

**ASENAPİN İN FARMASÖTİK TABLETLERDEKİ TAYİNİ İÇİN  
KEMOMETRİK OLARAK OPTİMİZE EDİLMİŞ YENİ BİR KAPİLER  
ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

**SONA ALİYEVA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Eskişehir 2020**

**ASENAPİN İN FARMASÖTİK TABLETLERDEKİ TAYİNİ İÇİN  
KEMOMETRİK OLARAK OPTİMİZE EDİLMİŞ YENİ BİR KAPİLER  
ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

**Sona ALIYEVA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Analitik Kimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Duygu YENİCELİ UĞUR**

**(İkinci Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Arın GÜL DAL POÇAN)**

**Eskişehir**

**Anadolu Üniversitesi**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**2020**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Sona ALİYEVA'nın "Asenapin'in Farmasötik Tabletlerdeki Tayini İçin Kemometrik Olarak Optimize Edilmiş Yeni Bir Kapiler Elektroforez Yöntemi Geliştirilmesi" başlıklı tezi \_/\_/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Analitik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<b>Unvanı Adı Soyadı</b>	<b>İmza</b>
Üye (Tez Danışmanı)	: _____	.....
Üye	: _____	.....
Üye	: _____	.....

.....

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

# ASENAPİN'İN FARMASÖTİK TABLETLERDEKİ TAYİNİ İÇİN KEMOMETRİK OLARAK OPTİMİZE EDİLMİŞ YENİ BİR KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

Sona ALİYEVA

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, ...2020

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Duygu YENİCELİ UĞUR

(İkinci Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Arın GÜL DAL POÇAN)

Asenapin, şizofreni ve bipolar bozukluk hastalıklarında monoterapi ve yardımcı tedavi olarak onaylanmış antipsikotik bir ilaçtır.

Bu çalışmada farmasötik preparatlarda asenapin'in belirlenmesi için yeni bir kapiler elektroforez yöntemi geliştirilmiştir. Optimizasyon çalışmalarını kolaylaştırmak amaçlı deneysel bir tasarım yöntemi olan Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Çalışmalar sırasında 75 µm iç çapı olan 40 cm efektif uzunluğa (48 cm toplam uzunluk) sahip kapiler kullanılmıştır. Optimizasyon çalışmalarında çalışma tamponu pH'ı, çalışma tamponu derişimi ve uygulanan potansiyelin asenapin ve granisetron'un (IS) ayrılması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Optimum koşullar, 25,7 kV voltaj, 20°C kapiler sıcaklığı ve çalışma tamponu olarak fosfat tamponu (15 mM, pH: 3,1) belirlenmiştir.

Yöntem ICH kılavuzuna göre valide edilmiştir. 0,27-6,4 µg/mL derişim aralığında iyi bir doğrusallık elde edilmiştir. Saptama sınırı ve tayin sınırı değerleri sırasıyla 0,07 ve 0,24 µg/mL olarak bulunmuştur. Yöntemin gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk çalışmaları için geri kazanım %97,8-100,8 aralığında ve %BSS'nin 2'den az olması tatmin edici bulunmuştur. Önerilen yöntem asenapin tabletlerine uygulanan ilk kapiler elektroforez yöntemidir.

**Anahtar Sözcükler:** Asenapin, Kapiler elektroforez, Deneysel tasarım, Tablet analizi.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT OF CHEMOMETRICALLY OPTIMIZED CAPILLARY ELECTROPHORESIS METHOD FOR THE DETERMINATION OF ASENAPINE IN PHARMACEUTICAL TABLETS

Sona ALIYEVA

Department of Analytical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, ...2020

Supervisor: Prof. Duygu YENİCELİ UĞUR

(Co-Supervisor: Assist. Prof. Arın GÜL DAL POÇAN)

Asenapine is an antipsychotic drug approved as monotherapy and adjunctive therapy in schizophrenia and bipolar disorder diseases.

A new capillary electrophoresis method was presented for the determination of asenapine, an atypical antipsychotic drug, in pharmaceuticals. During the studies, capillary with an inner diameter of 75  $\mu\text{m}$  and an effective length of 40 cm (48 cm total length) was used. Box-Behnken design, an experimental design method, was used to investigate the effects of run buffer pH, run buffer concentration and applied potential on the separation of asenapine and granisetron (IS). The optimum conditions were phosphate buffer (15 mM, pH:3,1) with 25,7 kV voltage and 20°C capillary temperature. The method was validated according to ICH guideline. A good linearity was obtained in the concentration range of 0,27-6,4  $\mu\text{g/mL}$  with LOD and LOQ values of 0,07 and 0,24  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The precision and accuracy of the method were satisfying with intra and interday recovery values of 97,8-100,8% and RSD less than 2%. The proposed CE method was applied to asenapine tablets successfully, for the first time.

**Keywords:** Asenapine; Capillary electrophoresis; Determination; Experimental design; Tablet analysis.

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

## TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca sabır ve ilgiyle bana yardımcı olan, her zaman bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocam Duygu YENİCELİ UğUR`a,

Her zaman benden yardım ve desteğini eksik etmeyen sevgili hocam Arın GÜL DAL POÇAN`a,

Her sorunumda bana yardım eden, bana çok Şey öğreten sevgili hocam Sakine ATİLLA KARACA`ya,

Analitik Kimya Anabilim Dalı`nın değerli hocalarına,

Ve her zaman benim destekleyicim olan sevgili aileme teőekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	xiii
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	1
2.1. Asenapinin Kimyasal Özellikleri.....	2
2.2. Farmakodinamik Özellikleri.....	2
2.3. Farmakokinetik Özellikleri.....	3
2.4. Farmakolojik Özellikleri.....	4
2.4.1. Bipolar bozukluk.....	4
2.4.2. Şizofreni.....	4
2.4.3. Antipsikotik tedavi yöntemi.....	6
2.5. Diğer ASE Çalışmaları.....	6
2.6. Kapiler Elektroforez.....	13
2.6.1. Kapiler elektroforez sistemi.....	15
2.6.2. Zon elektroforezi.....	15
3. GEREÇLER.....	16

3.1. Kimyasal Maddeler.....	16
3.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	17
4. YÖNTEMLER.....	18
4.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	18
4.2. Cihaz Koşulları.....	18
4.3. Çalışma Tamponu.....	18
4.4. Tablet Numune Çözeltisinin Hazırlanması.....	19
4.5. Yöntemin Validasyonu.....	19
4.5.1. Doğrusallık.....	19
4.5.2. Kesinlik.....	19
4.5.3. Tablet ekstraktında doğruluk.....	19
4.5.4. Özgünlük.....	20
4.5.5. Stabilite.....	20
4.5.6. Sağlamlık.....	20
4.6. Tabletlerde Miktar Tayini.....	20
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
5.1. Yöntem Optimizasyonu.....	21
5.2. Yöntem Validasyonu.....	26
5.2.1. Doğrusallık.....	26
5.2.2. Kesinlik ve doğruluk.....	27
5.2.3 Tablet ekstraktında doğruluk.....	28
5.2.4. Özgünlük.....	28
5.2.5. Stabilite.....	28
5.2.6. Sağlamlık.....	29
5.3. Tablet Analizi.....	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKÇA.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. ASE molekülü.....	2
Şekil 2.2. Kapiler elektroforezde elektroosmotik akış şeması.....	14
Şekil 2.3. Kapiler elektroforez sistemi. (Baker, 1995).....	15
Şekil 5.1. Deneysel tasarımda çevre ve yüzey grafikleri.....	25
Şekil 5.2. ASE ve GRA'nın elektroferogramı.....	30



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.1. ASE tayini için geliştirilmiş yöntemlerin karşılaştırılması.....	12
Çizelge 5.1. Faktörler ve seviyeler.....	21
Çizelge 5.2. Deneysel tasarım modelinin planı ve bulunan sonuçlar.....	21
Çizelge 5.3. Katsayılar ve sonuçlar.....	23
Çizelge 5.4. Optimizasyondaki her bir yanıt için alt, üst ve hedef değerler.....	24
Çizelge 5.5. İsteklilik fonksiyonları.....	24
Çizelge 5.6. Sistem uygunluk testi sonuçları (1,68 µg/mL, n=3).....	26
Çizelge 5.7. Doğrusallık sonuçları.....	27
Çizelge 5.8. Kesinlik ve doğruluk sonuçları.....	27
Çizelge 5.9. Özgünlük çalışmasının sonuçları (n=3).....	28
Çizelge 5.10. Stabilite çalışmasının sonuçları (n=3).....	29
Çizelge 5.11. Sağlamlık sonuçları (1,68 µg/mL, n=3).....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	: Seçicilik Faktörü
As	: Asimetri Faktörü
ASE	: Asenapin
ASG	: Asenapin-N <sup>+</sup> -Glukuronid
BSS	: Bağıl Standart Sapma
C <sub>max</sub>	: Maksimum İlaç Derişimi
D	: Genel İsteklilik Fonksiyonu
d <sub>Alan<sub>ASE</sub></sub>	: ASE`nin Alanı İçin Bireysel İsteklilik Fonksiyonu
d <sub>t<sub>ASE</sub></sub>	: ASE`nin Alıkonma Zamanı İçin Bireysel İsteklilik Fonksiyonu
d <sub>Akim</sub>	: Akım İçin Bireysel İsteklilik Fonksiyonu
dk.	: Dakika
d <sub>R</sub>	: Rezolüsyon İçin Bireysel İsteklilik Fonksiyonu
DMA	: N-desmetilasenapin
GK/KS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
GRA	: Granisetron
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
ICH	: Uluslararası Uyumlandırma Konferansı
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
k`	: Kapasite Faktörü
KS	: Kütle Spektrometrisi
Li	: En Küçük Değer

MeOH	: Metanol
MRM	: Çoklu Reaksiyon İzleme Modu
MTBE	: Metil Üçlü Butil Eter
N	: Teorik Tabaka Sayısı
n.....	: Deney Sayı
OSA	: 11-O-sülfatasenapin
Rs	: Rezolüsyon
s ve t	: Ağırlık Faktörleri
SD	: Siklodekstrin
SK	: Sıvı Kromatografisi
SK-KS/KS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi
SZ	: Siklobenzaprin HCl
T	: Kuyruklanma Faktörü
t <sub>ASE</sub>	: ASE'nin Alıkonma Zamanı,
t <sub>ASE</sub>	: ASE'nin Alıkonma Zamanı
TF-YPSK	: Ters Fazlı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Ti	: Hedef Değer
TQMS	: Üçlü Dört Kutuplu Kütle Spektrometrisi
Ui	: En Büyük Değer
USP	: Amerikan Farmakopesi (The United States Pharmacopeia)
UV	: Morötesi (Ultraviyole)
YPİTK	: Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi

YPSK

: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi



## 1. GİRİŞ

Asenapin (ASE), şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik bir ilaçtır. Aynı zamanda bipolar bozukluğun manik ve karışık ataklarının tedavisinde de etkilidir. ASE, 2009'dan beri ABD'de dilaltı tablet formunda ticari olarak satılmaktadır (Citrome, 2014). Şizofreni, işitsel halüsinasyonlar, sanrılar, dağınık düşünceler, motivasyon eksikliği, sosyal geri çekilme ve hafıza bozuklukları ile karakterize edilen bir zihinsel bozukluktur (Volk ve Lewis, 2015). Aynı zamanda bipolar bozukluk da manik-depresif bir hastalık olarak ruh hali, enerji, uyku ve davranış bozuklukları ile karakterize edilir (Rosenberg ve Pascual, 2014).

ASE'nin miktar tayini için sıvı kromatografisi (SK) (Kovatsi vd., 2015; Protti vd., 2018), sıvı kromatografisi- kütle spektrometrisi (SK/KS) (de Boer vd., 2012a; Protti vd., 2018; Reddy, Venugopal ve Madhavi, 2013; Patteet vd., 2014; Sempio vd., 2014; Sistik vd., 2016; N. Patel, 2018) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GK/KS) (Miller vd., 2013) yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca, spektrofotometri (Borkar ve Gaikwad, 2016), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) (Chhalotiya vd., 2012; Aneesh ve Rajasekaran, 2012; Govindarajan vd., 2012; Managuli vd., 2016; Karaca ve Uğur, 2017) ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (YPİTK) (R. Patel, Naregalkar ve M. Patel, 2015; Ramadan vd., 2017) yöntemleri ile farmasötik preparatlarda ASE tayininin yapıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (Çizelge 2.1).

Kapiler elektroforez diğer yöntemlere göre düşük çözücü tüketimi, hızlı analiz süresi, yüksek verimlilik ve seçicilik gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Aynı zamanda çok çeşitli numune türlerinin yüksek çözünürlüklü ayrımları kapiler elektroforez ile mümkün olmaktadır. Polar iyonik, polar noniyonik ve polar olmayan noniyonik bileşiklerin yanı sıra yüksek molekül ağırlığına sahip biyomoleküllerin ve kiral bileşiklerin analizi için de kullanılabilir (Baker, 1995).

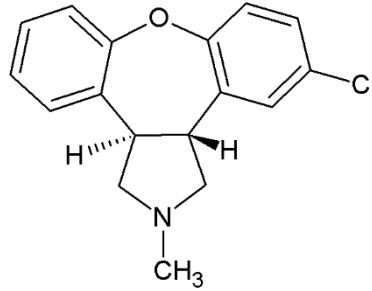
DeneySEL tasarım yaklaşımı, güvenilir ve geçerli veri, çaba, zaman, kaynak tasarrufu ve daha az sayıda deney gibi avantajları nedeniyle geleneksel optimizasyon sürecinin yerini almıştır (Hibbert, 2012). Mevcut çalışmanın amacı, ilk kez deneySEL tasarım yöntemini kullanarak ilaçlarda ASE'nin tayini için yeni, hızlı ve basit bir kapiler elektroforez yöntemi geliştirmektir. Yöntemin validasyonu ilgili ICH kılavuzuna (2005) göre tam olarak yapılmıştır.

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. Asenapinin Kimyasal Özellikleri

ASE maleat, ampirik bir  $C_{17}H_{16}ClNO \cdot C_4H_4O_4$  formülüne ve 401,84g/mol molekül ağırlığına sahip küçük, sentetik moleküler yapıya sahip bir ilaç etken maddesidir (Şekil 2.1).

Kimyasal adı (3aRS, 12bRS) -5-Kloro-2-metil-2,3,3a, 12b-tetrahidro-1H-dibenzo [2,3: 6,7] oksepino [4,5-c] pirol (2Z) - 2-butendioat (1:1) olan , yaklaşık 139,9°C'de eriyen beyaz veya kirli beyaz bir tozdur (http-1).



Şekil 2.1. ASE molekülü

Suda (3,7 mg/mL) hafifçe çözünür, 4,6 pH gösterir ve metanol, etanol ve asetonda serbestçe çözünür. Protonlanmış bazın pKa'sı 8,6'dır. Molekülün iki kiral merkezi vardır, ancak rasemat olarak geliştirilmektedir (http-1).

### 2.2. Farmakodinamik Özellikleri

ASE'nin çok potansiyelli doğası, çoklu dopaminerjik ( $D_2$ ,  $D_3$  ve  $D_4$ ), serotonerjik ( $5HT_{2A}$ ,  $5HT_{2B}$ ,  $5HT_{2C}$ ,  $5HT_6$  ve  $5HT_7$ ) ve adrenerjik ( $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  ve  $\alpha_{2C}$ ) reseptörlerine olan afinitesinden kaynaklanmaktadır. Bu atipik antipsikotik maddenin antimanik aktivitesi,  $D_2$  dopamin reseptörlerine yüksek afinitesi ile ilişkilidir, diğer antipsikotiklerde gözlenenenden daha yüksektir. 40 haftaya kadar takip edilen klinik çalışmalarda değerlendirilen monoterapideki klinik etkinliğe ek olarak, lityum veya sodyum valproat tedavisine yardımcı olarak ASE'nin kullanımından olumlu sonuçlar da bildirilmiştir (Vieta vd., 2018).

Atipik antipsikotiklerin serotonerjik reseptörlere tamamlayıcı afinitesinin olması karışık semptomları olan hastalarda daha fazla etkinliğe neden olabilir. ASE ise özellikle çoklu reseptör profili, sinirlilik, öfori (asabilik hali) ve uyku ile ilgili semptomlar da dahil

olmak üzere tüm Genç Mani Derecelendirme Ölçeği (manik semptomları değerlendirmek için en sık kullanılan derecelendirme ölçeklerinden biridir) semptomlarının iyileşmesinde etkilidir. Ayrıca, mirtazapin gibi antidepresanlara benzer olarak 5HT<sub>2A</sub> ve 5HT<sub>2C</sub> reseptörlerine yüksek afiniteye sahiptir (Vieta vd., 2018).

ASE, diğer atipik antipsikotiklerinkinden oldukça farklı bir farmakodinamik profile, belirli serotonerjik reseptörlere yüksek afiniteye, karışık semptomları olan hastalar için çok uygun bir farmakolojik profile sahiptir. ASE, bu nedenle, özellikle klinik bozukluğu, disfori veya depresyon belirtileri ve manik atakları olan hastalar için uygundur. ASE'nin diğer antipsikotiklere kıyasla kilo alımı ve metabolik sendrom insidansı üzerindeki düşük etkisini vurgulamak da önemlidir. Bu olumsuz etkilerin düşük insidansı, özellikle genç hastalar ve diğer antipsikotiklerle tedaviden sonra kilo alan hastalar için dikkate alınmalıdır (Vieta vd., 2018).

### 2.3. Farmakokinetik Özellikleri

ASE bipolar bozukluk ve şizofreni tedavisinde kullanılmaktadır. ASE dilaltı tableti olarak mevcuttur. Bu dilaltı ürün, mukozal zarlarda hızlı bölünmesi nedeniyle emilim oranı daha hızlı olmasına rağmen, 5 mg doz için sadece %35 biyoyararlanıma sahiptir. ASE, 0,5-1,5 saat içinde dilaltı yoldan tek bir dozun uygulanmasından sonra 4 ng/mL'lik maksimum ilaç derişimi (C<sub>max</sub>) göstermektedir (Kulkarni ve Avachat, 2017). Yetişkinlerde tahmini terminal yarılanma ömrü (t<sub>1/2</sub>) yaklaşık 24 saattir. ASE hızlı dağılır, geniş bir dağılım hacmine sahiptir ve plazma proteinlerine yüksek oranda (%95) bağlanır. ASE ve metabolitlerinin atılımı hepatik ve renal yollarla yaklaşık olarak eşit olarak gerçekleşmektedir (Wójcikowski vd., 2020).

Farmakolojik profili nedeniyle, ASE sadece dopaminerjik reseptörleri etkileyerek pozitif (psikotik) semptomlara karşı etkili olmakla kalmaz, aynı zamanda şizofreninin ruh hali ve idrak bozukluğu gibi negatif semptomlarına karşı etkilidir (5-HT<sub>1A</sub>, HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, ve 5-HT<sub>7</sub> yoluyla) ve aynı anda ekstrapiramidal semptomlara karşı da koruma (5-HT<sub>2A</sub> yoluyla) sağlamaktadır. ASE'nin 38 farklı metaboliti bulunur, bunların hiçbirisi reseptörlerde önemli bir fonksiyonel faaliyete sahip değildir. ASE, N-desmetilasenapin, 11-hidroksi-asenapin, asenapin N-oksit ve asenapin-N<sup>+</sup>-glukuronid (ASG) olan dört ana metaboliti dolaşımda bulunmaktadır. ASG hariç, birincil metabolitlerin hepsi daha da yoğun bir şekilde metabolize edilir (Wójcikowski vd., 2020).

## **2.4. Farmakolojik Özellikleri**

### **2.4.1. Bipolar bozukluk**

Manik-depresif hastalık olarak da bilinen bipolar bozukluk, yetişkin nüfusun yaklaşık %1-2'sini etkilemektedir. Bipolar bozukluk, ruh hali, enerji ve davranış bozuklukları ile karakterize edilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, bipolar bozukluğun çevresel ve genetik faktörlerin karmaşık bir karışımından kaynaklandığını, ancak bipolar bozukluğun altında yatan spesifik biyolojik mekanizmalar hakkında çok az şey bilindiğini göstermiştir (Rosenberg ve Pascual, 2014). Bipolar bozukluk, oldukça sık görülen bir zihinsel bozukluktur. Bununla birlikte, kronik obstrüktif akciğer hastalığı veya diabetes mellitus gibi diğer hastalıklarla karşılaştırıldığında, bipolar bozuklukdaki altta yatan biyolojik etki mekanizmaları hakkında pek bilgi yoktur. Bu esas olarak etkilenen organ olan beynin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır (Zigmond, Rowland ve Coyle, 2015).

Bipolar bozukluk hastalarının akrabaları, sadece bipolar bozukluk değil, aynı zamanda şizoafektif bozukluk, alkol veya diğer uyuşturucu bağımlılığından ve diğer psikiyatrik bozukluklardan da etkilenme riski önemli ölçüde yüksektir. İsveç'te yapılan büyük bir çalışma bipolar bozukluk için %59 kalıtsallık gösterilmiş (şizofreni için %64), geri kalan kısım ise çevresel faktörlerden kaynaklandığı bulunmuştur. Ek olarak, bipolar hastaların akrabalarında şizofreni gelişme riski iki ile dört kat fazladır. Genetik ve epigenetik faktörler birlikte sinyal iletimi ve hücre içi sinyal iletimi, mani veya depresyon gibi kısa süreli davranış bozukluklarına sebep olabilmektedir. Bu değişiklikler vücudun endokrin düzenleyici sistemleri ile her iki yönde etkileşime girer. Çevresel faktörler de genetik faktörler gibi bipolar bozuklukdaki değişikliklere katkıda bulunmaktadır (Zigmond, Rowland ve Coyle, 2015).

### **2.4.2. Şizofreni**

Şizofreni kronik, şiddetli bir psikiyatrik hastalıktır: 1) sanrılar ve halüsinasyonlar gibi pozitif (veya psikotik) semptomlar; 2) dağınık konuşma ve davranış; 3) sosyal geri çekilme, duygusal düzleşme ve motivasyon eksikliği gibi olumsuz belirtiler; ve 4) bilişsel işlev bozukluğu görülmektedir. İdare edici işlev ve hafıza bozuklukları gibi semptomlar, bozukluğun tehlikeli yönleridir ve yaşam boyu sıkıntıya sebep olur. Bozukluğun klinik özellikleri sıklıkla yaşamın ikinci ile üçüncü safhasında belirginleşir ve ortalama başlangıç yaşı erkeklerde kadınlardan genellikle yaklaşık 5 yıl daha erken olmaktadır. Şizofrenide bulunabilecek çok çeşitli belirti ve semptomlar bilişsel, duygusal, algısal ve

motor bozukluklarının göstergesidir. Şizofreni üzerinde yapılmış çalışmalar, klinik olarak şizofreni olarak tanıdığımız hastalığın, altta yatan nedenleri ve patofizyolojik mekanizmaları açısından farklılık gösteren bir dizi rahatsızlığı kapsayacağı fikrini desteklemektedir. Bu karmaşıklık, şizofrenide spesifik etiyolojik faktörlerin tanımlanmasını güçleştirmiştir. Mevcut veriler genetik, çevresel ve gelişimsel faktörlerin hepsinin şizofreni gelişme riskine katkıda bulunduğunu göstermektedir, ancak hastalığa yol açabilecek spesifik faktörü anlamak zordur. Bu nedenle, birçok hastalık durumunda olduğu gibi, şizofreni olarak adlandırılan klinik sendrom, birçok farklı patogenetik yolun son noktasını temsil edebilir (Rosenberg ve Pascual, 2014).

Şizofreni, pozitif semptomlar, negatif semptomlar, afektif düzensizlik ve bilişsel bozukluklar olarak tanımlanan bağımsız semptomlar kümesi ile karakterizedir. Pozitif semptomlar psikozun en dramatik belirtileridir. Bunlar, hastanın dış uyaranların yokluğunda algısal deneyimlere sahip olan halüsinasyonları içermektedir. Halüsinasyonlar çoğunlukla işitseldir, ancak görsel, dokunsal da olabilmektedir. Bir hasta ayrıca, çelişkili dış kanıtlar karşısında bile bozulmadan kalan, sabit, yanlış inançlara sahip sanrılar yaşamaktadır. Sanrılar sıradandan (örneğin, “ailem beni izlemek için kameraları evime yerleştirdi”) tuhaflığa (örneğin, “uzaylılar düşüncelerimi beynime yerleştirilmiş bir çip kullanarak kontrol ederler”) kadar değişebilir. Zihinsel işlev o kadar bozulabilir ki, hastanın düşüncelerinde karmaşıklık durumu ola bilir, düzensiz konuşma, hatta oldukça tuhaf davranışlar görülebilir. İlk pozitif (psikotik) semptomun ortaya çıkmasından önce, hastaların depresyon, anksiyete ve madde kötüye kullanımı da dahil olmak üzere bir dizi psikiyatrik semptomları olabileceği bir “prodrome” aşamasının olduğu söylenmektedir. Duyuşsal düzensizlik belirtileri arasında duygusal düzleşme, depresyon, mani, anksiyete, dürtüsellik ve demoralizasyon bulunmaktadır. Demoralizasyon, şizofreni hastalarında yaşam boyu oluşan %10 intihar riskini açıklayabilir (Zigmond, Rowland ve Coyle, 2015).

“Negatif” terimi bir kayıp ya da açığı ifade eder ve duygusal tepkinin azalmasını, konuşma azlığını, motivasyon düşüklüğünü, hazzını hissedememesini (anhedonia) ve dikkat bozukluğunu içerir. Belirgin negatif semptomları olan hastalar sosyal olarak izole ve geri çekilme eğilimindedir ve günlük yaşam aktivitelerini (örneğin, kişisel hijyen) yerine getirmekte güçlük çekerler. Bunlar genellikle istihdam ve bağımsız yaşamı neredeyse imkansız hale getirir. Şizofreni hastaları ayrıca seçici dikkat, çalışma belleği, öğrenme ve yürütücü işlev dahil olmak üzere birden fazla alanı etkileyen bir dizi bilişsel

bozukluk sergilerler. Bilişsel bozukluk hastalığın temel bir özelliği gibi görünmektedir (Zigmond, Rowland ve Coyle, 2015).

### **2.4.3. Antipsikotik tedavi yöntemi**

Şizofreni için ilk tedavi yöntemi, tipik veya atipik olarak sınıflandırılan antipsikotik ilaçların kullanılmasıdır. Tipik antipsikotikler (örneğin, Haloperidol, perfenazin, flupenazin) öncelikle dopamin reseptörlerinin D<sub>2</sub> alt tipini bloke eder. Mezolimbik dopamin yolundaki D<sub>2</sub> reseptörlerinin antagonizması, tipiklerin yararlı antipsikotik etkinliğine katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, nigrostriatal dopamin yolunda D<sub>2</sub> reseptörlerinin bloke edilmesi, ekstrapiramidal semptomlar (örneğin, distoni, akatizi, karikatür rijitliği, bradikinezi) dahil olmak üzere yan etkilerin gelişmesine neden olabilirken, tüproinfundibular dopamin yolunda D<sub>2</sub> reseptör antagonizmi, serum prolaktin seviyelerini yükseltebilir, kadınlarda anormal emzirme ve düzensiz adet dönemleri ve erkeklerde jinekomasti yan etkilerine yol açabilir. Tipik antipsikotiklere uzun süreli maruz kalma, çiğneme, dil çıkıntısı, yüz ekşitmesi ve uzuvların anormal hareketleri gibi tekrarlayan istemsiz hareketleri içeren %25-50 arası geç diskinezi gelişme riski ile ilişkilidir. Aksine, atipik antipsikotikler (örneğin, klozapin, risperidon, olanzapin, ketiapin) genel olarak D<sub>2</sub> reseptörü için tipik olanlardan daha düşük bir afiniteye sahiptir ve aynı zamanda 5HT<sub>2A</sub> serotonin reseptörlerinin alt tipini bloke eder. Genel reseptör antagonizma profili de atipiklerde farklılık göstermektedir. Sonuç olarak, atipiklerin ekstrapiramidal semptomlar ve geç diskinezi üretme olasılığı daha düşüktür ve negatif semptomlar için tipik antipsikotiklerden daha fazla etkilidir (Rosenberg ve Pascual, 2014).

ASE, şizofreni hastalarının tedavisi ve bipolar bozukluğu ile ilişkili psikotik özelliklere sahip olan veya olmayan manik veya karışık ataklar için onaylanan atipik bir antipsikotiktir. ASE şizofreninin akut ve idame tedavisi için olduğu gibi, bipolar bozukluk ile ilişkili manik veya karışık atakların akut tedavisi için de onaylanmıştır. (Wójcikowski vd., 2020).

### **2.5. Diğer ASE Çalışmaları**

Yeni bir YPİTK yöntemi, ASE'nin hem tabletlerdeki hem de diğer formülasyonlardaki (çözelti, mikroemülsiyon, nanoemülsiyon ve yapışkan nanoemülsiyonun) kantitatif tayini ve çözünürlük çalışmaları için başarılı bir şekilde geliştirilmiş ve valide edilmiştir. ASE'nin stabilitesini değerlendirmek için farklı stres

testi koşulları (alkali, asit, termal, fotolitik ve nem) uygulanmıştır. ASE maleat, YPİTK plakası kullanılarak degradasyon ürünlerinden iyice ayrılmıştır, bu aşamada sabit faz olarak alüminyum levha üzerinde silika jel G60 F254 ve hareketli faz olarak metanol kullanılmıştır. Densitometrik analiz kullanılarak ASE maleat 235 nm'de ölçülmüştür. ASE için kompakt bir bant elde edilmiş; verilerin istatistiksel analizi, yöntemin spesifik, doğrusal, doğru, kesin, tekrarlanabilir ve seçici olduğunu göstermiştir (R. Patel, Naregalkar ve M. Patel, 2015)

Diğer bir çalışmada, antipsikotik bir ilaç olan ASE'nin tablet dozaj formunda eşzamanlı olarak tayin edilmesi için basit, hızlı, doğru, ekonomik ve hassas bir UV spektrofotometrik ve ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (TF-YPSK) yöntemleri geliştirilmiştir. TF-YPSK için hareketli faz olarak asetonitril (65:35, h/h) ve 0,1 M fosfat tamponu (pH = 3,2) karışımı kullanılmış ve saptama dalga boyu 270 nm olarak bulunmuştur. Önerilen yöntemin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği, yapılan çalışmalar ile istatistiksel olarak gösterilmiştir (Borkar ve Gaikwad, 2016).

Tablet dozaj formunda ASE'in tayini için yapılan başka bir çalışmada basit, spesifik bir TF-YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Bir SunFire C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm partikül boyutu) kolon ve 0,02 M potasyum dihidrojen fosfat ve asetonitril (95:05, h/h) karışımından oluşan hareketli faz kullanılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk olarak belirlenmiş ve ASE 232 nm'de saptanabilmiştir. ASE'nin alıkonma zamanı 5,51 dakika olarak bulunmuştur. ASE için doğrusallık aralığı 0,1-20 µg/mL olarak bulunmuştur. Elde edilen geri kazanımlar %98,31-101,51 aralığındadır. ASE stok çözeltileri asit ve alkali hidroliz, kimyasal oksidasyon, güneş ışığı ve kuru ısı bozunmasına tabi tutulmuştur. Bozulmuş ürün pikleri, saf ilaç pikinden iyi bir şekilde ayrılmış ve alıkonma zamanı değerlerinde önemli bir fark bulunmuştur. Önerilen yöntem doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve sağlamlık açısından valide edilmiştir. Yöntem, tablet dozaj formunda ASE analizi için başarıyla uygulanmıştır (Chhalotiya vd., 2012).

de Boer vd., (2012a) antipsikotik ilaç ASE ve üç metabolitinin [N-desmetilasenapin (DMA), asenapin-N<sup>+</sup>-glukuronid (ASG) ve 11-O-sülfatasenapin (OSA)], insan plazmasındaki tayinini katı faz ekstraksiyonu ile sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi/kütle spektroskopisi (SK-KS/KS) yöntemi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. İnsan plazmasındaki üç metabolitin doğrusallık aralıkları ASE için

0,0250-20,0 ng/mL, DMA ve OSA için 0,0500-20,0 ng/mL ve ASG için 0,250-50,0 ng/mL bulunmuş ve sonuçların kabul edilebilir olduğu kanaatine varılmıştır.

de Boer vd., (2012b) idrarda ASE'nin farmakokinetik parametrelerini belirlemek için, tandem kütle spektrometrisi ve çevrimiçi katı faz ekstraksiyonu içeren SK-KS/KS yöntemi geliştirmiş ve validasyonunu yapmışlardır. İnsan idrarındaki ASE için doğrusallık aralığı 0.500-100 ng/mL olarak bulunmuştur.

Karaca ve Uğur (2017) ise ASE'nin tabletlerdeki tayini için yeni, basit ve spesifik bir iyon çifti SK yöntemi geliştirmiş ve yöntemin tam olarak validasyonunu yapmışlardır. Analiz, 30°C'de bir Agilent Eclipse XDB-C8 kolonu (4,6 x 150 mm, 3,5 µm parçacıklar) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 10 mM 1-heptan sülfonik asit içeren asetonitril ve fosfat tamponu (pH 3, 20 mM) (60:40, h/h) karışımı kullanılmıştır. Saptama, 220 nm'de bir diyot dizi detektörü ile gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntem ilgili ICH kılavuzuna ve US Farmakopesine göre valide edilmiş; doğruluk, kesinlik, özgünlük, sağlamlık ve stabilite açısından uygun bulunmuştur. Yöntem, 0,5-100 µg/mL derişim aralığında doğrusaldır. Saptama sınırı ve tayin sınırı sırasıyla 0,0836 µg/mL ve 0,2788 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu iyon çifti SK yöntemi, dilaltı tabletlerinde ASE tayini için başarıyla uygulanmıştır.

Kan serumu ve idrar gibi biyolojik numunelerdeki ASE tayini için çeşitli analitik yöntemler geliştirilmiş olmasına rağmen, adli tıpta kullanılabilecek tırnak gibi alternatif biyomatriksler için herhangi bir yöntem geliştirilmemiştir. Sabit faz olarak Inertsil C8 kolon (250 × 4,0 mm, 5 µm), hareketli faz olarak asetat tamponu (pH 4,5), asetonitril ve metanol (50:40:10, h/h/h) karışımı kullanılmıştır. Ayrılma izokratik olarak 1 mL/dakika akış hızında gerçekleştirilmiştir. Saptama 240 nm'de yapılmıştır. Saç örneklerinde geri kazanım %95,0 ile %102,5 arasında ve tırnak örneklerinde %98,8 ile %105 arasında değişmektedir. Saçta saptama sınırı 1,3 ng/mg ve tayin sınırı 4 ng/mg iken, tırnak örneklerinde ilgili değerler sırasıyla 2,7 ng/mg ve 8 ng/mg olarak bulunmuştur. Yöntem, basit numune ön muamelesini takiben saç ve tırnak numunelerine başarıyla uygulanmıştır (Kovatsi vd., 2015).

Managuli vd., (2016)'nin çalışmasında lipid nanoformülasyonlarında ASE maleat miktarının belirlenmesi için stabilite göstergeli bir TF-YPSK yöntemi geliştirilmiştir. Bozunma testleri yapılarak ASE'nin kararlılığı değerlendirilmiştir. Yöntem, Design-

Expert® yazılımı kullanılarak tam faktöryel tasarımı ile ICH Q2 (R1) yönergesine göre valide edilmiştir. Analiz , trietilamin (%0.1, h/h) ve asetonitril içeren potasyum fosfat (%80-20, h/h) tamponu kullanılarak, Hipoplon BDS C18 kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Akış hızı, pH, asetonitril içeriği ve kolon sıcaklığının sonuçlar üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Mevcut yöntem 0,1-20 µg/mL aralığında doğrusallık göstermiş, saptama sınırı ve tayin sınırı sırasıyla 29 ve 89 ng/mL olarak bulunmuştur. Yöntemin kesinlik ve doğruluk çalışmalarında, %BSS ve geri kazanım değerleri sırasıyla ilaç çözeltilerinde %1,0 ve %97-101, nanoformülasyonlarda ise %1,0 ve %92-104 olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem, toz madde ve lipid nanoformülasyonlarında ASE içeriğinin belirlenmesinde başarıyla kullanılmıştır.

Miller vd., (2013) vakaların ölüm sonrası birçok örneğinde GK/KS ile ASE'nin saptanması ve tayini için analitik bir yöntem geliştirmişlerdir. ASE, sıvı-sıvı ekstraksiyon prosedürü ile numunelerden izole edilmiş ve iç standart olarak D5-fentanil kullanılarak analiz yapılmıştır. ASE için yöntem validasyonu Bilimsel Çalışma Grubu Toksikolojisi yöntem validasyon taslağı önerisi kullanılarak yapılmış ve dört vaka çalışmalarının doku dağılımları belirlenmiştir. Yazarlar, bunların literatürde belirtilen ilk vakalar olduğunu ve diğer adli toksikologların vakalarını yorumlamalarına yardımcı olmayı amaçladıklarını bildirmişlerdir.

Diğer bir çalışmada, ASE'nin aktif olmayan N-desmetilase napin (DMA) ve asenapin-N<sup>+</sup>-glukronid (ASG) metabolitleri varlığında ASE tayini için oldukça seçici ve duyarlı bir sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (SK/KS-KS) yöntemi geliştirilmiştir. ASE ve iç standart olarak kullanılan ASE 13C-d3, metil tert-butil eter kullanılarak basit ve hassas bir sıvı-sıvı ekstraksiyon prosedürü ile 300 µL insan plazmasından ekstrakte edilmiştir. ASE'nin aktif olmayan metabolitlerinden ayrılması, 4,5 dakika içinde 5 mM asetonitril-amonyum asetat ve %10 formik asit (90:10:0.1, h/h/h) içeren çalışma tamponu kullanılarak, Chromolith Performance RP8e (100 × 4,6 mm) kolonunda gerçekleştirilmiştir. ASE tayini, pozitif modda elektrosprey iyonizasyonu ile donatılmış üçlü dört kutuplu kütle spektrometrisinde (TQMS) yapılmıştır. Yöntemin doğrusallık aralığı 0,050-20,0 ng/mL, saptama ve tayin sınırı ise sırasıyla 0,0025 ng/mL ve 0,050 ng/mL olarak bulunmuştur. ASE ve ASE 13C-d3 için izlenen protonlanmış iyon geçişleri, sırasıyla m/z 286,1 → 166,0 ve m/z 290,0 → 166,1 şeklindedir. ASE'nin farklı depolama koşulları altındaki stabilitesi, metabolitlerin varlığında tespit edilmiştir. Geliştirilen

yöntem, mevcut yöntemlere kıyasla çok daha basit, hızlı ve ekonomik bulunmuştur. Yöntem, sağlıklı Hint deneklerde ilk kez ASE'nin biyoeşdeğerlik çalışması için başarıyla kullanılmıştır (N. Patel, 2018).

Protti vd., (2018) ASE analizi için enantioselektif bir YPSK yöntemi geliştirmiş ASE enantiyomerlerinin tayini için uygulamışlardır. Kiral ayırma, selüloz-tris (3, 5 dimetilfenilkarbammat) kolonu üzerinde, bikarbonat tamponu ve asetonitril içeren bir hareketli faz ile gerçekleştirilmiştir. Yöntem, akışkan plazma örnekleme, muamelesi ve işlenmesi ile karşılaştırıldığında stabilite, fizibilite ve güvenilirlik açısından da önemli bir performans gösteren tüm matrislerde tatmin edici doğrusallık ve hassasiyet sonuçları ile valide edilmiştir. Mikromatrisler arasında, her iki hacimsel emici mikro örnekleme türü, veri tekrar üretilebilirliği ve plazma seviyelerine uygunluk açısından kurutulmuş matris noktalarından daha üstündür. Burada önerilen biyoanalitik yaklaşım ilk kez ASE enantiyomerlerinin belirlenmesi için çok etkili bir mikro örnekleme stratejisine bağlanmış bir kiral YPSK yöntemi sağlamıştır.

ASE tayini yapılmış bir diğer çalışmada siklobenzaprin HCl (SZ) ve ASE maleatın bozunma ürünlerinin varlığında farmasötik formülasyonlarında tayini için iki duyarlı, spesifik, seçici ve stabilite göstergeli kromatografik yöntem geliştirilmiştir. İlk yöntem izokratik bir TF-YPSK yöntemidir. SZ ve ASE'nin ultraviyole dedektörle sırasıyla, 290 nm ve 220 nm'de saptandığı tespit edilmiştir. Ayrım daha önceden alüminyum tabaka üzerinde silika jel G 60 F254 ile kaplanmış İTK tabakası üzerinde, %33'lük toluen-metanol-kloroform-amonyak (5:3:6:0.1, h/h/h/h) çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntemler Uluslararası Uyum Konferansı (ICH) yönergelerine göre doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve özgünlük parametreleri açısından valide edilmiştir. Doğrusallık aralıkları, her iki ilaç için TF-YPSK yöntemi ile 2,5-25 µg/mL ve İTK yöntemi ile 5-50 µg/bant aralığında bulunmuştur. TF-YPSK yöntemi ile yapılmış çalışmada saptama sınırı SZ ve ASE için sırasıyla 0,250 ve 0,578 µg/bant iken, tayin sınırı SZ ve ASE için sırasıyla 0,758 ve 1,572 µg/bant olarak bulunmuştur. İTK yöntemi ile yapılmış çalışmada ise saptama sınırı SZ ve ASE için sırasıyla 1,355 ve 1,284 µg/bant iken, tayin sınırı SZ ve ASE için sırasıyla 4,472 ve 3,891 µg/bant olmuştur. Sonuçlar bildirilen yöntemlerle istatistiksel olarak %95 güven düzeyinde bulunmuştur (Ramadan vd., 2017).

Diğer bir çalışma kapsamında insan plazmasındaki ASE ve valproik asidin eş zamanlı ölçümü için basit bir SK-KS/KS yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. İç standart üzerine metil üçlü butil eter (MTBE) kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonundan önce 300 µL plazma örneği eklenmiştir. 40°C'de izokratik modda Phenomenex C18 kolonu (50 mm x 4,6 mm, 5 µm) üzerinde kromatografik ayırma sağlanmıştır. Analiz, TQMS`de çoklu reaksiyon izleme (MRM) modunda, 0,8 mL/dk`lık sabit akış hızında 10 mM amonyum format-asetonitril (5:95, h/h) hareketli fazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SK-KS/KS analizi için kullanılan enjeksiyon hacmi 15 µL ve çalışma süresi 2,5 dk. olmuştur. Bu düşük çalışma süresi ve küçük enjeksiyon hacmi, önerilen yöntemin yüksek verimliliğini göstermektedir. Yöntemin doğrusallık aralığı ASE ve valproik asit için sırasıyla 0,1-10,02 ng/mL ve 10-20,000 ng/mL olarak bulunmuştur. Plazma örneklerinde ASE (%81,33), valproik asit (%81,70), gliklazid (%78,45) ve benzoik asit (%79,73) için bulunan geri kazanımı, stabilite ve tekrarlanabilirlik değerleri yöntemin uygunluğunu göstermektedir. Bu yöntemin uygulaması, 8 sağlıklı erkek gönüllü üzerinde 5 mg ASE ve 250 mg valproik asit uygulaması yapılan bir farmakokinetik çalışma ile gösterilmiştir (Reddy, Venugopal ve Madhavi, 2013).

Szabó vd., (2016) nin gerçekleştirdiği çalışmada ASE maleat enantiyomerleri, ilk kez siklodekstrin (SD) ile modifiye edilmiş kapiler elektroforez yöntemi ile ayrılmıştır. 15 farklı SD, kompleks yapıcılar ve kiral seçiciler olarak taranmış ve β-SD`nin en etkili kiral seçici olduğunu kanıtlanmıştır. Bu çalışmada rezolüsyonu arttırmak için bir deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. TRIS-asetat tamponu (pH 3,5, 160 mM) ve 7 mM β-SD kullanılarak, 20°C kapiler sıcaklığı ve 15 kV voltaj uygulanmış; bu şartlarda ASE enantiyomerlerinin ( $R_s = 2,40 \pm 0,04$ ) ayrımı mümkün olmuştur. Yöntem ICH yönergelerine göre valide edilmiş ve ASE'nin kiral ayrılması için duyarlı, doğrusal, doğru ve kesin olduğu kanıtlanmıştır.

ASE tayini için geliştirilmiş bütün yöntemler ve bu çalışmada geliştirilen yöntem karşılaştırmalı olarak Çizelge 2.1`de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** ASE tayini için geliştirilmiş yöntemlerin karşılaştırılması.

Yazar adı	Matriks	ASE'nin alikonm a zamanı (dk.)	Yöntem	ASE'nin doğrusallık aralığı	Tayin sınırı
Borkar ve Gaikwad, 2016	Toz madde ve tablet	4,00	Spektrofotometri ve YPSK	1,0-90 µg/mL 10-50 µg/mL	-
Chhalotiya vd., 2012	Toz madde ve tablet	5,5	YPSK	0,1-20 µg/mL	0,1 µg/mL
Managuli vd., 2016	Toz madde ve lipid nanoformülasyon	7,6	YPSK	0,1-20 µg/mL	89 ng/mL
Karaca ve Uğur, 2017	Toz madde ve tablet	4,71	YPSK	0,5-100 µg/mL	0,28 µg/mL
Ramadan vd., 2017	Toz madde ve tablet	2,05	YPSK	2,5-25 µg/mL	1,572 µg/mL
		0,55 (Rf)	İTK	5-50 µg/bant	3,891 µg/bant
R. Patel, Naregalkar ve M. Patel, 2015	Toz madde ve tablet	0,43 (Rf)	UYPSK	300-1800 ng/bant	118,57 ng/bant
N. Patel, 2018	Plazma	-	SK-KS/KS	0,050-20,0 ng/mL	0,050 ng/mL
Miller vd., 2013	İdrar, kan, karaciğer	-	GK-KS	5-100 ng/mL	5 ng/mL
Protti vd., 2018	Plazma	-	YPSK-DAD	0,5-50 ng/mL	2,5 ng/mL 0,5 ng/mL
Kovatsi vd., 2015	Saç ve tırnak	5	YPSK	4-60 ng/mL	4 ng/mL 8 ng/mL

**Çizelge 2.2.** ASE tayini için geliştirilmiş yöntemlerin karşılaştırılması. (devamı)

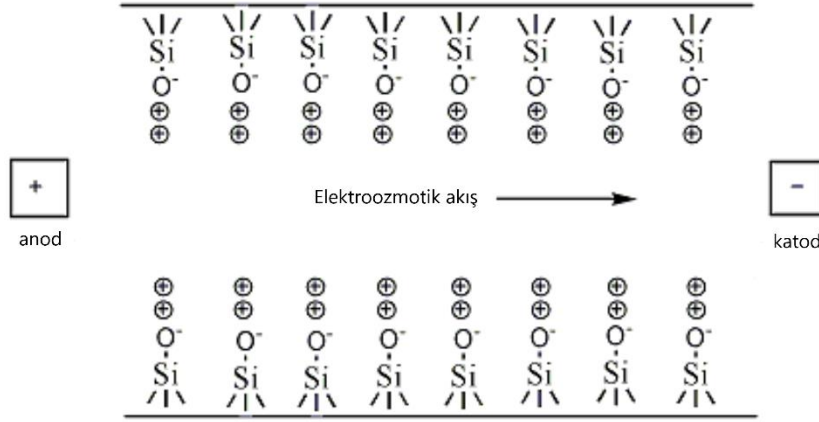
Yazar adı	Matriks	ASE'nin alıkonma zamanı (dk.)	Yöntem	ASE'nin doğrusallık aralığı	Tayin sınırı
de Boer vd., 2012a	Plazma	-	SK-KS/KS	0,0250-20,0 ng/mL	0,0250 ng/mL
de Boer vd., 2012b	İdrar	3,17	SK-KS/KS	0,500-100 ng/mL	-
Reddy, Venugopal ve Madhavi, 2013	Plazma	2,5	SK-KS/KS	0,1-10,02 ng/mL	0,1 ng/mL
Szabó vd., 2016	Toz madde	-	KE/NMR spektroskopisi/KS	5-300µg/mL	5 µg /mL
Geliştirilen yöntem	Toz madde ve tablet	4,27	KE	0,27-6,4 µg/mL	0,24 µg/mL

## 2.6. Kapiler Elektroforez

Kapiler elektroforez, iletken bir sıvı içerisinde uygulanan elektrik alanının etkisiyle yüklü moleküllerin hareketlerine dayanan bir yöntemdir. İki çözünen farklı elektroforetik hareketliliklere sahipse, ayırma genellikle gerçekleşir. Ayırım, yarı katı jel levha gibi bir ortamda gerçekleştirilmektedir. Jeller, akışkan tampon sistemi için fiziksel destek ve mekanik stabilite sağlar. Bazı elektroforez modlarında, jeller moleküler elek olarak hizmet ederek ayırma mekanizmasına katılır (Weinberger, 2000).

Kapiler elektroforezde, çözünen maddelere ek olarak tampon çözeltisi genellikle bir elektrik alanının etkisi altında kapilerden geçer. Bu fenomen elektroozmotik veya elektroendozmotik akış olarak adlandırılır. Normal çalışmada, elektroozmotik akışın yönü negatif yüklü katoda doğrudur, yani çözelti giriş vialinden kapiler yardımı ile detektöre ve sonra da çıkış vialine akar. Katyonlar elektroozmotik akıştan daha hızlı hareket ederek, nötr maddeler elektroozmotik akış ile aynı hızda ve anyonlar ise

elektroozmotik akıştan daha yavaş hareket ederler. Elektroozmotik akış Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (Baker, 1995) .



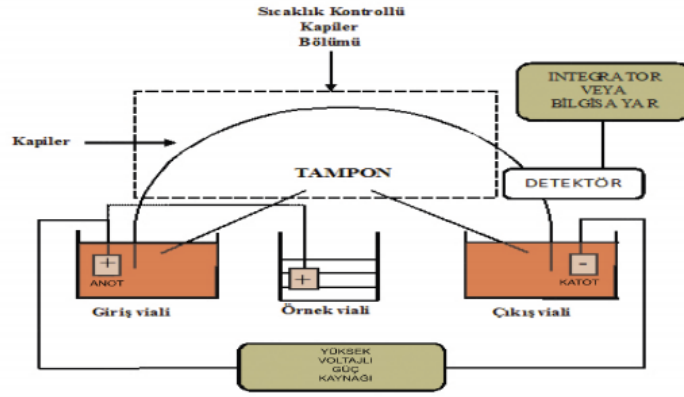
Şekil 2.2. Kapiler elektroforezde elektroozmotik akış şeması.(http-2)

Pozitif yüklü katyonlar negatif yüklü elektroda, yani katoda, negatif yüklü anyonlar ise pozitif yüklü elektroda, yani anoda doğru göç eder. Farklı boyut ve yüklere sahip olan moleküller farklı hızlarda yük/boyut oranına göre göç eder. Daha küçük bir iyon, aynı yükteki daha büyük bir iyondan daha hızlı göç eder. Daha yüksek bir yüke sahip bir iyon, aynı boyutta olmaları durumunda, daha düşük bir yüke sahip olandan daha hızlı göç eder. Böylece, iki değerlikli bir iyon aynı boyuttaki tek değerlikli bir iyondan daha hızlı göç eder. Nötr moleküller elektrik alanından etkilenmez (Baker, 1995).

Yüklü çözünen moleküller, elektroforetik hareketliliklerindeki farklılıklar nedeniyle ayrılır ve çözüneninkinden ters bir yükü olan elektroda doğru göç etme eğiliminde bulunurlar. Negatif yüklü anyonlar, pozitif yüklü anoda çekilir ve elektroozmotik akış olmadan, kapiler ve detektörden geçmeden giriş vialine göç eder. Tamponun elektroozmotik akışı genellikle negatif yüklü çözünenlerin elektroforetik hareketliliklerinden daha büyük olduğundan tamponla birlikte dedektöre doğru taşınırlar (Baker, 1995).

### 2.6.1. Kapiler elektroforez sistemi

Kapiler elektroforez sisteminin ana bileşenleri yüksek voltajlı güç kaynağı, giriş ve çıkış vialı, kapiler, dedektör ve bilgisayar gibi veri görüntüleme cihazından oluşmaktadır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Kapiler elektroforez sistemi. (Baker, 1995)

Kapiler elektroforezin temel adımları: kapilerin ön işlemden geçirilmesi; giriş vialı, kapiler ve çıkış vialinin çalışma tamponu ile doldurulması; kapilerin çalışma tamponu ile şartlandırılması, numunenin kapilere enjekte edilmesi ve kapiler üzerine bir elektrik alanının uygulanmasıdır. Çözünen maddeler kapilerden geçer ve ayrılır. Göç eden çözünen maddeler dedektörle algılanır, bir veri görüntüleme cihazına (bilgisayara) gönderilir ve çıktısı elektroforegram olarak elde edilir (Baker, 1995).

### 2.6.2. Zon elektroforezi

Elektroforezde, bileşikler bir elektrik alanının etkisi nedeniyle anot veya katoda doğru hareket eder. Başka herhangi bir etkinin yokluğunda, bileşikler teorik olarak, yayılmayan zonlar halinde iletken ortamdan geçecektir. Zonlar dağılmış olsaydı, karışıklardı ve iyi ayrılmazlardı. Zon elektroforezi, moleküllerin difüzyon nedeniyle yayılmayan zonlar olarak yer değiştirmesini ifade eder (Baker, 1995).

Kapiler elektroforez yönteminin diğer kromatografi yöntemlerinden birçok farklı ve üstün özellikleri vardır. Kapiler elektroforez yöntemi yüksek verimlilik, küçük hacimli örneklerle çalışılabilmesi, az miktarda madde sarfiyatı, kısa analiz süresi gibi üstünlüklere sahiptir (Baker, 1995).

### 3. GEREÇLER

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

Asenapin maleat	: Sigma Aldrich, Hindistan
Granisetron	: LGC Standards, Almanya
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Sigma-Aldrich, Almanya
Hidrojen peroksit	: Merck, Almanya
Hidroklorik asit	: Sigma Aldrich, Almanya
Sodyum hidroksit	: Merck, Almanya
Metanol	: Sigma Aldrich, Almanya
Fosforik asit	: Merck, Almanya
Sycrest tablet	: MSD, Walter Krebs Import-Export GmbH & Co. KG aracılığıyla, Almanya

### 3.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler

Buzdolabı	: Arçelik, No Frost & Electronic, Türkiye
Filtre	: Macherey Nagel, Almanya
Hassas terazi	: Mettler Toledo, XP205, İsviçre
pH metre	: Mettler Toledo, Seven Compact pH/ion meter S220, İsviçre
Santrifüj cihazı	: Eppendorf, Centrifuge 5810 R, Almanya
Su banyosu	: Memmert, WNB 14, Almanya
Ultrasonik banyo	: Bandelin Electronic, RK510 H, Almanya
Ultra saf su cihazı	: Millipore Ultrapure Water System, Fransa
Vorteks karıştırıcı	: Jeio Tech, VM 96 B, Kore
Kapiler	: Agilent Technologies, A.B.D.
Kapiler elektroforez	: Agilent Technologies, CE7100, A.B.D.

## 4. YÖNTEMLER

### 4.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

1 mg/mL derişimdeki ASE stok çözeltisi, ASE maleat standart maddesi MeOH'de çözülerek hazırlanmıştır. Kapiler elektroforezde tekrarlanan analizlerde seyreltmeler MeOH ile yapılmıştır. Ancak zemin gürültüsünde gözlenen sorunları azaltabilmek amacı ile ASE'nin  $10^{-5}$  M düzeyindeki seyreltmeler çalışma tamponu ile yapılmıştır. Bu amaçla çeşitli oranlarda seyreltilen çalışma tamponu, seyreltme çözeltisi olarak kullanılmıştır. Yapılan analizlerde en iyi sonuçlar, 1/10 oranında suyla seyreltilen çalışma tamponunun kullanılması ile elde edilmiştir.

İç standart için birkaç madde denenmiş, en iyi sonuç veren granisetron (GRA) kullanılmıştır. GRA'nın  $1,01 \times 10^{-3}$  M stok çözeltisi su ile hazırlanmış, gerekli seyreltmeler de su ile yapılmıştır ve analiz edilen bütün çözeltilerde GRA derişimi  $2,02 \times 10^{-6}$  M olmuştur.

### 4.2. Cihaz Koşulları

Yöntemin optimizasyonu sırasında 220 nm'de DAD detektörü kullanılmıştır. Ayrımı gerçekleştirmek için 75 µm iç çapı olan 40 cm efektif uzunluğa (48 cm toplam uzunluk) sahip kapiler kullanılmıştır.

Kapiler takıldıktan sonra ilk kullanımda kapiler 30 dk. 1 N NaOH çözeltisi ile yıkanmıştır. Daha sonra cihazın açılışı sırasında 10 dk. 0,1 N NaOH, 10 dk. distile su ve 10 dk. tampon çözeltisi ile yıkamalar gerçekleştirilmiştir. Analizler arasında ara yıkama olarak 2 dk. 0,1 N NaOH, 2 dk. distile su ve 2 dk. tampon çözeltisi ile yıkama yapılmıştır. Cihaz günlük kapanış yıkamalarında 10 dk. 0,1 N NaOH, 5 dk. distile su ile yıkanmış ve son olarak 2 dk. hava çekilerek bırakılmıştır.

### 4.3. Çalışma Tamponu

Çalışma tamponu hazırlamak için öncelikle 50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiyi hazırlamak için  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 'ten 0,3549 g tartım alınarak bir miktar suda çözülmüş ve 50 mL ye distile su ile tamamlanmıştır. Tamponun suda tam olarak çözünmesi için 10 dk. ultasonik banyoda bekletilmiştir. Gerekli seyreltmeler su ile yapıldıktan sonra çalışılacak uygun derişimdeki tamponun pH ayarı seyreltik  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ile yapılmıştır. Tampon çözelti cihaza verilmeden önce 0,45 µm'lik filtre ile süzölmüştür.

#### **4.4. Tablet Numune Çözeltisinin Hazırlanması**

ASE maleat içeren tablet ezilerek 1 mg ASE`ye eşdeğer miktar 1 mL MeOH içerisinde ultrasonik banyoda 15 dk. bekletilerek çözülmüştür. Daha sonra 10 dk. 1699 x g`de santrifüj edilmiş ve ardından çözeltinin 1 mg/mL ASE derişimindeki berrak kısmı kullanılmak üzere alınmıştır. Gerekli seyreltmeler 1/10 oranında suda seyreltilmiş tampon çözelti ile yapılmış ve 10 µg/mL derişiminde stok çözelti hazırlanmıştır.

#### **4.5. Yöntemin Validasyonu**

Validasyon çalışmaları kapsamında doğrusallık, kesinlik, doğruluk, özgünlük, stabilite ve sağlamlık çalışmaları yapılmış, yöntemin saptama sınırı ve tayin sınırı belirlenmiştir.

##### **4.5.1. Doğrusallık**

Doğrusallık için ASE`nin 0,27 ve 6,4 µg/mL aralığında 6 farklı (0,27; 1,1; 1,8; 3,1; 5,1; 6,4 µg/mL) derişimi hazırlanmış ve 3 farklı günde analizi yapılmıştır.

Saptama sınırı ve tayin sınırını belirlemek için 1,68 µg/mL derişimindeki ASE analiz edilmiş ve sinyal/gürültü oranından yararlanarak  $SS=3 \times (\text{sinyal/gürültü})$ ;  $TS=10 \times (\text{sinyal/gürültü})$  eşitlikleri ile hesaplanmıştır.

##### **4.5.2. Kesinlik**

Yöntemin kesinliğini belirlemek amacıyla günler içi ve günler arası olacak şekilde 0,42; 1,68; 5,6 µg/mL derişimlerindeki ASE çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin aynı gün içerisinde 6`şar kez olacak şekilde 3 farklı günde analizi yapılmıştır.

##### **4.5.3. Tablet ekstraktında doğruluk**

Yöntemin doğruluk çalışması için öncelikle 5 µg/mL derişiminde ASE içeren tablet çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltinin üzerine ASE standart çözeltisi eklenerek 0,42; 1,68; 5,6 µg/mL derişimlerinde çözeltiler hazırlanmıştır. Bir de ASE standart çözeltisi içermeyen çözelti hazırlanmıştır. Çözeltiler her biri 6 tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirmek amacıyla standart sapma ve %BSS değerleri hesaplanmıştır.

#### **4.5.4. Özgünlük**

Yöntemin özgünlük çalışmaları için 1,68 µg/mL derişimindeki ASE standart çözeltisi 0,1 N NaOH, 0,1 N HCl ve %3`lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltileri ile oda sıcaklığında 30 dk. muamele edilmiş ve sonrasında analiz edilmiştir.

#### **4.5.5. Stabilite**

Stabilite çalışmaları kapsamında 0,42; 1,68; 5,6 µg/mL derişimlerinde ASE çözeltileri hazırlanmış ve kısa dönem (oda sıcaklığında 24 saat), uzun dönem (-20 °C`de 2 hafta) ve eritme-dondurma döngüsü (3 döngü) sonrası stabiliteleri incelenmiştir. Çözeltilerin bekleme koşulları tamamlandıktan sonra, GRA çözeltisi eklenmiş ve her biri 3 tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarının %geri kazanımı ve %BSS değerleri hesaplanmış ve ASE`nin bu koşullarda değişiklik gösterip göstermediği incelenmiştir.

#### **4.5.6. Sağlamlık**

Yöntemin sağlamlık çalışması için optimum koşul parametreleri üzerinde küçük değişiklikler yapılarak 1,68 µg/mL derişimindeki ASE çözeltisi analiz edilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları sonucunda bulunan dalga boyu (220 nm) ve tampon derişimi (15 mM) gibi parametreler üzerinde ±2, tampon pH`sı (3,1) üzerinde ±0,1 ve voltaj (25,7 kV) üzerinde ±0,5 olacak şekilde değişiklik yapılmış ve 3`er kez analiz edilmiştir.

#### **4.6. Tabletlerde Miktar Tayini**

ASE maleat içeren tabletden 1 mg ASE içerecek kısım alınmış ve 1 mL MeOH`de çözülerek, 10 µg/mL ASE stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözeltden gerekli seyreltmeler yapılarak 0,42; 1,68; 5,6 µg/mL derişimlerine sahip ASE çözeltileri hazırlanmış ve her biri 6`şar kez analiz edilmiştir. Ortalama tablet içeriği, standart sapma, %geri kazanım ve %BSS değerleri hesaplanmıştır.

## 5. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 5.1. Yöntem Optimizasyonu

Deneysel tasarım yöntemi, çok değişkenli veriler kullanarak bir sistem hakkında bilgi sahibi olmak için kullanılmaktadır. Deneysel tasarım, veriler arasında doğrusal veya kuadratik bir fonksiyon oluşturma bilmektedir. Box-Behnken tasarımı, deneysel tasarım modelleri arasındaki en verimli modellerden biridir. Bu deneysel tasarım modelini kullanarak, parametrelerin kuadratik modeli tasarlanabilir, sıralı tasarımlar oluşturulabilir ve modelin uyum eksikliği tespit edilebilir (Hibbert, 2012) (Islam, Sakkas ve Albanis, 2009). Box-Behnken tasarımı, kapiler elektroforez yöntemi ile ASE analizi için farklı parametrelerin etkilerini incelemek ve bu parametreleri optimize etmek için kullanılmıştır. Ön çalışmalar sırasında faktörler, seviyeler ve yanıtlar seçilmiştir. Çalışma tamponunun derişimi, çalışma tamponunun pH'ı ve voltaj faktör olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.1). ASE'nin alıkonma zamanı, pik alanı, akım ve rezolüsyon yanıt olarak seçilmiştir. Ön araştırmada kapiler, kapiler sıcaklığı, iç standart ve çalışma tamponu seçilmiştir. 20°C'de 75 µm iç çapı olan 40 cm efektif uzunluğa (toplam uzunluk 48 cm) sahip kapiler kullanılmıştır. Çalışma tamponu olarak fosfat tamponu (15mM, pH 3,1), dalga boyu için 220 nm belirlenmiş ve ASE'ye benzer bir dedektör tepkisi olduğu için GRA iç standart olarak seçilmiştir.

**Çizelge 5.1.** Faktörler ve seviyeler.

Faktörler	Seviyeler		
	-1	0	+1
Tampon pH'ı ( $x_1$ )	2,1	2,6	3,1
Tampon derişimi ( $x_2$ )	10	15	20
Voltaj ( $x_3$ )	20	25	30

ASE ve GRA içeren bir çözelti (her ikisi de 10 µg/mL), Box-Behnken tasarımı kullanılarak deney planına göre üç kez rastgele sırayla analiz edilmiştir (Çizelge 5.2).

Çizelge 5.2. Deneysel tasarım modelinin planı ve bulunan sonuçlar.

Standart sıralama	Rastgele sıralama	Faktörler			Sonuçlar			
		x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	t <sub>ASE</sub>	Alan <sub>ASE</sub>	Rs	Akım
1	13	-1	-1	0	4,041	1,396	6,45	122,000
2	6	+1	-1	0	4,371	1,944	6,29	42,033
3	15	-1	+1	0	3,894	1,543	6,35	175,950
4	7	+1	+1	0	4,178	2,159	6,35	83,850
5	2	-1	0	-1	5,956	2,861	9,32	109,433
6	1	+1	0	-1	5,977	2,845	8,37	47,667
7	12	-1	0	+1	2,630	1,167	4,09	202,633
8	9	+1	0	+1	3,251	1,435	4,84	84,767
9	14	0	-1	-1	6,426	2,713	9,22	46,933
10	5	0	+1	-1	6,400	3,370	9,53	72,567
11	11	0	-1	+1	3,268	1,390	4,90	84,467
12	10	0	+1	+1	3,087	1,453	4,78	143,067
13	8	0	0	0	4,410	2,484	6,86	81,533
14	3	0	0	0	4,553	2,544	7,27	78,633
15	4	0	0	0	4,450	2,485	6,85	79,233

x<sub>1</sub>: tampon pH<sub>1</sub>, x<sub>2</sub>: tampon derişimi, x<sub>3</sub>: voltaj, t<sub>ASE</sub>: ASE'nin alıkonma zamanı, Rs: rezolüsyon.

Veri analizi için Minitab 19 kullanılmış ve her cevap için Denklem 5.1'de gösterildiği gibi kuadratik yanıt modelleri bulunmuştur.

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 \quad (5.1)$$

Burada Y yanıtı, b değerleri katsayıları ve x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub>, x<sub>3</sub> ise faktörleri göstermektedir. Katsayılar sıfırdan farklıysa ve P değeri 0,050'den düşükse o parametre etkileyici faktör olarak düşünülür (Jancic-Stojanovic vd., 2009). Anlamlı faktörler Çizelge 5.3.'de görüldüğü gibi \* ile işaretlenmiştir.

**Çizelge 5.3.** Katsayılar ve sonuçlar.

Katsayılar	t <sub>ASE</sub>	Alan <sub>ASE</sub>	Rs	Akım	D
b <sub>0</sub>	4,4711*	2,5042*	6,9967*	79,80*	0,6671*
b <sub>1</sub>	0,1570*	0,1769*	-0,0448	-43,96*	0,1432*
b <sub>2</sub>	-0,0685	0,1351	0,0173	22,50*	-0,0191
b <sub>3</sub>	-1,5653*	-0,7930*	-2,2271*	29,79*	0,0207
b <sub>11</sub>	-0,3460*	-0,4491*	-0,5456*	25,26*	-0,0641
b <sub>22</sub>	-0,0043	-0,2945*	-0,0931	0,90	-0,0675
b <sub>33</sub>	0,3286*	0,0220	0,2031	6,06*	-0,3154*
b <sub>12</sub>	-0,0115	0,0171	0,0379	-3,03	0,0134
b <sub>13</sub>	0,1500*	0,0713	0,4258*	-14,03*	0,0664
b <sub>23</sub>	-0,0386	-0,1486	-0,1083	8,24*	0,0004
R <sup>2</sup>	0,9983	0,9813	0,9968	0,9970	0,8937
R <sub>a</sub> <sup>2</sup>	0,9953	0,9477	0,9911	0,9916	0,7023

t<sub>ASE</sub>: ASE'nin alıkonma zamanı, Rs: rezolüsyon, D:genel isteklilik fonksiyonu.

\*% 95 güven düzeyinde anlamlı model.

Derringer'in isteklilik fonksiyonu ile, tüm cevapları aynı anda optimize etme zorluğunun üstesinden gelinmiştir. Denklem 5.2–5.4 kullanılarak, her bir yanıt isteklilik fonksiyonuna (0 ile 1 arasında) dönüştürülmüştür. 1 istenen yanıt, 0 istenmeyen yanıt anlamına gelir. Eğer değer maksimum olması isteniyorsa Denklem 5.2, eğer değer minimum olması isteniyorsa Denklem 5.3 veya hedef değer isteniyorsa o zaman Denklem 5.4 uygulanmaktadır (Jancic-Stojanovic vd., 2009).

$$d = \begin{cases} 0 & \text{if } Y_i \leq L_i \\ \left[ \frac{Y_i - L_i}{T_i - L_i} \right]^s & \text{if } L_i < Y_i \leq T_i \\ 1 & \text{if } Y_i \geq T_i = U_i \end{cases} \quad (5.2)$$

$$d = \begin{cases} 1 & \text{if } Y_i \leq T_i = L_i \\ \left[ \frac{Y_i - U_i}{T_i - U_i} \right]^s & \text{if } U_i < Y_i \leq T_i \\ 0 & \text{if } Y_i \geq U_i \end{cases} \quad (5.3)$$

$$d = \left\{ \begin{array}{ll} \left[ \frac{Y_i - L_i}{T_i - L_i} \right]^s & \text{if } L_i \leq Y_i \leq T_i \\ \left[ \frac{Y_i - U_i}{T_i - U_i} \right]^t & \text{if } T_i < Y_i \leq U_i \\ 0 & \text{if } Y_i < L_i \text{ or } Y_i > U_i \end{array} \right\} \quad (5.4)$$

$L_i$  yanıtlar arasındaki en düşük değeri,  $U_i$  en büyük değeri ve  $T_i$  hedef değeri göstermektedir (Çizelge 5.4).

**Çizelge 5.4.** Optimizasyondaki her bir yanıt için alt, üst ve hedef değerler.

Sonuçlar	$L_i$	$T_i$	$U_i$	s	t
$t_{ASE}$	2,630	3,000	6,500	1	1
$Alan_{ASE}$	1,167	3,300	3,370	1	1
R	4,00	6,000	9,600	1	1
Akım	42,033	40,000	203,000	1	1

$L_i$ : en küçük değer;  $U_i$ : en büyük değer;  $T_i$ : hedef değer, s ve t: ağırlık faktörleri;  $t_{ASE}$ : ASE'nin alıkonma zamanı,  $R_s$ : rezolüsyon.

Ağırlık faktörleri (s ve t) hedef değerlerin önem seviyesine göre seçilir, ağırlık faktörleri 1'e eşit olduğunda, isteklilik fonksiyonu doğrusal olur (Jancic-Stojanovic vd., 2009). Toplam isteklilik (D) değeri, her değişken için bulunan isteklilik değerlerinin geometrik ortalamasından elde edilir (Çizelge 5.5).

**Çizelge 5.5.** İsteklilik fonksiyonları.

Standart sıralama	İsteklilik fonksiyonları				
	$d_{t_{ASE}}$	$d_{Alan_{ASE}}$	$d_{R_s}$	$d_{Akım}$	D
1	0,703	0,108	0,876	0,497	0,426
2	0,608	0,364	0,919	0,988	0,670
3	0,745	0,176	0,903	0,166	0,374
4	0,663	0,465	0,904	0,731	0,672
5	0,155	0,794	0,079	0,574	0,273
6	0,149	0,786	0,343	0,953	0,443
7	1,000	0,000	0,045	0,002	0,000
8	0,928	0,126	0,422	0,725	0,435

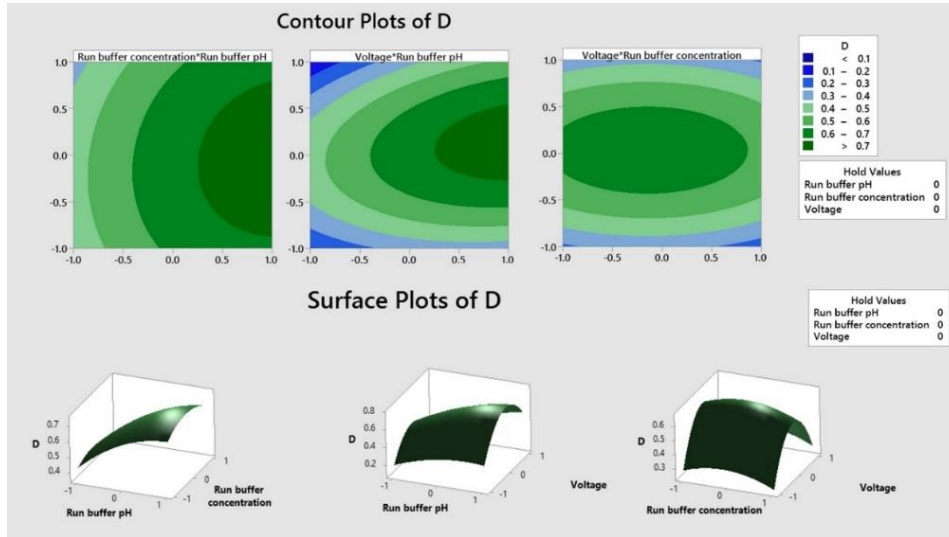
Çizelge 5.6. İsteklilik fonksiyonları.(devamı)

9	0,021	0,725	0,106	0,957	0,198
10	0,029	1,000	0,020	0,800	0,147
11	0,923	0,105	0,452	0,727	0,422
12	0,975	0,134	0,388	0,368	0,370
13	0,597	0,617	0,760	0,745	0,676
14	0,556	0,646	0,646	0,763	0,649
15	0,586	0,618	0,763	0,759	0,677

$d_{t_{ASE}}$ : ASE'nin alıkonna zamanı için bireysel isteklilik fonksiyonu,  $d_{Alan_{ASE}}$ : ASE'nin alanı için bireysel isteklilik fonksiyonu,  $d_{RS}$ : Rezolüsyon için bireysel isteklilik fonksiyonu,  $d_{Akım}$ : Akım için bireysel isteklilik fonksiyonu, D: genel isteklilik.

$R^2$  ve  $R_a^2$  değerleri sırasıyla saptama katsayısı ve ayarlanmış saptama katsayısıdır ve sistemin uygunluğunu göstermektedir. Yaklaşık 1 olan  $R^2$  değeri, ölçülen ve tahmin edilen değerlerin yakınlığını gösterir (Mason, Gunst ve Hess, 2003). İsteklilik fonksiyonunun sırasıyla 0,8937 ve 0,7023 olan  $R^2$  ve  $R_a^2$  değerleri modelin uygunluğunu gösterir.

Optimal koşullar, D değeri ile bulunan kuadratik tepki modeli kullanılarak elde edilmiştir ve Şekil 5.1'de bu modelin çevre ve yüzey grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Deneysel tasarımda çevre ve yüzey grafikleri

Optimum koşullar; çalışma tamponu 15 mM, pH 3,1 fosfat tamponu ve uygulanan voltaj 25,7 V olarak belirlenmiştir. Bu optimum koşullarda bir analiz yapılmış ve uygun göç zamanı, pik alanı, rezolüsyon ve akım elde edilmiştir.

Yöntemin sistem uygunluk testi parametreleri ve sonuçları Çizelge 5.6`da verilmiştir. Sistem uygunluk parametreleri olarak alıkonma zamanı, kuyruklanma faktörü (T), rezolüsyon (Rs), teorik tabaka sayısı (N) ve alıkonma zamanının %BSS değerleri hesaplanmıştır.

**Çizelge 5.6.** Sistem uygunluk testi sonuçları. (1.68 µg/mL, n=3).

Parametre	Gözlenen değer	Önerilen değer
Alıkonma zamanı (dakika)	4,27	-
Kuyruklanma faktörü (T)	1,07	≤2
Rezolüsyon (Rs)	6,43	>2
Teorik tabaka sayısı (N)	48112	>2000
Alıkonma zamanının %BSS `si	0,04	<1

Bu çalışmada asidik ortamda çalışıldığı için elektroozmotik akışın etkisi ortadan kalkmıştır ve bu nedenle de elektroozmozun göç zamanı kullanılarak bulunan kapasite faktörü (k`) ve seçicilik faktörü ( $\alpha$ ) hesaplanmamıştır.

## 5.2. Yöntem Validasyonu

Validasyon parametreleri değerlendirilirken, pik normalizasyon oranı ((ASE`nin pik alanı/ASE`nin alıkonma zamanı) / (GRA`nın pik alanı/GRA`nın alıkonma zamanı)) kullanılmıştır. Hesaplamalar için excel programı kullanılmıştır. Yöntem Uluslararası Uyum Konferansı (ICH) yönergelerine göre doğrusallık, kesinlik, doğruluk, özgünlük, stabilite ve sağlamlık parametreleri açısından valide edilmiştir.

### 5.2.1. Doğrusallık

Yöntemin doğrusallık çalışması kapsamında 6 farklı derişim 3 farklı günde analiz edilmiş ve doğrusallık aralığı 0,27– 6,4 µg/mL olarak belirlenmiştir. Doğrusal regresyon analizinden sonra bulunan sonuçlar Çizelge 5.7'de verilmiştir

**Çizelge 5.7.** Doğrusallık sonuçları.

<b>Parametreler</b>	<b>Gün içi (1 gün, n=6)</b>	<b>Günler arası (tüm günler, n=18)</b>
Eğim ± standart sapma	0,6028±0,0121	0,5988±0,0101
Kesim ± standart sapma	0,0045±0,0443	0,0020±0,0369
Tayin katsayısı ( $R^2$ )	0,9984	0,9989
%95 Güven aralığı	0,5693 to 0,6363	0,5709 to 0,6267

Analizlerin sonuçunda saptama sınırı ve tayin sınırı sinyal/gürültü oranına göre hesaplanmış ve sırasıyla 0,07 ve 0,24 µg/mL olarak bulunmuştur.

### 5.2.2. Kesinlik ve doğruluk

Yöntemin kesinliği ve doğruluğu için 0,42; 1,68; 5,6 µg/mL derişiminde ASE çözeltileri 3 set olarak hazırlanmış ve 6'şar kez analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarının kesinlik çalışması için %BSS değeri, doğruluk çalışması için ise bulunun ASE miktarı, hata ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. %2'den daha düşük BSS ve %97,8-100,8 aralığında geri kazanım değerleri elde edilmiştir (Çizelge 5.8).

**Çizelge 5.8.** Kesinlik ve doğruluk sonuçları.

	<b>Eklenen ASE derişimi (µg/mL)</b>	<b>Doğruluk</b>			<b>Kesinlik</b>
		<b>Bulunan derişimi (µg/mL)</b>	<b>ASE</b>	<b>%Geri kazanım</b>	<b>%BSS</b>
Gün içi (1 gün, n=6)	0,42	0,41		98,7	1,9
	1,68	1,69		100,8	0,3
	5,6	5,54		98,9	0,7
Günler arası (Tüm günler, n=18)	0,42	0,41		97,8	1,4
	1,68	1,68		99,9	1,0
	5,6	5,51		98,4	0,9
Tablet ekstraktında (n=6)	0,42	0,44		104,9	3,2
	1,68	1,68		100,1	1,2
	5,6	5,57		99,5	0,7

### 5.2.3 Tablet ekstraktında doğruluk

Yöntemin tablet ekstraktındaki doğruluğunun ölçülmesi amacıyla ASE standart çözeltilisine eklenen ASE tablet çözeltilisinin %geri kazanım ve %BSS değerleri hesaplanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları Çizelge 5.8`de belirtilmiştir. Ayrıca analizin sonucunda bulunan elektroforegramda ASE ile girişim yapan pik bulunmamıştır.

### 5.2.4. Özgünlük

Özgünlük çalışmasında 1,68 µg/mL ASE çözeltilisinin asit, baz ve %3`lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 30 dk. muamele sonuçları araştırılmış ve analiz sonuçlarının %geri kazanım ve %BSS değerleri hesaplanmıştır. Bazik ortamda %geri kazanım değeri düşük bulunmuştur. Yöntemin özgünlük çalışmasının sonuçları Çizelge 5.9`da belirtilmiştir.

Çizelge 5.9. Özgünlük çalışmasının sonuçları (n=3).

Muamele koşulları	Eklenen derişim (µg/mL)	Geri kazanım (%)	BSS (%)
Bazik ortamda 0,1 M NaOH, 30 dk.	1,68	77,8	5,97
Asidik ortamda 0,1 M HCl, 30 dk.	1,68	99,0	1,86
Oksidasyon %3`lük H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 30 dk.	1,68	100,2	1,54

### 5.2.5. Stabilite

Yöntemin stabilite çalışması kapsamında ASE çözeltileri 3 farklı koşulda bekletilerek analiz edilmiş ve %geri kazanım ve %BSS değerleri hesaplanmıştır. Bulunan %geri kazanım değerleri %97-101 aralığında olup, ASE`nin kararlılığının uygun olduğunu göstermiştir (Çizelge 5.10).

**Çizelge 5.10.** *Stabilite çalışmasının sonuçları (n=3).*

<b>Saklama koşulları</b>	<b>Eklenen derişim (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Geri kazanım (%)</b>	<b>BSS (%)</b>
Kısa dönem kararlılığı (oda sıcaklığında, 24 saat)	0,42	98,3	0,85
	1,68	100,3	2,02
	5,6	99,0	0,66
Uzun dönem kararlılığı (-20°C de, 2 hafta)	0,42	98,8	0,09
	1,68	98,0	5,11
	5,6	99,75	1,93
Dondurma-eritme kararlılığı (3 döngü)	0,42	99,1	0,64
	1,68	97,9	2,16
	5,6	99,1	2,55

### 5.2.6. Sağlamlık

Yöntemin sağlamlık çalışmaları 1,68  $\mu\text{g/mL}$  ASE derişiminde gerçekleştirilmiş ve çalışmalarda tampon derişimi, tampon pH'ı, dalga boyu ve voltaj üzerinde yapılmış olan küçük değişikliklerin etkileri incelenmiştir. Yapılan analizlerin sonuçları optimum koşullardaki ASE'nin alıkonma zamanı, sistem uygunluk parametreleri, %geri kazanım değerleri ile karşılaştırılmış, BSS değerleri %3'ün altında bulunmuştur. Sağlamlık çalışmasının sonuçları Çizelge 5.11'de gösterilmiştir.

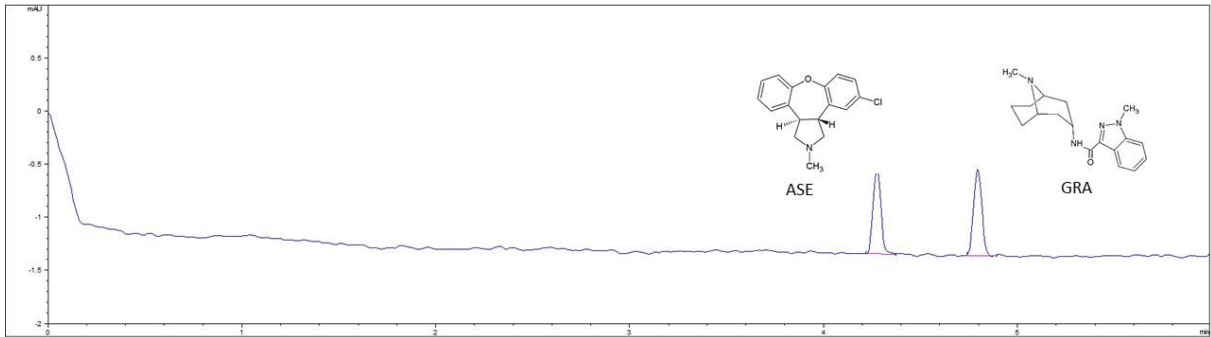
**Çizelge 5.11.** *Sağlamlık sonuçları (1.68  $\mu\text{g/mL}$ , n=3).*

<b>Parametre</b>	<b>%Geri kazanım</b>	<b>Rezolüsyon (Rs)</b>	<b>Teorik tabaka sayısı (N)</b>	<b>Asimetri faktörü (As)</b>	
Voltaj (kV)	25,2	100,69	6,22	43533	0,93
	26,2	100,68	6,05	36708	0,98
Tampon derişimi (mM)	13	101,39	6,89	51552	1,00
	17	99,99	6,16	45363	0,92
Tampon pH'ı	3,0	100,65	5,29	41653	1,01
	3,2	99,16	6,19	46839	0,99
Dalga boyu	218	99,61	6,28	44947	0,98
	222	98,55	6,22	41484	0,93

### 5.3. Tablet Analizi

Önerilen yöntem, Sycrest tabletlerinde (10 mg ASE) ASE'nin belirlenmesi için kullanılmıştır. Tablet çözeltileri (0,42; 1,68 ve 5,6 µg/mL ASE) 6 tekrar halinde analiz edilmiştir. Analiz sonucunda geri kazanım %100,9, BSS değeri %1,54 ve tablet içeriği  $10.10 \pm 0.16$  mg olarak bulunmuştur. Ayrıca, elektroferogramda piklerin şeklinin düzgün olması, sunulan yöntemin tabletlerde ASE'nin belirlenmesi için başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Tablet ekstrakt çözeltilinde ASE (1,68 µg/mL) ve GRA'nın (5 µg/mL) elektroferogramı Şekil 5.2'de gösterilmektedir.



Şekil 5.3. ASE ve GRA'nın elektroferogramı

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, şizofreni ve bipolar bozuklukta kullanılan Sycrest® tabletlerinde ASE tayini için basit, hızlı ve duyarlı bir kapiler elektroforez yöntemi geliştirilmiştir. Analiz 75 µm iç çapı olan 40 cm efektif uzunluğa (48 cm toplam uzunluk) sahip kapiler ile gerçekleştirilmiştir. En iyi sonuçlar 15 mM derişime ve 3,1 pH değerine sahip fosfat tamponu ve 25,7 kV voltaj kullanılarak elde edilmiştir. Bu koşullarda ASE için alıkonma zamanı 4,27 dk., iç standart olarak kullanılan GRA için ise 4,78 dk. olarak bulunmuştur. Geliştirilmiş olan yöntemde iç standart kullanımı sayesinde çalışmanın kesinlik ve doğruluğu arttırılmıştır. Yöntemin validasyonu ilgili ICH kılavuzu ve USP'ye göre yapılmıştır.

ASE'nin tabletlerde ve toz maddelerindeki tayini için spektrofotometri (Borkar ve Gaikwad, 2016), YPSK yöntemi (Chhalotiya vd., 2012; Govindarajan vd., 2012; Managuli vd., 2016; Karaca ve Uğur, 2017), YPİTK yöntemi (Ramadan vd., 2017), UYPSK yönteminin (R. Patel, Naregalkar ve M. Patel, 2015) kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada geliştirilen yöntem, ASE'nin tabletlerde ve toz maddelerde analizi için ilk kez uygulanmış bir kapiler elektroforez yöntemidir.

Literatür incelendiğinde en düşük doğrusallık aralığına ve tayin sınırına sahip olan çalışmaların Chhalotiya vd., (2012) ve Managuli vd., (2016) olduğu görülmüştür. Managuli vd., (2016) ASE'nin tabletlerde ve toz maddelerindeki tayinini YPSK yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. Doğrusallık aralığı 0,1–20 µg/mL ve tayin sınırı ise 89 ng/mL olarak bulunmuştur. Chhalotiya vd., (2012) nin çalışması da aynı şekilde YPSK yöntemi ile yapılmış bir çalışma olup, doğrusallık aralığı 0,1–20 µg/mL ve tayin sınırı ise 0.1 µg/mL dir.

Ayrıca Szabó vd., (2016) ASE enantiomerlerinin kiral olarak ayrılması için bir kapiler elektroforez yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmanın saptama ve tayin sınırı sırasıyla 2 µg/mL ve 5 µg/mL olup, bu tez kapsamında geliştirilen yöntemin ilgili değerlerinden (0,07 µg/mL ve 0,24 µg/mL) daha yüksektir.

Kapiler elektroforez diğer yöntemlere göre, hızlı analiz süresi, düşük çözücü tüketimi, yüksek verimlilik ve seçicilik gibi birçok avantaja sahiptir. Bu çalışmada farmasötik preparatlarda ASE'nin belirlenmesi için hızlı ve basit bir kapiler elektroforez yöntemi sunulmuştur. Daha az sayıda deneyle daha hızlı, kolay ve güvenilir bir

optimizasyon süreci elde etmek için deneysel tasarım yaklaşımı kullanılmıştır. Yöntem, doğrusallık, kesinlik, doğruluk, özgünlük, stabilite ve sağlamlık parametrelerine göre tam olarak valide edilmiş ve tüm parametreler uygun bulunmuştur. Mevcut yöntem, tabletde ASE'nin belirlenmesi için başarıyla kullanılmıştır.



## KAYNAKÇA

- Aneesh, T.P. and Rajasekaran, A. (2012). Stress degradation studies and development and validation of RP-HPLC method for the estimation of asenapine maleate. *Int. J. Pharm. Sci.*, 4(4), 448–451.
- Ansermot, N., Brawand-Amey, M., Kottelat, A. and Eap, C.B. (2013). Fast quantification of ten psychotropic drugs and metabolites in human plasma by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for therapeutic drug monitoring. *J. Chromatogr. A.*, 1292, 160-172.
- Baker, D.R. (1995). Capillary Electrophoresis. Canada, *A Wiley-Interscience Publication*.
- Borkar, A.A. and Gaikwad, N.J. (2016) UV Spectrophotometric and RP-HPLC Estimation of Drug Asenapine in Tablet Dosage Form. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7 (7), 3080-3084.
- Chhalotiya, U.K., Bhatt, K.K., Shah, D.A. and Patel, J.R. (2012). Stability-indicating liquid chromatographic method for the quantification of the new antipsychotic agent asenapine in bulk and in pharmaceutical formulation. *Sci. Pharm.*, 80(2), 407-418.
- Citrome, L. (2014). Asenapine review, part II: clinical efficacy, safety and tolerability. *Expert. Opin. Drug. Saf.*, 13(6), 803-830.
- de Boer, T., Meulman, E., Meijering, H., Wieling, J., Dogterom, P., and Lass, H. (2012a). Quantification of asenapine and three metabolites in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with automated solid-phase extraction: application to a phase I clinical trial with asenapine in healthy male subjects. *Biomed. Chromatogr.*, 26(2), 156-165.
- de Boer, T., Meulman, E., Meijering, H., Wieling, J., Dogterom, P., and Lass, H. (2012b). Development and validation of automated SPE-HPLC-MS/MS methods for the quantification of asenapine, a new antipsychotic agent, and its two major metabolites in human urine. *Biomed. Chromatogr.*, 26(12), 1461-1463.

- Govindarajan, N., Koulagari, S., Methuku, A., Podhaturi, S. and Venkata, R.B. (2012). Method development and validation of RP-HPLC method for determination of new antipsychotic agent asenapine maleate in bulk and in pharmaceutical formulation. *Der. Pharmacia. Lettre.*, 4(6), 1805–1810.
- Hibbert, D.B. (2012). Experimental design in chromatography: A tutorial review. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, 910, 2–13.
- ICH (2005) International Conference on Harmonization. Guideline Q2(R1), Validation of analytical procedures. <https://www.ich.org/products/guidelines/quality/qualitysingle/article/analytical-procedure-development-and-revision-of-q2r1-analytical-validation-copy-1.html>. (erişim tarihi 15.04.2019)
- İslam, M.A., Sakkas, V. and Albanis, T.A. (2009). Application of statistical design of experiment with desirability function for the removal of organophosphorus pesticide from aqueous solution by low-cost material. *J. Hazard. Mater.*, 170(1), 230-238.
- Jancic-Stojanovic, B., Malenovic, A., Ivanovic, D., Rakic, T. and Medenica M. (2009). Chemometrical evaluation of ropinirole and its impurity's chromatographic behavior. *J. Chromatogr. A.*, 1216(8), 1263–1269.
- Karaca, S.A. and Ugur, D.Y. (2017) A Stability Indicating Ion-Pair LC Method for the Determination of Asenapine in Pharmaceuticals. *J. Chil. Chem. Soc.*, 62(1), 3325-3329.
- Kovatsi, L., Titopoulou, A., Tsakalof A. and Samanidou, V. (2015). HPLC Analysis of Antipsychotic Asenapine in Alternative Biomatrices: Hair and Nail Clippings. *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.*, 38(18), 1666-1670.
- Kulkarni, J. A. and Avachat, A. M. (2017). Pharmacodynamic and pharmacokinetic investigation of cyclodextrin-mediated asenapine maleate insitu nasal gel for improved bioavailability, *Drug. Develop. and Indust. Pharm.*, 43(2), 234-245.
- Managuli, R.S., Kumar, L., Chonkar, A.D., Shirodkar, R.K., Lewis, S., Koteswara, K.B., Reddy, M.S. and Mutalik, S. (2016). Development and Validation of a Stability-Indicating RP-HPLC Method by a Statistical Optimization Process for the

- Quantification of Asenapine Maleate in Lipidic Nanoformulations. *J. Chromatogr. Sci.*, 54(8),1290-1300.
- Mason, R.L., Gunst, R.F. and Hess, J.L. (2003). Linear regression with several predictor variables. In:statistical design and analysis of experiments. *Wiley, New York*, 496–534.
- Miller, C., Pleitez, O., Anderson, D., Mertens-Maxham, D.and Wade, N. (2013). Asenapine (Saphris (R)): GC-MS Method Validation and the Postmortem Distribution of a New Atypical Antipsychotic Medication. *J. Anal. Toxicol.*, 37(8), 559-564.
- Patel, N.P., Sanyal, M., Sharma, N., Patel, D.S., Shrivastav, P.S. and Patel, B.N. (2018). Determination of asenapine in presence of its inactive metabolites in human plasma by LC-MS/MS. *J. Pharm. Anal.*, 8(5), 341-347.
- Patel, R.B., Naregalkar, N.S. and Patel, M.R. (2015). Stability-Indicating HPTLC Method for Quantitative Estimation of Asenapine Maleate in Pharmaceutical Formulations, Equilibrium Solubility, and ex vivo Diffusion Studies. *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.*, 38(19), 1731-1739.
- Patteet, L., Maudens, K.E., Sabbe, B., Morrens, M., De Doncker, M. and Neels, H. (2014). High throughput identification and quantification of 16 antipsychotics and 8 major metabolites in serum using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta.*, 429, 51-58.
- Protti, M., Vignali, A., Blanco, T.S., Rudge, J., Bugamelli, F., Ferranti, A., Mandrioli, R. and Mercolini, L. (2018). Enantioseparation and determination of asenapine in biological fluid micromatrices by HPLC with diode array detection. *J. Sep. Sci.*, 41(6), 1257-1265.
- Ramadan, N.K., Mohamed, T.A., Fouad, R.M. and Moustafa, A.A. (2017). Stability-Indicating HighPerformance Liquid Chromatography and Thin-Layer Chromatography Methods for the Determination of Cyclobenzaprine Hydrochloride and Asenapine Maleate. *JPC-J. Planar. Chromat.*, 30(4), 313-322.

- Reddy, A.V.B., Venugopal, N. and Madhavi, G. (2013). Simultaneous determination of asenapine and valproic acid in human plasma using LC–MS/MS: Application of the method to support pharmacokinetic study. *J. Pharm. Anal.*, 3(6), 394-401.
- Rosenberg, R.N. and Pascual, J. M. (2014). Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease. *San Diego, Elsev. Sci. & Techno.*
- Sempio, C., Morini, L., Vignali, C. and Groppi, A. (2014). Simple and sensitive screening and quantitative determination of 88 psychoactive drugs and their metabolites in blood through LC-MS/MS: Application on postmortem samples. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, 970, 1-7.
- Sistik, P., Urinovska, R., Brozmanova, H., Kacirova, I., Silhan, P. and Lemr, K. (2016). Fast simultaneous LC/MS/MS determination of 10 active compounds in human serum for therapeutic drug monitoring in psychiatric medication. *Biomed. Chromatogr.*, 30(2), 217-224.
- Szabó, Z.I., Toth, G., Voelgyi, G., Komjati, B., Hancu, G., Szente, L., Sohajda, T., Beni, S., Muntean, D.L. and Noszal, B. (2016). Chiral separation of asenapine enantiomers by capillary electrophoresis and characterization of cyclodextrin complexes by NMR spectroscopy, mass spectrometry and molecular modeling. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 117, 398-404.
- The United States Pharmacopeia XXIX, *Marck Printing Co.*, Easton, 320-324.
- Volk, D.W. and Lewis, D.A. (2015). Schizophrenia A2 - Rosenberg, Roger N. In: Pascual JM (ed) Rosenberg's molecular and genetic basis of neurological and psychiatric disease. Boston, *Academic Press*, 1293–1299.
- Vieta, E., Montes, J. M., Iborra, P., Mozos, A., Sáez, C., and Benabarre, A. (2018). Management of asenapine treatment in clinical practice: Recommendations from a panel of experts. *Revis. Psiquiatr. Sal. Men. (English Edition)*, 12(3), 163-169.
- Weinberger, R. (2000). Practical Capillary Electrophoresis. Chappaqua, New York: *Academic Press*.

Wójcikowski, J., Danek, P. J., Basińska-Ziobroń, A., Pukło, R. and Daniel, W. A. (2020).  
In vitro inhibition of human cytochrome P450 enzymes by the novel atypical  
antipsychotic drug asenapine: a prediction of possible drug–drug interactions.  
*Pharmacol. Rep.*, 72, 612–621.

Zigmond, M.J., Rowland, L. P. and Coyle, J. T. (2015). *Neurobiology of Brain Disorders*  
(Biological Basis of Neurological and Psychiatric Disorders). *Academic Press*,  
639-673.

http-1: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2009/022117s000\\_ChemR.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2009/022117s000_ChemR.pdf) (Erişim tarihi: 13.06.2020).

http-2: [https://en.wikipedia.org/wiki/Capillary\\_electrophoresis#/media/File:Capillarywall.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Capillary_electrophoresis#/media/File:Capillarywall.png) (Erişim tarihi: 10.06.2020).

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel ve Eğitim Bilgiler

Adı : Sona

Soyadı : Aliyeva

Doğum tarihi : 08.12.1996

Doğum yeri : Azerbaycan

İletişim bilgileri : Bahçelievler mahallesi, Billur sokak No:25, Tepebaşı ilçesi, Eskişehir

Cep telefonu : 0541 535 46 06

e-posta adresi : sonaaliyeva@anadolu.edu.tr

ORCID numarası : 0000-0002-7886-9019

Lisans : Bakü Devlet Üniversitesi, Kimya Öğretmenliği Bölümü  
(2014-2018)

Yabancı dil : İngilizce

### Yayınlar

Sona Aliyeva, Sakine Atilla Karaca , Alper Uğur , Arın Gül Dal Poçan, Duygu Yeniceli Uğur. A novel capillary electrophoresis method for the quantification of asenapine in pharmaceuticals using Box-Behnken design. *Chem. Pap.* (2020).  
<https://doi.org/10.1007/s11696-020-01256-5>