

**Barbitüratların Ekstraktif Alkilenmeleri ve Gaz
Kromatografik Tayinleri**

Extractive Alkylation of Barbiturates and Their Determination by Gas Chromatography

Tülin SÖYLEMEZOĞLU*

ÖZET

Bu çalışmada, toksikolojik analizlerde uygulanmak üzere, barbitüratların gaz kromatografisinde ekstraktif alkilleme ile analizleri için yöntem geliştirilmiştir. Ele alınan 12 barbitüratın ekstraktif alkilleme ile pentafluorobenzil türevleri oluşturulmuş, uygun gaz kromatografik kolon ve iç standart seçimi amacıyla değişik durucu fazlarda, alıkonma indeksleri bulunmuştur. Pentafluorobenzil türevleri için en duyarlı detektör; elektron yakalayan detektördür. SE-30 ise en hızlı sonuç alınan gaz sıvı kromatografik durucu fazdır. Barbitüratların ekstraktif alkilenme hızları, tetrabutylamonyum konsantrasyonu ve pH değerlerine karşı araştırılmıştır. Barbitüratların ekstraktif alkilenmeleri için en uygun pH 9 olarak bulunmuştur. Reaksiyon ortamdaki tetrabutylamonyum konsantrasyonu 0.2 M olduğunda 10 dakika içinde tamamlanmaktadır. Gaz kromatografik analizlerde elektron yakalayan detektör kullanıldığında saptanabilen en düşük madde miktarı 1 pikogram/µl dir.

SUMMARY

In this research, a new method for barbiturates was developed which is applicable to toxicological analysis based on extractive alkylation and gas chromatography. The pentafluorobenzyl derivatives of twelve barbiturates were prepared and their retention indices were

Redaksiyon verildiği tarih: 20.3.1985

*Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi Ankara Üniversitesi

PFBBBr'le olduğu gibi metil iyodür gibi daha basit yapıdaki alkilleme reaktifleri ile de yürütülebilen ekstraktif alkillemenin diğer türevleme determined and compared with these of corresponding barbiturates on different gas chromatographic stationary phases. Electron-capture detector is the most sensitive for the pentafluorobenzil derivatives and the gas-liquid chromatographic stationary phase SE-30 gave the most rapid results. The rate of extractive alkylation of barbiturates was studied with respect to the concentration of tetrabutylammonium and pH. Optimal pH for extractive alkylation of barbiturates was found to be 9. The reaction was completed rapidly when the tetrabutylammonium concentration was 0.2 M. The minimum detectable quantity of PFB derivatives of barbiturates was found to be 1 picogram/ μ lusing ECD by gas chromatography.

Anahtar Kelimeler: (Barbitüratlar, Ekstraktif alkilleme, Gaz kromatografik analiz).

Barbitüratlar yaygın kullanım alanı olan sedatif ve hipnotik ilaçlardır. Kazai zehirlenmelerde ve intihar olaylarında birinci sırada yer almaları (1, 2) ve bağımlılık yapan ilaçlardan oluşları nedeniyle toksikolojik analizler açısından önem taşırlar. Toksikolojik analizlerde en yaygın uygulanan yöntemlerden birisi olan gaz kromatografisinin barbitüratlar için uygulanabilirliğinin ancak türevleme işleminden sonra söz konusu olabileceği düşünülmektedir (3). Barbitüratların gaz kromatografik ayrımı sırasında hidrojen bağları nedeniyle kromatografik kolonda tutulmaları sonucu duyarlık düşmekte, kuyruklu pikler elde edilmektedir (4). Ayrıca alıkonma süresinin de miktara bağlı olarak değişmesi nicel ve nitel analizlerin yeterince doğru sonuçlar vermemesine neden olmaktadır (3). Genellikle gaz kromatografik koşullara uygun ve daha duyarlı türevler hazırlamak amacıyla barbitüratların alkillenmesi yoluna gidilmektedir. Bu türevlerin serbest asitlerden daha az polar olmaları nedeniyle gaz kromatografisinde durucu faz üzerinde ayrılmaları kolaylaşmaktadır (3). Diğer taraftan elektron yakalama özelliği daha fazla olan halojenli alkil türevleri duyarlığın elektron yakalayan detektörle (ECD), pikogram düzeyine inmesini sağlamaktadır. Türevlerin ve reaktifin dayanıklılığı, sulu ortamda çalışılabilme olanağı ve elde edilen türevlerin diğer halojenli türevlerden daha fazla duyarlılıkta oluşu pentafluorobenzil bromürün (PFBBBr) yeğlenen bir reaktif olmasına yol açmaktadır (5,6).

reaksiyonlarına üstünlüğü ise, basit bir yöntem oluşu, kullanılan reaktiflerin tehlikesizliği, bazla katalizlenen diğer alkilleme yöntemlerine göre daha hızlı yürümesi ve çoğunlukla ekstraksiyon işlemi ile türevlemenin bir arada yürütülebilmesidir (7). PFBB_r, barbitüratların alkilenmesi için ilk kez WALLE (8) tarafından, baz katalisti olarak trietilamin ve potasyum karbonat varlığında kullanılmıştır. GYLLEN-HAAL ve arkadaşları (9) ise, PFBB_r'le ekstraktif alkilleme işlemini, karşıt iyon olarak tetrabutilamonyum iyonunu (TBA) kullanarak fenobarbitale uygulamışlardır.

Biz toksikolojik analizlere uygulamak amacıyla ekstraktif alkilleme yöntemini, barbitüratların gaz kromatografik analizleri için geliştirmeyi uygun gördük.

Ekstraktif alkilleme işlemi ilk kez organik kimyada uygulanmasından (10) sonra çeşitli ilaç gruplarının biyolojik materyalden duyarlı olarak saptanması amacıyla birçok araştırmacı tarafından kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin teorisi ve reaksiyonun yürüme mekanizması ayrıntılı olarak açıklanmıştır (11-16).

DENEY KISIM

Materyal:

Kimyasal Bileşikler: Barbitürat standartları yazılan ilaç firmalarından sağlanmıştır; Allobarbital (Atabay), Aprobarbital (F. Hoffmann-La Roche, İsviçre), Barbital sodyum (Aarhus-Danimarka), Butalbital (Sandoz, İsviçre), Butobarbital (Abbott, ABD), Fenobarbital sodyum (BDH, İngiltere), Heksobarbital (Siegfield, İsviçre), Heptabarbital (Ciba-Geigy, İsviçre), Pentobarbital sodyum (Abbott, ABD), Sekobarbital sodyum (E.Lilly, ABD), Siklobarbital kalsiyum (Wintrop, ABD), Vinbarbital (Astra, İsveç), çözücü ve kimyasal maddeler ise analitik niteliktedir.

Çözeltiler: TBA çözeltisi; TBAHSO₄'ın fosfat tamponu ile değişik pH değerlerine ayarlanmasıyla hazırlanarak GLC-ECD çalışmaları için önce diklormetan sonra da distillenmiş n-heptanla yıkandı. Barbitürat stok çözeltileri; mililitrede 250 µg olacak şekilde suda, alkan standartları; ml de 100 µg olacak şekilde n-hekzanda hazırlandı. 0.5 M hordenin sülfat; 0.1 M NaOH içinde hazırlandı.

Fosfat tamponlarını hazırlamak için 0.1 M monosodyum hidrojen fosfat, 0.1 M disodyumhidrojen fosfat ve 0.1 M trisodyum fosfat çözeltileri kullanıldı.

Metod:

Gaz Kromatografik Koşullar: Packard Becker 419 Gas Chromatograph'da alev iyonlaşma detektörü (FID) ve elektron yakalayan detektörle (ECD) çalışıldı. % 3 OV-17 ve % 3 SE-30 (Chromosorb W HP 100-120 mesh üzerinde) ile doldurulmuş 2 mx4mm lik cam kolonlar kullanıldı. Kolon sıcaklığı 230°C - 245°C arasına, detektör ve enjeksiyon girişi sıcaklıkları 260°C ye ayarlandı. Gaz akış hızları; azot 30 ml/dakika, hidrojen 30 ml/dakika, hava 250 ml/dakika, duyarlık düzeyine göre (elektrometre alanı) x (attenuation) FID için; 10 X 16, ECD için; 2.5 X 10⁻¹¹ Ax216 veya 512 ye ayarlandı. Kağıt hızı dakikada 0.5 cm dir.

Alıkonma İndeksi Hesapları: Barbitüratların PFB türevlerinin alıkonma indeksleri LEACH'ın (17) verdiği, Şekil 3 de görülen formülden yararlanılarak hesaplandı. Bu formülde RI: alıkonma indeksi, Rd: alıkonma uzaklığının logaritması, Rd (Pz): küçük numaralı alkanın alıkonma uzaklığının logaritması, Rd (Pz - n): büyük numaralı alkanın alıkonma uzaklığının logaritması, z: küçük numaralı alkanadaki karbon sayısı, n: iki alkanın karbon sayıları arasındaki farktır.

Ekstraktif Alkilleme İşlemi: Bu amaçla GYLLENHAAL ve arkadaşlarının (9) kullandığı yöntem değiştirilerek uygulandı. Ekstraktif alkillemede pH'nın reaksiyona etkisini saptamak amacıyla konik dipli santrifüj tüpüne 0.2 ml (125 µg/ml) barbitürat çözeltisi kondu, üzerine değişik pH larda hazırlanmış 0.4 ml 0.5 M TBA çözeltisi ilave edildi, 0.4 ml uygun pH da fosfat tamponu, 0.5 ml diklormetan ve 10 µl PFBBR ilavesinden sonra çalkalayıcı da 10 dakika çalkalandı. Üstten sulu faz alınıp diklormetan fazı azot akımında uçurulduktan sonra kalıntı iç standart olarak 0.1 mg/ml tetrakozan veya heksakozan taşıyan 0.5 ml n-heksanda 2 dakika çalkalanarak çözüldü. Barbitüratlardan her biri için bu aşamada kullanılan iç standartlar tablo 4'de gösterilmiştir. Bu çözeltiden 1 µl gaz kromatografa enjekte edilerek barbitürat PFB türevlerinin iç standart pik yüksekliklerine oranı bulundu ve pH değerlerine bağlı olarak reaksiyon verim değişimini

gösteren grafikler hazırlandı. Her bir oran için üç ayrı deneme yapılarak ortalama değerler grafikte kullanıldı. TBA konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisini bulmak amacıyla ise; 0.01 M, 0.1 M ve 0.2 M olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda TAB çözeltisi, her birinin pH sı 9 olacak şekilde hazırlandıktan sonra belirtilen zaman aralıklarında ölçümler yapılarak reaksiyon hız eğrileri çizildi. Bu çalışmalarda kullanılan iç standartlar tablo 2 de gösterilmiştir.

Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi: Alev iyonlaşma detektörü ile çalışılırken, 0.2 ml, 50-250 µg/ml konsantrasyonlar arasında hazırlanmış barbitürat çözeltileri üzerine 0.4 ml TAB çözeltisi (0.5 M, pH 9) ve 0.4 ml fosfat tamponu (pH 9) ilavesinden sonra 0.5 ml diklormetan ve 10 µl PFBB_r ilave edildi. Çalkalayıcıda 10 dakika karıştırıldı. Sulu faz ayrıldıktan sonra diklormetan fazı azot akımında uçuruldu, kalıntı 0.1 mg/ml n-tetrakozan veya n-hekzakozen taşıyan 0.5 ml n-hekzanda çözüldü. Bu çözeltiden 1 µl gaz kromatografa enjekte edilerek kalibrasyon eğrileri çizildi. Elektron yakalayan detektörle ise; yukarıdaki işlem aynen yürütülmekle birlikte son aşamada ECD için ortamda bulunması uygun olmayan PFBB_r'ün fazlasını ortamdaki uzaklaştırma amacıyla GYLLENHAAL ve arkadaşlarının (18) serbest yağ asitlerinin türevlenmesinde uyguladıkları yöntem uygulandı. 1-10 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda barbitürat ve her birinde 5 µg /ml Tablo 5 de gösterilen iç standart taşıyan 0.2 ml lik çözeltilerde reaksiyon yürütüldü. Ancak reaksiyon bitiminde PFBB_r'ün fazlasını ortamdaki uzaklaştırmak amacıyla 10 µl 0.5 M hordenin sülfat ilave edildi. Hordenin'in PFBB_r'le tümüyle reaksiyona girmesi için 15 dakika çalkalandı. Sulu faz ayrılıp, diklormetan fazı kuru bir tüpe aktarılarak oda sıcaklığında, azot akımında uçuruldu, kalıntı 2 ml heptanda çözüldükten sonra 2 ml 0.1 M sülfirik asitle ortamdaki hordenin PFB türevini uzaklaştırmak amacıyla çalkalandı. Santrifüj edildikten sonra gaz kromatografa heptan fazından 1 µl enjekte edildi.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Alıkonma İndeksleri: Üzerinde çalıştığımız barbitürat PFB türevlerinin ve barbitüratların SE-30 ve OV-17 durucu fazlarla hazırlanmış kolonlar için alıkonma indeksleri tablo 1 de gösterilmiştir.

Analitik toksikoloji açısından yapılan ilaç tarama testlerinde, gaz kromatografisinde alıkonma indeksi sağlam bir veri olmakta, rölatif alıkonma süresi hesaplarına göre birbirine çok yakın alıkonma süresi olan veya elde standardı olmayan maddelerin tanınmasına da olanak vermektedir. Gaz kromatografik tanım amacıyla ilaçlar ve toksikolojik önemi olan maddeler için alıkonma indeksi listeleri yayınlanmıştır (19, 20). Alıkonma indeksi hesaplarını, barbitüratların PFB türevleri için karşılaştırılabilecek başka bir veri olmadığından, uygun kolon ve iç standart seçiminde yararlanmak amacıyla yaptık. Tablo 1 de görüleceği gibi PFB türevlerinin alıkonma indeksleri seçilen kolonlarda barbitüratlarınkinden ve birbirinden yeterince farklıdır.

Ekstraktif Alkilleme Koşulları: Kimyasal maddelerin PFBBr' le ekstraktif alkillenmesi için reaksiyon koşulları çok farklı gösterilmiştir (9, 19, 21, 22, 23, 24). Bu çalışmaların bazılarında en fazla verimin alındığı koşullar belirlenmiştir. Biz de barbitüratların PFBBr' le ekstraktif alkillenmesi konusunda tek yayın olan ve fenobarbitalle yapılmış çalışmada (9), koşulların reaksiyona etkisi belirtilmediğinden öncelikle verimin en fazla olduğu koşulları inceledik. Tablo 2 de verilen değerler reaksiyon süresi 10 dakika olarak tutulduğunda ve numuneler hemen gaz kromatografa verildiğinde bulunan sonuçlardır. Ancak 9 dan yüksek pH larda çalışıldığında ayırma işleminde bu süre aşılsa verimin düştüğü görülmüştür. Bu nedenle barbitüratların çoğu için maksimum verimin alındığı pH olan 9 çalışmalarda sürekli uygulanmıştır. Bu sonuç GYLLENHAAL ve arkadaşlarının (9) verdiği pH değerine uymaktadır. Ancak aynı araştırmacıların uyguladığı gibi ortamda 0.1 M TBA bulunduğu barbitüratların çoğunun ekstraktif alkillenmesi için sürenin çok uzadığı ve barbitalle, pentobarbital için bu konsantrasyonda TBA ile çalışıldığında reaksiyon veriminin çok düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışmalara ait sonuçlar Tablo 3 de görülmektedir TBA konsantrasyonunun düşük olması halinde çok uzun sürede bile reaksiyonun tamamlanamaması nedeni olarak GYLLENHAAL (25), PFBBr'ün bazik ortamda belli bir süre sonunda bozunarak pentafluorobenzil alkol ve bispentafluorobenzil etere dönüşmesini göstermiştir. Ortamda 0.2 M TBA bulunduğu reaksiyon 10 dakika içinde tamamlanmaktadır. Bu nedenle ekstraktif alkilleme reaksiyonu pH 9 da ve 0.2 M TBA varlığında yürütülmüştür. Reaksiyon koşulları araştırılırken fazla sayıda değişkenin etkimesi

açısından alev iyonlaşma detektörü kullanılmıştır. Bu aşamada reaksiyon koşullarından etkilenmemeleri nedeniyle iç standart olarak alkanlar seçilmiştir. Daha sonraki aşamada elektron yakalayan detektörle çalışıldığında ise her bir barbitürat için alıkonma süresi uygun olan diğer bir barbitürat iç standart olarak kullanılmıştır. Detektörlerin, barbitürat PFB türevleri için doğrusal dinamik sınırı (LDR) araştırılmış, alev iyonlaşma detektörü için 20-100 ng/μl de korelasyon katsayısı r: 0.981-0.999 arasında ve elektron yakalayan detektör için 0.1-1 ng/μl korelasyon katsayısı r: 0.991-0.999 arasında bulunmuştur. Bu amaçla çizilen kalibrasyon denklemlerine ait sonuçlar tablo 4 ve 5 dedir.

Ekstraktif alkilleme işlemi tamamlandıktan sonra ortamda reaksiyona girmemiş PFBBR de bulunmaktadır. Özellikle ECD için zararlı olan ve detektörü kirleterek duyarlılığının düşmesine neden olan bu reaktifi ortadan uzaklaştırmak amacıyla gaz kromatografa enjekte etmeden önce uçurma (26, 27), türevlemeden sonra ekstraksiyonla ayırma (21, 22) veya gaz kromatografa eklenen bir bölümde uçmayı sağlama (9) gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Biz, kaynama noktası 174°C olan PFBBR'ün tamamının uçurulması çok zor olduğundan (9), gaz kromatografa eklenen uçurma bölümü alette değişiklik gerektirdiğinden ekstraksiyonla ayırma işleminde ise barbitürat PFB türevlerinin büyük bir kısmının PFB ile aynı fazda kalması nedeniyle serbest yağ asitleri ile ilgili çalışmada (18) kullanılan yöntemi uyguladık. Bu yöntemle PFBBR'ün fazlası hordeninle reaksiyona sokulmakta ve hordenin PFB türevi asitli ortamda sulu faza alınarak organik çözücüden ayrılmaktadır. Şekil 2-6 da da görülebileceği gibi bu yöntemle FBBFr'ün uzaklaştırılması ile elde edilen kromatogramlar yeterince temiz olmakta ve barbitürat türevleriyle, kullanılan reaktiflerin piklerinin karışması söz konusu olmamaktadır.

Yöntemimizle barbitüratların PFB türevleri için saptanabilen en düşük duyarlık 1 pikogram olarak bulunmuştur. Bu sonuç GYLLEN-HAAL ve arkadaşlarının (9) fenobarbital için verdiği değere uymaktadır.

Tablo 1: Alıkonma İndeksleri

	SE - 30 kolon		OV - 17 kolon	
	Barbitürat	PFB türevi	Barbitürat	PFB türevi
Allobarbital	1600	2360	1915	2565
Aprobarbital	1620	2375	1935	2575
Barbital	1495	2275	1795	2475
Butalbital	1670	2390	1955	2570
Butobarbital	1660	2410	1970	2585
Fenobarbital	1950	2640	2405	2800
Hekzobarbital	1850	2245	2210	2530
Heptabarbital	2100	2745	2445	3025
Pentobarbital	1750	2470	2020	2665
Sekobarbital	1775	2495	2070	2695
Siklobarbital	1950	2685	2350	2935
Vinbarbital	1750	2500	2030	2700

Tablo 2: pH Değişiminin Ekstraktif Alkilleme Verimine Etkisi (Kolon SE-30)

Barbitürat	İç Standart	Pik yükseklikleri oranı (Numune /Çeç standa)					
		pH 6	pH 8	pH 9	pH10	pH11	pH12
Allobarbital	n-Tetrakozan	0.50	0.82	0.87	0.87	0.84	0.78
Aprobarbital	n-Hekzakozan	1.41	1.82	2.00	2.10	2.00	1.89
Barbital	n-Tetrakozan	0.60	1.00	1.29	1.29	1.30	1.30
Butalbital	n-Hekzakozan	0.02	0.78	1.56	1.50	1.50	1.50
Butobarbital	n-Hekzakozan	1.34	1.63	1.72	1.76	1.72	1.69
Fenobarbital	n-Hekzakozan	0.48	0.62	0.64	0.63	0.63	0.63
Hekzobarbital	n-Tetrakozan	0.40	0.70	0.73	0.71	0.70	0.70
Heptabarbital	n-Hekzakozan	0.31	0.55	0.62	0.59	0.58	0.58
Pentobarbital	n-Hekzakozan	0.02	0.76	1.56	1.50	1.50	1.46
Sekobarbital	n-Hekzakozan	0.77	0.95	1.14	1.08	1.06	1.04
Siklobarbital	n-Hekzakozan	0.52	0.66	0.79	0.78	0.75	0.73
Vinbarbital	n-Hekzakozan	0.50	1.10	1.29	1.35	1.32	1.25

Tablo 3: TBA Konsantrasyonunun Barbitüratların Türevlerine hızına etkisi (Kolon SE-30)

Barbitürat	Pik yüksekliği oranı (Numune/İç standart)											
	0.01 M TBA				0.1 M TBA				0.2 M TBA			
	Dakika				Dakika				Dakika			
	10	20	60	120	10	20	60	120	10	20	60	120
Allobarbital	0.23	0.28	0.39	0.40	0.76	0.80	0.81	0.79	0.81	0.82	0.82	0.76
Aprobarbital	0.88	1.63	1.80	1.86	1.92	1.96	1.94	1.94	2.00	2.00	2.00	2.00
Barbital	0.05	0.11	0.14	0.20	0.80	0.83	0.84	0.76	1.28	1.30	1.30	1.30
Butalbital	0.85	1.03	1.25	1.25	1.10	1.23	1.37	1.30	1.40	1.42	1.42	1.38
Butobarbital	1.00	1.10	1.20	1.20	1.56	1.60	1.60	1.60	1.78	1.80	1.80	1.80
Fenobarbital	0.30	0.50	0.53	0.56	0.50	0.60	0.65	0.65	0.65	0.68	0.68	0.68
Hekzobarbital	0.68	0.72	0.73	0.73	0.70	0.75	0.75	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76
Heptabarbital	0.35	0.48	0.52	0.53	0.50	0.58	0.60	0.61	0.60	0.63	0.63	0.63
Pentobarbital	0.99	0.09	1.28	1.28	1.13	1.24	1.36	1.38	1.56	1.60	1.60	1.58
Sekobarbital	0.63	0.87	0.96	0.96	0.88	1.00	1.06	1.07	1.10	1.13	1.13	1.13
Siklobarbital	0.40	0.65	0.70	0.71	0.64	0.73	0.78	0.78	0.78	0.80	0.80	0.80
Vinbarbital	0.67	0.76	0.94	0.96	1.36	1.38	1.38	1.38	1.38	1.39	1.39	1.39

Tablo 4: Barbiturat PFB Türevlerinin Alev İyonlaşma Detektörü ile Kalibrasyon Denklemleri ve Korelasyon Katsayıları

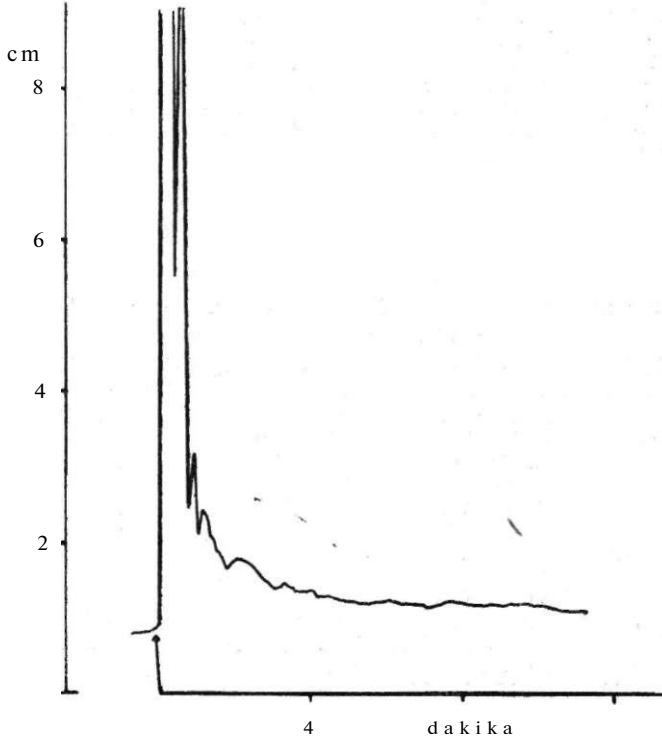
Barbiturat	İç standart	Kalibrasyon denkle	Korelasyon katsayısı
Allobarbitat	n-Tetrakozan	Y:0.020X-0.070	r:0.996
Aprobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.034X-0.162	r:0.982
Barbitat	n-Tetrakozan	Y:0.021X-0.088	r:0.995
Butalbitat	n-Heksakozan	Y:0.020X-0.101	r:0.993
Butobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.029X-0.235	r:0.984
Fenobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.031X-0.059	r:0.992
Hekzobarbitat	n-Tetrakozan	Y:0.016X-0.010	r:0.999
Heptabarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.013X-0.068	r:0.997
Pentobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.026X-0.016	r:0.999
Sekobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.020X-0.061	r:0.999
Siklobarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.015X-0.001	r:0.999
Vinbarbitat	n-Hekzakozan	Y:0.025X-0.004	r:0.999

Tablo 5: Barbitürat PFB Türevlerinin Elektren Yakalayan Detektörle Kalibrasyon Denklemleri ve Korelasyon Katsayıları

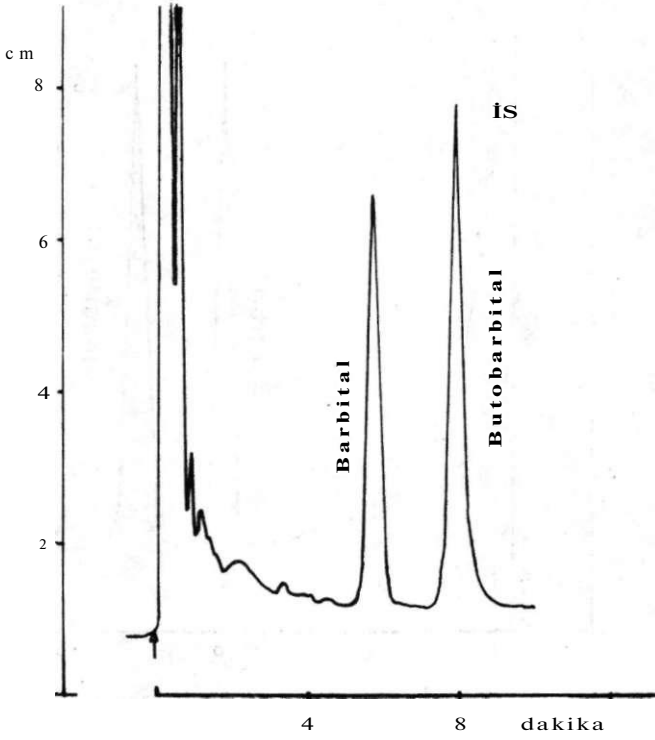
Barbitürat	İç standart	Kalibrasyon denklemleri	Korelasyon katsayısı
Allobarbitat	Butobarbitat	Y:1.85X-0.125	r:0.991
Aprobarbitat	Vinbarbitat	Y:3.02X-0.050	r:0.999
Barbitat	Butobarbitat	Y:-2.13X-0.007	r:0.999
Butalbitat	Vinbarbitat	Y:1.82X-0.083	r:0.999
Butobarbitat	Vinbarbitat	Y:2.39X-0.240	r:0.997
Fenobarbitat	Heptabarbitat	Y:2.79-X0.068	r:0.999
Hekzobarbitat	Butobarbitat	Y:-1.69X-0.028	r:0.998
Heptabarbitat	Siklobarbitat	Y:1.28X-0.009	r:0.997
Pentobarbitat	Butobarbitat	Y:1.44X-0.077	r:0.999
Sekobarbitat	Butobarbitat	Y:0.95X-0.002	r:0.998
Siklobarbitat	Heptabarbitat	Y:3.10X-0.148	r:0.998
Vinbarbitat	Butobarbitat	Y:1.20X-0.008	r:0.999

$$RI = 100n \frac{Rd (Bilinmeyen) - Rd (Pz)}{Rd P_z+n) - Rd (P_z)} + 100z$$

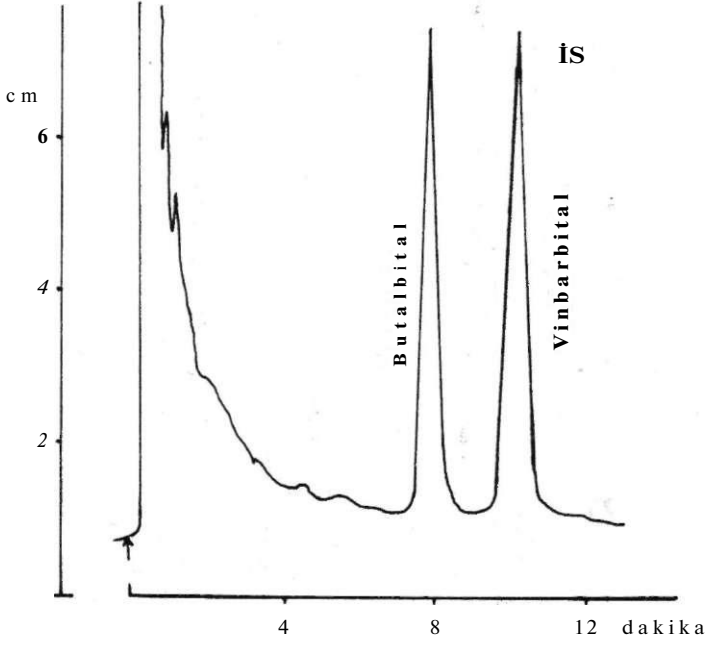
Şekil 1. Alıkonma indeksi hesaplarında yararlanılan formül



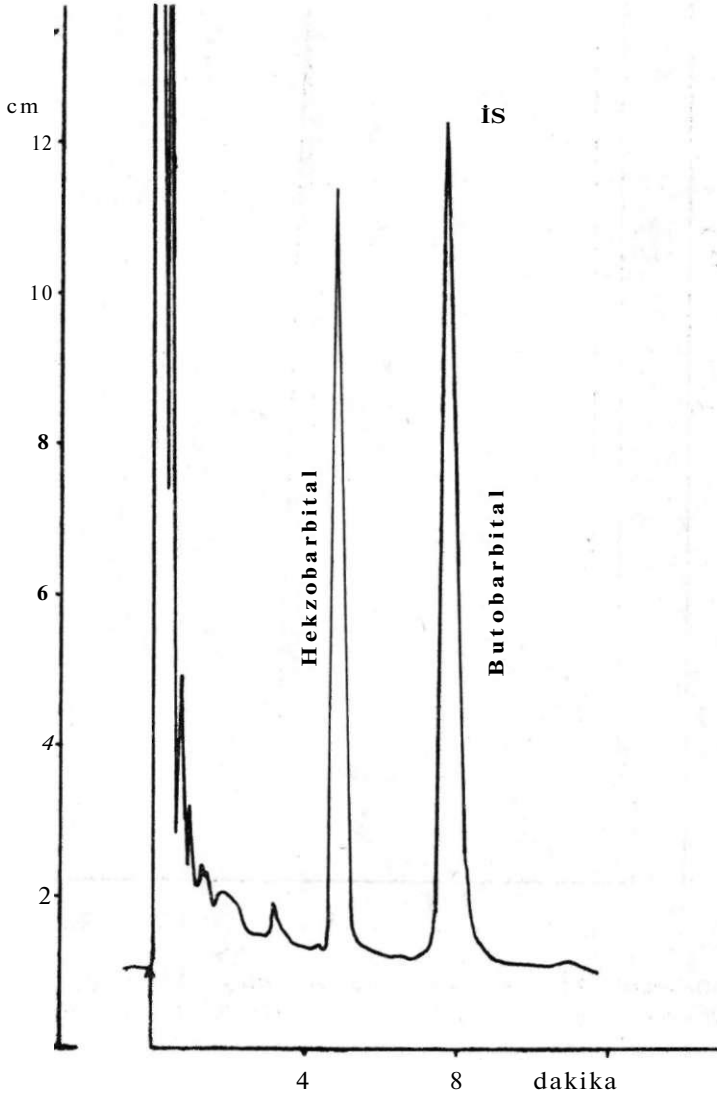
Şekil 2. Ekstraktif alkilleme işleminden sonra elde edilen boş kromatogram (Kolon: % 3 SE-30, Kolon sıcaklığı: 230°C, detektör; ECD, attenuation; 216, 1 µl numune).



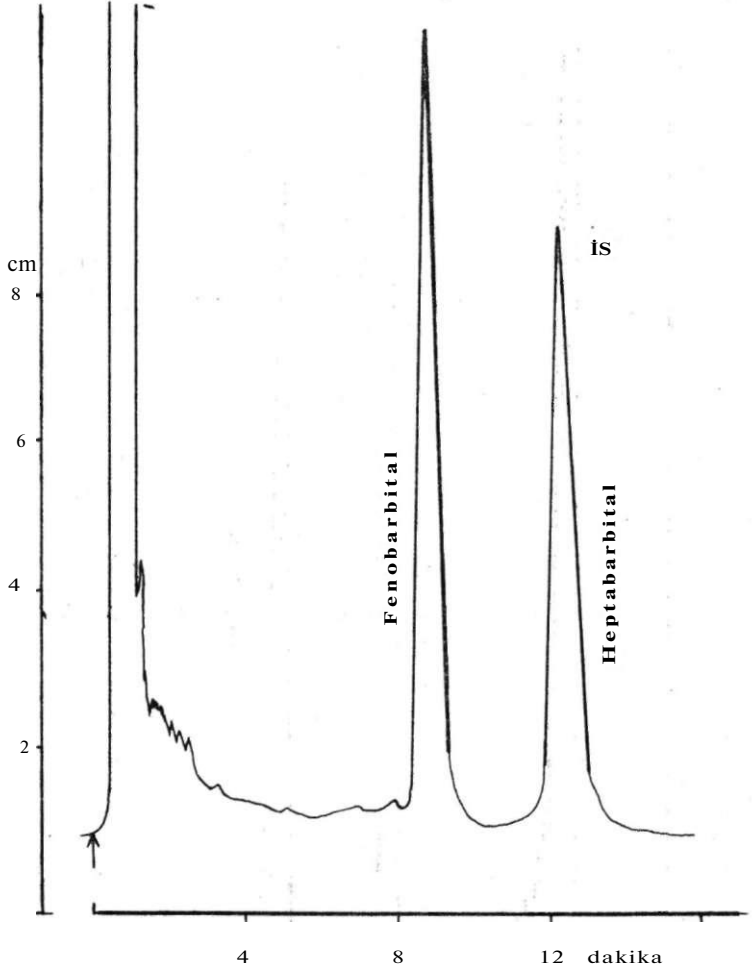
Şekil 3. Barbital PFB türevi gaz kromatogramı (Kolon: % 3 SE-30, kolon sıcaklığı: 230°C, detektör: ECD, attenuation: 216, 1 µl numunede 100 pikogram barbital ve iç standart)



Şekil 4. Butalbital PFB türevi gaz kromatodramı (Kolon: % 3 SE-30, kolon sıcaklığı: 230 C, detektör: ECD, attemnation: 216, 1 µl numunedeki 100 pikogram butalbital ve iç standart)



Şekil 5. Fenobarbital PFB türevi gaz kromatogramı (Kolon: % 3 SE-30, kolon sıcaklığı: 245°C, detektör: ECD, attenuation: 216, 1 µl numunede 100 pikogram fenobarbital ve iç standart)



Şekil 6. Hezobarbital PFB türevi gaz kromatogramı (Kolon: % 3 SE-30, kolon sıcaklığı: 230°C, detektör: ECD, attenuation: 216, 1 µl numunede 100 pikogram hezobarbital ve iç standart)

LİTERATÜR

- 1- **Gee D.J.**, The Poisoned Patient the Role of the Laboratory. Ciba Foundation Symposium 26, Elsevier Excerpta Medica, Amsterdam (1974)
- 2- **Hine C.H., Hall. F.B., Türkei, H.W.**, *Clin. Toxicol.*, **1** 71-80 (1968)
- 3- **Gudzinowicz B.J.**, Gas Chromatographic Analysis of Drugs and Pesticides. Marcel Dekker Inc., New York (1967)
- 4- **Pillai D.N. Dilli, S.**, *J. Chromatogr.*, **220** 253-274 (1981)
- 5- **McCaUum N.K., Armstrong R.J.** *J. Chromatogr.* **78** 303-307 (1973)
- 6- **Wilkinson, G.R.**, *Anal Letters*, **3** 289-298 (1970)
- 7- **Nicholson, J.D.**, *The Analyst*, **103** 1-27 (1978)
- 8- **Walle T.**, *J. Chromatogr.*, **114** 345-350 (1975)
- 9- **Gyllenhaal, O., Brötell. H., Sandgren, B.**, *J. Chromatogr.*, **122** 471:477 (1976)
- 10- **Brandström, A., Junggren, U.**, *Acta Chem. Scand.*, **23** 2204-2205 (1969)
- 11- **Hulshoff, A., Forch, A. D.**, *J. Chromatogr.* **120** 275-311 (1981)
- 12- **Jonkman, J.H.G.**, *Pharm. Weekbl.* **110** 649-655 (1975)
- 13- **Vessman, J., Johansson, M., Magnusson, P., Strömberg, S.**, *Anal. Chem.* **49** 1545-1549 (1977)
- 14- **Mordgren, T., Sjöden, E.K.** *Acta Pharm. Suec.*, **15** 241-254 (1978)
- 15- **Jansson, S.O., Nordgren, T., Schill, G.**, *Acta Pharm. Suec*, **14** 435-450 (1977)
- 16- **Fagerlund, C, Hartvig, P., Lindstrom, B.J.** *Chromatogr.*, **168** 107-116 (1979)
- 17- **Leach, H.**, Gas Chromatography. Isolation of Drugs. V. 2 Ed. Clarke, E.G.C., The Pharmaceutical Press, London (1975)
- 18- **Gyllenhaal, O., Brötell H. Hartvig P.** *J. Chromatogr.*, **129** 295-302 (1976)
- 19- **Berninger, H. Möller, M.R.**, *Arch. Toxicol.*, **37**: 295-305 (1977)
- 20- **Moffat, A.C.**, *J. Chromatogr.* **113** 69-95 (1975)
- 21- **Arbin, A., Edlund, P.O.**, *Acta Pharm. Suec*, **12** 119-126 (1975)
- 22- **Brötell. H., Ehrsson, H., Gyllenhaal, Q.**, *J. Chromatogr.*, **78** 293-301 (1973)
- 23- **Cole, W.J., Parkhouse, J.Y.Y.**, *J. Chromatogr.*, **136** 409-416 (1977)
- 24- **Grevig, J.E., Jonkman, J.H.G., Fiks, F., de Zeeuw, R., van Bork, L.E., Orië, N. G.M.**, *J. Chromatogr.*, **142** 611-619 (1977)
- 25- **Gyllenhal. O.**, *J. Chromatogr.*, **153** 517-520 (1978)
- 26- **Kaiser, D.G., Shaw, S.R., Vangiessen, G.J.**, *J. Pharm. Sci.* **63** 567-570 (1955)
- 27- **Wickramasinghe, J.A.F., Morosowich, W., Hamlin, W.E., Shaw, W.E.**, *J. Pharm. Sci.* **62** 1428-1431 1973