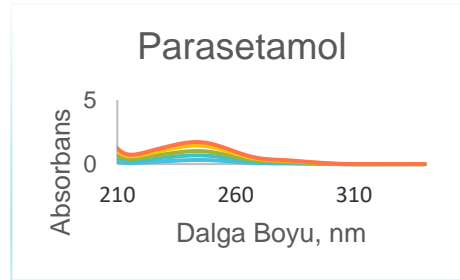
3.1. İlaç maddelerinin spektroskopik özellikleri

Kemometrik kalibrasyonların ilaç maddelerinin analizi için önce her bir ilaç maddesinin saf halde 100 ppm 0,1 M HCl de standart çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra 5-30 ppm aralığında iki maddeden de ayrı ayrı çözeltiler hazırlanmıştır. Bu işlem sonrası absorbensler ölçülerek kaydedilmiştir. Her bir ilaç maddesinin derişimleri ppm olarak hesaplanmış ve absorbens-derişim arasındaki bağıntıdan yararlanılarak molar absorpsiyon katsayıları [28,29] belirlenmiştir.

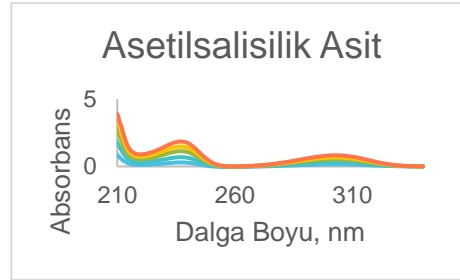
Tablo 1. İlaç maddelerinin spektroskopik özellikleri

İlaç maddesi	Mak. abs. yaptığı dalga boyu	Korelasyon katsayısı
Parasetamol	243,50 nm	0,9997
Asetilsalisilik asit	302,5 nm	1,0000
Kafein	273 nm	0,9989

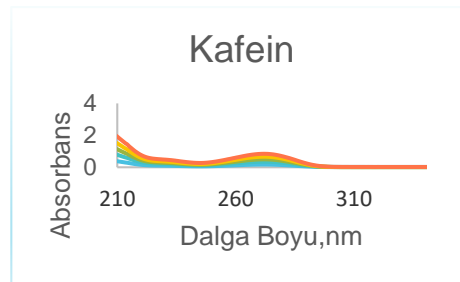
Her bir ilaç maddesinin saf halde yani tekli durumda spektrumları alınır. 5-30 ppm derişim aralıkları, tayin edilecek ilaç maddeleri için doğrusallığın olduğu bölgedir. Bu yargıya absorbens-derişim arasındaki doğrusal ilişkiyi belirleyen korelasyon katsayısı [30] değerleri hesaplanarak varılmıştır. Hesaplanan korelasyon katsayısı değerlerinin 1 değerine yakın olması absorbens ve derişim değerleri arasında doğrusallığın olduğunu gösterir.



Şekil 1. Parasetamol etken maddesinin absorpsiyon spektrumu



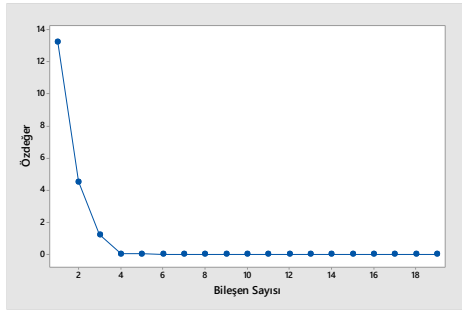
Şekil 2. Asetilsalisilik asit etken maddesinin absorpsiyon spektrumu



Şekil 3. Kafein etken maddesinin absorpsiyon spektrumu

Temel Bileşen Analizi [31] için 5-30 ppm doğrusal çalışma aralığında asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafein içeren çözeltilerin standart serisi stok çözeltilerinden yararlanılarak hazırlanmıştır. Şekil 4. de

kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiğinde görüldüğü gibi özdeğerler 2. değerden 3. değere doğru düşmüştür. İlk iki faktör, toplam varyansın % 99'undan daha fazla güvenilirdir. Bu durum temel bileşen analizinde (PCA) beklenen bir olaydır. İlaç maddelerini içeren 19 adet yapay karışım çözeltilerinden ibaret olan bir konsantrasyon seti hazırlanmıştır. Önce saf maddelerle çalışılarak her bir bileşenin hangi aralıkta spektrum verdiği belirlenmiştir. Ölçümler 200-800 nm arasında yapılmıştır. Daha sonra aralık konsantrasyon seti için ve kullanılacak olan istatistik programı doğrultusunda dalga boyu aralığı 200 nm-330 nm olarak daraltılmıştır. Konsantrasyon seti hazırlanırken saf halde alınan spektrumların absorbanlarıyla ilişkili değerlendirme yapılmıştır.

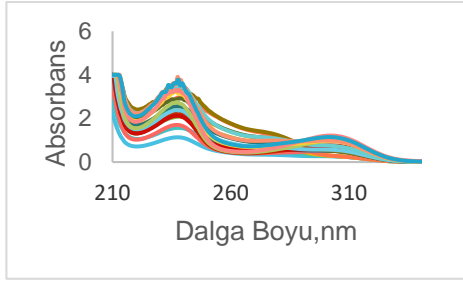


Şekil 4. Kemometrik verilerden elde edilen özdeğerlerin grafiği

Tablo 2. Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve Kafein içeren kalibrasyon seti

NO	Konsantrasyon (ppm)		
	Parasetamol	Asetilsalisilik Asit	Kafein
1	5	7	6
2	10	7	12
3	15	7	18
4	20	7	24
5	25	7	30
6	5	14	6
7	10	14	12
8	15	14	18
9	20	14	24
10	25	14	30
11	5	21	6
12	10	21	12
13	15	21	18
14	20	21	24
15	5	28	6
16	10	28	12
17	15	28	18
18	5	35	6
19	10	35	12

Sentetik karışımlar, asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafeinden oluşur.



Şekil 5. Sentetik karışımın absorpsiyon spektrumu

Kısmi en küçük kareler yönteminde derişimler arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PLS kalibrasyonu kurulmuştur. Asetilsalisilik asit, parasetamol ve kafein içeren karışımların 200 nm- 330 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri okunarak (Şekil 5.) PLS kalibrasyonunda bu ilaç maddelerinin miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir. PCR yöntemi kalibrasyon seti için ölçülen absorpsiyon matrisinin parçalanmasıyla elde edilen temel bileşen regresyonuna dayalı bir yöntemdir. PCR kalibrasyon için hazırlanan kalibrasyon setinin 200 nm- 330 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon değerleri okundu. PCR algoritmasına göre kalibrasyon setinin absorpsiyon ve konsantrasyon değerlerinin varyans-kovaryans matrisleri hesaplandı. Kalibrasyon seti için absorpsiyonların varyans-kovaryans matrisinin dekompozisyon işlemine tabi tutulmasından sonra konsantrasyonlar arasındaki matematiksel ilişkiye dayalı PCR kalibrasyonu kuruldu. İlaç maddelerini içeren karışımların yukarıda belirtilen dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri okunarak PCR kalibrasyonunda bu etken maddelerin miktar tayinleri gerçekleştirildi.

Temel bileşen regresyonu ve kısmi en küçük kareler yöntemlerini analitik olarak değerlendirmek için üç ilaç maddesinden farklı derişimlerde (Tablo 2.) 19 adet yapay karışım çözeltisi hazırlanmıştır. İlaç etken maddelerin yapay sentetik karışımları hazırlanırken veriler simetrik kalibrasyon seti şeklinde hazırlanmıştır. Maddelerden biri sabit konsantrasyonda tutulduğu noktada diğer etken maddeler artırılarak spektrum alınmış ve birbiri yanında etkileşimi incelenmiştir. Kemometrik verilerin

hazırlanmasında merkezileştirme işlemi yapılarak, her bir değerin ortalama etrafında toplanması sağlanmıştır. Hazırlanan bu konsantrasyon seti kullanılarak yapılan PLS VE PCR kalibrasyonlarının geri kazanım (GK) değerleri ve bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır. PLS ve PCR kalibrasyonlarının yönteminin sentetik karışımlar için hesaplanan sonuçlar tablo 3. ve tablo 4. de gösterilmiştir. Sentetik karışımların hazırlanmasında ilave edilen derişimlere karşı hesaplanan derişimler bulunurken cross-validasyonu [32,33] işlemi kullanılmıştır. Böylelikle kalibrasyon işleminde kullanılan çözeltiler, ticari numune işleminde kullanılmayarak hatanın önüne geçilmiştir.

3.2. Kemometrik metotların validasyonu

PLS ve PCR kemometrik metotlarından elde edilen sonuçları değerlendiren karelerin tahmin hatalarının toplamı (prediction error sum of squares-PRESS) ve kalibrasyonun standart hatası (standard error of calibration-SEC) hesaplanır. Hesaplanan PRESS değerleri için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (C_i^{eklenen} - C_i^{bulunan})^2 \quad (1)$$

SEC değerlerinin hesabı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i^{eklenen} - C_i^{bulunan})^2}{n-1}} \quad (2)$$

Tablo 5. deki karelerin tahmin hatalarının toplamı (prediction error sum of squares-PRESS) ve kalibrasyonun standart hatası (standard error of calibration-SEC) değerleri, sıfıra yakındır. Bu da doğruluk düzeyini arttırmaktadır.

Tablo 3. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PLS kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları

Gerçek Konsantrasyon (ppm)			Hesaplanan Konsantrasyon (ppm)			% Geri Kazanım		
Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein	Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein	Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein
7	5	6	6,96	4,89	5,87	99,43	97,80	97,83
7	10	12	6,87	9,99	11,96	98,14	99,90	99,67
7	15	18	6,89	14,96	17,95	98,43	99,73	99,72
7	20	24	6,99	19,89	23,95	99,86	99,45	99,79
7	25	30	6,97	24,95	29,89	99,58	99,80	99,63
14	5	6	13,96	4,96	5,97	99,71	99,20	99,50
14	10	12	13,97	9,96	11,94	99,79	99,60	99,50
14	15	18	13,90	14,97	17,96	99,29	99,80	99,78
14	20	24	13,92	19,98	23,87	99,43	99,90	99,46
14	25	30	13,87	24,98	29,96	99,07	99,92	99,87
21	5	6	20,95	4,98	5,76	99,76	99,60	96,00
21	10	12	20,97	9,99	11,96	99,86	99,90	99,67
21	15	18	20,96	14,96	17,97	99,81	99,73	99,83
21	20	24	20,89	19,97	23,89	99,48	99,85	99,54
28	5	6	27,89	4,86	5,97	99,61	99,20	99,50
28	10	12	27,85	9,95	11,90	99,46	99,50	99,17
28	15	18	28,01	14,96	17,98	100,03	99,73	99,89
35	5	6	35,01	4,74	5,96	100,03	94,80	99,33
35	10	12	34,89	9,95	11,97	99,69	99,50	99,75
						Ortalama :99,50	Ortalama :99,21	Ortalama :99,34
						Standart Sapma:0,49	Standart Sapma:1,29	Standart Sapma:0,93

Tablo 5. PLS ve PCR yöntemleri ile hesaplanan istatistiksel parametreler

PARAMETRE	METOT	PARASETAMOL	ASETİLSALİSİLİK ASİT	KAFEİN
SEC	PLS	0,019	0,023	0,023
	PCR	0,020	0,019	0,024
PRESS	PLS	0,00029	0,0069	0,0077
	PCR	0,0049	0,0056	0,0065

Tablo 4. Sentetik olarak hazırlanan karışımındaki ilaç maddelerinin PCR kalibrasyonu ile hesaplanan sonuçları

Gerçek Konsantrasyon (ppm)			Hesaplanan Konsantrasyon (ppm)			% Geri Kazanım		
Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein	Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein	Asetilsalisilik Asit	Parasetamol	Kafein
7	5	6	6,85	4,96	5,94	97,86	99,20	99,00
7	10	12	6,86	9,87	11,95	98,00	98,70	99,58
7	15	18	6,95	14,88	17,94	99,29	99,20	99,67
7	20	24	6,90	19,89	23,86	98,57	99,45	99,42
7	25	30	6,98	24,96	29,95	99,71	99,84	99,83
14	5	6	13,95	4,96	5,98	99,64	99,20	99,67
14	10	12	14,01	9,92	11,95	100,07	99,20	99,58
14	15	18	13,89	14,99	17,89	99,21	99,93	99,39
14	20	24	13,94	19,97	23,89	99,57	99,85	99,54
14	25	30	13,98	24,95	29,97	99,86	99,80	99,90
21	5	6	20,99	4,99	5,89	99,95	99,80	98,17
21	10	12	20,98	9,97	11,92	99,90	99,70	99,33
21	15	18	21,01	14,95	17,89	100,05	99,67	99,39
21	20	24	20,95	19,98	24,01	99,76	99,90	100,04
28	5	6	27,98	4,95	5,90	99,93	99,00	98,33
28	10	12	28,01	9,89	11,94	100,04	98,90	99,50
28	15	18	28,00	14,95	17,89	100,00	99,67	99,39
35	5	6	34,87	4,89	5,92	99,63	97,80	98,67
35	10	12	34,89	9,96	11,99	99,69	99,60	99,92
						Ortalama :99,51	Ortalama :99,39	Ortalama :99,39
						Standart Sapma:0,67	Standart Sapma:1,53	Standart Sapma:0,51

3.3. Kemometrik metotların ANOVA test sonuçlarının değerlendirilmesi

Parasetamol, asetilsalisilik asit ve kafein için gerçek ve hesaplanan değerler PCR ve PLS yöntemleri ile karşılaştırıldı ve yöntemlerin ne derece uygun olduğunu kıyaslamak amacıyla varyans analizi (ANOVA) testi yapılmıştır. ANOVA testinde elde edilen verilerden hesaplanan F değeri ile, teorik olarak hesaplanan F değeri kıyaslanmıştır. Hesaplanan F değerlerinin, teorik F değerlerinden küçük, pearson korelasyon katsayısı olarak bilinen değer 0,05 değerine eşit veya büyük olması koşulu sonuçlarla desteklenmiştir.

Kısmi en küçük kareler yöntemi (PLS) için sırasıyla gruplar arası ve grup içi serbestlik dereceleri sırasıyla 1 ve 36 ise % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,11 olmasına karşılık parasetamol için hesaplanan F-test değeri 0,00071 ve p-değeri 0,98;

asetilsalisilik asit için için hesaplanan F-test değeri 0,00049 ve p-değeri 0,98; kafein için hesaplanan F-test değeri 0,00070 ve p-değeri 0,98 ve temel bileşen regresyonu (PCR) için gruplar arası ve grup içi serbestlik dereceleri sırasıyla 1 ve 36 ise % 95 güven aralığında F-tablo değeri 4,11 olmasına karşılık parasetamol için hesaplanan F-test değeri 0,00073 ve p-değeri 0,98; asetilsalisilik asit için için hesaplanan F-test değeri 0,00030 ve p-değeri 0,98; kafein için hesaplanan F-test değeri 0,00071 ve p-değeri 0,98 olarak hesaplanmıştır. Her iki yöntemde de hesaplanan F değerleri, F-tablo değerlerinden küçük, pearson korelasyon katsayısı değerleri ise 0,05 değerinden büyüktür. Bu değerler bize PLS ve PCR yöntemlerinin numune analizinde kullanılmasının uygun olduğunu göstermiştir.

Tablo 6. İlaç numunesindeki sonuçlar

NO	PARASETAMOL (gram)		ASETİLSALİSİLİK ASİT (gram)		KAFEİN (gram)	
	PLS	PCR	PLS	PCR	PLS	PCR
1	0,195	0,198	0,249	0,250	0,045	0,050
2	0,197	0,195	0,247	0,246	0,048	0,049
3	0,200	0,189	0,250	0,248	0,047	0,048
4	0,194	0,197	0,243	0,249	0,050	0,047
5	0,190	0,192	0,244	0,245	0,049	0,043
Ortalama	0,195	0,192	0,247	0,248	0,048	0,0474
Standart Sapma	0,0037	0,0037	0,0031	0,0021	0,0019	0,0027

4. Tartışma ve Sonuç

Üç farklı etken madde içeren numunedeki ilaç aktif maddelerini analiz etmeye yönelik çalışmada Ultra-Viyole Spektroskopisi verileri kemometri yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve Kafein ilaç etken maddelerinin UV spektrumları alınarak, çalışma yapılabilecek saflıkta olduğu belirlenmiş ve analiz çalışmaları gerçekleştirilmiştir. **Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve Kafein** için, UV geliştirilerek, yöntem istatistiksel olarak desteklenmiştir. Yönteminin standart eğrilerinin regresyon analizi yapılarak sonuçlar istatistik hesaplanmıştır.

Kemometrik programdan elde edilen veriler değerlendirilirken F testi göz önüne alınmıştır. Efervesan tablet numunesine geçmeden önce yapılan deneysel tasarım esnasında hazırlanan sentetik modelde de sonuçlar kıyaslanmıştır. Sentetik modele ilave ettiğimiz madde miktarları ile kemometrik programdan elde ettiğimiz deneysel sonuçlar kıyaslanmıştır. Grup içi ve gruplar arası serbestlik dereceleri yardımıyla F testi yapılmıştır. F testi sonucuna göre kullandığımız modeli ilaç numunesi karışımına uygulayıp uygulayamayacağımıza karar verilmiştir. $F_H < F_T$ olduğunda model uygulanmıştır.

Yöntemimizde **Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve Kafein** için % geri kazanım değerleri ortalama olarak gerek sentetik karışım için bulunmuştur. Her bir yöntem içinde geri kazanımlar yüksek değerlerde bulunmuştur.

Kullanılan yöntemlerin tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, yüksek duyarlılık ve doğruluğun yanı sıra hızlı oluşu ve ilaç karışımlarının analizi için önerilecek yöntem olmalarını sağlamaktadır. Geliştirilen yöntemler, tekrarlanabilir, duyarlı ve doğru sonuç veren yöntemler olup **Parasetamol, Asetilsalisilik asit ve Kafein** içeren farklı ilaç numunelerinin analizinde önerilebilir.

Kaynakça

- [1] Issa, Y.M., Zayed, S.I.M., Habib, I.H.I. 2011. Simultaneous determination of ibuprofen and paracetamol using derivatives of the ratio spectra method, *Arabian Journal Of Chemistry*, 4(3), s. 259-263.
- [2] Khoshayand, M.R., Abdollahi, H., Shariatpanahi, M., Saadatfard, A., Mohammadi, A. 2008. Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by

chemometric methods, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 70(3), s. 491-499,

[3] Dinç, E. 2003. Linear regression analysis and its application to the multivariate spectral calibrations for the multiresolution of a ternary mixture of caffeine, paracetamol and metamizol in tablets, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 33, s. 605-615.

[4] Glavanovic, S., Glavanovic, M., Tomisic V. 2016. Simultaneous quantitative determination of paracetamol and tramadol in tablet formulation using UV spectrophotometry and chemometric methods, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 157, s. 258-264.

[5] Hajian R., Afshari N. 2012. The spectrophotometric multicomponent analysis of a ternary mixture of ibuprofen, caffeine and paracetamol by the combination of double divisor-ratio spectra derivative and H-point standard addition method, *E-journal of chemistry*, 9(3), s. 1153-1164.

[6] Saraan S.M.D., Sinaga S.M., Muchlisyam 2015. Development method for the determination of ternary mixture of paracetamol, ibuprofen and caffeine in tablet dosage form using zero-crossing derivative spectrophotometric, *International journal of pharmtach research*, 7(2), 349-353, s. 2014-2015.

[7] Wedian F. 2016. Bivariate analysis for the determination of paracetamol and caffeine in drug formulations, *Jordan journal of chemistry*, 11(4), s. 217-225.

[8] Muntean D.M., Alecu C., Tomuta I. 2017. Simultaneous quantification of paracetamol and caffeine in powder blends for tableting by NIR-Chemometry, *Journal of spectroscopy*, s. 1-8.

[9] Prado T.M., Cincotto F.H., Machado S.A.S. 2017. Spectroelectrochemical study of acetylsalicylic acid in neutral medium and its quantification in clinical and environmental samples, *Electrochimica Acta*, 233, s. 105-112.

[10] Shervani Z., Ikushima Y. 2001. Hydrolysis of acetylsalicylic acid in AOT/near-critical propane microemulsion: A model hydrolysis reaction in high pressure microemulsion as investigated by in situ UV-vis spectroscopy, *The American Chemical Society*, 222, U332.

[11] Neuberger S., Jooss K., Flottmann D. 2017. Raman spectroscopy and capillary zone electrophoresis for the analysis of degradation processes in commercial effervescent tablets containing acetylsalicylic acid and ascorbic acid, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 134, s. 122-129.

[12] Panahi H.A., Rahimi A., Moniri E., Izadi A., Parvin M.M. 2010. HPTLC separation and quantitative analysis of aspirin, salicylic acid and sulfosalicylic acid, *Journal of planar chromatography-modern TLC*, 23(2), s. 137-140.

[13] Novikova A., Carstensen J.M., Rades T., Leopold C.S. 2017. UV imaging of multiple unit pellet system (MUPS) tablets: a case study of acetylsalicylic acid stability, *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 119, s. 447-453.

- [14] Souri E., Nasab S.A.M., Amanlou M., Tehrani M.B. 2015. Development and validation of a rapid derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of acetaminophen, ibuprofen and caffeine, *Journal of analytical chemistry*, 70(3), s. 333-338.
- [15] Aktaş A.H., Pekcan H. 2013. Chemometric methods for the simultaneous spectrophotometric determination of caffeine, theobromine and theophylline in tea, *Asian journal of chemistry*, 25(15), s. 8333-8338.
- [16] Dinç E., Baleanu D., Onur F. 2001. Spectrophotometric multicomponent analysis of a mixture of metamizol, acetaminophen and caffeine in pharmaceutical formulations by two chemometric techniques, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 26, s. 949-957.
- [17] Pereira V.P., Knor F.J., Velloso J.C.R., Beltrame F.L. 2014. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Theaceae*, *Campinas*, 16(3), s. 490-498.
- [18] Srdjenovic B., Djordjevic-Milic V., Grujic N., Injac R., Lepojevic Z. 2008. *Journal of chromatographic science*, 46, s. 144-149.
- [19] Shehata A.B., Rizk M.S., Rend E.A. 2016, *Journal of food and drug analysis*, 24, s. 703-715.
- [20] Frizzarin R.M., Maya F., Estela J.M., Cerda V. 2016. Fully-automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of caffeine in coffee beverages, *Food chemistry*, 212, s. 759-767.
- [21] Dinç E., Baleanu D. 2002. Spectrophotometric quantitative determination of cilazapril and hydrochlorothiazide in tablets by chemometric methods, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 30, s. 715-723.
- [22] Dinç E., Özdemir A., Baleanu D. 2005. Comparative study of the continuous wavelet transform, derivative and partial least squares methods applied to the overlapping spectra for the simultaneous quantitative resolution of ascorbic acid and acetylsalicylic acid in effervescent tablets, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 37(3), s. 569-575.
- [23] Uyanık A. 2008. *Analitik Kimyaçılar için İstatistik ve Kemometri*, 5. Baskı, s. 254-259.
- [24] Dinç, E. 2009. *Kemometrik İşlem ve Yöntemlerin Analitik Kimyadaki Tipik Uygulamaları*, *Kemometri Yaz Okulu Notları*, s. 13-17.
- [25] Kaba, A., Aktaş A.H. 2014. Çeşitli Ligandları Kullanarak Fe^{3+} , Al^{3+} ve Cu^{2+} nin Bir Arada Spektrofotometrik Tayinleri İçin Yöntem Geliştirilmesi ve Elde Edilen Verilerin En Küçük Kareler Kalibrasyon Yöntemi (PLS) ve Temel Bileşen Regresyon (PCR) Yöntemi ile Değerlendirilmesi, *SAUFBE*, Cilt 18, Sayı 1, s. 71-79.
- [26] Aktaş AH, Mutlutürk B. 2014. Demir ve Alüminyumun Doğal Sularda UV Spektrofotometrik Tayini için Yöntem Geliştirilmesi ve Elde Edilen Verilerin Kemometrik Kalibrasyon Yöntemleriyle Değerlendirilmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 18(3), s.52-59.
- [27] Minitab 17 Statistical Programme: <http://www.inovadanismanlik.com.tr> (30.11.2017)
- [28] Ershov, B.G., Panich, N.M. 2018. Chemical and Spectral Behavior of Nitric Acid in Aqueous Sulfuric Acid Solutions: Absorption Spectrum and Molar Absorption Coefficient of Nitronium Ion, *Spectrochimica Acta Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, vol.188, s. 179-182.
- [29] Eissler, S., Kley, M., Bachle, D., Loidl, G., Meier, T., Samson, D. 2017. Substitution Determination of Fmoc-Substituted Resins at Different Wavelengths, *Journal of Peptide Science*, vol.23, s. 757-762.
- [30] Miao, J., Forget, B., Smith, K. 2018. Predicting Correlation Coefficients for Monte Carlo Eigenvalue Simulations With Multitype Branching Process, *Annals of Nuclear Energy*, vol.112, s. 307-321.
- [31] Saganowska, P., Wesolowski, M. 2017. Principal Component and Cluster Analyses as Supporting Tools for Co-Crystals Detection", *J.Therm.Anal.Calorim.*, vol.130, s. 45-55.
- [32] Porfire, A., Muntean, D., Achim, M., Vlase, L., Tomuta, I. 2015. Simultaneous Quantification of Simvastatin and Excipients in Liposomes Using Near Spectroscopy and Chemometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol.107, s. 40-49.
- [33] Tarhan, I., Kara, A.A.I.H. 2017. Quantitative Determination of Free Fatty Acids in Extra Virgin Olive Oils by Multivariate Methods and Fourier Transform Infrared Spectroscopy Considering Different Absorption Modes, *International Journal of Food Properties*, s. 1-8.