



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ZOLMİTRİPTAN'IN ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ VE TAYİNİ

DUYGU CANBAZ

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr.BENGİ USLU**

2008- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ZOLMİTRİPTAN'IN ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ
VE TAYİNİ**

DUYGU CANBAZ

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr.BENGİ USLU**

2008- ANKARA

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Migren Nöbeti Tedavisi	3
1.1.1. Basit ve Kombine Şeklinde Analjezikler ve NSAID'ler	4
1.1.2. Barbiturat Hipnotikler	5
1.1.3. Ergotamin ve Dihidroergotamin	5
1.1.4. Triptanlar	5
1.1.5. Opioidler	5
1.2. Profilaksi	6
1.3. Serotonin Reseptör Agonistleri ve Antagonistleri	6
1.4. Türkiye'de Kullanılan Antimigren İlaçlar	7
1.4.1. Ergo Alkaloitleri	8
1.4.2. Kortikosteroid Deriveleri	9
1.4.3. Selektif Serotonin Agonistleri	9
1.4.4. Diğer Antimigren Preparatlar	11
1.5. Zolmitriptan Hakkında Bilgi	12
1.5.1. Zolmitriptanın Kimyasal Yapısı	13
1.5.2. Farmakokinetik Özellikleri	14
1.5.3. Kullanım Şekli ve Dozu	15
1.6. Çalışmanın Amacı	15
1.7. Daha Önce Uygulanmış Analiz Yöntemleri	16

1.7.1.	Spektrofotometrik Yöntemler	16
1.7.2.	Kromatografik Yöntemler	19
1.7.3.	Diğer Çalışmalar	19
2.	GEREÇ ve YÖNTEM	20
2.1.	Ölçme Yöntemi	20
2.1.1.	Voltametri	20
2.1.1.1.	Elmas (Diamond) Elektrotlar	27
2.1.1.2.	Voltametriye Kullanılan Elektrotlara Yapılan Ön İşlemler	28
2.1.1.3.	Voltametrinin Kuramı	29
2.1.1.4.	Elektrokimyasal Taşınma Yolları	35
2.2.	Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlik Testleri)	52
2.2.1.	Validasyonun Genel İşlemleri	52
2.2.2.	Tipik Validasyon Parametreleri	53
2.2.2.1.	Doğruluk (Accuracy)	54
2.2.2.1.1.	Referans bir yöntemle karşılaştırmak	54
2.2.2.1.2.	Kör matriks ortamına analizi yapılan maddeyi ilave etmek	55
2.2.2.1.3.	Standart ekleme yöntemi ile saf madde ilavesi	55
2.2.2.2.	Kesinlik (Precision)	56
2.2.2.2.1.	Tekrarlanabilirlik	56
2.2.2.2.2.	Orta-Kesinlik	56
2.2.2.2.3.	Tekrar Elde Edilebilirlik	57
2.2.2.3.	Seçicilik (Selectivity, specificity)	57
2.2.2.4.	Teşhis Sınırı (LOD)	59
2.2.2.5.	Tayin Sınırı (LOQ) veya tayin alt sınırı (LLOQ)	60
2.2.2.6.	Doğrusallık (Linearity)	61
2.2.2.6.1.	Kalibrasyon Doğrusu (Grafiği)	61
2.2.2.7.	Duyarlılık	62
2.2.2.8.	Çalışma Aralığı	62
2.2.2.9.	Sağlamlık	63
2.2.2.10.	Tutarlılık (Ruggedness)	63
2.2.2.11.	Stabilite (Stability)	63

2.2.2.11.1. Dondurma çözme stabilitesi: (Freeze and Thaw Stability)	64
2.2.2.11.2. Kısa süreli stabilite (Short-term temperature stability)	64
2.2.2.11.3. Uzun süreli stabilite (Long-term stability)	65
2.2.3. Yöntem Validasyonu İle İlgili Çalışmaların Sunumu	65
2.3 Kullanılan Araç ve Gereçler	66
2.3.1. Deneylede Kullanılan Araç ve Gereçler	66
2.3.1.1. Bas 100 W Elektrokimyasal Analizör	66
2.3.1.2. Deney Elektrotları	69
2.3.1.2.1 Deney Elektrotlarının Ön İşlemleri	69
2.3.1.3. Deney Hücresi	70
2.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler	71
2.4.1. Standart Maddelerin Saflık Kontrolleri	72
2.4.2. Voltametik Analizlerde Kullanılacak Çözeltilerin Hazırlanması	72
2.4.2.1. Standart Maddenin Stok Çözeltisi	72
2.4.2.2. Serum Stok Çözeltisi	72
2.4.2.3. Destek Elektrolitleri	73
2.4.2.4. Tampon Çözeltiler ve Hazırlanışları	73
2.4.2.5. Voltametik Yöntemin Tablet Dozaj Formlarına Uygulanması	74
2.4.2.5. Zolmitriptan İçin Yapılan Geri Kazanım Çalışmaları	74
3. BULGULAR	75
3.1. Standart Maddenin Saflık Kontrolleri	75
3.2. Zolmitriptan Üzerindeki İncelemeleri	77
3.2.1. Zolmitriptan Üzerindeki Voltametik Çalışmalar	78
3.2.1.1. Zolmitriptan'ın Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları	78
3.2.1.1.1. Zolmitriptan'ın Fosfat Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları	78
3.2.1.1.2. Zolmitriptan'ın BR Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları	80
3.2.1.1.3. Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İle Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları	83

3.2.1.1.4.	Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri ile Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları	85
3.2.1.1.5.	Zolmitriptan İçin Elde Edilen Mekanizma Verilerinin Değerlendirilmesi	108
3.2.1.2.	Zolmitriptan'ın DPV Çalışmaları	112
3.2.1.2.1.	Zolmitriptan'ın Fosfat Tampon Çözeltileri İle Yapılan DPV Çalışmaları	112
3.2.1.2.2.	Zolmitriptan'ın BR Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan DPV Çalışmaları	114
3.2.1.2.3.	Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan DPV Çalışmaları	117
3.2.4.	Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri İle Yapılan DPV Çalışmaları	119
3.2.1.3.	Zolmitriptan'ın Kare Dalga Voltametri (KDV) Çalışmaları	120
3.2.1.3.1.	Zolmitriptan'ın Fosfat Tampon Çözeltileri İle Yapılan KDV Çalışmaları	120
3.2.1.3.2.	Zolmitriptan'ın BR Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan KDV Çalışmaları	122
3.2.1.3.3.	Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan KDV Çalışmaları	125
3.2.1.3.4.	Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri İle Yapılan KDV Çalışmaları	127
3.2.2.	Geliştirilen Voltametrik Yöntemlerle Yapılan Analiz Çalışmaları	131
3.2.3.	Zolmitriptan İçin Geliştirilen Voltametrik Tekniklerin Uygulamaları	143
3.2.4.	Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Dozaj Formlarına Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları	143
3.2.5.	Geliştirilen Voltametrik Yöntemlerin İnsan Serumuna Uygulanması ve Serumda % Geri Kazanım Çalışmaları	146
4.	TARTIŞMA	155
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	160
	ÖZET	162

SUMMARY	163
KAYNAKLAR	164
ÖZGEÇMİŞ	174

ÖNSÖZ

Zolmitriptan 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptör alt tiplerinin selektif agonisti bir antimigren ilaçtır. Triptanlar grubunda yer alır. Zolmitriptan elektroaktif bir ilaç etken maddesi olup, bu tez kapsamında yükseltgenme yönünde verdiği cevabı incelenmiştir. Uygun elektrokimyasal yöntem ve ortam belirlendikten sonra geliştirilen yöntemin, zolmitriptan'ın farmasötik dozaj formlarından ve insan serumundan analizine uygulanabilirliği araştırılmıştır.

Öncelikle, danışman hocam sayın Doç. Dr. Bengi Uslu'ya yüksek lisans eğitimim boyunca göstermiş olduğu yakın ilgisinden ötürü, tezimin başından sonuna, her aşamasında yararlandığım tecrübesinden ve çalışmalarımın bilimsellik dahilinde yürümesi için faydalandığım, engin bilgisinden ötürü sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Değerli hocalarım, Prof. Dr. Feyyaz Onur'a, Prof. Dr. Sibel A. Özkan'a, Prof. Dr. Nevin Erk'e, Doç.Dr. Erdal Dinç'e, Y.Doç.Dr. Saadet Dermiş'e vermiş oldukları bilgiler için teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen, her yardım istediğimde hoşgörü ve sabırla yardımcı olan Uzm. Ecz. Burcu Doğan Topal'a, yardımlarını eksik etmediğinden dolayı Uzm. Ecz. Özgür Üstündağ'a , Uzm. Ecz. İ.Murat Palabıyık'a ve Ecz. Burçin Bozal'a da teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bana destek veren Türk Kızılayı Firdevs Şeker Tıp Merkezi'ne ve tüm çalışanlarına; her an bana destek olan, ağabeyim gibi sevip saydığım Kemalettin Ok'a (Hedef Ecza Deposu A.Ş.), değerli arkadaşım Halil Ekmen'e (UCB Pharma İlaç Firması) ve değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ve her zaman yanımda olup benden güvenlerini ve desteklerini esirgemeyen, ideallerimin gerçekleşmesi için bana güç ve enerji veren canım aileme her zaman yüreklerinin sıcaklığını bana hissettirdikleri için çok teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

DV	Dönüşümlü Voltametri
DP	Diferansiyel Puls
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
KD	Kare Dalga
KDV	Kare Dalga Voltametrisi
AA (AC)	Alternatif Akım
DA (DC)	Doğru Akım
UV	Ultraviöle
IR	Infrared
DTV	Doğrusal Taramalı Voltametri
TS	Teşhis Sınırı
TAS	Tayin Alt Sınırı
SS	Standart Sapma
BSS	Bağıl Standart Sapma
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
PPR	Physicians Desk References
BH	Bağıl Hata

ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 1.1. Zolmitriptan'ın açık formülü	13
Şekil 2.1. Yavaş potansiyel değişiminde katı elektrot voltamogramı	32
Şekil 2.2. Potansiyel tarama tekniğinde elde edilen potansiyel–zaman eğrisi	33
Şekil 2.3. Farklı potansiyel tarama hızlarında elde edilen akım–potansiyel eğrisi	37
Şekil 2.4. Geri dönüşümlü bir olayın dönüşümlü voltamogramı	39
Şekil 2.5. Geri dönüşümlü bir olayın hızla değişimini gösteren dönüşümlü voltamogramı.	41
Şekil 2.6. Geri dönüşümsüz bir sistem için çeşitli hızlarda üst üste kaydedilmiş dönüşümlü voltamogramı	43
Şekil 2.7. Diferansiyel puls polarografisinde uygulanan potansiyel dalgasının şekli	46
Şekil 2.8. Bir kare dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin oluşumu	49
Şekil 2.9. Geri dönüşümlü bir reaksiyon için kare dalga voltamogramı	50
Şekil 2.10. Teşhis Sınırının Hesaplanmasında Kullanılan Sinyal/Gürültü Oranın Şekli	59
Şekil 2.11. Tayin Alt Hesaplanmasında Kullanılan Sinyal/Gürültü Oranı Şekli	60
Şekil 2.12. Kalibrasyon Doğrusu (Grafığı) ve Eşitliği	62
Şekil 2.13. BAS 100 W elektrokimyasal analiz cihazının şeması	68
Şekil 2.14. Kullanılan deney elektrotlarının şekli	69
Şekil 2.15. BAS 100 W elektrokimyasal analizör deney hücresi	70
Şekil 3.1. 8×10^{-5} M derişimdeki Zolmitriptan'ın UV spektrumu	75
Şekil 3.2. Zolmitriptan'ın IR Spektrumu	76
Şekil 3.3. 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki dönüşümlü voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05	79

- Şekil 3.4a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2.20 - 6.02 arası BR tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02; 81
- Şekil 3.4b. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 6.98-12.01 arası BR tamponları içerisindeki dönüşümlü voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01; 4) pH 11,00; 5) pH 12,01 82
- Şekil 3.5. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3.70 - 5.70 arası asetat tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 3,70; 2) pH 4,70; 3) pH 5,70 85
- Şekil 3.6. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın farklı asit derişimleri içerisindeki voltamogramları. 1) 0,1M; 2) 0,5M H_2SO_4 86
- Şekil 3.7a. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $5 - 100 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100mVs^{-1} 89
- Şekil 3.7b. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000mVs^{-1} 89
- Şekil 3.8a. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $5 - 100 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100mVs^{-1} 91
- Şekil 3.8b. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000mVs^{-1} 91
- Şekil 3.9a. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5 - 100 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100mVs^{-1} 93
- Şekil 3.9b. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000mVs^{-1} 93
- Şekil 3.10a. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5 - 100 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100mVs^{-1} 95

Şekil 3.10b.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}	95
Şekil 3.11a.	$4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5 - 100 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100 mVs^{-1}	97
Şekil 3.11b.	$4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}	97
Şekil 3.12a.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5 - 100 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100 mVs^{-1}	99
Şekil 3.12b.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $250 - 1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}	99
Şekil 3.13.	$4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	102
Şekil 3.14.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	103
Şekil 3.15.	$4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	104
Şekil 3.16.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3, 70 asetat tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	105
Şekil 3.17.	$4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	106
Şekil 3.18.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen DV' lara ait a) $v^{1/2}$ - ip ve b) $\log v - \log i$ grafikleri	107
Şekil 3.19.	$1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın 5 mVs^{-1} tarama hızında pH 3,03 fosfat tamponunda elde edilen Tafel eğrisi	109

- Şekil 3.20. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05 113
- Şekil 3.21a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2.20 - 6.02 arası BR tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02; 115
- Şekil 3.21b. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 6.98-12.01 arası BR tamponları içerisindeki dönüşümlü voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01; 4) pH 11,00; 5) pH 12,01 116
- Şekil 3.22. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3.70 - 5.70 arası asetat tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 3,70; 2) pH 4,70; 3) pH 5,70 118
- Şekil 3.23. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın farklı asit derişimleri içerisindeki voltamogramları 1) 0,1M; 2) 0,5M H_2SO_4 119
- Şekil 3.24. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki dönüşümlü voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05 121
- Şekil 3.25a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2.20 - 6.02 arası BR tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02; 123
- Şekil 3.25b. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 6.98-12.01 arası BR tamponları içerisindeki dönüşümlü voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01; 4) pH 11,00; 5) pH 12,01 124
- Şekil 3.26. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3.70 - 5.70 arası asetat tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 3,70; 2) pH 4,70; 3) pH 5,70 126
- Şekil 3.27. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın farklı asit derişimleri içerisindeki voltamogramları 1) 0,1M; 2) 0,5M H_2SO_4 127
- Şekil 3.28. DP voltamogramlarından okunan E_p ve I_p değerlerinin pH değerlerine karşı E_p -pH(a), I_p -pH (b) eğrileri 129

- Şekil 3.29. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 1.Bölgede yer alan bazı derişimlerdeki DPV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-6} \text{M}$; 2) $2 \times 10^{-6} \text{M}$; 3) $6 \times 10^{-6} \text{M}$; 4) $8 \times 10^{-6} \text{M}$; 133
- Şekil 3.30. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 2.Bölgede yer alan bazı derişimlerdeki DPV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-5} \text{M}$; 2) $2 \times 10^{-5} \text{M}$; 3) $4 \times 10^{-5} \text{M}$; 4) $6 \times 10^{-5} \text{M}$; 5) $8 \times 10^{-5} \text{M}$; 3) $1 \times 10^{-4} \text{M}$. 134
- Şekil 3.31. $8 \times 10^{-7} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniğı ile elde edilen kalibrasyon grafiğı. 135
- Şekil 3.32. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 1.Bölgede yer alan bazı derişimlerdeki KDV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-6} \text{M}$; 2) $4 \times 10^{-6} \text{M}$; 3) $8 \times 10^{-6} \text{M}$; 138
- Şekil 3.33. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 2.Bölgede yer alan bazı derişimlerdeki KDV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-5} \text{M}$; 2) $2 \times 10^{-5} \text{M}$; 3) $4 \times 10^{-5} \text{M}$; 4) $6 \times 10^{-5} \text{M}$; 5) $8 \times 10^{-5} \text{M}$; 3) $1 \times 10^{-4} \text{M}$. 139
- Şekil 3.34. $8 \times 10^{-7} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniğı ile elde edilen kalibrasyon grafiğı. 140
- Şekil 3.35. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 1.Bölgede elde edilen bazı konsantrasyonlara ait serum DP voltamogramları 1) $6 \times 10^{-7} \text{M}$; 2) $2 \times 10^{-6} \text{M}$; 3) $6 \times 10^{-6} \text{M}$; 4) $8 \times 10^{-6} \text{M}$; 146
- Şekil 3.36. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 2.Bölgede elde edilen bazı konsantrasyonlara ait serum DP voltamogramları 1) $1 \times 10^{-5} \text{M}$; 2) $2 \times 10^{-5} \text{M}$; 3) $4 \times 10^{-5} \text{M}$; 4) $8 \times 10^{-5} \text{M}$; 5) $1 \times 10^{-4} \text{M}$; 147
- Şekil 3.37. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniğı ile elde edilen serum kalibrasyon grafiğı (1. ve 2. Bölgeye ait) 150
- Şekil 3.38. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniğı ile elde edilen 1. bölgeye ait serum kalibrasyon grafiğı 151

ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 2.1. Kullanılan Standart Madde	71
Çizelge 2.2. Tayinlerde Üzerinde Çalışılan İlaç Dozaj Formu ve Birim Doz İçeriği	71
Çizelge 2.3. Çözeltilerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	71
Çizelge 3.1. Fosfat tampon çözeltileri içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	80
Çizelge 3.2. BR tampon çözeltileri içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	83
Çizelge 3.3. Asetat tampon çözeltileri içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	85
Çizelge 3.4. Sülfürik asit çözeltileri içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	86
Çizelge 3.5. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 Fosfat tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	88
Çizelge 3.6. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 Fosfat tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	90
Çizelge 3.7. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	92
Çizelge 3.8. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	94

Çizelge 3.9. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	96
Çizelge 3.10. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5-1000 \text{mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri	98
Çizelge 3.11. pH 3,03 fosfat tamponunda 5mVs^{-1} tarama hızında potansiyele karşı pik akımı değerleri	110
Çizelge 3.12. Fosfat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	114
Çizelge 3.13. BR tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	117
Çizelge 3.14. Asetat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	119
Çizelge 3.15. Sülfürik asit çözeltileri içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyel değerleri	120
Çizelge 3.16. Fosfat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	122
Çizelge 3.17. BR tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	125
Çizelge 3.18. Asetat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri	127
Çizelge 3.19. Sülfürik asit çözeltileri içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyel değerleri	128
Çizelge 3.20. pH 2,00 – 12,01 arası, pH'a karşı okunan potansiyel değerleri	130

Çizelge 3.21. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (1 nolu eğriye ait)	132
Çizelge 3.22. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (2 nolu eğriye ait)	132
Çizelge 3.23. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (1 nolu eğriye ait)	136
Çizelge 3.24. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (2 nolu eğriye ait)	137
Çizelge 3.25. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın elde edilen 1.bölge için kalibrasyon eğrilerine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri	141
Çizelge 3.26. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV ve KDV teknikleri ile pik akımı gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları	142
Çizelge 3.27. Zolmitriptan içeren (2,5 mg) Zomig Rapimelt tabletlerin pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde elmas elektrotla, geliştirilen DPV ve KDV yöntemleriyle elde edilen analiz bulguları	143
Çizelge 3.28. Zolmitriptan içeren tabletlerin pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde voltametrik tekniklerle elde edilen % geri kazanım sonuçları	143
Çizelge 3.29. pH 3,03 fosfat tamponunda zolmitriptan içeren Zomig Rapimelt tabletlerden elde edilen analiz bulgularının karşılaştırmalı sonuçları	145
Çizelge 3.30. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile serum içerisinde elde edilen 1 nolu eğriye ait derişim-pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları	148
Çizelge 3.31. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile serum içerisinde elde edilen 2 nolu eğriye ait derişim-pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları	148

Çizelge 3.32. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen serum kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri	152
Çizelge 3.33. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde serum DPV ve KDV teknikleri için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları	153
Çizelge 3.34. DPV ve KDV teknikleri ile pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde insan serumunda elde edilen geri kazanım sonuçları	154

1. GİRİŞ

Baş ağrıları epidemiolojik olarak toplumda en sık rastlanan kronik ağrı sendromları arasında yer almaktadır. Baş ağrılarını değerlendirirken iki biçimde ele almak gerekir. Birincisi baş bölgesinde çeşitli organlardan kaynaklanan hastalıkların bir belirtisi olan sekonder baş ağrıları, ikincisi ise kronik bir ağrı sendromu olarak baş ağrısı. Tarihsel olarak baş ağrıları değişik biçimlerde sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaların çoğu baş ağrılarını niteliklerine göre sınıflandırma yoluna giderken Uluslararası Baş Ağrısı Derneği (IHS) tarafından 1988 yılında yapılan sınıflama baş ağrıları için hem bir sınıflama hem de tanı kriterlerini getirmiştir.

Migren, saatlerce sürebilen ve düzensiz aralıklarla tekrarlayan, şiddetli baş ağrısı ve bulantı nöbetleri ile karakterize sendromdur. (Migren genellikle, başın belli bir bölgesinde zonklayıcı ağrı şeklinde kendini gösterir ve 4 ila 72 saat arasında sürebilir). Klasik migrende nöbetler tipik olarak 'aura' ile başlar, buna görme alanı ile ilgili bozukluklar eşlik eder. Ayrıca hastanın bazı gıdalara fazla iştahı olur, kokulara (hiperosmi) ve ışığa (fotofobi) aşırı duyarlılık gelişir. Bu şikayetlerin asıl nedeni bilinmemektedir; ancak, beyin kan akımının bozulması olası patolojik mekanizma olarak kabul edilir. Genetik yatkınlık yanı sıra nöbetin ortaya çıkması için psikik stres, uykusuzluk, çeşitli besinler gibi tetikleyici faktörlerin de bulunması gerekir (Heinz Lüllmann, M.D.; Klaus Mohr, M.D.; Albrecht Ziegler, Ph.D.; Detlef Bieger, M.D.; Farmakoloji Atlası, 2001) .

Tüm dünyada en yaygın hastalıklardan biri olarak yaşanan migren, kadınlarda erkeklere oranla iki kat daha fazla görülür. Yapılan araştırmalar ülkemizde erişkinlik döneminde migren görülme sıklığının erkeklerde yüzde 11 iken kadınlarda yüzde 22 civarında olduğunu ortaya koyar. Bu, kadınların hormonal düzeniyle ilgili bir durumdur. Uzmanlar kadınlarda migrenin daha fazla görülmesini östrojen seviyesinin yüksekliği ile ilişkilendirmektedir.

Migrenin özellikleri nedir?

- Genelde ağrı başın tek tarafındadır;
- Ağrı zonklayıcı özellikte, orta veya şiddetlidir;
- Bulantı, kusma olur;
- Krizler atak halinde gelir;
- Ağrı 4 ila 72 saat sürer;
- Ağrı başlangıcında görme bozuklukları olur (auralı tipinde);
- Baş hareketleri ve fiziksel aktiviteyle ağrı artar;
- Işıktan ve sestten rahatsız olma.

Migrenin aurası nedir?

Aura, ön belirtili migrende rastlanan şikayetlerdir. Bu belirtilerin çoğu görmeyle ilgilidir. Hasta, parlak ışıklar, zig zag çizgiler gördüğünü ya da görmenin bulanıklaştığını, bir alanda veya bir bölgede görme kaybı olduğunu söyler. Ayrıca kolda, bacakta uyuşma, baş dönmesi, konuşmayla ilgili bozukluklar da görülür. 20–30 dakika sürer ve ardından ağrı başlar.

Migreni tetikleyen faktörler nelerdir?

- Yükseklik değişiklikleri,
- Hava kirliliği, sigara dumanı,
- Parlak ışık veya titreyen ışık,
- Yüksek ve devamlı gürültü,
- Parfüm kokusu, kuvvetli diğer kokular ve kimyasal maddeler,
- Hava durumundaki değişiklikler (basınç, sıcaklık ve nem değişikliği, lodos),
- Mevsimsel değişiklikler (sonbahar ve ilkbahar en kötü zamanlar),
- Açlık, öğün atlama,
- Çok ya da az uyuma, uyku düzenindeki bozukluklar,
- Uçak yolculukları,

- Doğum kontrol hapları,
- Kadınlarda hormonal değişiklikler (adet dönemi),
- Bazı yiyecek ve içecekler (çikolata, kabuklu kuruyemiş, kırmızı şarap vb).

Migren tedavisinin iki amacı vardır; akut nöbeti geçirmek ve daha sonraki nöbetleri önlemek.



1. 1. Migren nöbeti tedavisi

Semptomatik tedavide baş ağrısı için analjezikler (asetaminofen, asetilsalisilik asit) ve bulantı için metoklorpropamid veya domperidon kullanılır. Nöbet sırasında mide boşalması geciktiği için ilaç absorpsiyonu da gecikir ve bu nedenle etkin plazma düzeyi elde edilemez. Metoklorpropamid mide boşalmasını hızlandırarak analjezik ilaçların absorpsiyonunu hızlandırır. Kafein de mide boşalmasını hızlandırmaktadır. (Kafein, US FDA tarafından migrende OTC tedavide yerini almıştır).

Asetilsalisilik asit i.v. lizin tuzu olarak verildiğinde biyoyararlanımı tamdır. Bu nedenle akut nöbetlerde, i.v. enjeksiyon tavsiye edilir.

Analjezikler yeterli etki göstermezse ergotamin veya 5-HT_{1D} agonistlerinden biri akut nöbetin kontrolüne yardımcı olabilir ve başlamakta olan nöbeti önleyebilir. Olası etki mekanizması 5-HT_{1D} (veya 1B ve 1F) alt-tipi serotonin reseptörlerinin stimülasyonudur. Ergotamin sık kullanıldığında vasküler yan tesirleri ile ciddi periferik iskemi (ergotizm) oluşturabilir. Aşırı kullanımı (> haftada bir kez) sürekli vazodilatasyondan kaynaklandığı düşünülen ‘ rebound ’ baş ağrısına yol açar. Bu baş ağrısı, niteliğinin farklı olmasına karşın ergotaminin yanlışlıkla daha fazla kullanımını teşvik eder. Böylece ergotamin veya diğer analjeziklerin kronik suistimali sonucu periferik kan akımının geri dönüşümsüz bozuklukları ve böbrek fonksiyon bozuklukları gelişebilir. Oral yoldan kullanılan ergotamin, sumatriptan, eletriptan, naratriptan, rizatriptan ve zolmitriptanın biyoyararlanımları kısıtlıdır. Dihidroergotamin i.m. veya yavaş i.v. enjeksiyonla, sumatriptan subkutan olarak veya burun spreyi şeklinde uygulanabilir (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

1.1.1. Basit ve Kombinasyon Şeklinde Analjezikler ve NSAID'ler:

Hafif-orta şiddetli baş ağrıları olan hastalara basit analjezikler önerilir. Pek çok kişinin baş ağrısı tek başına veya kafein ile kombine aspirin (*Excedrin^R*) veya asetaminofen (parasetamol-1000mg dozda) gibi basit analjezikle rahatlayabilir. Mide boşalmasını hızlandırmak ve analjeziklerin absorpsiyonunu arttırabilmek için tedavide analjezikler antiemetiklerle de kombine halde kullanılabilir (*MigraMax^R* , aspirin + metoklorpropamid; *Migrave^R* , parasetamol / kodein + bukizin; *Paramax^R* , parasetamol + metoklorpropamid) .

NSAID (örneğin, naproksen)’ler bütün dünyada en fazla reçete edilen ilaçlar arasında yer alırken bunların kullanımı gastrik yan etkileri nedeni ile sınırlanmaktadır. NSAID’lerin yan etkileri arasında gastrointestinal rahatsızlık, peptik ülser ve kanama, karın ağrısı, kabızlık, diyare, bulantı, ender olarak paradoksik baş ağrısı, başta bozukluk hissi, uykuya eğilim, kulak çınlaması ve sıvı tutulması belirtilebilir.

1.1.2. Barbiturat Hipnotikler:

Butalbital içerikli ilaçların etkinliğine dair herhangi bir randomize çalışma yoktur. Bu ilaçların kullanımı daha belirgin ve daha az sorun yaratabilecek bir ilacın kullanılmadığı ya da etkisiz olduğu durumlarla sınırlı tutulmalıdır. Diğer migren ilaçlarının etkisiz kaldığı durumlarda bu ilaçlar oldukça etkin olabilen yedek ilaçlardır.

1.1.3. Ergotamin ve Dihidroergotamin (DHE):

Analjeziklerin yeterli etki sağlamadığı hallerde veya ciddi derecede yan etkiler söz konusu olduğunda ya da maliyet sorunu ortaya çıktığında, orta-ağır şiddetli migren ataklarının tedavisinde ergotamin kullanılır. Dihidroergotaminin ergotamine oranla daha az yan etkisi vardır. DHE hastaların çoğunda faydalı olduğundan baş ağrılarının tekrarlama oranı düşüktür. Bununla beraber, bulantıya veya tepki baş ağrılarına yol açma oranı ergotamine göre daha düşüktür.

Gebe kalmayı planlayanlarda, kontrolsüz hipertansiyonu bulunanlarda, böbrek ve karaciğer yetersizliği bulunanlar ve koroner, serebral veya periferik damar hastalığı bulunanlarda ergotamin veya DHE kullanımından kaçınılmalıdır.

1.1.4. Triptanlar:

Migren baş ağrılarının tedavisinde hem güvenli hem de etkindir. Orta- şiddetli migren atağı geçiren hastalarda uygulanabilir. Analjezikler yeterince denenmiş ve uygun cevap alınamamışsa triptanlar ile tedavi başlanması mümkün olabilir.

1.1.5. Opioidler:

Opioid dışındaki ilaçlar baş ağrısında yeterli rahatlama sağlayamıyorsa bunlar kullanılabilir.

1. 2. Profilaksi

Önleyici tedavi, migren atakları ayda iki veya üç defadan daha fazla görüldüğünde, günlük yaşamı etkileyecek kadar şiddetli olduğunda uygulanır ve genellikle her gün ilaç kullanımını gerektirir. Kısa süreli önleyici tedavi, hastanın tetikleyici etken ile karşılaşması durumunda ya da ağrı oluşturacak olaydan birkaç gün öncesinde uygulanabilir.

Önleyici tedavilere düşük dozla başlanır ve tedavi edici etkiler veya yan etkiler oluşana dek veya ilacın maksimum dozuna ulaşılan kadar yavaşça doz artırımına gidilmelidir. Tedavinin etkileri genellikle tedaviye başlama tarihinden itibaren dört hafta sonra fark edilir. Tedavi iki ila altı ay arasında sürebilir. Önleyici tedaviden optimum fayda sağlayabilmek için hastanın analjezikleri veya ergot türevi ilaçları aşırı kullanmıyor olması gerekir.

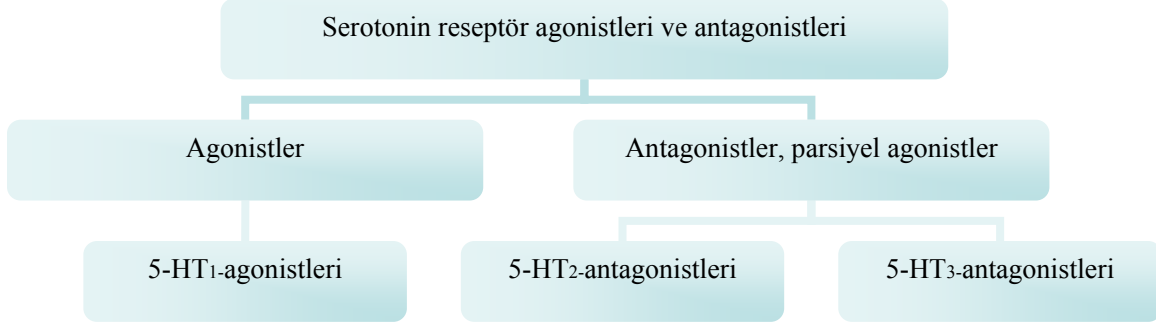
Propranolol, nadelol, atenolol ve metoprolol (β -blokörler), flunarizin (H₁-histamin, dopamin ve kalsiyum antagonistleri), pizotifen (5-HT antagonistisi), metiserjid (parsiyel 5-HT_{1D}-agonisti ve selektif olmayan 5-HT antagonistisi), NSAİİ'ler ve kalsitonin'den oluşan çeşitli ilaç grupları düzenli olarak uzun süre kullanıldıklarında migren nöbetlerinin sıklığını, şiddetini ve devam süresini azaltabilirler.

1. 3. Serotonin Reseptör Agonistleri ve Antagonistleri:

Serotonin triptofandan üretilir ve sindirim sistemindeki enterokromofin hücrelerinde ve MSS sinir hücrelerinde depolanır. Salındıktan sonra monoaminoksidazla metabolize olur. Vücutta fazla üretimi en önemli metabolitinin 5-hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) idrarda ölçümüyle belirlenir.

5-HT₁ reseptörleri beyindeki en önemli reseptörlerdir ve potasyum iletimini arttırarak sinaptik inhibisyonu yönetir. 5-HT₂ reseptörleri hem beyin hem de periferik dokularda önemlidir. 5-HT₃ reseptörleri başta kemoreseptif alan ve kusma merkezi olmak üzere MSS'nde ve periferik duyu ve enterik sinirlerde bulunur. Serotoninin klinik kullanımı

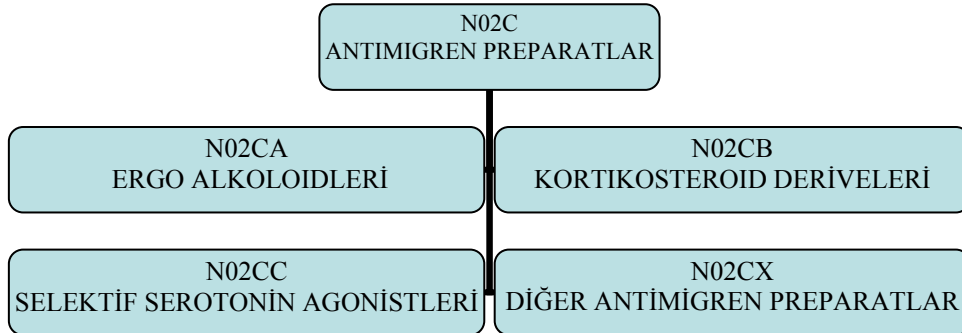
yoktur. 5-HT_{1D}-agonistleri akut migren ve zonklayıcı tipte baş ağrısı tedavisinde endikedir. Bir indol bileşiği olan *sumatriptan* prototiptir. *Naratriptan*, *rizatriptan* ve *zolmitriptan* benzerleridir. Bu ilaçlar oral olarak etkilidir sumatriptanın paranteral uygulama için de formları mevcuttur.



1. 4. Türkiye'de Kullanılan Antimigren İlaçlar :

ATC grubuna göre sınıflandırma:

ATC Index, Dünya Sağlık Teşkilatı(WHO) tarafından oluşturulan ilaç sınıflandırma sistemidir. Bu sınıflandırma; Anatomik, Terapötik, Kimyasal (ATC) sisteme göre yapılmıştır. İlaçların kullanımı ile ilgili temel ve güvenilir bilgilerin standardizasyonu ve validasyonu ile ilgili problemlerin identifikasyonu amaçlanmıştır.



1.4.1. N02CA. Ergo Alkaloitleri;

01 Dihidroergotamin; DHE migren tedavisinde paranteral veya intranasal yoldan uygulanan yarı sentetik bir ergot alkaloididir. Enjektabl preparatları yıllarca migren tedavisinde kullanılmıştır. Günümüzde orta şiddetteki migren olgularının tedavisinde naproksen gibi daha az toksik ilaçlar daha etkili buldukları için, enjektabl DHE uygulanması şiddetli migren olgularının tedavisinde tercih edilmektedir. İntranasal yoldan uygulanan DHE migren baş ağrısı çeken hastaların %47–70’inde başarılı bulunmuştur. DHE oral ve paranteral yoldan ortostatik hipotansiyon tedavisi ve profilaksisi için de kullanılır. Türkiye’de kullanılan ticari müstahzarı yoktur (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

02 Ergotamin; Ergot (çavdar mahmuzu), *Claviceps purpurea* adlı mantarın oluşturduğu bir drogtur. Drog, ergot alkaloidleri denilen bazı özgül alkaloidler içerir. Ergotamin tartarat tuzu halinde kullanılır. Ergotamin tartaratın en önemli farmakolojik özelliği güçlü vazokonstriktör olmasıdır. Ergotamin migren krizinin tedavisinde en çok kullanılan ilaçtır. Oral, sublingual, paranteral (subkutan, i.m, i.v), rektal veya inhalasyon yoluyla kullanılır. Oral yoldan alındığında gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu zayıftır ve migren sırasında ortaya çıkan gastrik staza bağlı olarak daha da azalabilir. Oral yoldan biyoyararlanımının çok düşük olması nedeniyle, sublingual, rektal ve inhalasyon yoluyla verilmeye özel preparatları geliştirilmiştir. Ancak, bu farmasötik şekillerle bile sistemik biyoyararlanımı %5’tir. Ergotamin karaciğerde önemli ölçüde metabolize olur; metabolitlerin büyük bölümü safra yoluyla atılır. Bazı ergotamin preparatları kafein de içerir. Kullanıldığı müstahzarlar: *Ergafein^R* draje; 0.25mg ergotamin tartarat + 150mg parasetamol + 60mg kafein (İ.E. ULAGAY). *Avmigran^R* film tablet; 0.75 mg ergotamin tartarat + 20mg meloksamin dihidrojen sitrat + 80mg kafein + 325mg parasetamol (İ.E. ULAGAY). *Cafergot^R* tablet; ergotamin tartarat 1mg + kafein 100mg (NOVARTİS) (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

04 Metiserjid: Türkiye’de kullanılan ticari müstahzarı yoktur.

07 Lisurid: Lisurid maleat, dopamin agonisti bir ergot türevidir. Parkinson hastalarında kullanılır.

51 Dihidroergotamin kombinasyonları

52 Psikoleptikler dışındaki ergotamin kombinasyonları

72 Psikoleptiklerle ergotamin kombinasyonları

1. 4.2. N02CB. Kortikosteroid Derivelere

01 Flumedroksan

1. 4.3. N02CC Selektif Serotonin Agonistleri

01 Sumatriptan: Yapısı bakımından serotonine benzeyen antimigren bir ilaçtır. Auralı veya aurasız migrenin tedavisinde kullanılır. Migrenin uzun süreli profilaksisi için kullanılmaz. Sumatriptan subkutan. uygulamaya özel paranteral preparatları, oral yoldan kullanılmaya özel tabletleri ve son zamanlarda çıkarılan nasal spreylere şeklinde bulunur. Suppozituar formu da araştırılmaktadır. DHE ile karşılaştırıldığında daha çabuk etki gösterir; ancak, baş ağrısının tekrar başlaması DHE'e göre daha sık karşılaşılan bir durumdur. Sumatriptan, 5-HT reseptörlerinin 1D alt tipini stimüle eder. İlacın terapötik etkisi karotid dolaşımındaki enflamasyonlu ve dilate olmuş kraniyel kan damarlarını selektif bir şekilde büzmesine (vazokonstriksiyon) bağlı olarak ortaya çıkar. Sumatriptan oral, subkutan. veya intranasal yoldan verilir. Subkutan yoldan verildiğinde absorpsiyonun çok daha kararlı plazma doruk konsantrasyonları oluşturur. Ancak, oral veya intranasal yoldan verildiğinde absorpsiyonu daha hızlıdır. Oral yoldan absorpsiyonu midenin boşalma zamanı ve ince bağırsaktan geçiş süresinden etkilenir. *Imigran^R* film tablet, *Imigran^R* nasal sprey, *Imigran^R* subject kartuş (GLAXOSMITHKLINE) (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

02 Naratriptan: Sumatriptana benzeyen antimigren etkili bir serotonin reseptör agonistidir. Yarı ömrünün daha uzun olması ve buna bağlı olarak daha uzun süreli etki göstermesi nedeniyle ‘sumatriptan’ dan ayrılır. Oral yoldan kullanılır. Tabletlerin absorpsiyonu iyidir oral biyoyararlanım yaklaşık %70’dir. Renal ve hepatik yetmezliği olan hastalarda dozunun ayarlanması gerekir. 5-HT reseptörlerinin 1D ve 1B alt reseptörlerine yüksek affinite ile bağlanır. *Naramig^R* film tablet; 2.5 mg (GLAXOSMITHKLINE) (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

03 Zolmitriptan: Zolmitriptan oral yoldan etkileri sumatriptana benzer; fakat, ondan farklı olarak kan-beyin engelini aşabilir. Zolmitriptan FDA tarafından 26 Kasım 1997’de onaylanmıştır. Migren tedavisi için İngiltere ve İsveç’te 1997 yılında onay almıştır. FDA oral dağılan tabletlerini (*Zomig-ZMTTM*) Şubat 2001 ve nasal spreyine (*Zomig^R*) 1 Ekim 2003’te onay verilmiştir. Zomig nasal sprey İsveç, İngiltere, Almanya ve Avusturya’da onaylanmıştır. Türkiye’de film tableti Ekim 2000’de ve hızlı eriyen tableti (*Zomig rapimelt^R*) Eylül 2004 tarihinde onaylanmıştır. (Ayrıntılı bilgi için Bölüm 1.5’e bakınız.) (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

04 Rizatriptan: Yetişkinlerde auralı ve aurasız migren ataklarının akut tedavisinde oral yoldan kullanılan antimigren bir ilaçtır. Rizatriptan, sumatriptan’a göre daha lipofilik olduğu için biyoyararlanımı ve santral sinir sistemine olan penetrasyonu daha fazladır. Rizatriptan’ın koroner arterlerde yaptığı büzücü etkinin sürekliliği Dihidroergotamin ve Ergotamin’e göre daha azdır. Rizatriptan oral yoldan kullanılır. İki farklı katı farmasötik formu vardır. Oral yoldan hızla absorbe olur; biyoyararlanımı yaklaşık %45’tir. Plazma doruk konsantrasyona ulaşma süresi 1-1.5 saattir. *Maxalt^R* tablet ve *Maxalt-MLT’nin* biyoyararlanımları ve doruk konsantrasyonları birbirine benzer (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

05 Almotriptan: Türkiye’de kullanılan müstahzarı yoktur.

06 Eletriptan: Akut migren baş ağrısının tedavisinde kullanılan bir serotonin agonistidir. Oral eletriptan ve sumatriptan karşılaştırıldığı bir klinik çalışmada 80mg eletriptan ile etkinin başlama süresi, baş ağrısına göre düzelme yanıt oranı, ağrısız düzelme yanıt oranı ve migrenle ilişkili belirtilerin iyileşmesi bakımından sumatriptan 100mg'a üstün bulunmuştur. Eletriptan'ın sumatriptana kıyasla diğer üstünlükleri oral biyoyararlanımının daha iyi ve yarı-ömrünün daha uzun olmasıdır. FDA eletriptan (Relpax)'ı 29Ekim 1999'da onaylamıştır. Eletriptan oral yoldan uygulanır. Oral uygulamayı takiben GI kanaldan (en az %81) hızlı ve iyi bir şekilde emilir. Kadınlarda ve erkeklerde mutlak oral biyoyararlanımı yaklaşık %50'dir. Hafif, orta ve şiddetli renal bozukluğu olan olgularda, anlamlı hiçbir değişiklik görülmemiştir. *Relpax*^R film tablet 40mg/3tablet (PFİZER) (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı) .

07 Frovatriptan: Frovatriptan auralı ve aurasız akut migren krizinin tedavisinde kullanılan bir santral serotonin (5-HT) reseptör 1B ve 1D agonistidir. Diğer ikinci kuşak reseptör agonistleri (triptanlar) gibi, frovatriptan da sumatriptan'a göre daha lipofiliktir. Diğer triptan grubu ajanlarla karşılaştırıldığında baş ağrısının tekrarlama oranı daha düşüktür. Frovatriptan ABD'de FDA tarafından Kasım 2001'de ve Türkiye'de Sağlık Bakanlığı tarafından 22 Mart 2006'da onaylanmıştır. Oral yoldan kullanılır. Mutlak biyoyararlanımı düşüktür. Bu durum verilecek dozu etkilememesine rağmen cinsiyete göre değişiklik gösterir (erkeklerde %20 ve kadınlarda %30). Oral yoldan alımını takiben doruk plazma konsantrasyonlarına 2-4 saatte ulaşılır. %30 renal yoldan elimine edilirken, %60 kadarı da feçesle atılır (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı).

1. 4.4. N02CX Diğer Antimigren Preparatlar

01 Pizotifen: Yapıca trisiklik antidepresanlara benzeyen bir antihistaminik ve serotonin antagonistidir. Serotoninden başka triptamin'in de etkilerini antagonize eder. Migrene karşı iyi bir profilaksi sağlar, krizlerin sıklığını azaltabilir. Profilaksi amaçlı kullanılan propanolol ve metiserjid gibi diğer ilaçlarla karşılaştırıldığında yan etkileri en az olan ilaçtır. Oral yoldan kullanılır. Gastrointestinal kanaldan hızlı ve

tama yakın şekilde absorbe olur (yaklaşık %80). Verilen dozun %55'i metabolitleri halinde, %1'den azı ise değişmeden idrarla elimine edilir. Bu nedenle böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekebilir (RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı).

02 Klonidin: Oral ve topikal yoldan uygulanan antihipertansif bir ilaçtır.

03 İprazokrom: Türkiye'de kullanılan müstahzarı yoktur.

05 Dimetotiazin: Türkiye'de kullanılan müstahzarı yoktur.

06 Oksetoron: Türkiye'de kullanılan müstahzarı yoktur.

1. 5. Zolmitriptan Hakkında Bilgi

Preklinik çalışmalarda zolmitriptanın, vasküler insan rekombinant 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptör alt tiplerinin selektif agonisti olduğu gösterilmiştir. Zolmitriptan, yüksek affiniteli bir 5HT/1B/1D reseptör agonistidir ve ılımlı bir 5-HT_{1A} reseptör affinitesine sahiptir.

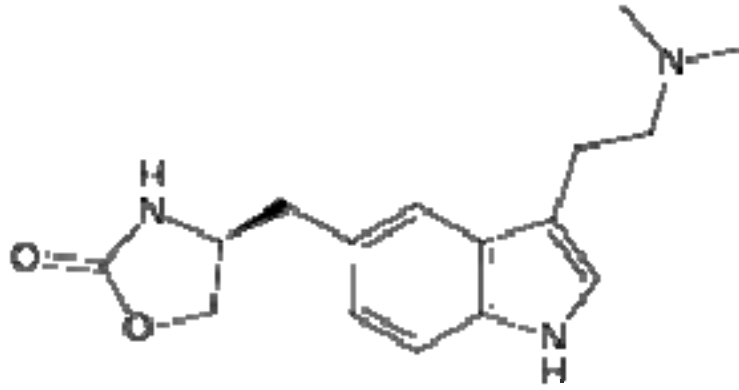
İnsanların kranial kavitelerinde bulunan ağrıya duyarlı oluşumların, kan damarları veya dura mater damarları olduğu gösterilmiştir. Hayvan modellerinde zolmitriptan verilmesi, damarlardaki 5-HT₁ reseptörleri üzerindeki agonist aktivitesi nedeniyle vazokonstriksiyona yol açar ve buna kalsitonin geniyle bağlantılı peptid, vazoaaktif intestinal peptid ve P maddesi salıverilmesinin inhibisyonu, migren ataklarındaki ağrının giderilmesini sağlayan mekanizmalar olarak düşünülmekte ve ağrının , ilacın alınmasını izleyen 1 saat içerisinde giderilmesi, bulantı, kusma, fotofobi ve fonofobi gibi migren ataklarına eşlik eden belirti ve semptomların ortadan kalkması, bu düşünceyi desteklemektedir.

Periferdeki bu etkilerine ek olarak 'zolmitriptan' ın Merkezi Sinir Sisteminde de etkili olması, bu ilacın hem periferde hem de beyin sapındaki migren merkezlerinde etki

göstermesine ve aynı hastadaki bir dizi migren atağında hep aynı şekilde etkili olmasına olanak vermektedir.

Zolmitriptan oral yoldan kullanılır. Oral yoldan alındığında absorpsiyonu iyidir ve plazmada doruk konsantrasyona 2 saatte ulaşır. Ortalama mutlak biyoyararlanımı %40 düzeyindedir. Besinler biyoyararlanımı etkilemez. Zolmitriptan ve aktif N-desmetil metabolitinin ortalama eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 3 saattir (Oğuz Kayaalp, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2002).

1.5.1. Zolmitriptan'ın Kimyasal Yapısı:



Şekil 1.1. Zolmitriptan'ın açık formülü

Okunuşu: (4S)-4- {[3-(2-dimetil amino etil)-1H-indol-5-il]metil}-1,3-oksazolidin-2-on

Molekül Ağırlığı : 287.357g/mol

Formülü: (C₁₆H₂₁ N₃O₂)

Bileşim yüzdesi: C %66,87; H %7,37; N %14,62; O %11,14

1.5.2. Farmakokinetik Özellikleri:

Zolmitriptan oral yolla alınmasını takiben, hızla ve iyi bir şekilde (dozun en az %64'ü) emilir. Asıl bileşiğin ortalama mutlak biyoyararlanım oranı %40'tır. Yine bir 5HT_{1B/1D} reseptör agonisti olan zolmitriptanın aktif metaboliti N-desmetil metabolit, zolmitriptanın 2-6 katı daha güçlüdür.

Zolmitriptan vücuttan daha çok, karaciğerde biyotransformasyon geçirerek oluşan metabolitlerinin böbrekler yoluyla atılması şeklinde metabolize olur. Zolmitriptanın başlıca üç metaboliti vardır: indol asetik asit (plazma ve idrardaki ana metabolit), N-oksit ve N-desmetil analogları. Bunlardan N-desmetil metabolit aktiftir, diğerleri değildir. Karaciğer hastalığının zolmitriptanın farmakokinetiği üzerindeki etkisi incelendiğinde, orta dereceli karaciğer bozukluğu olan hastaların AUC ve C_{max} değerleri sırasıyla %94 ve %50, ileri dereceli karaciğer hastalığı olan hastalarda ise %226 ve %47 arttığı gösterilmiştir.

Zolmitriptanın plazma yarı ömrü sağlıklı gönüllülerde 4,7 saat, orta derecede karaciğer bozukluğu olan hastalarda 7,3 saat ve ileri derecede karaciğer bozukluğu olan hastalarda ise 12 saattir. Zolmitriptanın ortalama eliminasyon yarı ömrü 2,5-3 saat kadardır.

Sağlıklı küçük bir gönüllü grubunda, zolmitriptan ergotaminle birlikte kullanıldığında farmakolojik etkileşim görülmemiştir. Zolmitriptanın ergotamin/kafein ile birlikte verilmesi, iyi tolere edilmiş ve yan etkilerde ya da kan basıncı değişikliklerinde, zolmitriptanın tek başına kullanılmasına kıyasla herhangi bir artış görülmemiştir.

Zolmitriptanın ileri yaşta, sağlıklı insanlardaki farmakokinetiği, sağlıklı genç gönüllülerinkine benzer bulunmuştur (Oğuz Kayaalp, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2002).

1.5.3. Kullanım Şekli ve Dozu:

Bir migren atağı sırasında önerilen zolmitriptan dozu 2,5 mg'dır. Bu doz aç veya tok karına alınabilir. İlaç sadece migren atağı başladığı zaman alınmalıdır, her gün düzenli kullanım için değildir. Eğer semptomlar devam eder ve 24 saat içerisinde tekrarlırsa, alınacak ikinci bir dozun etkili olduğu gösterilmiştir. İkinci bir doz gerekiyorsa, dozlar arasında en az 2 saat olmalı ve 24 saatlik bir zaman zarfında toplam 10 mg'dan fazla alınmamalıdır. 50 mg'lık bir tek oral doz alan gönüllülerde genellikle sedasyon görülmüştür. Aşırı doz alan hastaların en az 15 saat boyunca veya semptomlar ve belirtiler devam ettiği sürece izlenmesi gerekir. Zolmitriptanın spesifik bir antidotu yoktur. Şiddetli intoksikasyon durumunda yoğun bakım önlemlerinin alınması ve bu arada açık bir hava yolu sağlanması ve devam ettirilmesi, yeterli oksijenasyon ve ventilasyon sağlanması, kardiyovasküler sistemin izlenmesi ve desteklenmesi gerekmektedir.

Zolmitriptan içeren hızlı çözünen tabletler (*Zomig rapimelt^R*), hastanın dilinin üstüne yerleştirildikten sonra hızla erir ve tükürük yardımıyla yutulur. Ağızda çözünen tabletler alınırken su içmek gerekli değildir ve su içmenin uygun olmadığı durumlarda veya konvensiyonel tabletleri yutmak istemeyen hastaların kullanımı için uygundur (Oğuz Kayaalp, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2002).

1. 6. Çalışmanın Amacı:

Bu çalışmada, 'zolmitriptan' ın bor ile dope edilmiş elmas elektrot kullanılarak elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve böylece mekanizması hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Farmakolojik aktivite ve biyotransformasyonun bu maddenin yapısındaki yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen redoks merkezleriyle ilişkili olmasından dolayı bu ilacın voltametrik davranışlarına ait elde edilecek bilgi son derece önemlidir. Bu nedenle dönüşümlü, diferansiyel puls ve kare dalga voltametrik yöntemleri kullanılarak molekülün elektrokimyasal davranışlarının; pH, destek elektroliti, tarama hızı ve derişim ile değişiminin incelenmesi ve bu sonuçlara göre en iyi koşulların saptanabilmesi amaçlanmıştır. Saptanan bu en iyi koşulda da

voltametik miktar tayini yapılması ve geliştirilecek bu yöntemin farmasötik dozaj formlarına ve biyolojik sıvılara uygulanması planlanmıştır. Bu madde üzerinde yapılmış herhangi bir elektrokimyasal çalışma olmadığı için geliştirilen yöntem orijinal bir yöntem olacaktır.

Bu maddeye ait literatürlerdeki çalışmalar son derece sınırlı olup, daha çok spektrofotometrik, kromatografik, kütle spektrofometrisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemlerinden oluşmaktadır.

Katı elektrotlarla yapılan voltametik analizler maddenin farmakolojik aktivitesi ve biyotransformasyonu hakkında bilgi vermesinin yanında;

1. Modifiye elektrot geliştirilmesiyle o maddeye duyarlı analiz sağladığı için,
2. Katı elektrotlarla yapılan çalışmalar, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi için dedektör geliştirilmesine yardımcı olduğu için,
3. Bu elektrotlarla geliştirilen yöntemlerin daha sonra mikro elektrotlarla in-vivo tayinlerde kullanılabileceği için ayrıca önem taşımaktadır.

1. 7. Daha Önce Uygulanmış Analiz Yöntemleri

1.7.1. Spektrofotometrik Yöntemler

Raza A, Ansari TM, Niazi SB (2007) zolmitriptanın farmasötik preparatlar ve ilaç dozaj şekillerinden spektrofotometrik olarak tayinini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada zolmitriptanın asetonitril ve %0,2'lik 2,3-dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinon karışımındaki transfer reaksiyonları incelenmiştir. Sonuçlar analitik ve istatistiksel olarak valide edilmiştir. Sonuçlar yöntemin doğru, duyarlı, kesin ve tekrarlanabilir olduğunu göstermiştir.

Aydoğmuş Z ve Inanlı I (2007), tabletlerden zolmitriptan'ın tayini için ekstraktif spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Bunlar, ilaç dozaj formlarından da analize olanak veren basit ve hassas yöntemlerdir. İstatistiksel olarak sonuçlar karşılaştırıldığında yöntem YPSK ile benzerlik gösterir.

1.7.2. Kromatografik Yöntemler

Kilic ve ark. (2007), zolmitriptan ve onun aktif metaboliti N-desmetil zolmitriptanın insan plazmasından tayinini elektro spreylendirilmiş iyonizasyonlu YPSK- tandem kütle spektrometrisi yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Analit ve iç standart madde (paroksetin), etil asetat: diklorometan (4:1) ile sıvı-sıvı ekstraksiyonundan geçirilmiştir. Mobil faz olarak asetonitril:5mM amonyum asetat: formik asit (50:50:0,053, h/h/h) kullanılmıştır. Zolmitriptan ve aktif metaboliti N-desmetil zolmitriptanın, 0,25-20ng/ml aralığında tayini yapılabilmektedir. Bu çalışma farmakokinetik ve biyoeşdeğerlilik çalışmalarına kaynak olmaktadır.

Vishwanathan ve ark.(2000), antimigren ilaçların farmakokinetiğini tespit edebilmek için hızlı, hassas ve seçici bir yöntem geliştirmişlerdir. YPSK- tandem kütle spektrometrisi ile insan serumundan rizatriptan, zolmitriptan, naratriptan, sumatriptan gibi ilaçların miktar tayinleri yapılmıştır.

Chen ve ark.(2006), zolmitriptanın insan plazmasından hassas ve seçici olarak tayinini YPSK- tandem kütle spektrometrisi ile yapmışlar ve yöntemi valide etmişlerdir. 0,5ml plazma kullanarak 0,05-30ng/ml arasında doğrusallık elde edilmiştir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile dietil eter ve diklorometan kullanılarak plazmadan zolmitriptan ve iç standart madde(difenhidramin) ekstre edilmiştir. Mobil faz olarak; asetonitril: su: formik asit (70:30:0,5, h/h/h) kullanılmıştır. Bu metot, 20 adet sağlıklı gönüllüde oral yoldan alınan 5mg zolmitriptan içeren tabletin alımından sonra ilacın farmakokinetiği hakkında başarılı bir bilgi vermektedir.

Yu LS, Yao TW, Ni SQ, Zeng S(2005) 5-HT_{1B/1D} reseptör agonisti zolmitriptanın enantiyomerlerini ayırmak ve miktar tayini için kiral YPSK'i kullanmışlardır. S ve R-zolmitriptan sıçanların karaciğer mikrozomal hücrelerinden kloroform/isopropanol (75:25,h/h) ile ekstraksiyonla elde edilmiştir ve enantiyomer seçici Chiralpak AD-H kolonundan geçirilmiştir. Mobil faz olarak hekzen: isopropanol: trietil amin (72:28:0,25, h/h/h) kullanılmıştır. R ve S-zolmitriptan için kalibrasyon eğrileri doğrusal bulunmuştur.

Clement EM, Franklin M (2002) zolmitriptan, majör metaboliti N-desmetil zolmitriptan, zolmitriptan N-oksit ve zolmitriptan analogu katı faz ekstraksiyonundan sonra YPSK yöntemi ile analiz edilmiştir. Kalibrasyon grafiği, 2-20ng/ml aralığında doğrusal bulunmuştur.

Srinivasu MK ve ark. (2005), kiral YPSK yöntemiyle zolmitriptan ve onun potansiyel kirliliğinin farmasötik formlar ve ilaç dozaj formlarından tayinini yapmışlardır. YPSK ayırımında normal faz kromatografisi uygulanmış; hareketli faz olarak heksan: isopropanol: metanol: dietil amin (75:10:15:0,1, h/h/h/h) kullanılmıştır. Yöntemde UV dedektör kullanılmış ve tamamen valide edilmiş, sağlamlığı ve doğruluğu kanıtlanmıştır. Yöntemin zolmitriptan ve onun potansiyel kirliliği için uygun, doğru ve kesin olduğu saptanmıştır.

Rao BM ve ark. (2006), migren ataklarının Semptomatik tedavisinde kullanılan rizatriptan benzoat'ın kantitatif (miktar) tayinini ve stabilite çalışmalarını YPSK ile yapmışlardır. Rizatriptan numunelerini asit (0,5N hidroklorik asit) ve baz (0,1N sodyum hidroksit) ile muamele ettirmişler; %3,0 hidrojen peroksit ile oksidasyona uğratmışlar; su ile hidrolize etmişler; 60°C'de ısıya maruz bırakmışlar ve fotolitik ayrılmaya uğratmışlardır. Çalışmanın validasyonu tamdır.

Zhang ZJ, Xu FG, Tian Y, Li W ve Mao GG (2004); zolmitriptan'ın insan kanından ayırımı ve miktar tayini için elektro spreyleniyonizasyonlu YPSK-tandem kütle spektrometresi yöntemini geliştirmişler ve valide etmişlerdir. İç standart madde ve 1,0M sodyum hidroksit ilavesinden sonra plazma numunelerini metilen klorür:etil asetat (20:80, h/h) karışımıyla ekstre etmişlerdir. Kullandıkları metodun hassas ve seçiciliğini 6 farklı plazma örneği ile çalışarak göstermişlerdir. Önerilen bu yöntem zolmitriptan'ın tespit ve tayini için farmakokinetik, biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlilik çalışmalarına kaynak teşkil etmektedir.

Rao BM ve ark. (2005), zolmitriptan'ın tayini için dönüşümlü faz sıvı kromatografisi yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntem ilaç dozaj formlarından zolmitriptan tayini için kullanılabilir. Kromatografik ayırım, Waters X Terra RP 18 kolonunda yapılmıştır.

Buradan sonra iki ayrı hareketli faz kullanılarak analize devam edilmiştir. Bu mobil fazlar; A, pH:9,85 fosfat tamponu:metanol:asetonitril (70:20:10, h/h/h) ve B, pH:9,85 fosfat tamponu:asetonitril (30:70, h/h). Yöntem zolmitriptan ve potansiyel kirlilikleri üzerinde başarılı sonuçlar vermiştir.

Srinivasu MK ve ark. (2005), zolmitriptan'ın enantiyomerik ayrımı için kiral sıvı kromatografisi yöntemini kullanmışlardır. İzomerlerin ayrımı için Chiralpak AD-H kolonunu kullanmışlardır. Bu şekilde S-izomer ayrıldıktan sonra R-izomerin miktar tayini yapılmıştır. Kalibrasyon grafiği R-izomer için 250-750 ng/ml aralığında doğrusal bulunmuştur. Yöntem R-izomerin miktar tayini için uygun bulunmuştur.

1.7.4.Diğer Çalışmalar

Wild MJ, McKillop D ve Butters CJ (1999), zolmitriptan'ın metabolizmasında insan sitokrom P450 enziminin etkisini incelemişlerdir. Zolmitriptan insan karaciğer hücrelerinden elde edildiğinde aynı zamanda N-desmetil metaboliti de elde edilmiştir. Hem karaciğer hücrelerinden hem de mikrozoamlardan bu metabolit elde edilmiştir. Zolmitriptan'ın metabolizmasında temel olarak CYP1A2 etkilidir. Zolmitriptan'ın aktif metaboliti N-desmetil zolmitriptan'ın metabolizmasında MAO-A da etkili olmaktadır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Ölçme Yöntemi

Bu çalışmada dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) kullanılmıştır. Voltametri ve polarografi ilaç analizlerinde ilk kez Çekoslovak Farmakopesinde kullanılmıştır (1954), (Patriarce ve ark., 1979; Willard ve ark., 1981). Halbuki polarografinin farmasötik preparatlara uygulanması 1930'lara kadar dayanır. Bu yöntemle saf etken maddenin yanında çok kompleks bir karışım olsa bile (çözünmeyen ilaç katkı maddeleri, serum ya da plazmada bulunan endojen maddeler, v.b.) aktif maddelerin analizi duyarlılıkla ve herhangi bir girişim olmaksızın yapılabilmektedir. Pek çok ilaç etken maddesi ve vücutta bulunan fizyolojik aktif maddeler, polarografik veya voltametrik yöntemlere cevap vermektedir. Bu yöntemlerin diğer analitik yöntemlere üstünlüğü ise az miktarda maddenin analiz için yeterli olması sebebiyle ucuz olması, kolay uygulanabilirliği, analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması, fazla çözücü gerektirmemesi ve hassas bir yöntem olmasıdır. (Zuman ve Brezina, 1962; Kissinger ve Heineman, 1996)

2.1.1. Voltametri

Elektroanalitik yöntemler bilimsel çalışmalarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel materyallere, farmasötik maddelere, biyolojik örneklerle (ya da sıvılara) uygulanabilmektedir.

Elektroanalitik yöntemler, hücrenin elektrokimyasal özelliklerinin izlenmesine dayanan yöntemlerdir. Elektroanalitik teknikler ile çok düşük tayin sınırına ulaşabilir (*yaklaşık 10^{-10} M*) ve mekanizma tayinine olanak veren yöntemlerdir. Çoğu kez, bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için spesifiktir. Kullanılan cihazlar nispeten ucuzdur. Kimyasal türlerin derişiminden çok, aktiviteleri hakkında bilgi verir. Bu özelliklerinden dolayı, elektrokimyasal yöntemler diğer yöntemlerden daha avantajlıdır.

Voltametri ve polarografi, elektroanalitik yöntemlerin en yaygın kullanılan türleridir.

Çalışmamızda uygulanan yöntem olan voltametri; yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen (elektroaktif, elektrot tepkimesine giren) organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım şiddeti-gerilim eğrilerinin (voltamogram) karakteristiklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir. (Bockris J.O.M. ve ark.1970; Yıldız,A., Genç, Ö. 1993)

Voltametri 1922 yılında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından bulunan polarografiden geliştirilmiştir. Voltametrinin hala önemli bir dalı olan polarografi, diğer voltametri tiplerinden çalışma mikroelevodu olarak damlayan cıva elektrodu kullanılması bakımından farklılık gösterir (Bond, A.M., 1980). Heyrovsky polarografi keşfinden ve geliştirilmesinden dolayı 1959 yılında Nobel Kimya Ödülünü kazanmıştır

Voltametrinde kullanılan mikro elektrot, iç çapı 0,03-0,05 mm olan cam bir kapiller borudan akarak büyüyen ve belli bir büyüklüğe geldiği zaman koparak düşen bir cıva damlası ise, yöntem '*polarografi*' ve elde edilen akım-gerilim eğrisi ise '*polarogram*' olarak adlandırılır (Polarografi, voltametrinin ilk bulunan ve kullanılan tipidir).

Önceki yıllarda damlayan cıva elektrot bazı üstünlükleri nedeniyle voltametrik çalışmalarda sıkça kullanılmaktaydı. Bu üstünlükleri ise; her yeni damla ile yeni ve temiz bir metal yüzeyi oluşturulduğundan elde edilen akım önceki damlalardaki elektroliz olaylarının etkisinde kalmaz, bu nedenle de tekrar edilebilir sonuçlar elde edilir. Elektrot yüzeyi pratikçe her zaman aynı kalır.Yine, cıvanın kimyasal açıdan inert oluşu ve cıvanın hidrojen indirgenmesine karşı gösterdiği yüksek aşırı gerilimden dolayı bağıl olarak büyük negatif gerilimlerde kullanılabilir ve bu elektrotla birçok indirgenme tepkimesi incelenebilir (Birçok metal iyonu cıva elektrot üzerinde tersinir olarak indirgenir. Cıva, protondan hidrojen gazı oluşmasına karşı büyük bir aşırı gerilim oluşturur. Bu nedenle, birçok madde asit ortamda dahi

protondan önce indirgenebilir). Elektrodun pasifleşmesi veya zehirlenmesi gibi olaylar meydana gelmez. Başka bir deyişle reaksiyonlar tekrarlanabilir türdendir.

Bütün bu üstün özelliklerine karşın bu elektrotun bazı sınırlamaları da vardır. Metalik civanın düşük pozitif gerilimde bile kolayca yükseltgenebilmesi, ($\sim +0.4V$) ve kalomel oluşturması cıva elektrodun kullanılmasını sınırlayan en önemli özelliklerden birisidir. Ayrıca kullanılan civanın temizlenmesinin oldukça zahmetli olması, damlama süresinin ayarlanmasının zorluğu, civanın damlatılmasında kullanılan kılcalların kolayca tıkanabilmesi, cıva buharlarının toksik olması ve bu nedenle tekniğin doğrudan dokuya uygulanamaması bu elektrotun kullanılmasındaki başlıca sorunlardır. Ayrıca kullanılan civanın çok saf olması istenir; ancak, bunun her zaman bulunması oldukça güçtür. Damlayan civanın başka bir mahsuru, klasik yöntemin duyarlılığını yaklaşık $10^{-5} M$ 'a sınırlayan faradaik olmayan artık akım veya yükleme akımı oluşmasıdır. Damlayan cıva elektrodun can sıkıcı diğer bir yanı da akım maksimumları vermesidir.

Damlayan cıva elektrotu yukarıda belirtilen sorunları ortadan kaldırmak için 1940'lı yılların sonunda Skobets ve arkadaşları tarafından başlatılan ve günümüze kadar süren katı elektrot çalışmaları bu yönetime geniş bir uygulama alanı sağlamıştır. (Adams ve ark. 1958; Skoog ve ark.1996)

1960'lı yılların ortalarında klasik voltametrik tekniklerle yapılan pek çok değişiklik, yöntemin duyarlılığını ve seçiciliğini büyük ölçüde arttırmış ve özellikle tıp, eczacılık, biyokimya ve çevre çalışmalarında yönetime geniş ve giderek artan bir uygulama alanı sağlamıştır.(Patriarche G. 1979; Brezina M. ve ark. 1958; Greef, R ve ark.1990 ; Şentürk Z. ve ark. 1996 ; Özkan S. A. ve ark. 1997; Yılmaz N. ve ark.1998)

Voltametrik çalışmalarda kullanılan elektrotlar; platin, altın, rutenyum gibi inert metaller (Bishop E ve ark.1984; Biryol İ. ve ark.1989) pirolitik grafit ve camsı karbon (Panzer R.E. 1972; Shearer C.M. ve ark. 1972 ; Tjaden U.R. ve ark 1976; Özkan S.A. ve ark.1998; Şentürk Z. ve ark.1998), çinko oksit, iridyum oksit gibi yarı iletken

elektrotlardır. Tel, levha, disk biçiminde olan katı elektrotların sabit, döner veya titreşen tipleri vardır. (Biryol İ. ve ark. 1989)

Polarografik yöntem damlayan civanın kolayca yükseltgenmesi nedeniyle daha çok indirgenme olaylarının, voltametri ise katı elektrotlar yardımı ile yükseltgenme olaylarının incelenmesinde kullanılmaktadır. Karbon elektrotlarla yapılan voltametri ise hem yükseltgenme, hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığına imkân tanımaktadır. (~ -1.8V - +1.8V (sulu ortamda)). (Tunçel ve ark., 1984)

Voltametik tekniklerin performansı *çalışma (indikatör) elektrotuna* bağlıdır. Çalışma elektrotunun yüzeyinin kimyasal yapısı ve fiziksel özellikleri performansı etkilemektedir. Elektroanalitik yöntemler gelişmeye devam ederken çalışma elektrotlarını geliştirme çabaları da halen devam etmektedir. Elektroanalitik yöntemlerin verimini arttırabilmek için çalışma elektrotları şekil ve kimyasal yapıları bakımından geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Katı elektrotlar, değişik voltametik tekniklerde çalışma elektrotu olarak yıllardır kullanılmaktadır. Elektroanalitik çalışmalarda katı elektrotlar genellikle cam elektrotlardan geliştirilir.

Katı elektrotlar 50 yıl önce elektroanalitik kimyada kullanılmaya başlanmış ve birçok değişik katı materyal çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. En sık kullanılanlar: karbon yapılı olanlar, Pt, Au'dur. Bazı özel çalışmalarda; Ag, Ni, Cu, Bi da kullanılmaktadır. Bunlar değişik şekillerde hazırlanmış olabilir: tubular (boru biçiminde), ring (halka biçiminde), makro ya da mikro şekilde...

Katı elektrotlar, elektrokimyasal yönden inert bir potansiyel aralığına sahiptir. Yüksek sıcaklık ve basınca dayanıklıdır. Elektriksel iletkenlikleri iyidir. Uygulaması kolay, geliştirilebilir, nispeten ucuz ve az toksiktir. Bunlar da katı elektrotlara kullanım avantajı kazandırmaktadır. Küçük yapıları ve toksisitelerinin az olması nedeniyle vücut içi uygulamalarda da kullanılabilir ve zarar minimum düzeyde olmaktadır.

Katı elektrot yüzeyinin deneye hazırlanmasının tekrar edilebilirlik açısından önemi büyüktür. Deney süresince elektrot yüzeyine adsorblanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı katı elektrotlar son derece düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, civa elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekir. Ön işlem adı verilen bu işlemler her metal için kendine özgü olmaktadır. (Wang J. ve ark. 1985 ; Fagan D.T. ve ark. 1985; Özkan S. ve ark. 1994)

Voltametrde değişik tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Örneğin soy metal elektrotlar, çeşitli karbon elektrotlar, modifiye elektrotlar gibi.

Yeni elektrot şekil ve tasarımı (modifiye elektrotlar) (Wang J. ve ark. 1985; Biryol İ. ve ark. 1996; Biryol İ. ve ark. 1998; Uslu B.ve Biryol İ. 1999; Özkan B.ve ark.1993), yeni yüzey temizleme teknikleri (Özkan S.A. ve ark. 1994) elektro analiz yöntemleri (puls dalga formları, adsorptif teknikler, sıyırma) (Yılmaz S.ve ark. 2001;Uslu B. ve ark. 2001; Özkan S.A.ve Uslu B.2002; Uslu B.ve ark. 2002; Uslu B. 2002; Özkan S.A.ve ark. 2003a; Özkan S.A.ve ark. 2003b; Doğan B.ve ark.2004; Uslu B.ve Özkan S.A. 2004; Doğan B.ve ark. 2005a; Doğan B.ve ark. 2005b; Uslu B.ve ark. 2005a; Uslu B.ve ark. 2005b;Doğan B.ve ark. 2006; Uslu B.ve ark. 2006; Ostadna V. ve ark 2006) sayesinde farmasötik preparatlarda ve vücut sıvılarındaki aktif bileşenler, safsızlıklar, ara ürünler ve metabolitler oldukça geniş tayin sınırlarıyla ($\sim 10^{-11}M$), seçicilikte ve hızlı bir biçimde doğrudan analiz edilebilmektedir.

Bu nedenle ilaç analizlerinde kromatografik ve fotometrik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendiren modern voltametri bu yöntemlerle yarışmalı olmaktan çok onları tamamlayıcı niteliktedir. Ayrıca yöntemin yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle birleştirilmesiyle, kompleks karışımların analizinde de başarıyla uygulanması sağlanmıştır. (Wang J. 1985 ; Özkan S.A. ve ark. 1998)

Katı elektrotların kullanıldığı voltametri, özellikle indirgenme olaylarına oranla az incelenmiş olan yükseltgenme tepkimelerindeki rolü ile biyoloji alanında ve

dolayısıyla fizyolojik önemi olan pek çok bileşimin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında da başarıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla geliştirilen ultramikroelektrotlar canlı organizmada *invivo* çalışmaların yapılmasına olanak sağlamaktadır. (Lane R.F ve ark. 1976 ; Tunçel N. ve ark. 1984)

Bu yöntemdeki en önemli gelişmelerden biri de, biyosensörlerle biyolojik ortamda reaksiyona giren ve oluşan ürünlerin analizlerinin yapılabilmesidir. Bunlara örnek olarak; glikoz elektrotu, üre elektrotu v.b. verilebilir. Son yıllarda özellikle ilaç – DNA etkileşmelerinin incelenebilmesi ve yeni elektrot tasarımlarının yapılabilmesi için elektrokimyasal DNA biyosensörleri üzerindeki çalışmalar hızla artmaktadır.

(Erdem A. ve Özsöz M., 2002; Palecek E. ve Jelen F., 2002; La-Scalea M.A. ve ark., 2002; Kerman K. ve ark., 2001; Kerman K. ve ark., 2002; Ibrahim M.S. ve ark., 2002; Özkan D. ve ark. 2004; Rauf S. ve ark 2005; Nafisi S.ve ark.2006)

Voltametrik ve polarografik yöntemlerin, eczacılık alanında ve klinik çalışmalarda sıklıkla kullanılmasının nedeni düşük derişimlerde farmasötik analizlerin yapılabilmesi, numunelerin kolayca ve çok kısa bir sürede hazırlanabilmesi, analiz süresinin kısa olması, ortamda bulunan katkı maddelerinin veya safsızlıkların analiz sonucunu etkilememesi, bu tekniklerin ürün kalite kontrolünde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. Tablet, kapsül, süspansiyon, şurup v.b. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya katkı maddelerinin genelde elektro aktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerin diğer bir üstünlüğü de pahalı ve az miktardaki ilaçların analizinde de çok az miktarda numuneye ihtiyaç gösterdiği için kullanılabilmesidir. (Brezina ve Zuman,1958; Zuman ve Brezina,1962).

Katı elektrotlar grubunda yer alan karbon elektrodun birkaç değişik şekli bulunmaktadır(Uslu B.ve Özkan S.A. 2007): Elmas, grafit, camsı karbon ve fullerens (Panzer,R.E. 1972). Elmas elektrik akımını iletmez. Bor ile dopa edilmiş elmas elektrodun zemin akımının düşük olması gibi üstünlükleri vardır ve ilaç analizlerinde son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğu için yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır. Camsı karbon ise mekanik olarak

iyi bir iletkenliğe sahiptir. Camsı karbon elektrokimyasal dedektör olarak en çok kullanılan dedektör tipidir. Fullurens, camsı karbon veya grafit sp^2 tipinde hibritleşmiş karbonlardır. Bütün bu grup karbon materyalleri elektrot hazırlanmasında sıklıkla kullanılmaktadır.

Karbon yapıları elektrotlar, katı elektrotlar içinde yüksek potansiyel aralığına sahiptir. Kimyasal yönden inerttir ve zengin bir yüzeye sahiptir. Çeşitleri:

- Homojen olanlar; glassy karbon, grafit, diamond, camsı karbon...
- Heterojen olanlar; karbon pasta ve modifiye karbon pasta elektrotlar.

Performanslarında dört kriter önemlidir:

- Geniş potansiyel aralığına sahip olmaları,
- Elektron transfer mekanizmaları,
- Stabilite ve geliştirilebilirlikleri,
- Adsorbsiyon (Analitik işlemlerde adsorbsiyon nadiren istenen bir durumdur; ancak, genellikle istenmez. Elektrot yüzeyine adsorbsiyon istenen bir durum olduğunda elektrotun modifikasyonu için kullanılır. Ancak bazen istenmeyen adsorbsiyon elektrot yüzeyinin kirlenmesine neden olmaktadır.).

Glassy karbon elektrotlar, karbon yapıları elektrotlar arasında en yaygın olarak kullanılanlardır. Glassy karbon elektrotlar, '*camsı karbon elektrotlar*' olarak da bilinirler. Camsı karbon diğer karbon yapılarından farklı fiziksel özellikler taşır. Yüzeyinde daha ufak gözenekler bulunur ve bu özelliğinden dolayı diğer karbon türlerine göre daha çok kullanılır.

Yapılan pek çok çalışmada camsı karbon elektrottaki elektron transferinin metal elektrottakinden daha yavaş olduğu bulunmuştur. Camsı karbon elektrodun yapısı ve özellikleri ile elektroanalitik kimyadaki kullanımı Van der Linden ve Dieker tarafından hazırlanan bir derlemede açıklanmıştır (Van Der Linden ve ark. 1986).

Camsı karbon elektrot materyali ilk defa Yamada ve Sato tarafından 1962 yılında geliştirilmiştir. Bu araştırmacılar, camsı karbon elektrodu inert bir gaz içerisinde fenol formaldehit reçinesini çok dikkatli bir şekilde ısıtma sonucunda elde etmişlerdir.

Camsı karbon yapısının, rastgele yerleşmiş ve karışık aromatik şerit moleküllerinden oluştuğu saptanmıştır. Diğer katı elektrotlarda olduğu gibi camsı karbon elektrotla da aktivasyonu sağlamak ve tekrar edilebilir sonuçları elde edebilmek için çeşitli ön işlemler geliştirilmiştir. Bu işlemler parlatma (Rusling, 1984 ; Thornton ve ark.1985; Hu ve ark., 1985) kimyasal ve elektrokimyasal (Taylor ve Humpffay, 1973 ; Wang ve Hutchins, 1985a), radyo frekans (Evans ve Kuwana, 1977), düşük basınç altında sıcaklık uygulaması (Stutts ve ark., 1983 ; Wightman ve ark., 1984) vakum-sıcaklık uygulaması (Fagan ve ark., 1985), laser ışını ile uyarılma (Hershenhart ve ark., 1984) ve metal oksit filmlerinin elektrot yüzeyinde kaplanması (Cox ve ark., 1988) olarak sınıflandırılabilir. Standart bir aktivasyon işlemi henüz saptanamamıştır. Çünkü aktivasyon işlemi kullanılan çözeltiye ve incelenecek maddeye bağlı olarak değişmektedir (Shearer ve ark., 1972 ; Tjaden ve ark., 1976; Özkan, S., ve ark., 1998; Şentürk, Z ve ark., 1998 ; Yılmaz,N. Ve ark., 1998; Özkan S.A. ve ark., 2000).

Elektron transferi açısından aktivasyon işleminin amacı (Hu ve ark., 1985), yüzey kirliliklerinin uzaklaştırılması, yüzeydeki fonksiyonel grupların oluşturulması ve yüzey alanının büyütülmesi, serbest keskin uçlar oluşturulması ve mikro partikül oluşumunu sağlamaktır. Yüzeydeki fonksiyonel gruplar yükseltgenme derecesine göre değişir, az oksitlenirse hidroksil, kuvvetli oksitlenirse karboksil veya kinolik yapılar oluşabilir. Şekil 2.1.'de camsı karbonun yapısı görülmektedir (Pravda, 1998).

2.1.1.1. Elmas (Diamond) elektrotlar:

Elmas elektrotlar, kimyasal stabiliteyi nedeniyle elektroanalitik kimyada ilaç analizlerinde oldukça sık kullanılmaktadır. Elmas elektrotların performansı yüksektir, kimyasal açıdan inerttir. Yüksek atomik dansiteleri vardır. Optik özellikleri, iletkenlikleri ve elektriksel karakterleri kullanımlarında avantaj sağlar.

İnertliği ve stabil oluşları nedeniyle gcl asidik ortamda dahi kullanılabilirler. Bu yönüyle klasik karbon elektrotlar ve diğer metal elektrotlardan daha üstündür. Geniş elektrokimyasal potansiyel aralığına sahip olmaları nedeniyle kimyasal çalışmalarda oldukça kullanılışlıdır. Diğer elektrotlardan üstün yönleri řu şekilde sıralanabilir:

- Daha düşük konsantrasyonlu maddeler dahi analiz edilebilir.
- Daha kısa sürede daha kesin sonuçlar verir.
- Sonuç stabildir.

Amorf elmas elektrotlar, nispeten daha ucuzdur ve kristal elmas elektrotlara göre bu yönüyle daha avantajlıdır.

2.1.1.2. Voltametri de Kullanılan Elektrotlara Yapılan n İşlemler:

Elektro yükseltgenme olayları, elektro indirgenme olaylarına oranla daha az incelenmiştir. Bunun nedeni polarografide damlayan civanın daima yenilenerek temiz bir yüzey sağlaması ve bu nedenle de tekrar edilebilir sonuçlar elde edilebilmesidir. Ancak bu elektrot pozitif potansiyelerde ykseltendiği için elektro yükseltgenme olaylarının incelenmesi için uygun değildir. Katı elektrotlar da elektro ykseltgenmede kullanılabilmelerine karşın yüzey, adsorplanabilen maddelerle kaplandığından veya elektrotların kendileri ykseltgendiklerinden ve oksitle kaplandıklarından tekrar edilebilirliğin sağlanması için her deneyden önce aynı yüzey halinin oluşturulması gerekmektedir. Bu işleme ön işlem denilmektedir. n işlem hem elektrotun cinsine, hem deney çözeltisinin bileşimine bağlıdır. Kimyasal (Adams ve ark., 1958 ; Eggretsen ve Weiss, 1956 ; Fagan ve ark. 1985 ; Hershenhard ve ark. 1984 ; Kabasakalian ve Mc Glotten, 1958), elektrokimyasal (Ferret ve Philips, 1985 ; Dermiş ve Biryol, İ.,1990 ; zkan S.A. ve ark. 1994) ve hem kimyasal hem de elektrokimyasal (Kolthoff ve Tanaka, 1954; Biryol ve ark. 1989 ; zkan ve ark. 1994) ya da mekanik (Yımaz S. ve ark 2001; zkan S.A. ve Uslu B. 2002; Uslu B. ve zkan S.A. 2002; Demircigil B.T. ve ark. 2003; zkan S.A. ve ark. 2003; Doğan B. ve ark. 2004; Uslu B. ve zkan S.A. 2004; Doğan B. ve ark 2005a; Doğan B. ve ark 2005b; Uslu B.ve ark. 2006) n işlemler olabilir.

2.1.1.3. Voltametrinin Kuramı:

Bu yöntemde genel prensip; elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize olabilen bir çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu arasında değeri zamanla değiştirilen gerilim uyarma sinyali uygulanarak üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu arasındaki akımın ölçülmesine dayanır. (Yıldız A. ve Genç Ö. 1993; Bond A.M. 1980). Dengedeki bir elektrokimyasal hücreye dışarıdan denge geriliminden farklı bir gerilim uygulanırsa, sistem yeniden dengeye ulaşmaya çalışır. Bu sırada bir elektrot tepkimesi olur yani akım geçer. Voltametrde, uygulanan ve değeri zamanla değiştirilen gerilime karşı hücreden geçen akım ölçülür. Uygulanan gerilimin, ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine ise voltamogram denir.

Analizi yapılacak çözelti içindeki elektroaktif maddelerin yükseltgenbilme, indirgenbilme özelliklerine göre elektroliz tepkimesi, çalışma elektrotuna ait gerilim aralığının belirli bir noktasında olur. Bu yüzden voltamogram, çözeltideki elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır.

Voltametrde en çok kullanılan gerilim uyarma sinyallerinden biri, elektrokimyasal hücreye uygulanan gerilimin zamanın bir fonksiyonu olarak doğrusal olarak arttığı Şekil 2.1' de gösterilen bir doğrusal tarama olup, hücrede oluşan akım uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Bu yöntemde doğrusal taramalı voltametri (Yıldız A. ve Genç Ö. 1993) denir.

Voltametri;

1. Kontrol edilen potansiyelde voltametri,
2. Kontrol edilen akımda voltametri olarak iki kısımda incelenir.

Kontrol edilen potansiyelde voltametri ise;

1. Sabit potansiyelde voltametri,
2. Sürekli değişen potansiyelde voltametri olarak iki bölümde incelenebilir.

(Üneri,1979).

Sabit potansiyelde voltametri, deney hücresinden geçen akım zamanın fonksiyonu olarak ölçülür.

Sürekli değişen potansiyelde voltametri ise, potansiyel dışarıdan kontrol edilerek değiştirilir ve akım şiddeti buna bağlı olarak kaydedilir. Potansiyel tarama yöntemi de denilen bu yöntem potansiyel değişme hızına bağlı olarak yavaş tarama ve hızlı tarama olarak ikiye ayrılır.

Bu çalışmada uygulanan sürekli değişen potansiyelde voltametri ile analiz edilecek maddelerin elektrokimyasal davranışları incelenmektedir. Her madde için özel olan voltamogramlar bir referans elektrota karşı çalışma elektrotunun potansiyelinin değiştirilmesi ile elde edilen akım – potansiyel eğrileridir. Elektroaktif maddelerin yükseltgenme ve indirgenme özelliklerine göre uygulanan potansiyel aralığında elektroliz olayı gerçekleşir. Sonuçta elde edilen voltamogramlarla elektroaktif maddenin nitel ve nicel analizi yapılabilir.

Potansiyel değişme hızı genellikle $1 - 100 \text{mVs}^{-1}$ arasında olduğu zaman yarı kararlı hal yöntemi olan yavaş tarama söz konusudur. Yavaş taramada safsızlıklar elektrot yüzeyine toplanarak akım – potansiyel ilişkisini etkileyebileceğinden, çalışmaların uygun bir tarama hızında yapılması gerekir.

Katı elektrotlarla yapılan voltametrik analizlerin bir kısmında yavaş gerilim tarama hızları ($\sim 1 - 20 \text{mVs}^{-1}$) kullanılır. Ayrıca analiz çözeltisi çoğunlukla sabit ve yüksek bir hızda karıştırılır. Bu tip voltamogramlar daha çok mekanizma aydınlatma çalışmalarında kullanılmaktadır. Şekil 2.1’de potansiyelin yavaş değişimi halindeki akım – potansiyel eğrisi görülmektedir.

Sınır Akımı:

Potansiyelin yavaş değişimi halindeki akım – potansiyel eğrisi Şekil 2.1’de görülmektedir. Burada analizi yapılan maddenin elektrot tepkimesine girmeye başlamasından sonra, potansiyelde oluşabilecek küçük bir değişikliğe karşı akımdaki

artış hızlı olacaktır. Akım büyüklüğü elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine ulaşma hızı ile sınırlanır ve bu nedenle belli potansiyel değerinden sonra akımda artış görülmez. Bu bölgedeki akım büyüklüğüne sınır akımı denir.

Artık Akım:

Elektrot ile elektroaktif madde reaksiyona girmeden önce küçük bir akım gözlenmektedir. Çözeltideki safsızlıklar ve elektriksel çift tabakanın yüklenmesi gibi nedenlerden oluşan bu akım büyüklüğüne artık akım denilir. (Şekil 2.1)

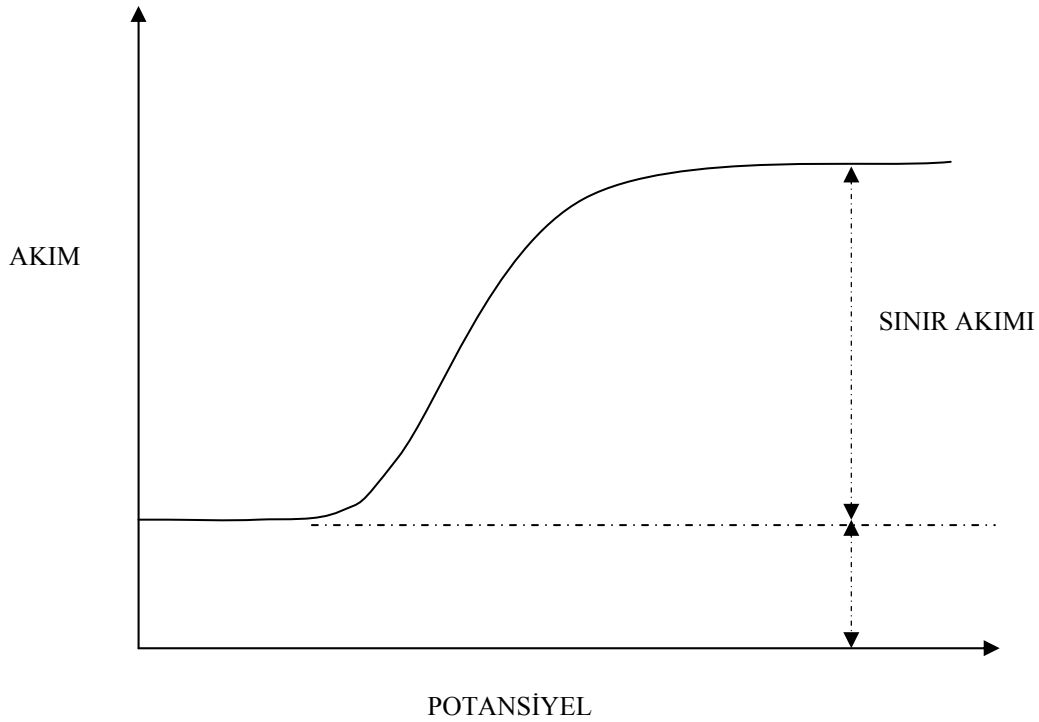
Katı elektrotlar kullanılarak yapılan voltametrik analizler, karıştırılmayan çözeltilere 20 mVs^{-1} 'den daha büyük gerilim tarama hızlarında da uygulanabilir. Gerilimin hızlı değiştiği bu tip voltametri elektroaktif maddenin tepkimeye girmesi ile akımdaki artış hızlıdır ve bir maksimum geçtikten sonra durgun çözeltide maddenin elektrot yüzeyine difüzyonla aktarımı yeterli hızda olmadığından düşmeye başlar. Dolayısı ile, bu teknikte voltametrik dalga yerine pik görüntüsü elde edilir.

Potansiyel değişme hızının 100 mVs^{-1} 'den daha büyük olduğu yöntem, hızlı tarama yöntemi olarak adlandırılır. Bu yöntemle, yük geçişi reaksiyonunda yüzeyde oluşan adsorblanmış ara ürün belirlenir. Bütün bunlara ilaveten literatürlerde yavaş ve hızlı tarama yöntemleri için değişik hız aralıklarına rastlanmaktadır. (Ross 1977)

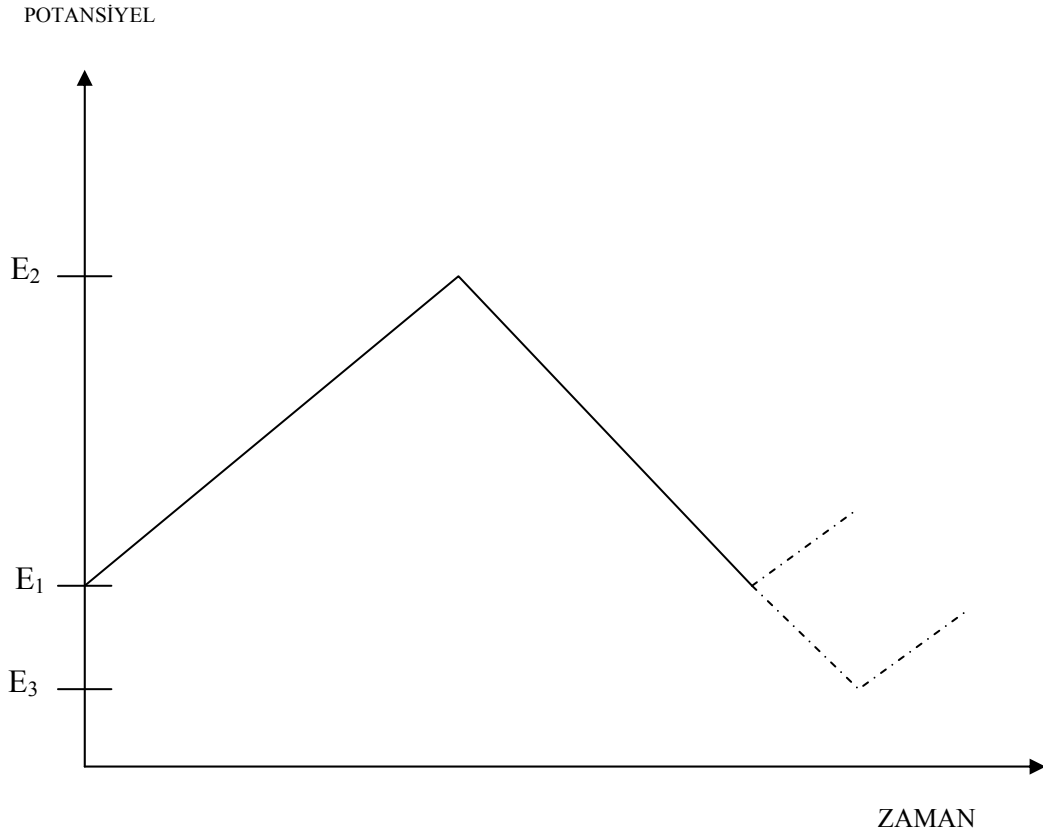
İlk olarak Nicholson ve Shain (1964) tarafından geliştirilen dönüşümlü (siklik) voltametri elektrokimyasal olayların incelenmesinde kullanılan önemli yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde, karıştırılmayan bir çözeltideki elektrodun akım cevabı, üçgen şekilli dalga potansiyeli ile uyarılır. Bu uygulamada, potansiyel iki değer arasında devreder. Önce bir maksimuma doğru doğrusal olarak artar ve sonra aynı eğimle orijinal değerine doğrusal olarak azalır. Bu işlem, akım zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilirken defalarca tekrarlanabilir. Bir tam devir 100 ve/veya daha fazla saniye sürebilir ve/veya 1 saniyeden daha az sürede de tamamlanabilir. İleri ve geri yöndeki gerilim hızları aynı tutulabildiği gibi farklı tarama hızları da kullanılabilir. Bu teknikle maddenin hızla reaksiyona girdiği potansiyel aralığı (elektrokimyasal spektrum),

olayın hıza bağımlılığı, böylece eşleşmiş olan kimyasal reaksiyonlar, kolaylıkla bulunabilmekte ve adsorbsiyon gibi bazı komplikasyonlar kolaylıkla tanınabilmekte ve elektrot reaksiyonu mekanizması açıklanabilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı dönüşümlü voltametri ilk defa çalışılan bir sistem için tercih edilen bir teknik olmuştur.

Potansiyel tarama tekniğindeki potansiyel-zaman ilişkisi Şekil 2.2'deki gibidir. Burada potansiyel E_1 ve E_2 sınırları arasında belirli, bir tarama hızıyla (mVs^{-1}) değiştirilir.



Şekil 2.1. Yavaş potansiyel değişiminde katı elektrot voltamogram



Şekil 2.2. Potansiyel tarama tekniğinde elde edilen potansiyel – zaman eğrisi.

En yaygın olarak kullanılan yöntemler dönüşümlü voltametri ve doğrusal taramalı voltametridir. Her iki yöntem de başlangıçta aynıdır. Yalnız dönüşümlü voltametrde E_2 potansiyeline erişilince E_1 potansiyeline geri dönülür ya potansiyel bir süre burada tutulur sonra E_2 potansiyeline geri dönülür veya E_3 potansiyeline doğru devam edilir. Dönüşümlü voltametrde genellikle gidiş ve dönüş hızı aynıdır. Doğrusal taramalı voltametrde ise sadece belli bir hızda E_1 potansiyelinden E_2 potansiyeline ulaşılır. Hem dönüşümlü voltametrde, hem de doğrusal taramalı voltametrde akım, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Genel olarak bu deneylerde kullanılan hız birkaç mVs^{-1} 'den birkaç yüz bin mVs^{-1} 'ye kadar değişir (Şekil 2.3). Birkaç yüz bin mVs^{-1} hızları çok büyük olduğu için deneysel güçlüklerle sahiptir. Çift tabaka yüklenmesi ve IR düşüşü etkileri çok büyük olur. Yakın zamanlarda, hızlı tarama yapıldığında iyi sonuçlar alabilmek için mikroelektrotların kullanılması gerektiği bulunmuştur. Böylece yük akımı ve direnç küçültülmüş olur.

Voltamogramların kaydı için bugün XY kaydedicisi veya osiloskoplar yerine bilgisayar kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametri bir sistemi ilk kez incelemek amacıyla kullanılıyorsa önce kalitatif, sonra yarı kalitatif ve en son kantitatif deneyler yapılabilir.

Gerilimin doğrusal taramada olduğu gibi sabit bir hızla bir değere kadar çıkarılmasından sonra tekrar aynı hızla ilk değere döndürülmesi ile dönüşümlü voltamogramlar elde edilir demiştik. Bu sistemlere Şekil 2.2'deki potansiyelin ikizkenar üçgen şeklindeki gerilimi uygulanırsa dönüşümlü voltamogramlar elde edilir (Şekil 2.4 ve 2.5). İleri yöndeki gerilim taraması sırasında bir yükseltgenme olmuşsa, gerilim taraması tersine çevrildiğinde yükseltgenme sırasında oluşan ürünün elektrotta yeniden indirgenmesi ile bu yönde de bir pik gözlenebilir. Geri dönüşümlü bir elektrokimyasal tepkimede anodik pik gerilimi (E_{pa}) ile katodik pik gerilimi (E_{pk}) arasında en fazla $59/n$ mV'luk bir gerilim farkı olmalı ve aynı zamanda anodik pik akımı (I_{pa}) katodik pik akımı (I_{pk}) birbirine eşit olmalıdır. Elektrot tepkimesinin geri dönüşümlülüğü azaldıkça anodik ve katodik pikler birbirinden daha farklı gerilimlerde ve daha yayvan olarak gözlenir. Tam geri dönüşümsüz bir elektrot tepkimesinde ise ürünün çok hızlı bir şekilde tüketilmesinden dolayı geri pik tamamen kaybolur.

Kalitatif analiz için, değişik hızlarda eğriler çizdirilir. Değişik potansiyel aralıkları seçilir. Genel olarak pik veya dalga gözlenir ve bunların hızla nasıl değiştiği incelenir. Bu eğriler indirgenme ve yükseltgenme pik akımı ve potansiyelleri gibi elektrokimyasal parametrelerin yanında reaksiyon hızı, aktarılan elektron sayıları, derişim gibi parametrelerin bulunmasında da kullanılır. İlk ve son eğrilerin arasındaki değişimin incelenmesinden pik akımlarının hıza bağıllığı ölçülür. Buradan adsorbsiyon, difüzyon, eşleşmiş kimyasal reaksiyonlar hakkında fikir edinilebilir. Ara vermeksizin üst üste çizdirilen dönüşümlü voltametrinde ilk ve son voltamogramlar arasındaki fark mekanizma hakkında bilgi verir. Mekanizma tayininde ayrıca döner halka disk elektrot ve sabit potansiyel kulonometrisi ve çeşitli spektroskopik yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Kinetik amaçla yapılan çalışmalarda ise ilk taramadaki eğriler kullanılır.

Dönüşümlü voltametri de anodik ve katodik tarama hızları genel olarak aynı seçilir. Hızlı kimyasal reaksiyonlar için ise, değişik hızlarda çalışılmalıdır.

2.1.1.4. Elektrokimyasal Taşınma Yolları:

Elektroaktif maddeler elektrokimyasal bir olayda üç şekilde taşınabilir:

- a) Bir elektrik alan etkisi altında *Göç/ Migrasyon*,
- b) Karıştırma veya titreşim sebebiyle *Konveksiyon*,
- c) Derişim farkından kaynaklanan *Difüzyon*.

Migrasyon, yüklü taneciklerin elektriksel alanın etkisi ile zıt yüklü kutba doğru çekilmesinden kaynaklanan bir hareket türüdür. Burada anyonlar anoda, katyonlar katoda doğru hareket ederler. Migrasyona yol açan kuvvetler sadece elektrostatik güçlerdir. Elektroaktif tür yüklü olduğu sürece zıt yüklü elektrot tarafından çekilecektir. Ancak derişime bağlı olmadığı için, ilgilenilen türün bu yolla aktarımını tümüyle sıfırlayamazsak da en aza indirmek için ortama aşırı miktarda aktif olmayan destek elektrolit ilavesi yapılır. Bu çözeltideki iyonlar iyonik göçü önemli ölçüde üstleneceğinden analitin çok az bir kesimi migrasyonla taşınır hale gelecektir. Böylece çözeltideki yükler herhangi bir iyon tarafından taşınabilir; analitin zıt yüklü elektroda göç etme hızı uygulanan potansiyelden bağımsız hale gelir. İyonik göç ortama destek elektroliti ilavesiyle engellenebilir.

Konveksiyon sıcaklık ve yoğunluk farkından oluşur. Konveksiyonun akım yoğunluğu üzerinde büyük etkisi vardır. Bunu önlemek için çözelti ya karıştırılır ya da elektrot hızla döndürülür.

Asıl istenen, ana çözeltideki elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyonla taşınmasıdır. *Difüzyon* kontrollü elektrokimyasal olaylarda madde derişiminin fazla olduğu bölgeden derişimi az olan bölgeye doğru difüzyonlanır. Böylece elektrolit çözeltisi ile elektrot yüzeyi arasındaki derişim farkından bir difüzyon akısı doğar.

Bu akı;

$$J = - D (dc/dx)$$

Formülü ile verilir. Bu ilişki Fick'in 1. yasasıdır.

Burada J, difüzyon akısı ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$); dc/dx derişim gradienti (mol m^{-4}) ve D difüzyon katsayısı ($\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)'dir. Fick'in 1. yasasında kararlı hal difüzyonu göz önüne alınmıştır. (Bocris ve Reddy, 1970). Yani difüzlenen partiküllerin derişimi ve akı zamanla değişmemektedir. Bu yasa elektrot olaylarına uygulandığında, elektroda bitişik difüzyon tabakası denilen bir bölgede elektroaktif maddenin elektrota ulaşmasını açıklar. Bu taktirde elektroda difüzlenen maddenin eşdeğer gram sayısı difüzyon akısına eşit olur. Yani;

$$I / nF = J = - D (dc/dx)$$

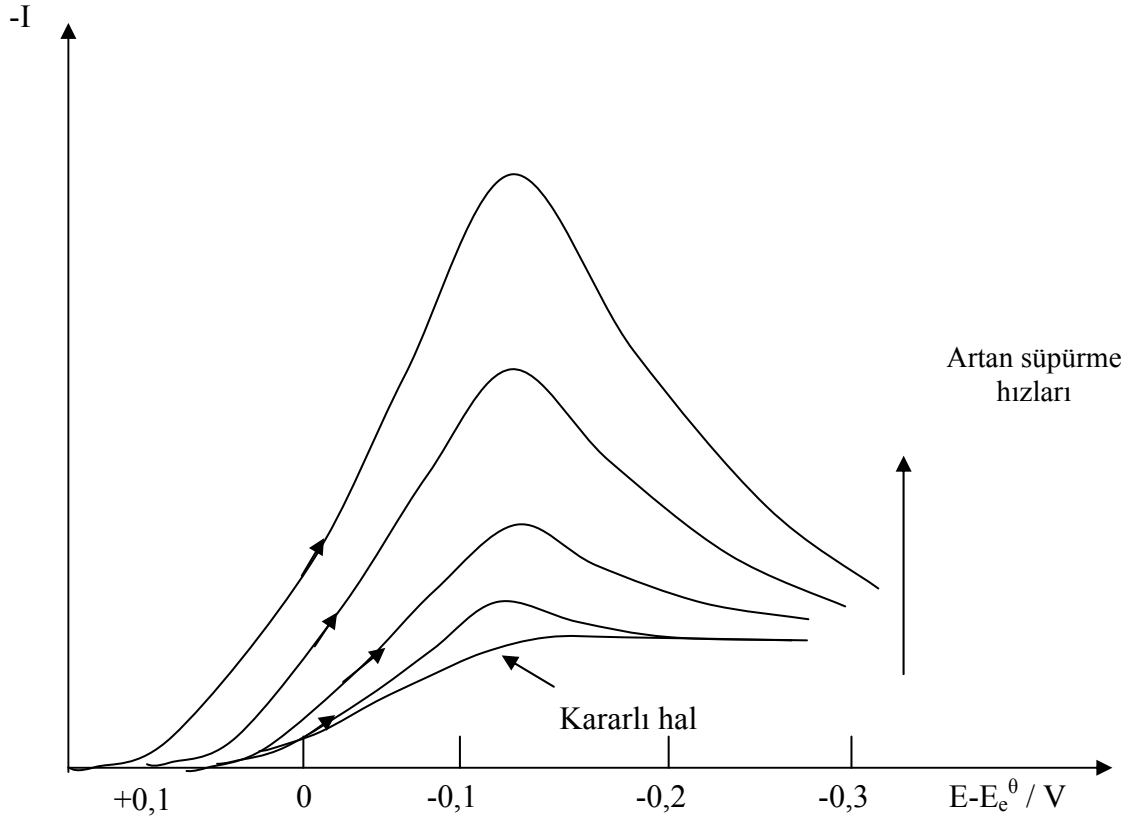
Eğer bu kavramlar değişiyorsa bu halde;

$$(\delta c / \delta t) = D (\delta^2 C / \delta x^2)$$

denklemleri elde edilir. Bu denklemler Fick'in 2. Yasası adını alır. Yani derişim hem zamana, hem uzaklığa bağlıdır. Böylece kısmi diferansiyel denklemlerle gösterilen yukarıdaki Fick'in 2. yasasının formülü elde edilir.

Geri Dönüşümlü Sistemler :

$O + n e^- \rightleftharpoons R$ gibi bir geri dönüşümlü olay için çok yavaş bir tarama uygulandığı zaman, potansiyel değişme hızı arttırıldıkça eğri değişip pik şeklini alır.



Şekil 2.3. Farklı potansiyel tarama hızlarında elde edilen akım – potansiyel eğrisi.

O maddesinin derişim profili potansiyelin fonksiyonu olarak incelenirse, eğrinin neden sigmoidal veya pik şeklinde görüldüğü anlaşılabilir. Kararlı hal şartlarında elektrottan belirli uzaklıktaki derişimler doğal konveksiyonla sabit tutulmaktadır. Elektroda bitişik tabakada ise (Nernst Difüzyon Tabakası) derişim gradienti doğrusaldır. Nernst denkleminde potansiyelin negatif olabilmesi için O maddesinin yüzey derişiminin az olması gerekir.

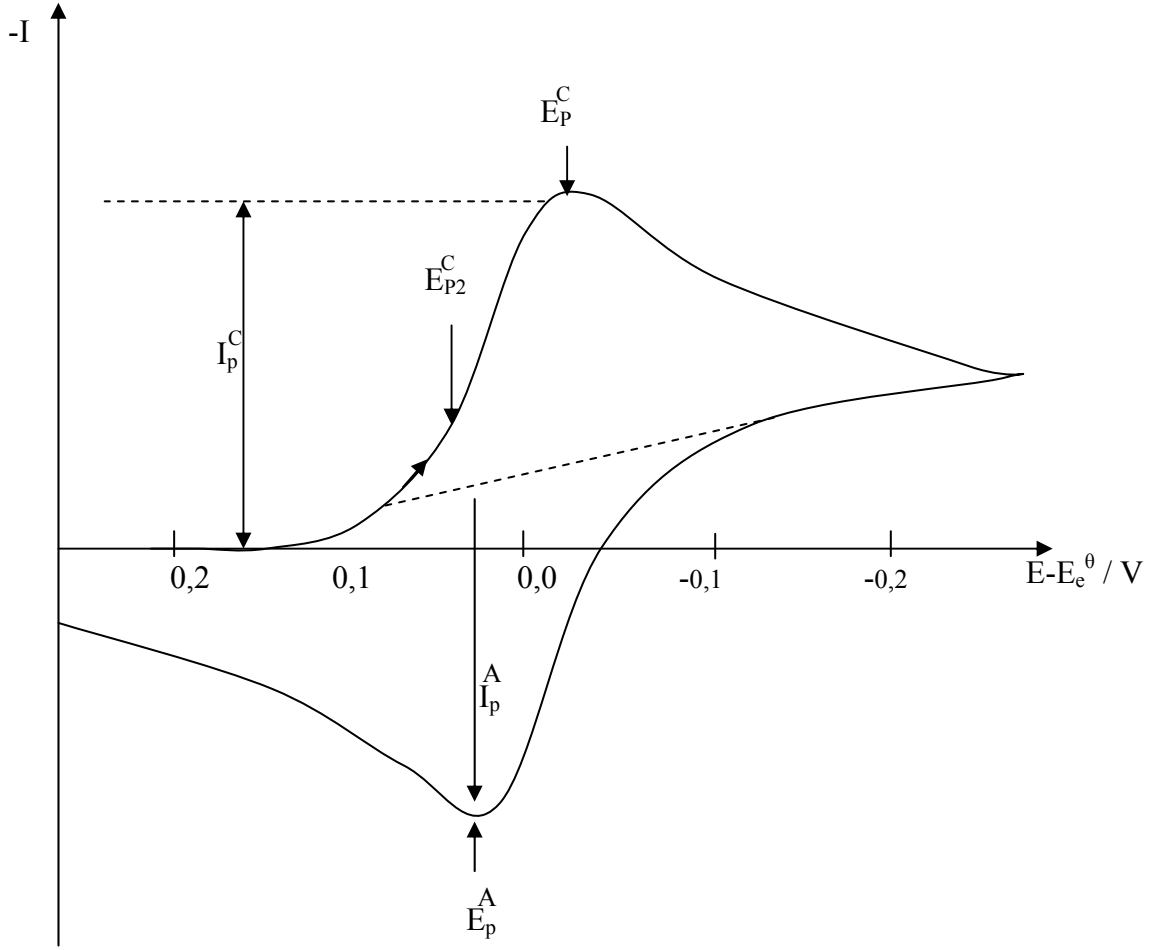
$$\left[E = E_o + \frac{RT}{nF} + \ln \frac{a_o}{aR} \right]$$

Burada a_o ve aR , O ve R maddelerinin yüzey derişimlerini göstermektedir.

Bu durumda derişim gradienti arttıkça akım artacaktır. Çünkü difüzyon hızı artar. Sonunda yüzey derişimi sifıra yaklaşır ve derişim profili artık değişmez. Bu noktada akım limit değerine ulaşmıştır. Tarama hızı arttıkça difüzyon tabakası denge durumuna ulaşmak için yeterli zaman bulamaz ve çözeltiye kadar ulaşamaz. Derişim profili de artık doğrusal değildir. Potansiyel değeri O maddesinin indirgenebileceği değere ulaştığı zaman O'nun yüzey derişimi çözelti derişiminden Nernst denkleminin gerektirdiğı değere düşer (Şekil 2.3). Sonuçta bununla orantılı olan bir akım devreden geçer. Bu gradient bir defa kurulunca sabit kalmaz, difüzyon nedeniyle düşer. Bu arada elektrot potansiyeli de değişir. Bu yüzden O maddesinin yüzey derişimi düşer (b ve c eğrileri) Sonuçta bu değer sifıra iner (e eğrisi). Bu eğrilere göre herhangi bir potansiyelde yüzeydeki derişim gradienti kararlı halden daha büyük olduğu zaman akım da büyük olur. Yüzey derişimi sifıra erişince derişim gradienti artık azalmaya başlar. Bunun sonucunda da eğri pik şeklini alır. Bu yöntemde hız arttıkça akım da artmaktadır. (Greef ve ark. 1990)

Potansiyel ters döndüğü zaman yavaş tarama hızlarında (kararlı hale benzer değerlerde) akım aynı yolu izleyerek geri döner. Daha hızlı taramalarda ise gidiş dönüş eğrileri aynı değildir. Çünkü tarama geri çevrildiğı zaman elektrot yüzeyinde ve yakınında R maddesinin önemli derişimi vardır ve R maddesi aynı zamanda oluşmaya da devam eder (denge potansiyeline ulaşıncaya kadar). E denge potansiyelinden sonra ters akım geçmeye başlar. Elektrot potansiyeli değiştikçe R maddesinin yüzey derişimi de sifıra erişir ve oksidasyon dalındaki gibi bir pik oluşur. Böyle bir dönüşümlü voltamogram Şekil 2.3'de görölmektedir. Bu eğride ölçülebilen toplam dört parametre vardır:

1. Katodik pik potansiyeli (Epk)
2. Anodik pik potansiyeli (Epa)
3. Katodik pik akımı (Ipk)
4. Anodik pik akımı (Ipa)



Şekil 2.4. Geri dönüşümlü bir olayın dönüşümlü voltamogramı

Bu tip eğrilerde olaydaki yük değişikliği katodik olaydakine göre daha küçüktür. Çünkü R maddesinin çoğu elektrottan difüzenmiştir. Bu yüzden yeniden yükseltgenemez (Greef ve ark. 1990). Geri dönüşümlü bir dönüşümlü voltamogramın şeklini veren matematiksel denklemini ifade etmek için;

($O + ne^- \rightleftharpoons R$) olayı ile ilgili Fick'in ikinci yasasını veren denklem uygun sınır koşulları için çözülür ve

$$I_{p_c} = -0,4463 nF \left[\frac{nF}{RT} \right]^{1/2} \cdot Co^\infty \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (2.1) \quad \text{denklemini elde edilir.}$$

25°C için denklem düzenlenirse;

$$I_{p_c} = - (2.69 \times 10^5) \cdot n^{3/2} \cdot Co^\infty \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad \text{denklemini elde edilir.}$$

n : Reaksiyonda alınıp verilen elektron sayısı

D : Difüzyon katsayısı

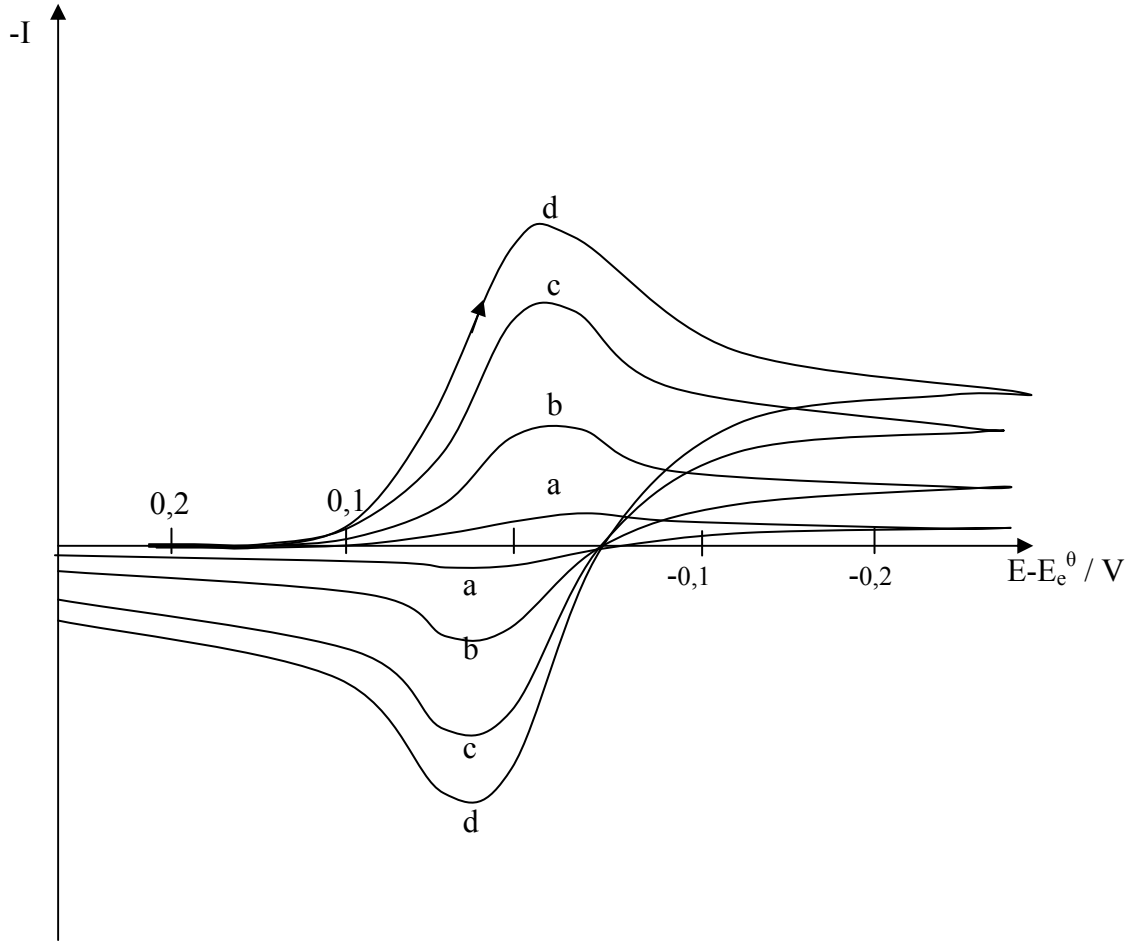
Co^∞ : O maddesinin çözelti içindeki derişimi

v : Potansiyel değişme hızı'dır.

Bu denkleme Randles – Sevcik denklemi de denir. Bu denklemden de anlaşılabilceği gibi pik akımı hızın kareköküyle doğru orantılıdır.

$I_p - v^{1/2}$ grafiği, bir sistemin geri dönüşümlü olup olmadığının göstergelerinden biridir. Dönüşümlü voltamogramın hızla değişimi Şekil 2.5'da görölmektedir. $I_p - v^{1/2}$ ifadesinin doğrusal oluşu aynı zamanda olayın difüzyon kontrollü olduğunu gösterir. Çünkü Randles – Sevcik denklemi olayın difüzyon kontrollü olduğu hal için çıkarılmıştır.

Geri dönüşümlü bir voltamogram ancak hem O hem de R maddeleri kararlıysa geçerlidir ve elektron transferi hızlı ise söz konusudur. Bu durumda bütün hızlarda ve potansiyelerde elektron transferi yüzeyde denge halindedir . Yani yüzey derişimi Nernst denklemine uymaktadır.



Şekil 2.5. Geri dönüşümlü bir olayın hızla değişimini gösteren dönüşümlü voltamogram.

Bir sistemin geri dönüşümlü olup olmadığı;

1. $\Delta E_p = E_p^A - E_p^C = 59 / n \text{ mV}$
2. $[E_p - E_{p/2}] = 59 / n \text{ mV}$
3. $[I_p^A / I_p^C] = 1$
4. $I_p \propto v^{1/2}$
5. E_p 'nin tarama hızı ile değişmemesinden
6. E_p 'nin üzerindeki değerlerde, $1 / \sqrt{I_p}$ 'nin zamanla orantılı olmasından anlaşılır.

Geri Dönüşümsüz Sistemler:

Geri dönüşümlü sistemlerde elektron transfer hızı bütün potansiyelerde kütle taşıma hızından önemli ölçüde büyüktür. Bu yüzden de Nernst denklemi elektrot yüzeyinde daima geçerlidir. Eğer elektron transfer hızı yavaşsa bu durumda yüzeydeki denge sağlanamaz ve voltamogram değişir. Bu halde düşük tarama hızlarında elektron transfer hızı kütle transfer hızından fazladır. Voltamogram geri dönüşümlüdür. Tarama hızı arttığı zaman kütle taşıma hızı artar ve elektron transfer hızıyla karşılaştırılabilir büyüklüğe gelir. Bunun en güzel gözlenen etkisi pikler arasındaki ayrılığın büyümesidir. Bu tip verileri incelemek için yararlı bir yol, akımı difüzyon hızındaki değişimin kareköküne göre uyarlamaktır. Yani akım yerine $I / v^{1/2}$, birim hızdaki akım – potansiyel eğrisi çizmektir. Şekil 2.6' de geri dönüşümsüz bir sistem için çeşitli hızlarda üstüste alınmış voltamogramlar görülmektedir. Burada anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki farkın geri dönüşümlü sistemlerden fazla olduğu ve pik yüksekliklerinin geri dönüşümlü sistemlerden daha az olduğu görülmektedir.

Geri dönüşümsüz sistemler için kullanılan bağıntı :

$$I_p = - (2.99 \times 10^5) \cdot n \cdot (\alpha_c n_\alpha)^{1/2} \cdot C_o \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (2.2.)$$

n : Reaksiyonda alınıp verilen elektron sayısı

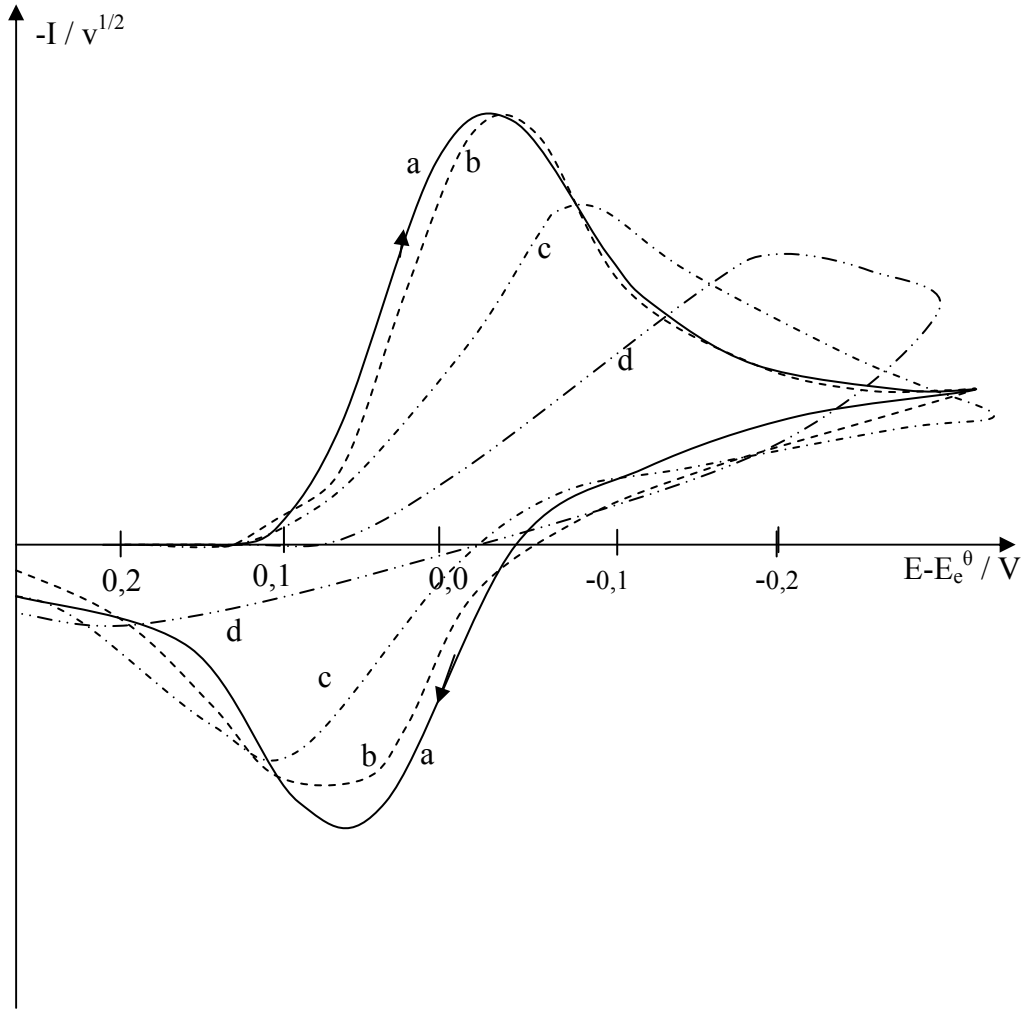
n_α : Hız tayin edici basamağa kadar alınıp verilen elektron sayısı

α_c : Transfer katsayısı

D : Difüzyon katsayısı

C_o : O maddesinin çözelti içindeki derişimi

v : Potansiyel değişme hızıdır



Şekil 2.6. Geri dönüşümsüz bir sistem için çeşitli hızlarda üst üste kaydedilmiş dönüşümlü voltamogram

Gerir dönüşümsüz bir reaksiyon için belirleyici şartlar da şunlardır:

1. Ters pik yoktur.
2. $I_p \propto v^{1/2}$ ile orantılıdır.
3. $E_{p_c}, -30 / \alpha_c n \alpha$ mV kadar kayar (hızdaki her 10 kat artış için).
4. $|E_p - E_{p/2}| = 48 / \alpha_c n \alpha$ mV'dur.

Düşük tarama hızlarında geri dönüşümlü olan sistem, tarama hızı arttığında geri dönüşümsüz hale gelir. Bu arada sistem yarı geri dönüşümlü bir halden geçmiştir. Bu geçiş elektron transfer hızı kütle transfer hızına göre yavaşladığında, yani elektrot yüzeyinde Nernst denklemi geçersiz hale geldiğinde olur. Bütün bu tarama çeşitleri sonunda elde edilen bu eğrilere voltamogram denilmektedir. Voltamogramlar analizi yapılacak çözelti içindeki elektroaktif maddelerin (elektrot tepkimesine giren madde) sürekli değişen potansiyelde gösterdikleri davranışların kaydedilmiş şeklidir. Potansiyel taraması, referans elektroda karşı çalışma elektrodunun potansiyelinin değiştirilmesi ile gerçekleştirilecek akım – potansiyel eğrileri, yani voltamogramlar elde edilir. Her madde için karakteristik olan bu eğriler elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır.

Eğer dönüşümlü voltamogramın şekli teoride beklenenden farklı çıkıyorsa bu bir yüzey olayının varlığını gösterir. Örneğin faz oluşması veya uzaklaşması reaksiyona giren maddenin veya ürünün adsorbsiyonu gibi. Değişik adsorbsiyon izotermeleri vardır (Greef ve ark. 1990). Henry, Virial, Langmuir, Frumkin ve Temkin gibi. Örnek olarak Langmuir izotermine uyan bir reaksiyona giren maddenin adsorbsiyonu durumunda;

$$|I_p^c| = \frac{n^2 f^2 \tau^0}{4RT} v \quad (2.3)$$

Γ^0 : O maddesinin potansiyel taraması başlamadan önceki yüzey fazlası

v : potansiyel tarama hızı

n : transfer edilen elektron sayısı

F : Faraday sabiti

R : gaz sabiti

T : mutlak sıcaklık

denklemleri ile verilen bir pik akımı gözlenir. Görüldüğü gibi adsorbsiyon kontrollü pik akımı tarama hızıyla doğru orantılıdır. $\log I_p^c - \log v$ eğrisinin eğiminin $1/2$ çıkması olayın difüzyon kontrollü, 1 çıkması ise adsorbsiyon kontrollü olduğunu gösterir. (Denklemler 2.1 ; 2.2 ; 2.3)

Kararlı Hal Kinetiğinin İncelenmesi:

Kararlı halde kinetik verilerin incelenmesi için Tafel denkleminde yararlanılır. (Greef ve ark. 1990) Tafel denklemi katodik bir reaksiyon için;

$$\text{Log } |I_c| = \text{Log } I_o - \frac{\alpha_c n F \eta}{2.3 RT} \quad (2.4)$$

Anodik bir reaksiyon için ise;

$$\text{Log } |I_a| = \text{Log } I_o + \frac{\alpha_a n F \eta}{2.3 RT} \quad (2.5)$$

Şeklinde verilir. Burada,

I : Akım yoğunluğu

I_o : Yük değişimi akım yoğunluğu. Bu değer dengedeki bir sistemin, yani dış çevreden akım geçmezken ileri ve geri reaksiyonların hızının ölçüsüdür.

α_a : Anodik transfer katsayısı

α_c : Katodik transfer katsayısı

n : Alınıp verilen elektron sayısı

η : Aşırı gerilim [$E - E^0 = \eta$]

F : Faraday sabiti

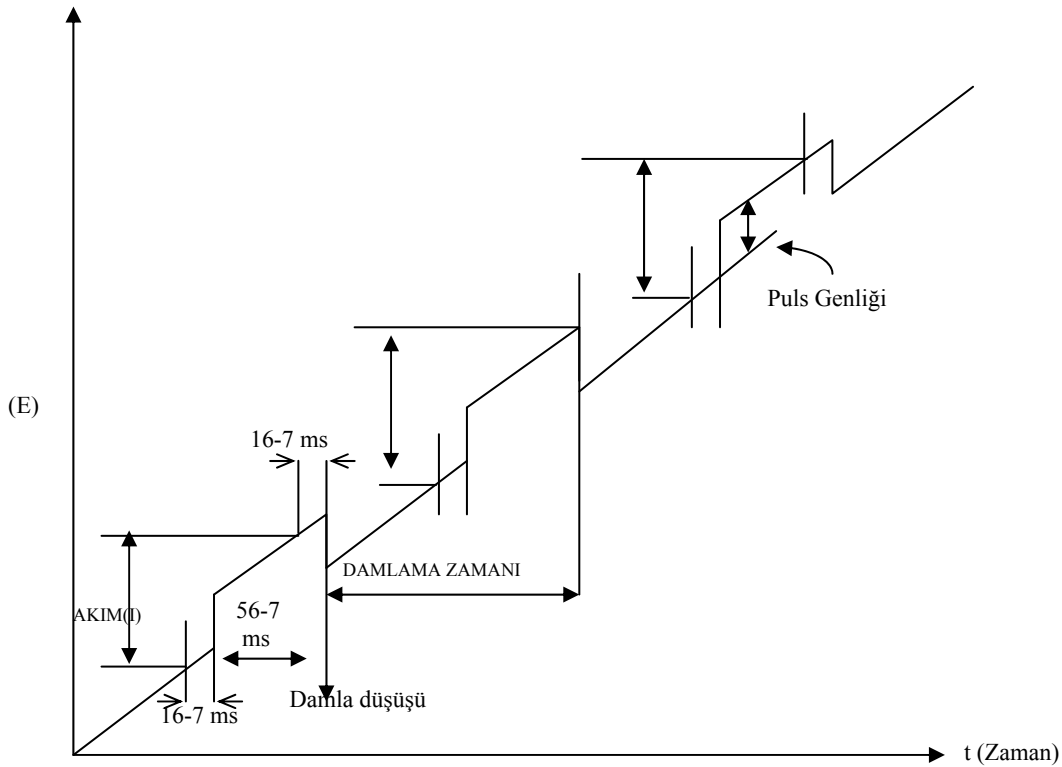
R : Gaz sabiti

T : Mutlak sıcaklık

α transfer katsayısı tek basamaklı basit reaksiyonlarda β sembolü ile gösterilir ve bu katsayı elektrot – elektrolit ara yüzeyinde yük transferi reaksiyonunun bir karakteristiğini verir. Bu kavram yüzeyin denge potansiyelinden ayrılmasıyla oluşan elektriksel enerjinin ne kadarının elektrokimyasal reaksiyonun hızını etkilediğini gösterir. Basit ve tek elektronlu reaksiyonlarda bu değer 0,5 dolayındadır (Bocris ve Reddy,1970).

Diferansiyel Puls Polarografisi Teorisi:

Puls akımının ölçüldüğü referans düzey, puls uygulamasından önceki akımdır. Pulsun başlangıcından akımın ölçülmesine kadar geçen süre (örneğin 50 msn) içerisinde yük akımı çok küçük bir değere düşer. Kalan faradaik akım kısa bir zaman periyoduna entegre edilerek ölçülür ve fark doğru akım potansiyeline karşı grafiğe alınır. Puls uygulama süresi (≈ 50 ms) hızlı dc polarografisi veya voltametrideki süreye eşdeğer olduğundan puls yöntemleri analitik amaçlarla kullanıldığında elektrot kinetiğine kuvvetle bağlı olması beklenmez. Sonuç olarak puls polarografisi elektrokimyasal olarak geri dönüşümsüz olan sistemler için de yüksek bir duyarlılığa sahiptir (Bond, 1980 ; Greef ve ark. 1990). Diferansiyel puls polarografisinde potansiyel-zaman profili Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Diferansiyel puls polarografisinde uygulanan potansiyel dalgasının şekli

Normal dc polarografisi için yazılmış olan Heyrovsky – Ilkovich denkleminin diferansiyeli alınıp bundan limit difüzyon akımı değeri çıkarılırsa;

$$\Delta_i = \frac{n^2 F^2}{RT} AC(-\Delta E) \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \frac{P}{(1+P)^2} \quad \text{denklemi elde edilir.}$$

Burada;

Δ_i : diferansiyel puls akımı

ΔE : puls genliğidir.

Bu denklem küçük genlikler için geçerlidir. Denklem ΔE 'nin bütün değerleri için geçerli olacak şekilde çözülmüşür:

$$\Delta_i = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \frac{P_A \sigma^2 - P_A}{\sigma + P_A \sigma^2 + P_A + P_A^2 \sigma}$$

denkleminde ulaşılır. Burada;

$$P_A = \exp \frac{nF}{RT} \left[\frac{E_1 + E_2}{2} - E^{r_{1/2}} \right]$$

$$\sigma = \exp \frac{nF}{RT} \left[\frac{E_2 - E_1}{2} \right]$$

$E_2 - E_1$: ΔE puls genliği

E_2 : Puls uygulandıktan sonraki i_2 akımının ölçüldüğü potansiyel

E_1 : Puls uygulanmadan önceki i_1 akımının ölçüldüğü potansiyel

İndirgenme için $\Delta_E < 0$ 'dır. Δ_i maksimum olduğunda $P_A = 1$ 'dir.

$$(\Delta i)_{\max} = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \frac{\sigma - 1}{\sigma + 1} \quad (2.6)$$

Eğer $-\Delta_E / 2 < RT / nF$ ise bu denklem küçük genlik şeklini alır ve

$$(\Delta i)_{\max} = \frac{n^2 F^2}{4RT} AC (-\Delta E) - \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \quad \text{olur.}$$

Eğer $-\Delta_E / 2 \gg RT / nF$ ise $(\sigma - 1) / (\sigma + 1) = 1$ olur ve $(\Delta i)_{\max}$ Cottrell eşitliğindeki değerini alır.

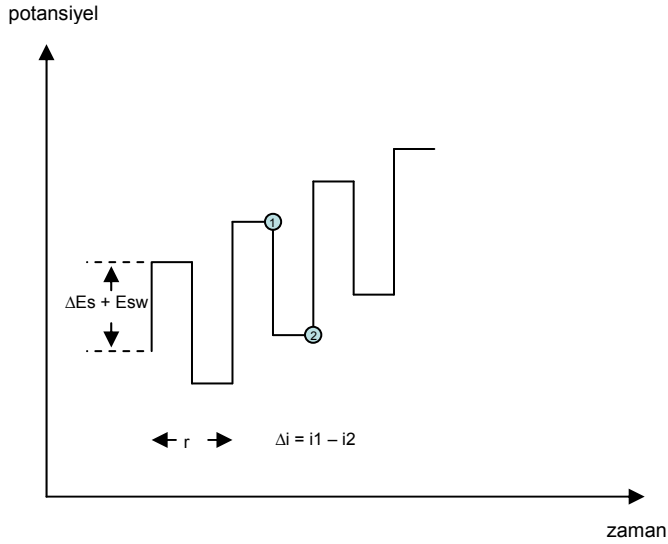
$-\Delta_E$ değeri büyüdükçe $(\Delta i)_{\max}$ büyür. Fakat puls genliği büyüdükçe elde edilen pik yayvanlaşır, bu da ayırım gücünü azaltır.

Denklem 2.6'dan anlaşıldığı gibi $(\Delta i)_{\max}$, derişimle doğru orantılıdır. Bu geri dönüşümlü olmayan haller için de geçerlidir. Ancak katalitik reaksiyonlarda ve benzeri karmaşık reaksiyonlarda bu doğrusal ilişki bozular. Yarı geri dönüşümlü veya tamamen geri dönüşümsüz hallerde birim derişim başına düşen $(\Delta i)_{\max}$ değeri geri dönüşümlü halden daha küçüktür.

Normal puls ve diferansiyel puls polarografisi teorileri damlayan cıva elektrot için geliştirilmiş olmakla birlikte puls deneylerinde zaman eşeli puls süresi ile tayin edildiğinden durağan elektrotlara da bu teori uygulanmaktadır. (Bond,1980)

Kare Dalga Voltametrиси Teorisi

Kare dalga voltametrиси son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografi tekniğidir. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha kısa bir sürede elde edilir. Damlayan cıva elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken gerçekleştirilir. Kare dalga voltametrиси asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılmaktadır.

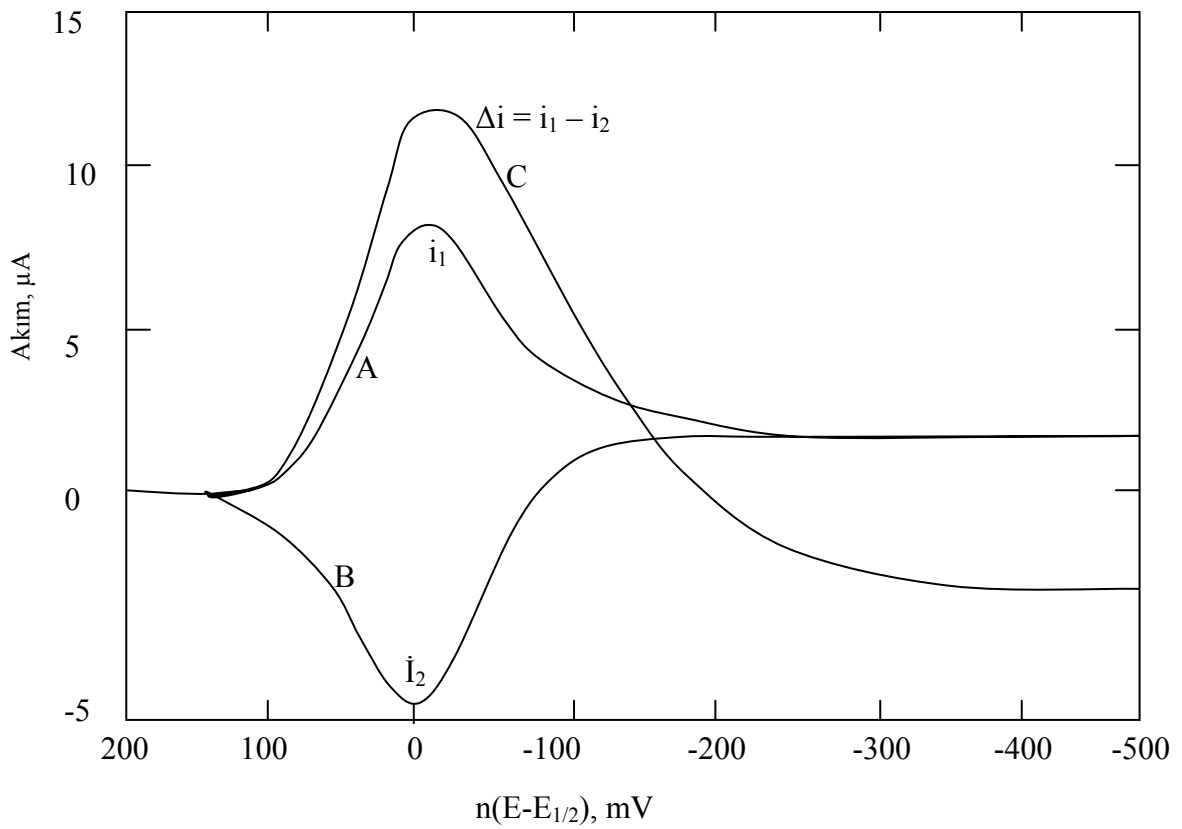


Şekil 2.8. Bir kare dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin oluşumu. Akım cevabı Δi , 1 potansiyelindeki akımdan 2 potansiyelindeki akımı çıkarılarak bulunur.

Şekil 2.8'de kare dalga voltametrиси yönteminde elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Basamaklı sinyalde her basamağın boyu ve puls periyodu eşit olup, bu yaklaşık 5 ms civarındadır.

Basamaklı sinyalin potansiyel basamağı (ΔE_s) genellikle $10/n$ mV, pulsun büyüklüğü ($2 E_{sw}$) ise genelde $50/n$ mV dur. Sistemin bu şartlar altında çalıştırılması 20 Hz'lik puls frekansına karşılık gelir ve bu durumda 1V'luk bir tarama 0,5 sn'de yapılır. Yöntemde akım pulsun pozitif (1) ve negatif (2) kısmının sonuna doğru iki kez

ölçülmekte ve bunların farkı alınmaktadır. Genellikle voltamogramlarda bu akımların farkı (Δi) grafiğe geçirilmektedir. Bununla ilgili voltamogram Şekil 2.9'da görülmektedir. Bu fark derişimle doğru orantılıdır. Elde edilen pik potansiyeli de dc'deki yarı dalga potansiyeline karşılık gelir. Bu yöntemde tayin sınırları $10^{-7} - 10^{-8}$ M arasındadır. (Hart, 1990 ; Yıldız ve Genç, 1993 ; Skoog ve ark., 2000 ; Smyth, M.R., Vos, J.G., 1992)



Şekil 2.9. Geri dönüşümlü bir reaksiyon için kare dalga voltamogramı.

A : ileri doğru akım B : geriye akım C : net akım

Bu yöntemde ölçülen difüzyon sınır akımı

$$I_d = \frac{nFAD^{1/2}c}{\Pi^{1/2}}(t^1 - t_p) \text{ eşitliği ile verilir.}$$

Burada;

t^1 : Akım ölçümünün yapıldığı zaman

t_p : Pulsun uygulanmaya başladığı zaman'dır.

Kare dalga yöntemleri temel olarak üç şekilde uygulanır. Bunlar Barker, Osteryoung ve Kalousek yöntemleridir. Barker kare dalga voltametri / polarografisi kare dalganın en basit şeklidir. Bu formda dalga bir rampa yada merdiven şeklinde olup simetrik bir kare dalga ile sinüzoidal alternatif akım voltametrisinin uygulanmasıyla oluşmuştur. Kalousek kare dalga voltametri / polarografisi (Heyrovsky tarafından isimlendirilmiştir) kare dalganın sadece ters yarı devirlerindeki akımın ölçülmesiyle elde edilen daha küçük frekanslı (5 Hz) yöntemleri için uygulanmaktadır. En çok kullanılan kare dalga yöntemi ise Osteryoung'tır. Bu yöntem diğerlerinden, uygulanan puls periyodunun (λ), yarı puls yüksekliğinin (E_{sw}) ve uygulanan her puls sonunda potansiyelin artması ile farklılık gösterir (Christie ve ark., 1977 ; Turner ve ark., 1977; Yılmaz S. ve ark. 2001; Uslu ve Özkan, 2002 ; Demircigil ve ark., 2002; Özkan S.A. ve Uslu B. 2002; Uslu B. ve Özkan S.A. 2003; Uslu B.ve Özkan S.A. 2004; Doğan B. ve ark. 2005; Uslu B. ve ark. 2005; Özkan S.A. ve ark. 2006; Uslu B. ve ark. 2006).

2. 2. Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlik Testleri)

Analitik yöntemler, ilaç analizlerinde, biyolojik numune analizlerinde, biyoeşdeğerlik, biyoyararlanım çalışmalarında, farmakokinetik bilgilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında, ilaç etken maddelerinin nitel ve nicel analizlerinde, ilaç etken maddelerinin metabolitlerinin tayininde kullanılan yöntemlerdir.

Bu işlemlerin yapılabilmesi için iyi karakterize edilmiş, güvenilir sonuçların elde edilebileceği tamamen geçerli analitik yöntemlerin kullanılması veya geliştirilmesi gereklidir. Her yeni geliştirilen yöntemin validasyon sonuçları birbirinden bağımsızdır (Riley ve Rosanske 1996; Swartz ve Krull 1997; ICH 1994; Ahuya ve Scypinski 2001; Lunte ve Radzik 1996).

Yöntem validasyonu analitik işlemlerin istenilen kullanım için uygunluğunu gösteren parametrelerdir. Uygulanacak analitik işlemler için hangi tip validasyon karakteristiklerinin kullanılacağı belirlenmelidir. Geliştirilen bir yöntemin veya parametrelerinde ufak değişiklikler yapılmış bir yöntemin geçerli olabilmesi için mutlaka gerekli validasyon testlerinin ve ilgili hesapların yapılmış olması gereklidir (Riley ve Rosanske 1996; Swartz ve Krull 1997; ICH 1994; Snyder ve ark 1997; Ahuya ve Scypinski 2001; Lunte ve Radzik 1996; Adamovics 1997; Braggio ve ark 1996; Shabir 2003; Papadoyannis ve Samanidou 2004; Ermer 2001; Mc Dowell 1999).

Amerikan Farmakopesine (USP 24) göre validasyon, analizi yapılacak madde için geliştirilen analiz yönteminin seçilen aralıkta uygunluğunu, doğruluğunu, duyarlılığını, tekrar edilebilirliğini, sağlamlığını belirtmektedir.

2. 2. 1. Validasyonun Genel İşlemleri

1. Cihazın kontrolü ve validasyonu, (tüm donanım ve yazılımlar için geçerlidir)
2. Geliştirilen yöntemin geçerliliğini kanıtlamak için veya geliştirilmiş olan bir yöntemdeki parametrelerde yapılan değişikliklerden sonra yapılan validasyon,

3. Cihaz ve ilgili yöntem seçildikten sonra ve validasyonları yapıldıktan sonra ayırma yöntemleri için gerçekleştirilen Sistem Uygunluk Testleri (SUT). Bu testler FDA ve USP tarafından önerilen ve sıvı kromatografisi ve diğer ayırma tekniklerinde yöntem geliştirmenin bir parçasını oluşturan testlerdir.

Bir analitik yöntemin validasyonu; laboratuvar çalışmaları ile belirlenen ve istenen analitik uygulamaları için gerekli yöntem performans karakteristiklerinin bulunmasıdır. Performans karakteristikleri analitik parametreler cinsinden ifade edilir. Bu parametreler hem *in-vivo* hem de *in-vitro* çalışmalarda kullanılan yöntemler için geçerlidir.

Biyoanalitik yöntemler; kan serum, plazma veya idrar gibi biyolojik sıvılarda etkin maddelerin veya metabolitlerinin; gaz kromatografisi (GK), sıvı kromatografisi (SK) veya bunların SK-KS, GK-KS, SK-KS-KS, GK-KS-KS gibi kütle spektrometrisi (KS) ile kombinasyonları, Elektrokimyasal ve Radyokimyasal yöntemler gibi yöntemlerle miktar tayinlerini içerir.

2.2.2. Tipik Validasyon Karakteristikleri

2.2.2.1. Doğruluk (Accuracy; Geri Kazanım(Recovery))

2.2.2.2. Kesinlik (Precision)

2.2.2.3. Seçicilik (Selectivity, specificity)

2.2.2.4. Teşhis Sınırı (LOD)

2.2.2.5. Tayin Sınırı (LOQ) veya tayin alt sınırı (LLOQ)

2.2.2.6. Doğrusallık (Linearity)

2.2.2.7. Duyarlılık (sensitivity)

2.2.2.8. Çalışma Aralığı (Range)

2.2.2.9. Sağlamlık (Robustness)

2.2.2.10. Tutarlılık (Ruggedness)

2.2.2.11. Stabilite (Ruggedness)

2.2.2.1. Doğruluk (Geri Kazanım):

Analiz sonucu elde edilen değerin gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür. Sonuçlar ortalama % geri kazanım olarak verilir. Ortama ilave edilen analitin (analizi yapılacak madde) analiz yapılan ortamdan hangi oranda geri alınabildiğini gösterir. Bu aynı zamanda biyolojik sıvılardan tüketmenin etkinliğini de gösterir. Kullanılan cihazlardan yapılan ölçümlere dayalı olarak hesaplanır. Biyolojik sıvılarda çalışılırken geri kazanımın % 100 olması gerekmez.

Geri kazanım çalışmaları en az 3 değişik derişim için yapılır; alçak (tayin alt sınırında veya yakın konsantrasyonunda), orta (çalışma konsantrasyon aralığının ortasında yer alan bir konsantrasyonda) ve yüksek (çalışma konsantrasyon aralığının üst sınırlarında veya yakınında yer alan bir konsantrasyonda) derişim değerleri seçilerek kullanılır. Seçilen her bir konsantrasyon için minimum 5 tayin yapılmalıdır. Bu tayinlerden minimum 3 tanesi ortalama değerin % 15 inden daha fazla sapma göstermemelidir. Tayin alt sınırındaki konsantrasyon için bu sapma % 20 yi geçmemelidir.

Geri kazanım çalışmaları için 3 yol izlenebilir. Bunlar:

2.2.2.1.1. Referans standart ile karşılaştırmak:

Geliştirilen analiz yöntemi ile 3 farklı derişimde, 3'er ölçüm alınır ve bu değerler % geri kazanım değerlerine çevrildikten sonra tümü bir araya getirilir. Sonuçlar referans kabul edilen veya basılı olan başka bir yöntem sonuçları ile istatistiksel olarak karşılaştırılır. Bu karşılaştırma işlemi için student-t ve Fisher (F) testleri kullanılır. Student-t testi ile iki yöntemin ortalamaları arasındaki, F testi ile de standart sapmaları arasındaki farklılık karşılaştırılır. Hesapla bulunan t ve F değerleri çizelgelerde verilen teorik t ve F değerleri ile kıyaslanır. Hesapla bulunan değerlerin çizelgede yer alan değerlerden küçük oluşu geliştirilen yöntemin en az referans olarak kabul edilen yöntem kadar hassas olduğunu gösterir. Sonuçların ortalamaları, % bağıl standart sapma (%BSS) ve/veya % bağıl hata (BH) (% Bias) ile beraber verilir.

$$\% BSS = \frac{SS}{X} \times 100$$

$$\% BH = \frac{GD - \bar{X}}{GD} \times 100$$

GD: Gerçek Değer

SS: Standart Sapma

\bar{X} : Ortalama Değer

2.2.2.1.2. Kör matris ortamına analizi yapılan maddeyi ilave etmek:

Farmasötik dozaj formları gibi matris etkisi olan numunelerle çalışıldığı zaman kullanılan bir yöntemdir. Analizi yapılacak madde boş matrise değişik derişimlerde eklenir. Bu matris ilaç dozaj formları için (etken maddesiz) yardımcı maddelerden, pestisit kalıntıları için pestisit ile muamele edilmemiş ekinlerden oluşur.

Genellikle % 50, 75, 100, 125 ve 150 oranında madde ilavesi yapılır ve her seviyede en az 3'er ölçüm yapılır. Sonuçlar % geri kazanım olarak ifade edilir ve % bağıl standart sapma ve/veya % bağıl hata (% BH) ile beraber verilir.

2.2.2.1.3 Standart ekleme yöntemi ile saf madde ilavesi:

Analizi yapılacak maddenin bilinen ve değişik miktarları matris içerisinde yer alan ve miktarı bilinmeyen veya daha önce tayin edilmiş aynı maddenin üzerine ilave edilir. Asıl numunedeki etken madde derişimi deney verilerinden matematiksel olarak hesaplanır. Genellikle % 25, 50, 100 oranında madde ilave etmek iyi bir yaklaşımdır. Madde ilave edilmiş ve ilave edilmemiş bütün numuneler en az 3'er defa analiz edilir. Sonuçlar ilave edilen ve ölçülen madde miktarları verilerek ifade edilir. Bu teknik,

katkı maddelerinin ve yardımcı maddelerin bilinmediği durumlarda kullanılır. Sonuçların ortalamaları, % bağıl standart sapma ve/veya % bağıl hata (% Bias) ile beraber verilir.

2.2.2.2. Kesinlik:

Geliştirilen yöntemin çalışılan koşullar altında tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür. Başka bir ifade ile bir numuneye aynı yöntem birden çok sayıda uygulandığında analit için bulunan sonuçların birbirine yakınlığının bir ölçüsüdür. % BSS (Bağıl Standart Sapma) veya % VK (Varyasyon Katsayısı) olarak ifade edilir. Ölçüm yapılan her bir derişim için minimum 5–6 tayin yapılmalıdır. Bunlardan en az 3 tanesi % BSS olarak teorik değerin % 15'inden daha fazla sapma göstermemelidir. Tayin alt sınırındaki konsantrasyon için (TAS) bu sapma % BSS olarak % 20 yi geçmemelidir.

Kesinlik üç kısımda düşünölmelidir. Tekrarlanabilirlik (repeatability), orta kesinlik (intermediate precision) ve tekrar elde edilebilirlik (reproducibility).

2.2.2.2.1 Tekrarlanabilirlik:

Kısa zaman aralığı içerisinde aynı işlem koşulları altındaki kesinliği ifade eder. Analizi yapılacak maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi hazırlanır ve bu çözeltilerden en az 10 ölçüm yapılır (30–40 ölçüm tercih edilmelidir). Bu tekrar edilebilirlik gün içi veya çalışma sırasındaki kesinlik olarak da adlandırılır. Sonuçta, kesinlik elde edilen değerin %BSS'ı verilerek ifade edilir ve %BSS ≤ 1.0 olmalıdır.

2.2.2.2.2 Orta-Kesinlik:

Orta kesinlik laboratuvar içi deneysel farklılıkları belirten bir kesinlik derecesidir. Farklı günlerde, farklı analizciler veya farklı cihazlar kullanılarak saptanabilen değerlerdir. Çalışmalar arası, deneyler arası veya günler arası kesinlik olarak tanımlanan bu değer çalışmanın tam anlamda kesinliğini belirtir. Bu kesinliği sağlayan çalışma diğer kesinlik parametrelerini de sağlamış olur. Analizi yapılacak maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı hazırlanır ve bu çözeltilerin her birinden en az 3'er

ölçüm, farklı günlerde ve/veya farklı analizciler tarafından ve/veya farklı cihazlarla yapılır. Sonuçta, orta kesinlik elde edilen değerlerin %BSS'ı verilerek ifade edilir ve $\%BSS \leq 2,0$ olmalıdır. Biyolojik numunelerle çalışırken %BSS değerleri 10-15'e kadar çıkabilmektedir.

2.2.2.2.3 Tekrar Elde Edilebilirlik:

Tekrar elde edilebilirlik özellikle ortak çalışma yapan farklı laboratuvarların uygulamaları sonucu elde edilen ve deneysel farklılıkları belirten bir kesinlik derecesidir. Özellikle yöntem tek biçimliliği (standardizasyonu) çalışmalarında kullanılan bir kesinlik değeridir. Geliştirilecek yöntem farklı laboratuvarlarda da aynı anda kullanılacaksa bu kesinliğin hesaplanması ve değerinin raporda belirtilmesi gerekir. Analizi yapılacak maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı laboratuvarlarda, farklı zamanlarda ve farklı analizciler tarafından (En az bir kaç gün ara ile yapılmalıdır) hazırlanır ve bu çözeltilerin her birinden en az 3'er ölçüm yapılır. Sonuçta, tekrar elde edilebilirlik, ölçülen değerlerin %BSS'ı verilerek ifade edilir ve $\%BSS \leq 2,0$ olmalıdır. Biyolojik numunelerle çalışırken %BSS değerleri 10-15'e kadar çıkabilmektedir.

2.2.2.3. Seçicilik:

Analizi yapılacak maddenin numunede bulunan girişim yapma ihtimali bulunan diğer yardımcı veya etken maddeler yanında miktarının tam ve doğru olarak tayin edilebileceğini gösteren bir parametredir. Bu kompleks numune karışımlarının analizinde girişim derecesinin de bir ölçüsüdür. Etken madde yanında safsızlıkların, parçalanma ürünlerinin, benzer kimyasal maddelerin veya plasebo bileşenlerin bulunduğu numune ile bulunmadıkları numunede yapılan miktar tayini analizlerde etkin maddenin bulunan konsantrasyonları arasındaki fark olarak ifade edilir. Özellikle stabilite tayini çalışmalarında yapılması kesinlikle zorunlu olan bir parametredir. Seçicilik yeterli düzeyde değilse, yöntemin doğruluğu, kesinliği ve doğrusallığı hakkında bir şüphe uyanır.

Seçicilik, miktar tayini sırasında gerekli validasyon işlemleri yapılırken, teşhis testleri ve safsızlıkların tayini sırasında yapılmalıdır. Kütle spektrometri ile birleştirilmiş yöntemlerin kullanılması durumunda girişimin olmadığı kabul edilir.

Seçicilik 2 yolla saptanır:

1- Tayini yapılan bileşik ile girişim yapma olasılığı bulunan maddelerin girişim yapma oranına veya ayırma yöntemlerinde, “Ayırım gücü” (R_s) değerlerine bakılır. Bu değer ayırma yöntemleri için $R_s \geq 2,0$ olmalıdır.

2- Ayırma yöntemlerinde duyarlı bir dedektör seçilebilir. İncelenecek bileşiğe cevap verme yeteneğine sahip olan dedektörler Elektrokimyasal veya Radyoaktivite Dedektörleridir. Bu dedektörler belli maddelere duyarlıdır ve başka maddelerin girişim yapma ihtimalini yok ederler.

1. basamaktaki işlem için:

A- Bütün bilinen veya girişim yapmasından şüphelenilen maddeler aynı anda geliştirilen yöntemle analiz edilir ve cevaptaki değişim incelenir. Ayırma yöntemlerinde bilinen veya girişim yapmasından şüphelenilen maddeler aynı anda kolona etken madde ile birlikte enjekte edilir ve ayırım gücü değerlerine bakılır ($R \geq 2,0$ olmalıdır).

B- İlaç dozaj şekillerinin yardımcı maddeleri, analizi yapılan madde ile birlikte geliştirilen yöntemle analizlenir ve cevap incelenir. Ayırma yöntemlerinde kolona enjekte edilir ve R değerlerine bakılır ($R \geq 2,0$ olmalıdır).

C- Maddenin %10-30'unu bozacak kadar süre, 0,1 N HCl (asit); 0,1 N NaOH (baz); 50 °C sıcaklık; UV ışığı veya %3 lük H_2O_2 çözeltisi ile etkileştirilir ve elde edilen çözelti geliştirilen yöntemle analiz edilir, ayırma yöntemlerinde ise kolona enjekte edilir. Sonuçta elde edilen kromatogramdaki piklerin R değerleri $R \geq 2,0$ olmalıdır.

D- Geliştirilen yöntemin şartlarında ufak değişiklikler oluşturulur (pH, tampon, iyon şiddeti, sıcaklık gibi). Bu değişiklikler sonucu cevapta bir farklılık olup olmadığı, ayırma yöntemlerinde herhangi bir ilave pik olup olmadığı ve bunun madde pikini etkileyip etkilemediği saptanır.

E- Ayırma yöntemlerinde kütle spektrometrisi dedektörleri gibi duyarlı ve hassas tekniklerle veya DAD (Foto diyot dizisi) dedektörü ile değişik dalga boyunda deney anında taramalar yaparak herhangi ilave bir pik olup olmadığını kontrol edilir.

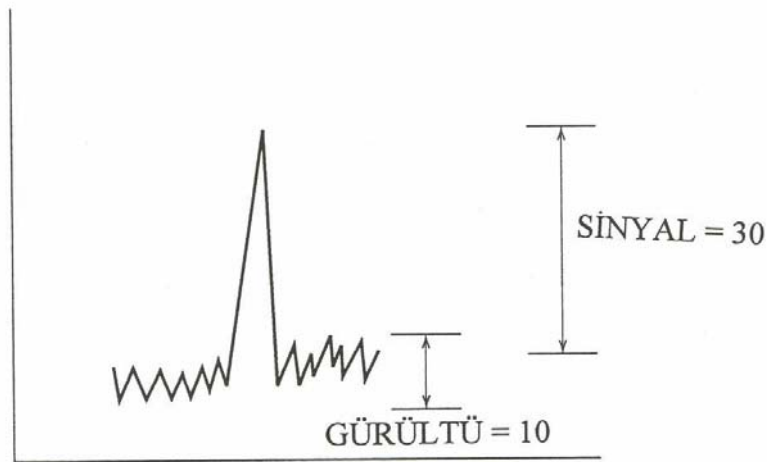
2.2.2.4. Teşhis Sınırı, Gözlenebilirlik Sınırı (TS):

Analizi yapılan örneğin belirlediği fakat nicel sınırlar içerisine girmediği en alt konsantrasyondur. Doğrudan, yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir. Doğrudan yapılan deneylerden, gözlenerek yapılan hesaplamalarda genel olarak Sinyal/Gürültü (signal/noise) oranı 3 olarak alınır.

Hesaplama yolu ile *Teşhis Sınırı* saptanmasında;

$$TS = 3.3 \times SS / m$$

eşitliği kullanılır. Bu eşitlikte SS= Kör çözeltilerinde (en az 5 adet) yöntem uygulandığında elde edilen sonuçlarının veya ilgili kalibrasyon doğrusunun kesişim değerinin standart sapması, m= ilgili kalibrasyon doğrusunun eğim değeridir.



Şekil 2.10 . Teşhis sınırını hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli

2.2.2.5. Tayin Alt Sınırı (TAS):

Analizi yapılan maddenin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği, doğrusallık sınırları içerisinde girmeyen veya kalibrasyon eğrisinin en alt derişimini oluşturan konsantrasyon düzeyidir. Doğrudan yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir.

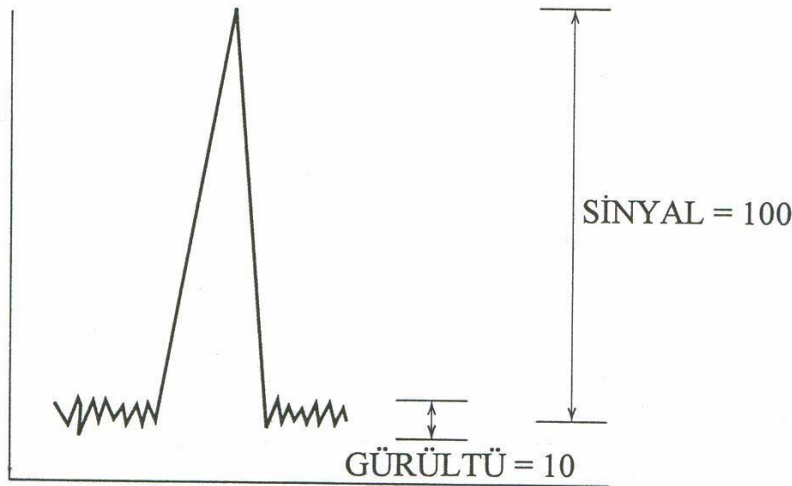
Doğrudan yapılan deneylerden gözlenerek TAS tespiti için genel olarak Sinyal/Gürültü oranı 10 olarak alınır.

Hesaplama yolu ile *Tayin Alt Sınırı* saptanmasında;

$$TAS = 10 \times SS / m$$

eşitliği kullanılır. SS= Kör çözeltilerinde (en az 5 adet) yöntem uygulandığında elde edilen sonuçların veya y eksenindeki kesişim değerinin standart sapması, m= ilgili kalibrasyon doğrusunun eğim değeridir.

SS ve m değerleri TS eşitliğinde kullanılan değerlerle aynıdır.



Şekil 2.11. Tayin alt hesaplanmasında kullanılan sinyal/gürültü oranı şekli

Biyolojik sıvılarla çalışılırken TAS'ını belirlemek için aşağıdaki şartların yerine gelmesi gerekir:

- a- Analitin TAS'daki derişimi için cihazdan ölçülen cevap kör için ölçülen cevabın en az 5 katı olmalıdır.
- b- Analit için gözlenen pikin veya alınan cevabın tanımlanabilir ve diğer girişim yapma ihtimali bulunan maddelerden ayrı olması gerekir ayrıca % 20 kesinlik ve % 80–120 doğrulukta tekrar edilebilir olmalıdır.

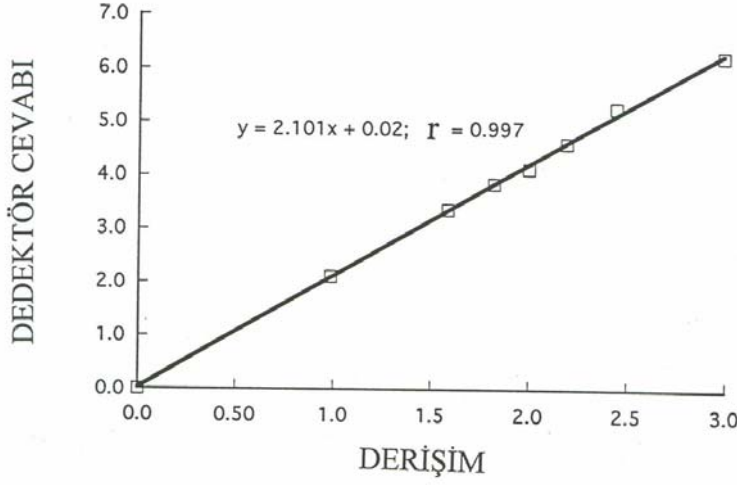
2.2.2.6. Doğrusallık:

Derişime karşı cevabın doğru orantılı olarak artması ve çizilen grafikte noktaların düz bir çizgi üzerinde yer almasıdır. Eğim (m), kesişim(n) ve korelasyon katsayısı (r) doğrusallığı veren parametrelerdir. Bunlar analit derişiminin ölçülen değerlere karşı regresyon analizleri ile matematiksel olarak hesaplanır. Doğrusallık, korelasyon katsayısı $r = 0,999$ ve üzerinde ise ve cevap değerleri çizilen doğrunun üzerinde yer alıyorsa sağlanmış demektir.

Doğrusallığı belirleyebilmek için stok çözeltiden en az 5 değişik derişimin hazırlanması ve analiz edilmesi gerekir. Bu derişimin alt sınırı hedef seviyenin %50 sinden düşük ve üst sınır da %150 sinden yüksek olacak aralıkta seçilmelidir. Bu 5 değerle yapılan doğrusallığın saptanması işleminin en az 3 defa tekrarlanması gerekir. Doğrusallığın tam validasyonu için ayrıca eğim ve kesişim değerlerinin %BSS ları veya standart hataları da hesaplanmalı ve raporda verilmelidir.

2.2.2.6.1 Kalibrasyon Doğrusu (Grafiği):

Analitin bilinen derişimleri ile cihazlarda ölçülen değerler arasındaki ilişkidir. Bir kalibrasyon eğrisi hazırlanırken seçilen derişimler daha önce yapılan çalışmalarla belirlenir. Doğrusal veya doğrusal olmayan sonuçlar elde edilebilir. Tayin alt sınırı ve Tayin üst sınırı derişimleri de dahil olmak üzere çalışma aralığında en az 5 derişim için (kör hariç) cihazdan ölçülen değerlere göre hazırlanır. Doğrusal olmayan eğriler için daha fazla standart derişimin seçilmesi uygun olur.



Şekil 2.12. Kalibrasyon doğrusu (grafığı) ve eşitliği

Biyolojik sıvılarla çalışılırken kalibrasyon eğrisi oluştururken aşağıdaki kriterlerin yerine gelmesi gerekir:

- a- Tayin alt sınırı derişiminden elde edilen cevaplar arasındaki sapma %20 den fazla olmamalıdır
- b- Tayin alt sınırı derişiminin dışında seçilen standart derişimlerden elde edilen cevaplardaki sapmalar % 15 den fazla olmamalıdır.

2.2.2.7. Duyarlılık:

Duyarlılık, doğrusallığın geçerli olduğu aralıktaki doğru denkleminin eğimidir. Pek çok kitapta aynı zamanda tayin alt sınırı olarak tanımlanmıştır. Tayin alt sınırı ne kadar küçükse yöntem o derece duyarlıdır.

2.2.2.8. Çalışma Aralığı:

Yeterli doğruluk ve duyarlılıkta doğrusallığa sahip yöntemin geçerli olduğu alt ve üst sınırlar arasında yer alan derişim aralığıdır. Derişim aralığı genellikle seçilen yöntemin tipine göre değişir. Bu aralık yöntemin doğrusallığı bulunduğundan sonra belirlenir. Ana maddenin analizinde standartların derişimleri genellikle hedeflenen seviyede veya ona yakın ölçülür. Bu derişimin alt sınırı hedef seviyenin %50 sinden

düşük ve %150 sinden yüksek olacak aralıkta seçilmelidir. Hedef miktarın %50, 75, 100, 125 ve 150 olacak şekilde aralık düzenlenebilir.

2.2.2.9. Sağlamlık:

Yöntemin, analiz parametrelerindeki ufak değişimlerden etkilenmeden kalabilme kapasitesidir. Bu parametreler organik çözücü yüzdesi, pH, iyonik güç, sıcaklık gibi etkenlerdir. Kararlılık yöntemin normal kullanımındaki güvenilirliğinin bir ölçüsüdür ve yöntem geliştirilirken değerlendirilmesi gereken bir parametredir.

Örneğin pH 3 de $\pm 0,1$ kadar bir değişim gösteren bir madde pH 4,5 da değişmeden aynı sonucu veriyorsa pH 4,5 ortam olarak seçilmelidir.

2.2.2.10. Tutarlılık:

Yöntemin gerçek kullanım koşulları altında tekrar edilebilirliğinin saptanmasıdır. Bunun için çalışmanın: aynı laboratuarda farklı analizciler tarafından; aynı laboratuarda farklı cihazlar tarafından; farklı laboratuarda gerçekleştirilmesi; reaktif ve çözücülerin markalarının değiştirilmesi; farklı günlerde ve sıcaklıklarda yapılması gibi normal test şartlarının değiştirilmesi; ayırma yöntemlerinde aynı marka ve modele sahip yeni bir kolon kullanarak tekrarlanması gereklidir.

Orta kesinlikle de benzeşmektedir. % BSS ile ifade edilir. Uluslararası Uyum Konferansı (ICH= International Conferance on Harmonization) bunu yapılması kesin olarak zorunlu işlemler grubuna dahil etmemiştir.

2.2.2.11. Stabilite:

Zorunlu bir validasyon parametresi olmamakla beraber yapılması tavsiye edilir. Tekrar edilebilir ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için numunelerin, standart maddelerin ve kullanılan çözücülerin uygun bir süre (örneğin 1 gün, 1 hafta, 1 ay veya ne kadar süreye ihtiyaç duyuluyorsa o kadar süre) stabilitesini koruması gereklidir.

Etken maddenin stabilitesi oda sıcaklığında ve en az 6 saat olarak değerlendirilmelidir. Saklama süresinin tamamlanmasından sonra stabilite taze hazırlanmış stok çözelti ile karşılaştırma yaparak tayin edilir.

Biyolojik numunelerde ilacın stabilitesi, onun saklama şartları, kimyasal yapısı, matris ve saklama kabının bir fonksiyonudur. Stabilite olarak; numune toplama ve işleme sırasında, uzun süreli (belirlenen saklama sıcaklığında), kısa süreli saklamalarda (oda sıcaklığında) ve dondurma - çözme işleminden sonra geliştirilen analitik yöntem uygulanarak tayin edilir.

Tüm stabilite çalışmalarında analitin, içinde analit ve girişim olmayan biyolojik sıvı içerisinde taze hazırlanmış stok çözeltilerinden hareketle hazırlanan numune setleri kullanılır.

2.2.2.11.1. Dondurma çözme stabilitesi: (Freeze and Thaw Stability):

Bu yolla yapılan stabilite çalışmalarında 3 dondurma ve çözme siklusu kullanılır. Düşük ve yüksek derişimlerde en az 3 çözelti istenen sıcaklıkta 24 saat süreyle dondurulur, sonra oda sıcaklığında kendiliğinden çözülmesi beklenir. Tamamen çözüldükten sonra numuneler aynı şartlarda 12–24 saat süreyle yeniden dondurulur. Donma-çözme işlemi 2 kez daha tekrarlanır ve 3. siklustan sonra tayin işlemi yapılır. Eğer analit istenen saklama şartlarında dayanıklı değilse; stabilite için numunenin 3 donma-çözme işlemi için – 70 °C kullanılır.

2.2.2.11.2. Kısa süreli stabilite (Short-term temperature stability):

Düşük ve yüksek derişimlerdeki numuneler oda sıcaklığında çözülür ve bu sıcaklıkta 4–24 saat aralığında tutulur (bu süre numunenin oda sıcaklığına gelmesi süresine bağlı olarak değişir). Bu sürenin tamamlanmasından sonra stabilite taze hazırlanmış stok çözelti ile karşılaştırma yaparak tayin edilir.

2.2.2.11.3. Uzun süreli stabilite (Long-term stability):

Bu stabilite, numunenin ilk toplandığı tarihten başlayarak son numune analizine kadar geçen süreyi kapsar. Bu işlemde düşük ve yüksek derişimde en az üç çözeltinin aynı koşullar altında saklanmasıdan sonra tayinleri yapılır. Numunelerin hacmi üç ayrı işlemde kullanıma yetecek kadar olmalıdır. Stabilite hesabında ilk toplandığı andaki derişim ile son derişim arasında kıyaslama yapılarak tayin edilir.

2.2.3. Yöntem Validasyonu İle İlgili Çalışmaların Sunumu:

Bir analitik yöntemin validasyonu; laboratuvar çalışmaları ile doğrulanması ve sonuçların deney validasyon raporları olarak sunulması ile tamamlanır. Müracaat sırasında hazırlanacak raporlar aşağıdaki bilgileri kapsamalıdır:

- a- Özet bilgi,
- b- Kullanılan yöntem ile ilgili bilgiler,
- c- Rutin numune analizlerine yöntemin uygulanmasıyla elde edilen biyoanalitik raporlar,
- d- Diğer bilgiler.

2.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

2.3.1. DeneYlerde Kullanılan Araç ve Gereçler

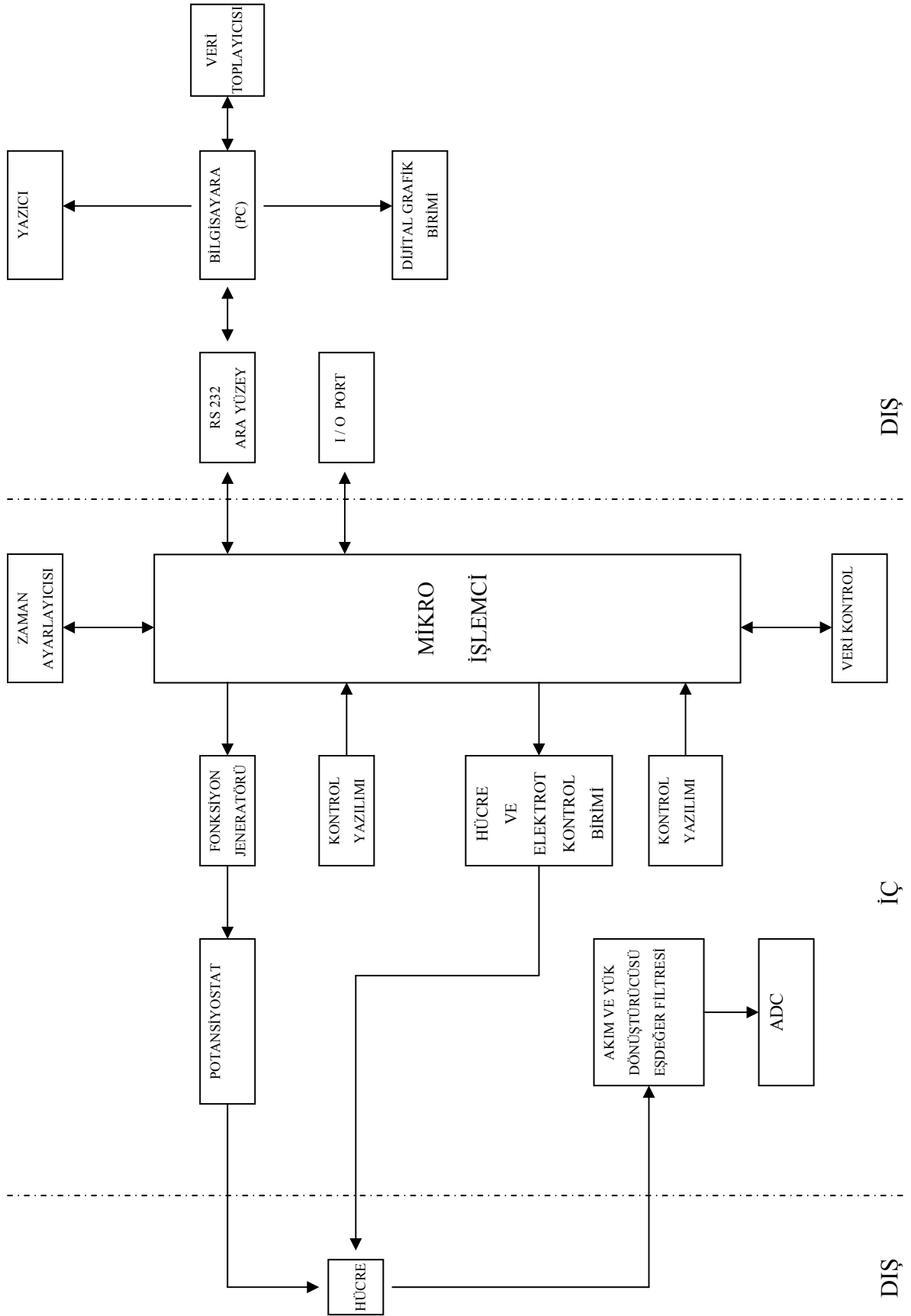
- a) Elektrokimyasal analizör : BAS 100 W
- b) DeneY hücresi : Tek bölmeli voltametrik hücre
- c) Elektrotlar
 - a. Çalışma elektrodu : Diamond elektrot (Windsor Scientific, England)
 - b. Yardımcı elektrot : Platin tel elektrot (BAS MF 1032)
 - c. Karşılaştırma elektrodu : Ag/AgCl (3M KCl) (BAS MF 2052)
- d) Manyetik karıştırıcı – ısıtıcı : Ikamag RH (Jange and Kungel IKA-Labor Technic)
- e) Hassas terazi : Labor Alliance ve Shimadzu Libror AEG –220
- f) UV-Vis spektrometresi: Shimadzu UV 1601
- g) pH metre : Model 538 (WTW, Austria)
- h) Kombine elektrot (cam elektrot-referans elektrot)
- i) FT-IR spektrometresi: Jasco-420
- j) Santrifüj
- k) Ultrasonik banyo
- l) Çeşitli boylarda pyrex[®] balonjoje, kapaklı, hacmi belirli deneY tüpleri, cam havan, beherler, çeşitli ölçülerde otomatik ve mikro pipetler, ön işleM için kullanılan BAS marka kahverengi yumuşak yüzeyli parlatma pedleri

2.3.1.1. BAS 100 W Elektrokimyasal Analizör

Bütün deneYlerde Bioanalytical System Inc.'nin BAS 100 W elektrokimyasal analizörü kullanılmıştır. Burada potansiyostat ve fonksiyon jeneratörü genel olarak polarograflarda olduğu gibi esas kısımlardır. Bilgisayar teknolojisi ile desteklenerek verim ve kullanım kolaylığı artırılmıştır. Microsoft Windows[®] ile uyumlu sistem yazılımı sayesinde cihazın kontrolü, veri toplanması ve bu verilerin değerlendirilmesi

kolaylıkla yapılmaktadır (Şekil 2.13). Bu cihaz, aşağıdaki tekniklerin kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

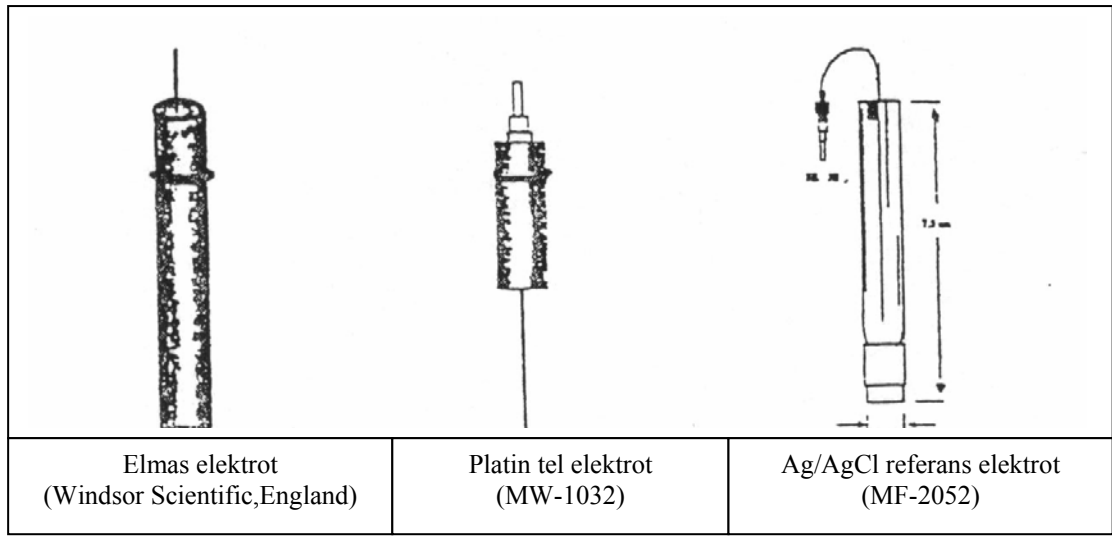
- a) Dönüştürümlü Voltametri
- b) Doğrusal Taramalı Voltametri
- c) Kronoamperometri
- d) Kronokulometri
- e) Normal Puls Voltametri ve Polarografisi
- f) Diferansiyel Puls Voltametri ve Polarografisi
- g) TAST Polarografisi
- h) Barker Kare Dalga Voltametri ve Polarografisi
- i) Osteryoung Kare Dalga Voltametri ve Polarografisi
- j) Alternatif akım (ac) Voltametri ve Polarografisi
- k) Faz Selektif ac Voltametri ve Polarografisi
- l) 2. Harmoni ac Voltametri ve Polarografisi
- m) Üçgen Dalga ac Voltametri ve Polarografisi
- n) Diferansiyel Üçgen Dalga ac Voltametri ve Polarografisi
- o) ac Direnci
- p) Döner Disk Elektrotla DTV
- q) Hidrodinamik Modülasyon Voltametrisi
- r) Barker Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi
- s) Diferansiyel Puls Sıyırma Voltametrisi
- t) Doğrusal Taramalı Sıyırma Voltametrisi
- u) Osteryoung Kare Dalga Sıyırma Voltametrisi
- v) Elektrokapiler Eğri Ölçümleri



Şekil 2.13. BAS 100 W elektrokimyasal analiz cihazının şeması

2.3.1.2. Deney Elektrotları

Tüm deneylerde çalışma elektrodu olarak bor ile dope edilmiş elmas elektrot kullanılmıştır. Bu elektrodun çapı 6 mm, yüzey alanı ise $28,27 \text{ mm}^2$ 'dir. Yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot (MW-1032) ve karşılaştırma elektrodu olarak da Ag/AgCl (MF 2052 BAS) elektrot kullanılmıştır. Bu elektrotların görünümü Şekil 2.14' de verilmiştir.



Şekil 2.14. Kullanılan deney elektrotlarının şekli

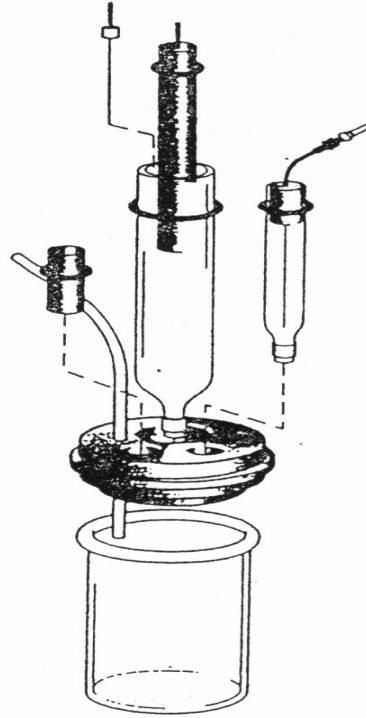
2.3.1.2.1. Deney Elektrotlarının Ön İşlemleri

Tekrar edilebilir elektrot yüzeyi oluşturabilmek amacıyla diamond çalışma elektroduna basit bir ön işlem uygulanmıştır. Bu elektrot için özel yapılmış yumuşak yüzeyli bir parlatma malzemesi üzerine az miktarda alüminyum oksit (Al_2O_3) tozu konup, distile suyla ıslatılarak elektrot yüzeyi dairesel hareketlerle parlatılmıştır. En iyi tekrar edilebilirliği sağlamak için tüm bu ön işlem değişik sayılarda tekrar edilerek en uygun parlatma sayısı saptanmıştır. Ön işlem yapıldıktan sonra parlatılan elektrot distile suyla yıkandıktan sonra temiz bir kurutma kağıdı ile kurulanıp deney hücresine alınmıştır. Platin tel yardımcı elektrot ile Ag/AgCl referans elektrot ise her deney

sonrasında, deney hücresinden çıkarılarak distile suyla yıkanıp, kurutma kağıdı ile kurutularak deney hücresine yerleştirilmiştir.

2.3.1.3. Deney Hücresi

Yapılan tüm deneylerde BAS 100 W elektrokimyasal analizöre ait özel olarak üretilmiş olan ve Şekil 2.15’de görülen deney hücresi kullanılmıştır. Bu sistem 2000 mVs^{-1} hıza kadar olan gerilim tarama hızlarını yapabilmektedir. Cihaz; Gateway 2000 markalı Pentium 166[®] işlemcili, Windows 95[®] işletim sistemiyle çalışan bir bilgisayarla uyumlu kullanılmaktadır.



Şekil 2.15. BAS 100 W elektrokimyasal analizör deney hücresi

2.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yapılan deneylerde kullanılan kimyasal maddelerden ileri gelebilecek safsızlıkların deney sonuçlarına yansımaması için kromatografik ve/ veya analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanılmıştır.(Çizelge 2.1., Çizelge 2.2, Çizelge 2.3).

Çizelge 2.1. Kullanılan Standart Madde

Standart Madde Adı	Üretici Firma Adı
Zolmitriptan	Astra Zeneca

Çizelge 2.2. Tayinlerde Üzerinde Çalışılan İlaç Dozaj Formu ve Birim Doz İçeriği

Madde Adı	Müstahzar Adı	Farmasötik Şekli	Birim Doz İçeriği
Zolmitriptan	Zomig Rapimelt®	Hızlı eriyen tablet	2.5 mg

Çizelge 2.3. Çözeltilerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Maddenin Adı	Üretici Firma Adı
Sülfürik Asit	Merck
Hidroklorik Asit	Merck
Sodyum Hidroksit	Merck
Asetonitril	Merck
Borik Asit	Merck
Fosforik Asit	Merck
Glasiyel Asetik Asit	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat	Merck
Alüminyum Oksit	Merck

2.4.1. Standart Maddelerin Saflık Kontrolleri

Saflık kontrolü amacıyla deneylerde kullanılan zolmitriptan'ın UV ve IR spektrumları alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, firma tarafından yollanan analiz sertifikasıyla da uyumlu olup; temin edilen standartların bu çalışmayı yürütebilecek özellikleri taşıdığı saptanmıştır.

2.4.2. Voltametrik Analizlerde Kullanılacak Çözeltilerin Hazırlanması

2.4.2.1. Standart Maddenin Stok Çözeltisi

Deneylerde kullanılan zolmitriptan'dan gerekli olan miktar (~ 0,029gram) hassas şekilde tartılıp, (100ml) distile su içerisinde 10^{-3} M derişimde stok çözelti hazırlanmıştır.

2.4.2.2. Serum Stok Çözeltisi

Bunun için, 10 ml'lik ağzı kapaklı santrifüj tüpüne 3,2 ml insan serumu konulur. İnsan serumu üzerine, 5×10^{-3} M'lık (~0,0144 gram zolmitriptan 10ml distile suda çözülerek hazırlandı) standart maddenin stok çözeltisinden toplam hacimde 10^{-3} M olacak şekilde (2ml 5×10^{-3} M'lık stok çözelti) zolmitriptan ilave edilir. Üzerine 4,8 ml asetonitril ilave edilerek serum proteinleri çöktürülür. Çözeltinin iyice karışması ve zolmitriptan ile serum numunesinin iyice etkileşmesini sağlamak için 30 dk süreyle ultrasonik banyoda karıştırılır. Daha sonra 5000 rpm'de 20 dk süreyle santrifüj edilir, böylece serum proteinlerinin çökmesi sağlanır. Üstteki berrak çözeltiden (10^{-3} M'lık serum stoğundan) gerekli miktarlarda (1ml) alınarak hacim 10 ml'ye destek elektroliti ile tamamlanır (10^{-4} M'lık serum stoğu elde edilir) ve deney hücrelerine alınır. DPV ve KDV eğrileri standart zolmitriptan eğrileri gibi kaydedilir. Çalışmaların sonunda elde edilen kalibrasyon eğrilerinden yararlanarak insan serumundan (herhangi bir ilaç kullanmayan ve onayları alınmış sağlıklı kişilerden alınan serumdan) zolmitriptan'ı geri kazanmak için yüzde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

2.4.2.3. Destek Elektrolitleri

Elektrokimyasal olaylarda elektroaktif olan maddenin elektrot yüzeyine taşınma basamaklarının aynı anda olmaması olayı basitleştirmektedir. Bu taşıma sistemleri arasında engellenmesi en kolay olanı göç (migrasyon) olayıdır. Bunun için çalışılan ortama kolayca iyonlaşan bir tuz, elektrokimyasal özellikleri incelenen maddeninkinden çok daha yüksek derişimlerde ilave edilir. Bu tuza ya da bu tuzu içeren çözeltiliye “*destek elektroliti*” adı verilir. Destek elektrolitinin derişimi incelenen maddenin derişiminden 100 kat daha fazla olmalıdır. Miktar tayini çalışmalarında ve kinetik incelemelerde analizi yapılacak maddeleri kolayca çözebilen, uygun pH aralığı sağlayan ve oldukça düşük akım veren çözeltiler destek elektroliti olarak seçilmiştir.

Deneylerde destek elektroliti olarak 0,1 M H₂SO₄ ve 0,5 M H₂SO₄ yanında değişik yapıda asidik ve bazik tampon çözeltileri (fosfat, asetat ve Britton-Robinson tamponları) kullanılmıştır.

2.4.2.4. Tampon Çözeltiler ve Hazırlanışları

Deneylerde sülfürik asit çözeltileri ve tampon çözelti olarak, asetat, fosfat ve Britton–Robinson tamponları kullanılmıştır.

Asetat tamponu için 1 M asetik asit çözeltisi hazırlanmış ve 5 M NaOH ile istenen pH değerlerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 3,70 – 5,70 aralığında çalışılmıştır.

Fosfat tamponu için 0,2 M H₃PO₄, NaH₂PO₄.2H₂O ve Na₂HPO₄ ve Na₃PO₄ çözeltileri hazırlanmış ve istenen pH'a uygun konjuge baz çözeltileri ile ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 2,00–8,05 aralığındaki belli pH değerlerinde çalışılmıştır.

Britton – Robinson tamponu için; 2,47gram H₃BO₃, 2,7ml derişik H₃PO₄ ve 2,3ml glasiyel CH₃COOH içeren 1000 mL çözelti bidistile su kullanılarak hazırlanmış ve 5,0

M NaOH çözeltisi ile istenen pH değerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 2,20 – 12,01 aralığında çalışılmıştır.

2.4.2.5. Voltametrik Yöntemin Tabletlere Uygulanması

6 adet draje hassas olarak tartılmış (0,6030gram) ve bir havanda ince toz haline getirilmiştir. Bu tozdan 1×10^{-3} M zolmitriptan'a eşdeğer miktarda tam tartılmış (~0,2888gram) ve balon jöjede distile su ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Ultrasonik banyoda 45 dakika karıştırılmış ve süzgeç kağıdından süzölmüştür. Sonunda elde edilen berrak çözeltiden uygun miktarda alınmış ve seçilmiş destek elektroliti (3,03 fosfat tamponu) ile tüpte gerekli hacime tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin standart çözeltilerle aynı koşullarda voltamogramları alınmıştır.

2.4.2.6. Zolmitriptan İçin Yapılan Geri Kazanım Çalışmaları

Çalışmada kullanılan zolmitriptan'ın farmakopelerde bir karşılaştırma yöntemi olmadığı için tablet içerisindeki katkı maddelerinin girişim yapıp yapmadığını anlamak amacıyla tabletlerden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Bu amaçla belirli miktarda toz edilmiş tablet (zolmitriptan miktarı önceden tayin edilen) ve belirli miktarda saf madde karışımı belli bir hacimde distile su içinde çözüldükten sonra tabletlere uygulanan işlemler aynen bu çözeltilere de uygulanmış, üstteki berrak çözeltiden kalibrasyon grafiğı içerisinde yer alan bir derişime karşılık gelen hacimde çözelti alınmış ve destek elektroliti ile seyreltilip voltamogramları kaydedilmiştir. Buradan da voltametrik deney sonucunda bu tartılan saf madde miktarının ne kadarının tayin edilebildiğı hesaplanmıştır.

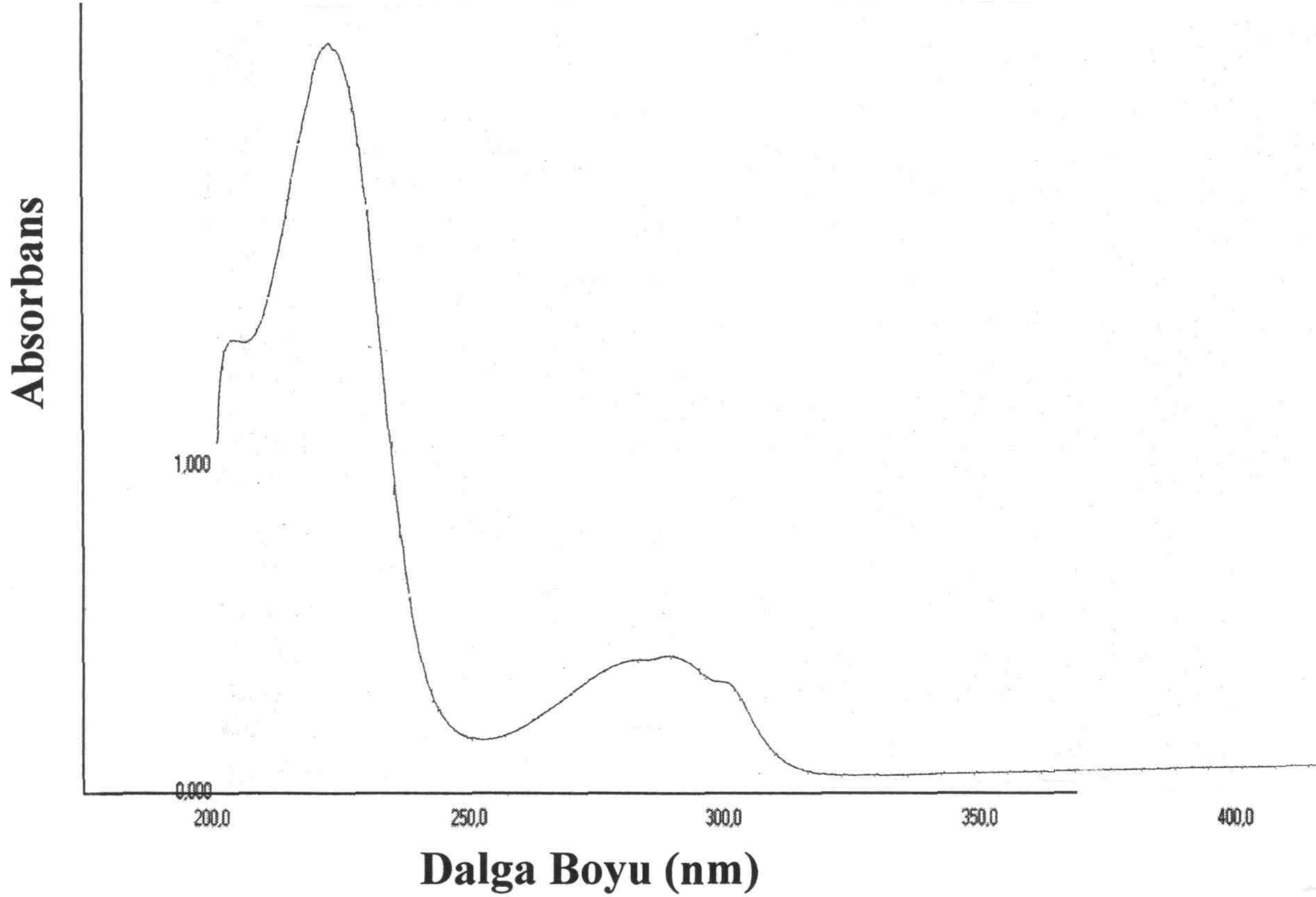
3. BULGULAR

3.1. Standart Maddenin Saflık Kontrolleri

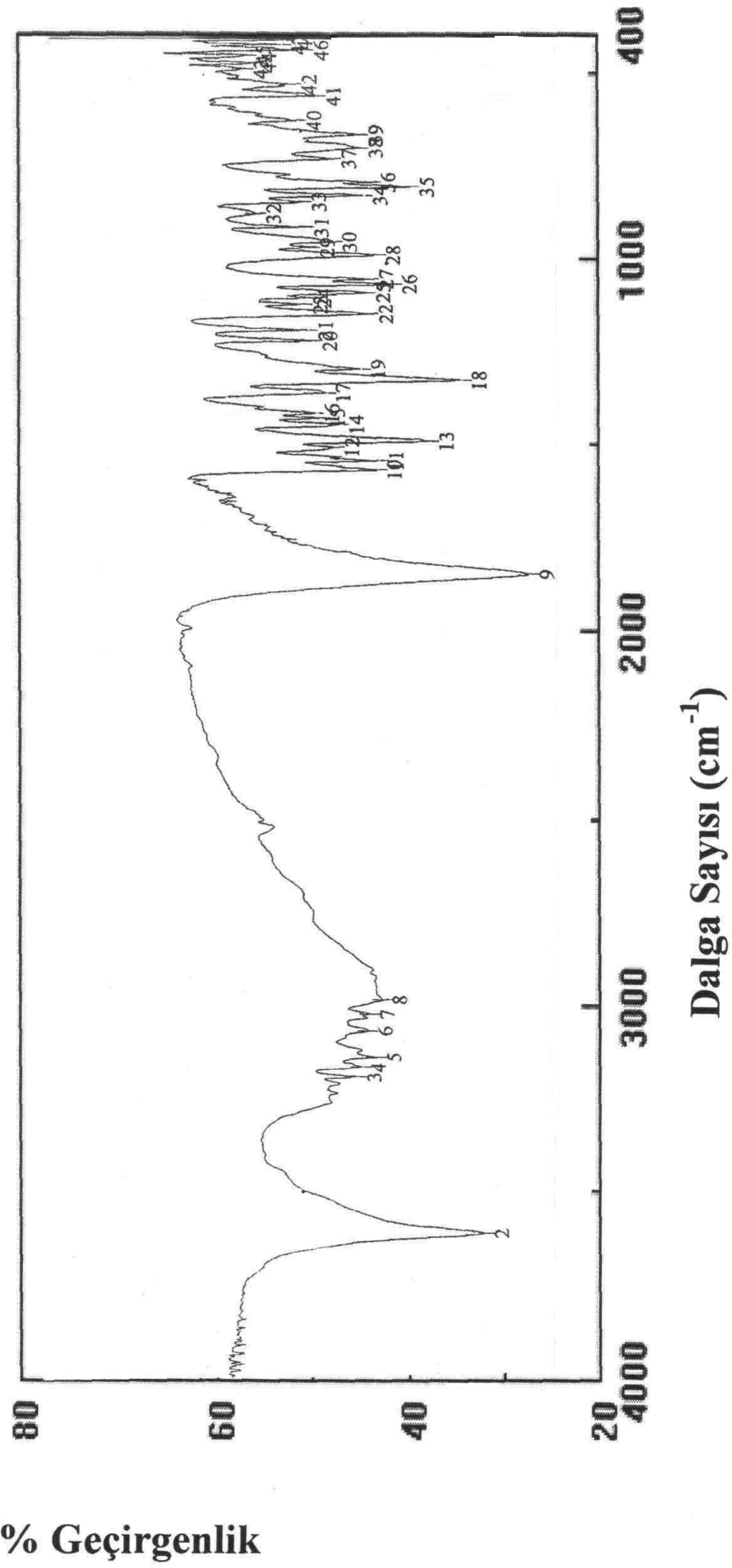
Deneylerde kullanılan zolmitriptan'ın UV ve IR spektrumları alınmış ve bu bölümde gösterilmiştir.

UV Spektrumu: 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın sulu ortamda 0,1 M HCl ile hazırlanan çözeltisinin 200 - 400 nm dalga boyları arasındaki UV spektrumu alındı ve Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

IR Spektrumu: KBr diskine basılmış zolmitriptan'ın $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki IR spektrumu Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. 20 µg/mL derişimdeki Zolmitriptan'ın UV Spektrumu



Şekil 3.2. Zolmitriptan'ın IR Spektrumu

3.2. Zolmitriptan Üzerindeki İncelemeler

Çalışma maddesi olarak seçilen zolmitriptan üzerinde dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) teknikleri kullanılarak farklı ortam ve pH değerlerinde kapsamlı çalışmalar yapılmıştır.

BAS 100 W elektrokimyasal analizörü, bor ile dope edilmiş elmas çalışma elektrodu, platin tel (MW 1032) yardımcı elektrot ve Ag/AgCl (MF 2052) karşılaştırma elektrodu deneylerin tamamında kullanılmıştır.

Dönüşümlü voltametri tekniği ile değişik destek elektrolitleri, farklı tamponlar ve farklı pH ortamları içerisinde zolmitriptan'ın elektrokimyasal davranışı yükseltgenme yönünde incelenmiştir.

Zolmitriptan'ın farklı pH'lardaki elektrokimyasal yükseltgenme yönündeki davranışını incelemek için destek elektroliti olarak 0,1 M ve 0,5 M H₂SO₄, pH 2,20-12,01 arasındaki Britton – Robinson tamponları (BRT), pH 2,00 – 8,05 arasındaki bazı pH değerlerindeki fosfat tamponları ve pH 3,70 – 5,70 arasındaki asetat tamponları kullanılmıştır. pH 3,03 fosfat tamponu, pH 3,70 asetat tamponu ve pH 3,04 BRT içinde ve değişik konsantrasyonlarda hız çalışmaları yapıldıktan sonra deneylerde analitik amaçlar için en uygun ortamın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde olduğu bulunmuştur.

pH 3,03 fosfat tamponu, pH 3,70 asetat tamponu ve pH 3,04 BR tamponunda ve değişik konsantrasyonlarda (4×10^{-5} M ve 1×10^{-4} M) hız taramaları yapılarak maddenin elektro yükseltgenme davranışı incelendikten sonra ticari tabletler üzerindeki uygulamaya geçilmiş ve bu amaçla Astra Zeneca ilaç firmasından temin edilen ve her biri 2,5 mg zolmitriptan içeren Zomig Rapimelt® adlı ilaç formülasyonundan örnekler alınıp tabletlerden miktar tayini ve % geri kazanım deneyleri yapılmıştır.

Çalışmanın daha sonraki aşamalarında ise, insan kan serumu örnekleri temin edilmiş ve bu örneklerle geliştirilen miktar tayini yöntemleri uygulanmıştır. İn vitro ya da

Ex-vivo olarak adlandırılan bu yöntemle ilgili detaylı açıklamalara ve hazırlanışa bölüm 2.4.2.2 ve 2.4.2.3’de yer verilmiştir.

3.2.1. Zolmitriptan Üzerindeki Voltametrik Çalışmalar

Zolmitriptan’ın voltametrik incelemesi, elmas elektrot ile dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) teknikleri kullanılarak yapılmıştır.

3.2.1.1. Zolmitriptan’ın Dönüşümlü Voltametri (DV) Çalışmaları

DV tekniği kullanılarak Zolmitriptan’ın elmas elektrot ile 0,1 M ve 0,5 M H₂SO₄, pH 2,20 – 12,01 Britton – Robinson (BR) tamponları, pH 2,00 – 8,05 fosfat tamponları, pH 3,70 – 5,70 asetat tamponları içeren destek elektroliti içerisinde pH, hız taraması ve mekanizma çalışmalarına yönelik incelemeler yapılmıştır.

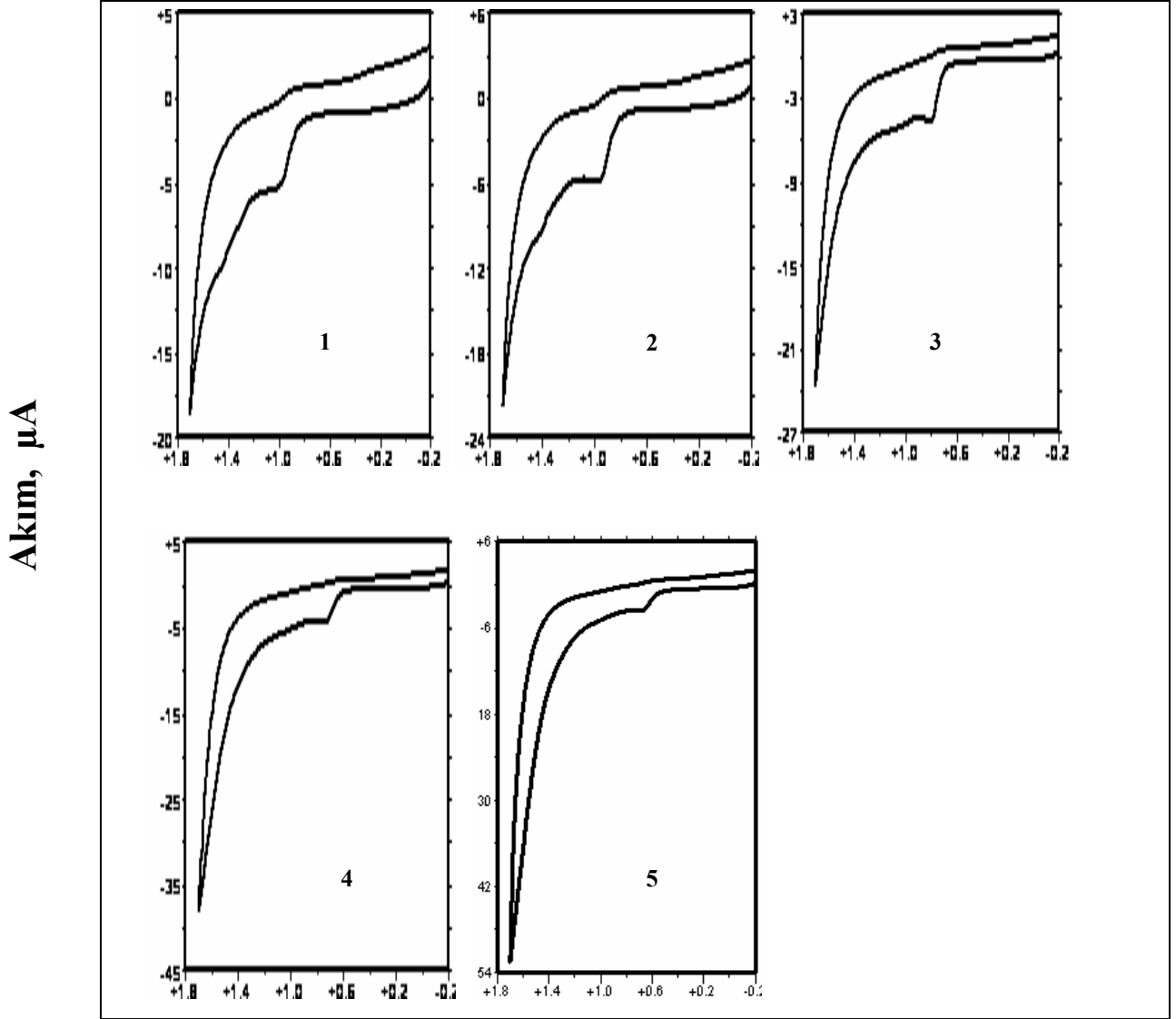
3.2.1.1.1. Zolmitriptan’ın Fosfat Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

Zolmitriptan’ın fosfat tamponları içerisindeki yükseltgenme yönündeki davranışlarını incelemek için pH 2,00; 3,03; 6,00; 7,00; 8,05 fosfat tamponları kullanılmıştır. pH incelemelerinde 8×10^{-5} M derişimde çalışılmıştır. Bu ortamlarda pH taraması yapılarak analitik değerlendirmeler için uygun koşulların saptanması ve destek elektroliti cinsinin ve pH’ın reaksiyon üzerinde etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Zolmitriptan’ın 8×10^{-5} M derişimi ile pH 2,00 - 8,05 aralığında bazı pH değerindeki fosfat tamponlarındaki voltamogramları Şekil 3.3.’de görülmektedir.

Voltamogramlarda pH 2,00’de 970 mV dolaylarında yayvan ve oldukça büyük pik gözlenirken 1300 mV ve 1435 mV’da daha küçük dalgalar gözlenmiştir. pH 3,03’de bu pikler 950 mV, 1280 mV ve 1410 mV’da gözlenebilmiştir. pH 6 ve 7’de bir büyük pik ve küçük bir dalga gözlenmiş, pH 8,05 fosfat tamponu içerisinde ise, sadece

670mV'da yayvan ve belirgin tek bir pik gözlenebilmiştir. Yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça gözlenen pik ve dalgaların daha az potansiyellere kaydığı gözlenmiştir. pH 2- 8,05 arasında gözlenen potansiyel değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir (Voltamogramlarda daha az pozitif potansiyelde yer alan *asıl pik*, diğerleri *dalga* olarak isimlendirilmiştir).



Potansiyel, V

Şekil 3.3. 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05.

Çizelge 3.1. Fosfat tampon çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

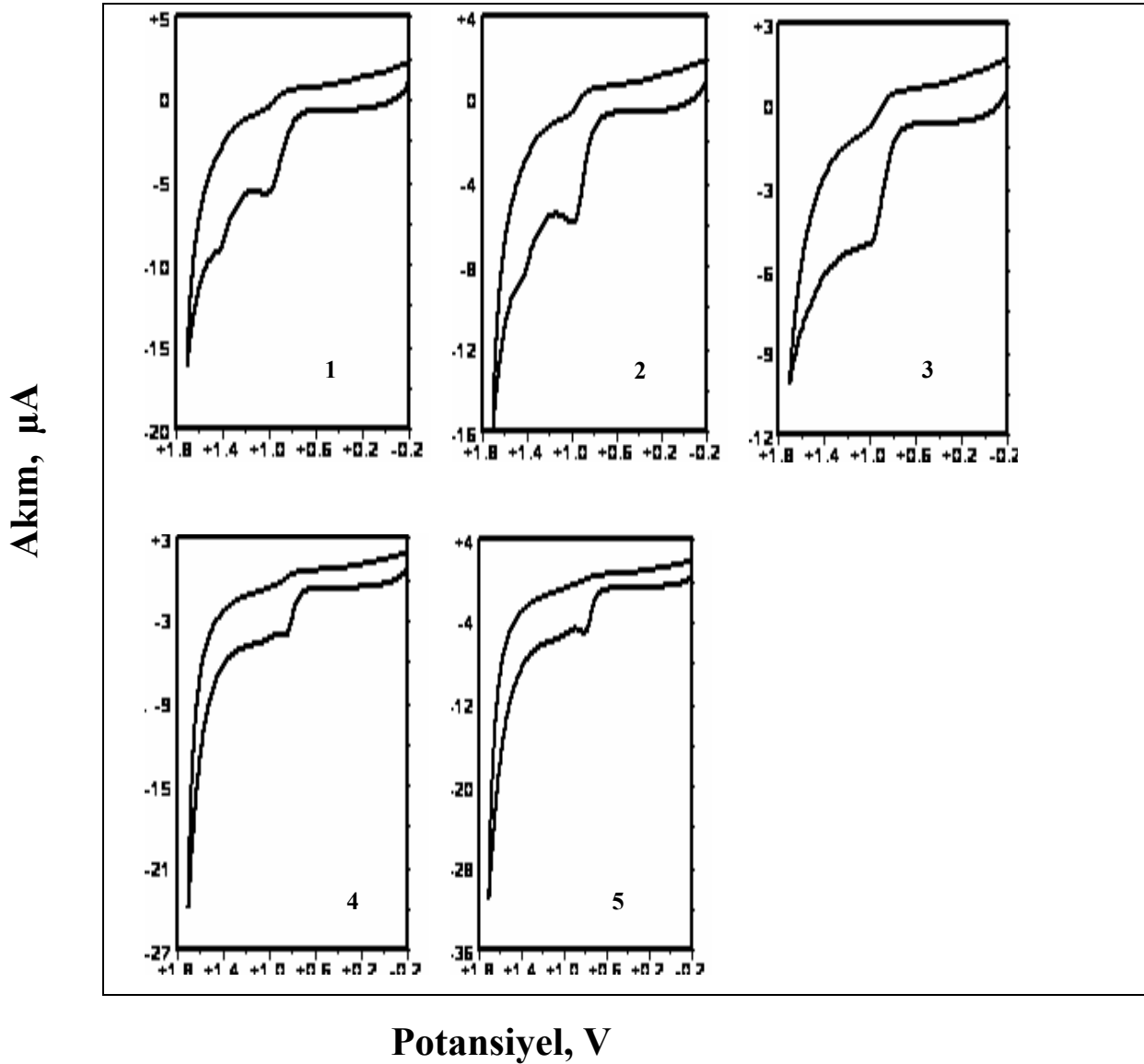
pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,00	970	1,774	1300	1435
3,03	950	2,66	1280	1410
6,00	810	1,99	1035	-
7,00	735	1,81	1020	-
8,05	670	1,38	-	-

3.2.1.1.2. Zolmitriptan'ın BRT Çözeltileri İçerisinde Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

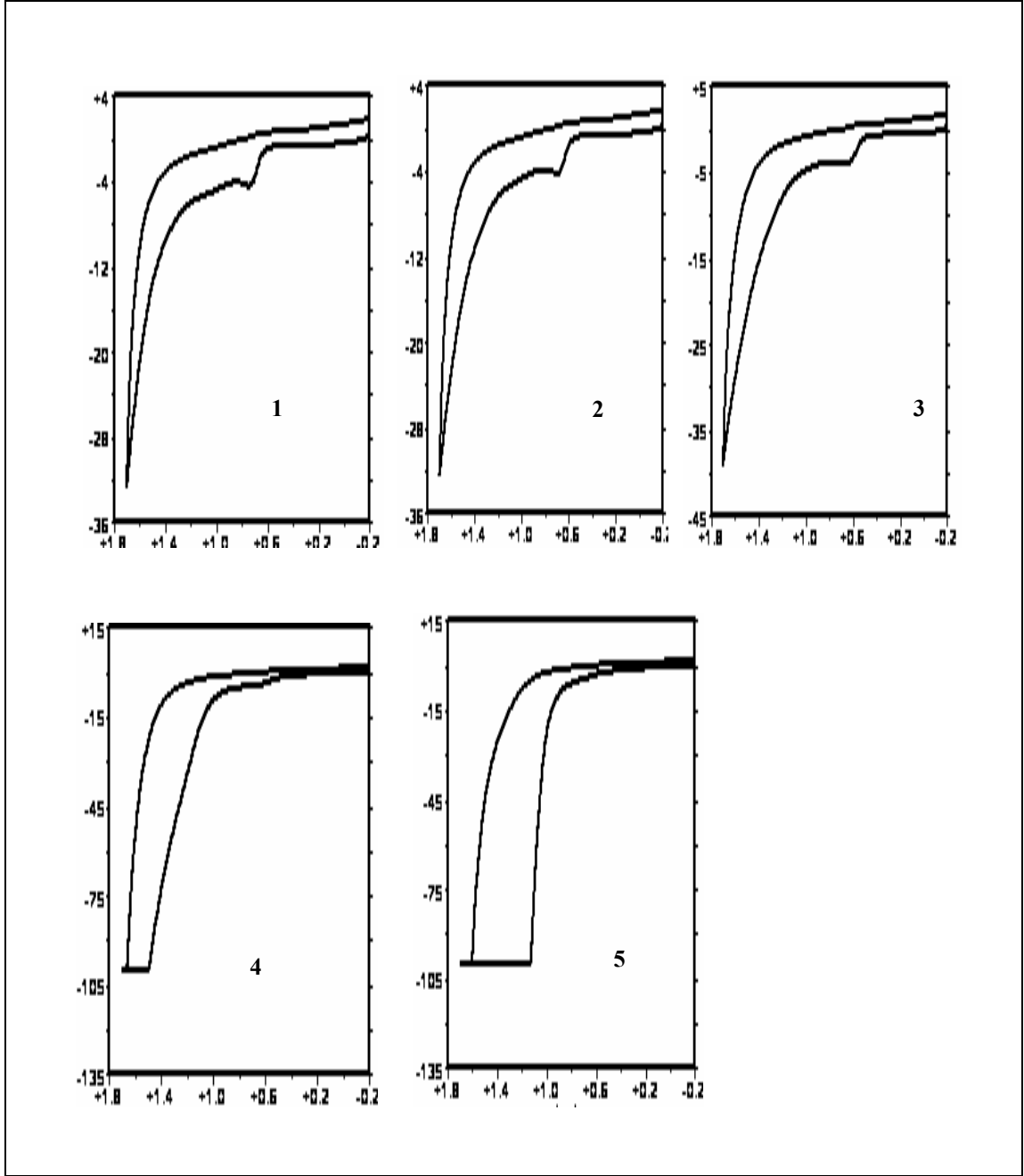
Zolmitriptan'ın BR tampon çözeltileri içerisindeki yükseltgenme yönündeki davranışlarını incelemek için pH 2,20; 3,04; 4,00; 5,04; 6,02; 6,98; 8,03; 9,01; 11,00; 12,01 BR tampon çözeltileri kullanılmıştır. pH incelemelerinde 8×10^{-5} M derişimde çalışılmıştır. Bu ortamlarda pH taraması yapılarak analitik değerlendirmeler için uygun koşulların saptanması ve destek elektrolitin cinsinin ve pH'sının reaksiyon üzerinde etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Zolmitriptan'ın 8×10^{-5} M derişimi ile pH 2,20-12,01 BR tampon çözeltileri içerisindeki voltamogramları Şekil 3.4a ve 3.4b' de görülmektedir.

pH 2,20'de pik 980 mV dolaylarında ve pH 2,20 ve pH 3,04 tamponlarında asıl pik yanında daha pozitif değerlerde iki dalga gözlenirken pH 4 değerinden sonra sadece asıl pik gözlenmiş, dalgalar gözlenememiştir. pH değeri arttıkça potansiyel değerlerinin daha az pozitif değerlere kaydığı görülmüştür. Bütün pH değerlerinde geri dönüş yönünde (katodik yönde) bir dalga veya pike rastlanmamıştır. Potansiyel değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.4a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,20 – 6,02 arası BR tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02.



Potansiyel, V

Şekil 3.4b. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 6,98 – 12,01 arası BR tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01; 4) pH 11,00; 5) pH 12,01.

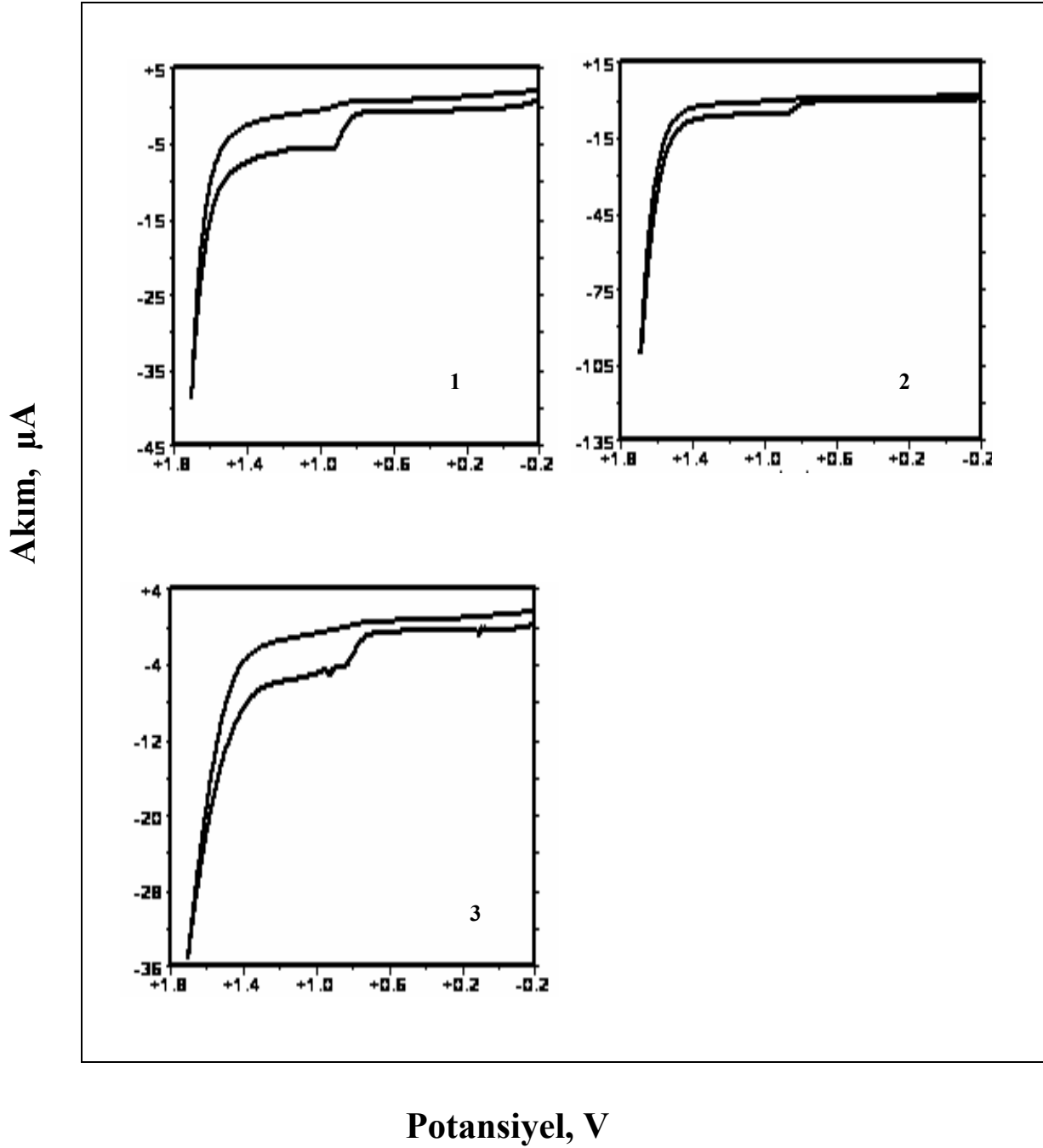
Çizelge 3.2. BR tampon çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,20	980	2,171	1275	1420
3,04	967	2,808	1294	1435
4,00	986	2,083	-	-
5,04	860	2,061	-	-
6,02	792	1,931	-	-
6,98	727	1,979	-	-
8,03	685	1,972	-	-
9,01	628	1,621	-	-
11,00	613	0,83	-	-

3.2.1.1.3. Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

Zolmitriptan'ın yükseltgenme yönündeki davranışları pH 3,70; 4,70 ve 5,70 asetat tamponları içerisinde incelenmiştir. pH incelemelerinde 8×10^{-5} M derişimde çalışılmıştır. Bu ortamlarda pH taraması yapılarak analitik değerlendirmeler için uygun koşulların saptanması ve destek elektrolit cinsinin ve pH'sının reaksiyon üzerinde etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

pH 3,70'de pik 935 mV'da gözlenirken 1253 mV'da küçük bir dalga görülmüş, pH'ın artmasıyla bu değerlerin daha az pozitif potansiyellere kaydığı ve pH 5,7'de sadece pikin olduğu, dalganın kaybolduğu görülmüştür. Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile pH 3,70 - 5,70 asetat tamponlarındaki voltamogramları Şekil 3.5'de görülmektedir.



Şekil 3.5. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 – 5,70 arası asetat tamponları içerisindeki voltamogramları. 1) pH 3,70 , 2) pH 4,70, 3) pH 5,70

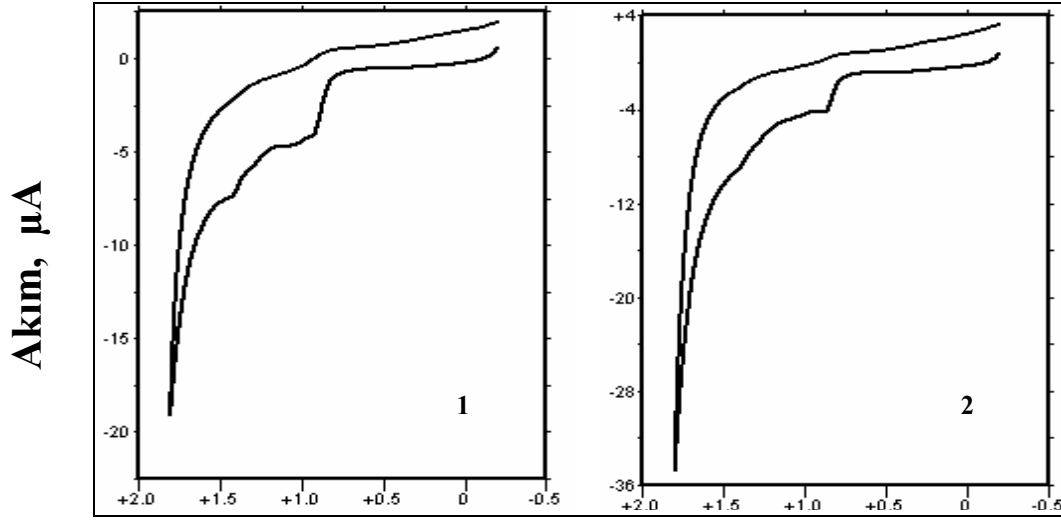
Çizelge 3.3. Asetat tamponu içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1. Dalga Potansiyeli (mV)	2. Dalga Potansiyeli (mV)
3,70	935	2,872	1253	-
4,70	875	2,663	1062	-
5,70	850	1,473	-	-

3.2.1.1.4. Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri ile Yapılan Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

Zolmitriptan'ın sülfürik asit çözeltileri içerisindeki yükseltgenme yönündeki davranışlarını incelemek için 0,1M; 0,5M H_2SO_4 çözeltileri kullanılmıştır. pH incelemelerinde 8×10^{-5} M derişimde çalışılmıştır. Bu ortamlarda pH taraması yapılarak analitik değerlendirmeler için uygun koşulların saptanması ve sülfürik asit derişiminin ve pH'sının reaksiyon üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Zolmitriptan'ın 8×10^{-5} M derişimi ile 0,1 M; 0,5 M H_2SO_4 çözeltilerindeki voltamogramları Şekil 3.6.'da görülmektedir. Farklı H_2SO_4 derişimlerinde elde edilen pik potansiyelleri ve bunlara karşılık elde edilen akımlar Çizelge 3.4'de gösterilmiştir. 0,1 M H_2SO_4 çözeltisi içerisinde 930mV'da pik, 1050mV, 1270mV ve 1420mV'da üç tane dalga görülmekte ve 0,5 M H_2SO_4 çözeltisi içerisinde bu pikin 870mV'a kaydığı ve dalgaların (1040mV, 1260mV ve 1400mV'daki) çok iyi gözlemlenmediği görülmüştür.



Potansiyel, V

Şekil 3.6. 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın farklı asit derişimleri içerisindeki voltamogramları. 1) 0,1M 2) 0,5M

Çizelge 3.4. Sülfürik asit çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın farklı pH değerlerinde DV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)	3.Dalga Potansiyeli (mV)
0,1 M	930	1,93	1050	1270	1420
0,5 M	870	1,87	1040	1260	1400

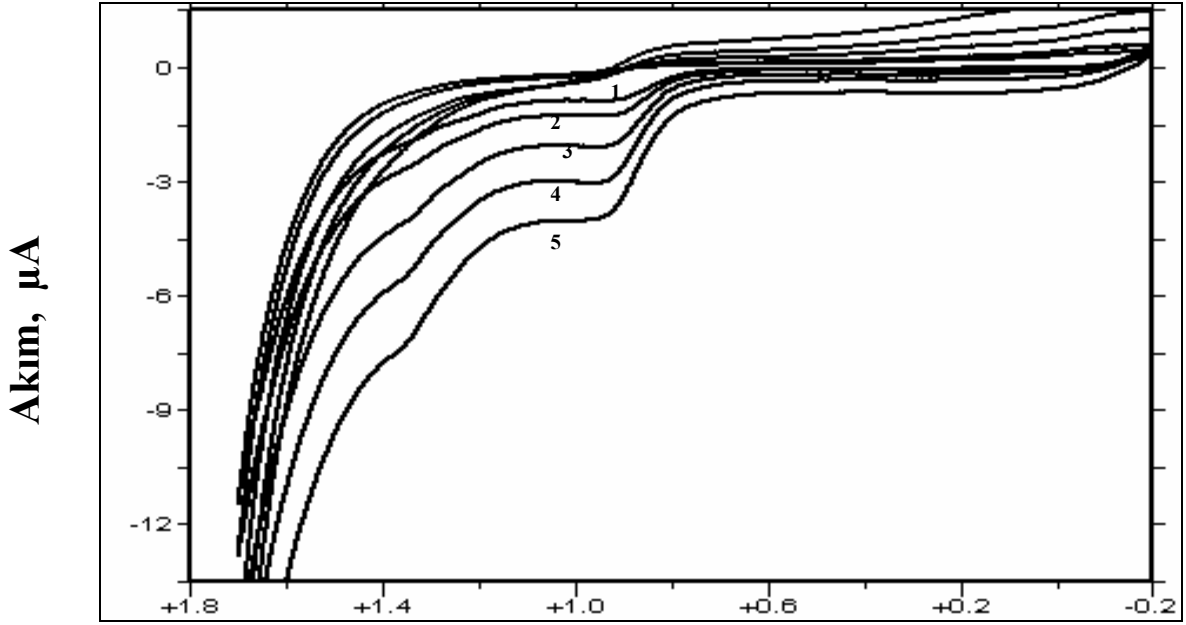
Akım değerinin oldukça büyük olduğu ve en düzgün pik Şekillerinin elde edildiği pH 3,03 fosfat tamponu, pH 3,7 asetat tamponu, pH 3,04 BR tamponları içerisinde, 4×10^{-5} M ve 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın farklı tarama hızlarındaki eğrileri 5-1000 mVs^{-1} aralığında kaydedilmiştir.

Bu deneylerden elde edilen sonuçlara bakıldığı zaman pH 3,03 fosfat tamponu içinde 4×10^{-5} M zolmitriptan derişiminde 5-1000 mVs^{-1} aralığında hızın kara kökü ile akımın doğrusal olarak arttığı ve potansiyelin bu aralıkta hız artışıyla birlikte 51mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı görülmüştür, 1×10^{-4} M zolmitriptan derişiminde ise, $v^{1/2} - i_p$ ilişkisinin doğrusal olmakla beraber eğrinin $\log v - \log i_p$ arasındaki eğim değerinin 0,5'e yakın olduğu ve potansiyelin bu aralıkta hız artışıyla birlikte 54mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı görülmüştür.

Bu deneylerden elde edilen veriler izelge 3.5'de, 3.6'da, 3.7'de, 3.8'de, 3.9'da, 3.10'da gösterilmiştir. Bu deneylere ait voltamogram da Şekil 3.7a'da, 3.7b'de; 3.8a'da, 3.8b'de; 3.9a'da, 3.9b'de; 3.10a'da, 3.10b'de; 3.11a'da, 3.11b'de ve 3.12a'da ve 3.12b'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 5-1000 mVs^{-1} tarama hızları elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

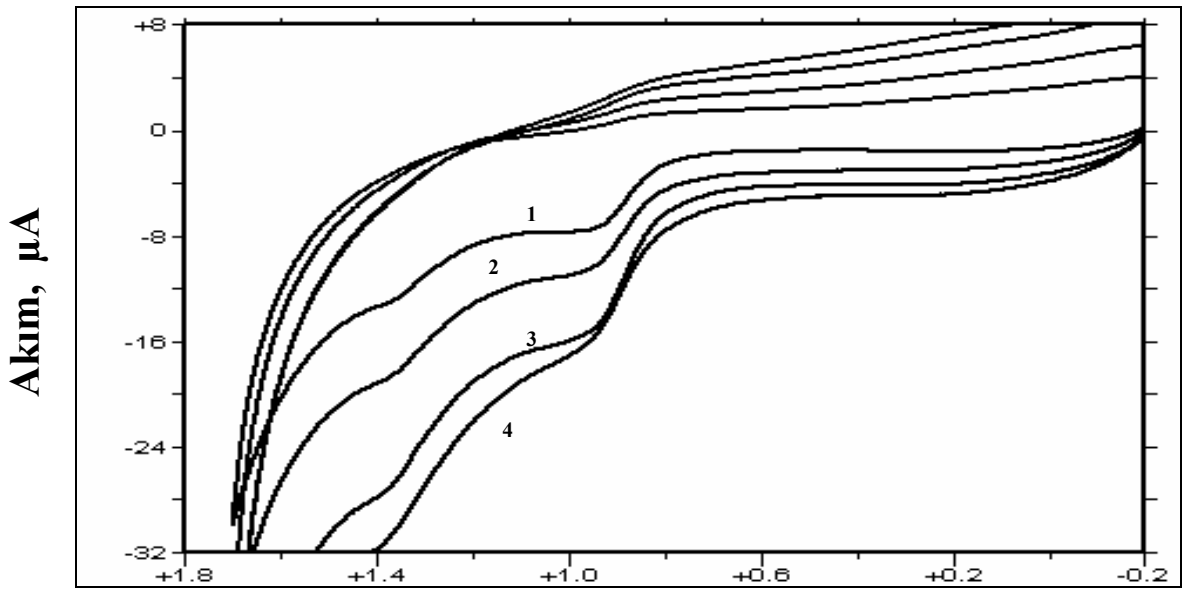
Tarama hızı (mV.s^{-1})	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,349	900	0,699	- 0,457
10	3,162	0,523	917	1,000	- 0,282
25	5,000	0,871	924	1,397	- 0,060
50	7,071	1,206	929	1,699	0,081
100	10,000	1,389	929	2,000	0,143
250	15,811	2,100	943	2,398	0,322
500	22,361	2,98	946	2,699	0,464
750	27,386	3,26	939	2,875	0,513
1000	31,623	3,826	951	3	0,583



Potansiyel, V

Şekil 3.7a. 4×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 3,03' fosfat tamponu içerisinde 5-100 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar.

1) 5 mVs^{-1} ; 2) 10 mVs^{-1} ; 3) 25 mVs^{-1} ; 4) 50 mVs^{-1} ; 5) 100 mVs^{-1}

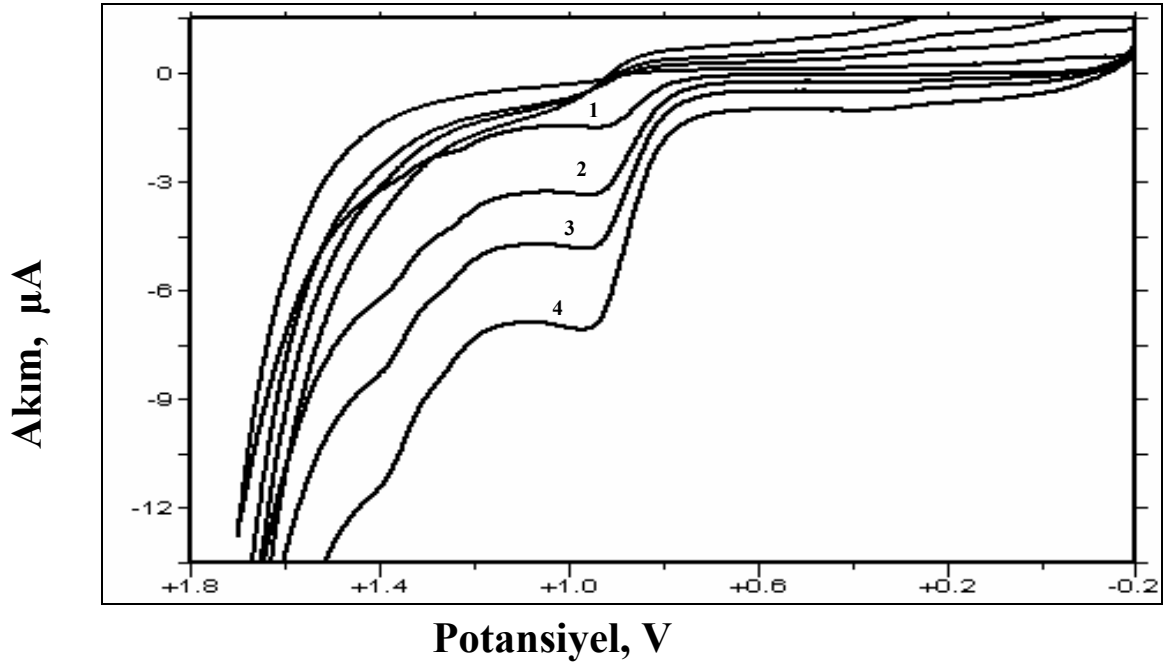


Potansiyel, V

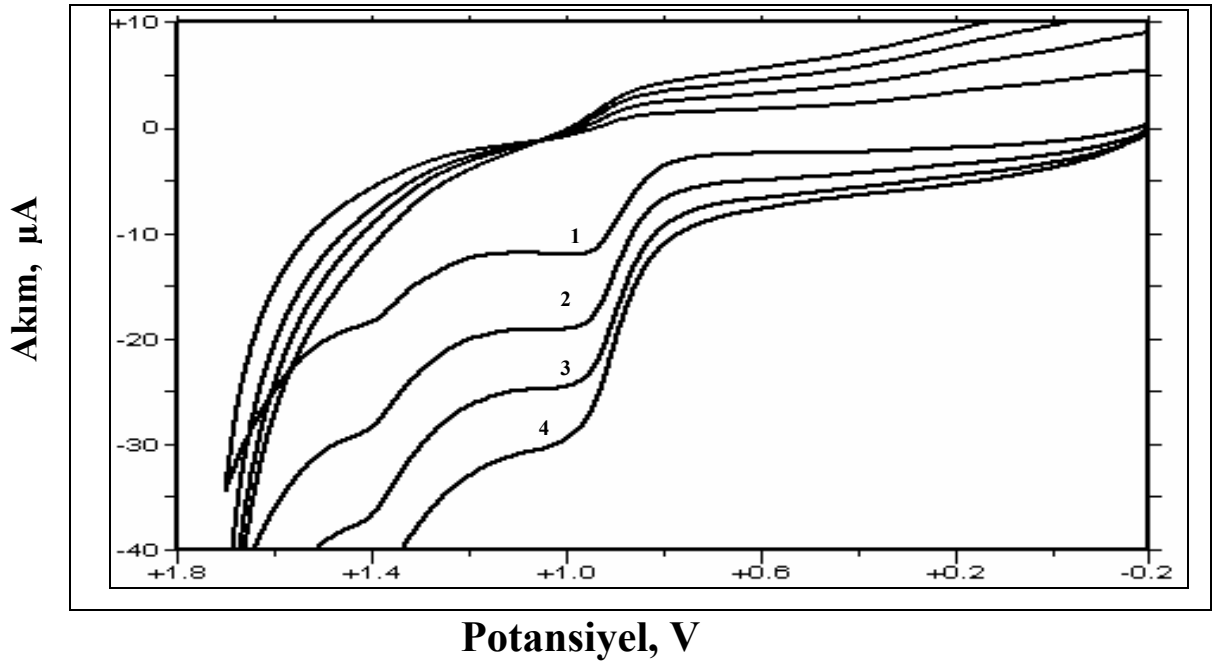
Şekil 3.7b. 4×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponunda 250-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}

Çizelge 3.6. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 5-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

Tarama hızı ($\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$)	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,680	914	0,699	- 0,168
25	5,000	1,456	932	1,397	0,163
50	7,071	2,142	937	1,699	0,331
100	10,000	3,061	940	2,000	0,486
250	15,811	4,753	950	2,398	0,667
500	22,361	6,322	959	2,699	0,801
750	27,386	7,580	957	2,875	0,880
1000	31,623	8,344	968	3	0,911



Şekil 3.8a. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $5\text{-}100 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 5 mVs^{-1} ; 2) 25 mVs^{-1} ; 3) 50 mVs^{-1} ; 4) 100 mVs^{-1}

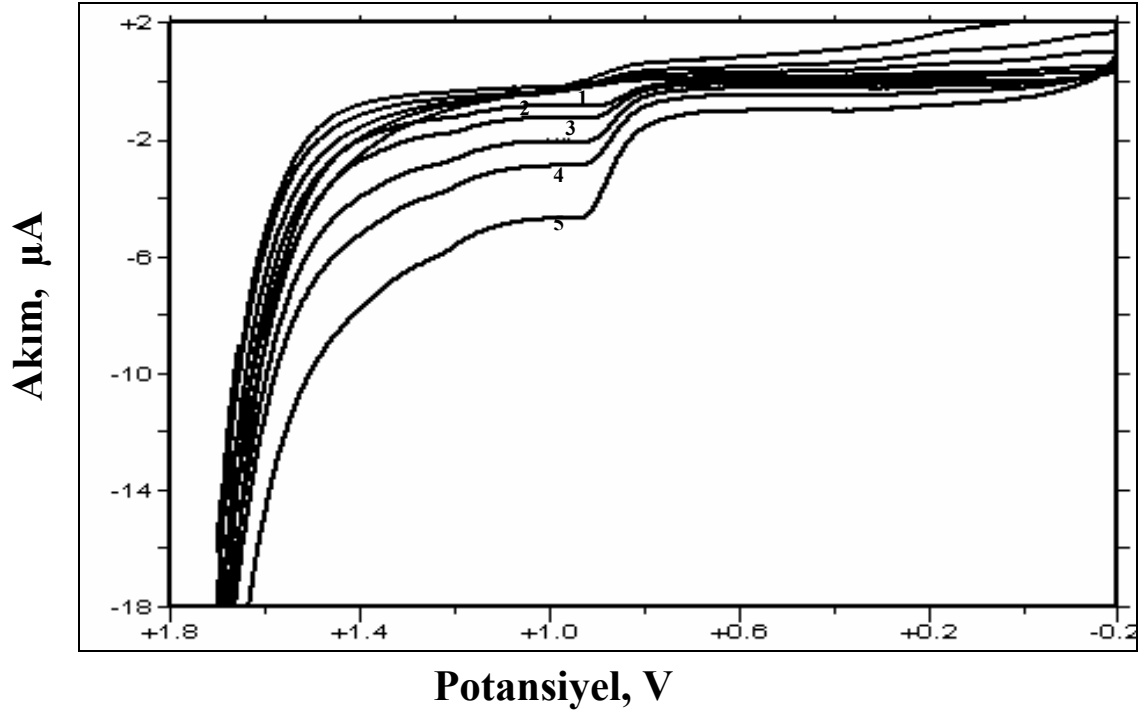


Şekil 3.8b. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponunda $250\text{-}1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1)250; 2)500; 3)750; 4)1000 mVs^{-1}

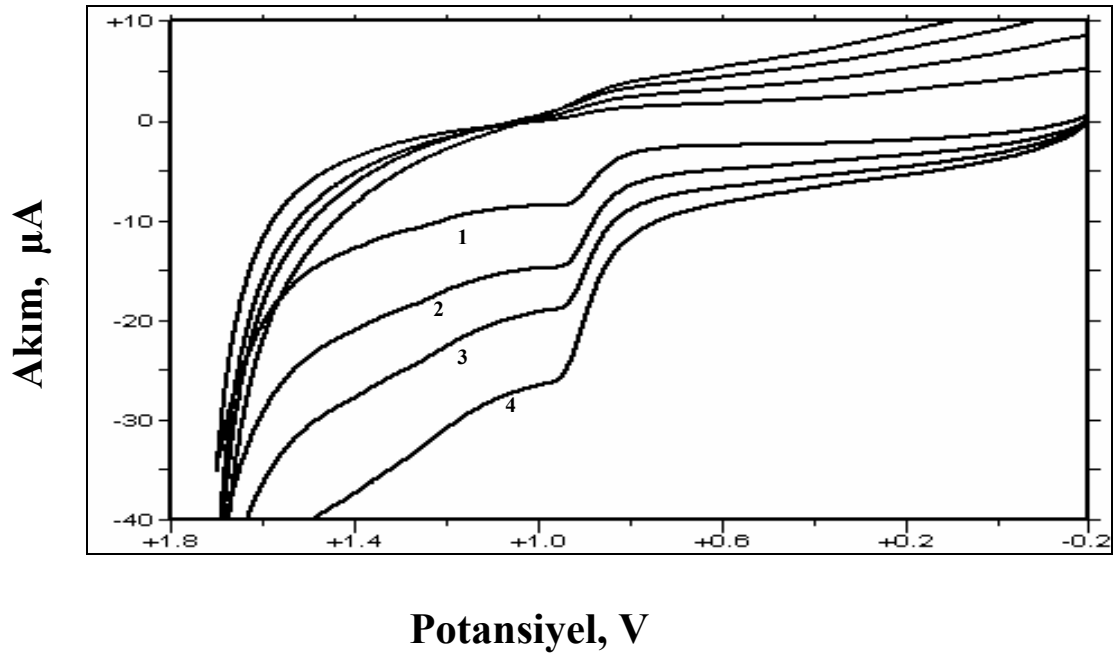
pH 3,7 asetat tamponu içerisinde $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan derişiminde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ aralığında hızın kara kökü ile akımın doğrusal olduğu ve potansiyelin bu aralıkta 63 mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı, $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan derişiminde ise, hızın kara kökü ile akım ilişkisinin doğrusal olmakla beraber eğrini $\log v - \log i_p$ arasındaki eğim değerinin $0,5$ 'e yakın olduğu ve potansiyelin bu aralıkta hız artışıyla birlikte 54 mV daha pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür.

Çizelge 3.7. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde $5-1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

Tarama hızı (mV.s^{-1})	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,358	885	0,699	- 0,446
10	3,162	0,5097	901	1,000	- 0,293
25	5,000	0,826	908	1,397	- 0,083
50	7,071	1,101	913	1,699	0,042
100	10,000	1,648	920	2,000	0,217
250	15,811	2,541	932	2,398	0,405
500	22,361	3,909	939	2,699	0,592
750	27,386	4,576	938	2,875	0,661
1000	31,623	6,008	948	3	0,779



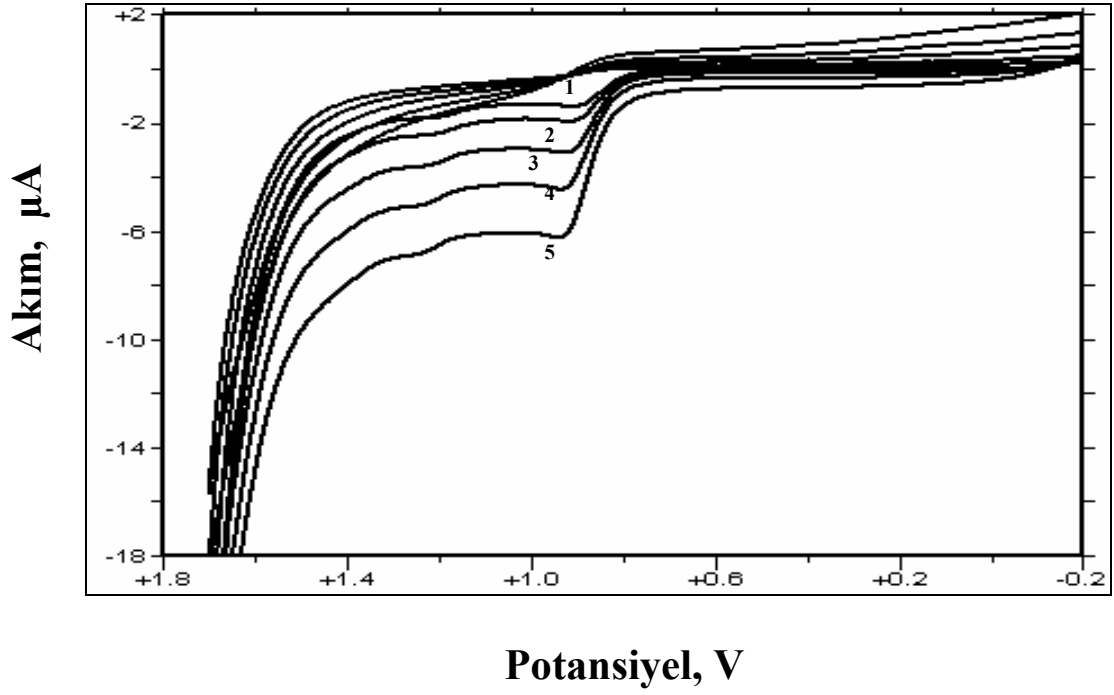
Şekil 3.9a. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde 5-100 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4)50; 5)100 mVs^{-1}



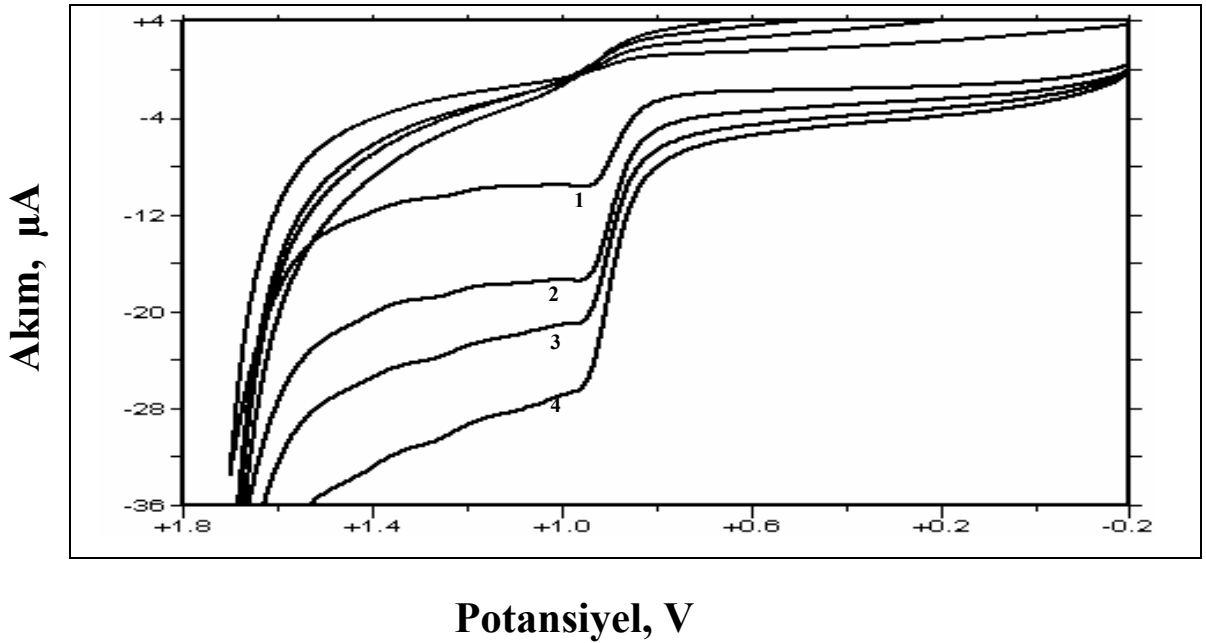
Şekil 3.9b. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponunda 250-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1)250; 2)500; 3)750; 4)1000 mVs^{-1}

Çizelge3.8. 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde 5-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

Tarama hızı ($\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$)	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,594	895	0,699	- 0,226
10	3,162	0,851	901	1,000	- 0,070
25	5,000	1,346	911	1,397	0,129
50	7,071	1,810	916	1,699	0,258
100	10,000	2,492	923	2,000	0,397
250	15,811	4,161	935	2,398	0,619
500	22,361	7,054	944	2,699	0,848
750	27,386	7,595	947	2,875	0,881
1000	31,623	9,583	949	3	0,982



Şekil 3.10a. 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde 5-100 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100 mVs^{-1}

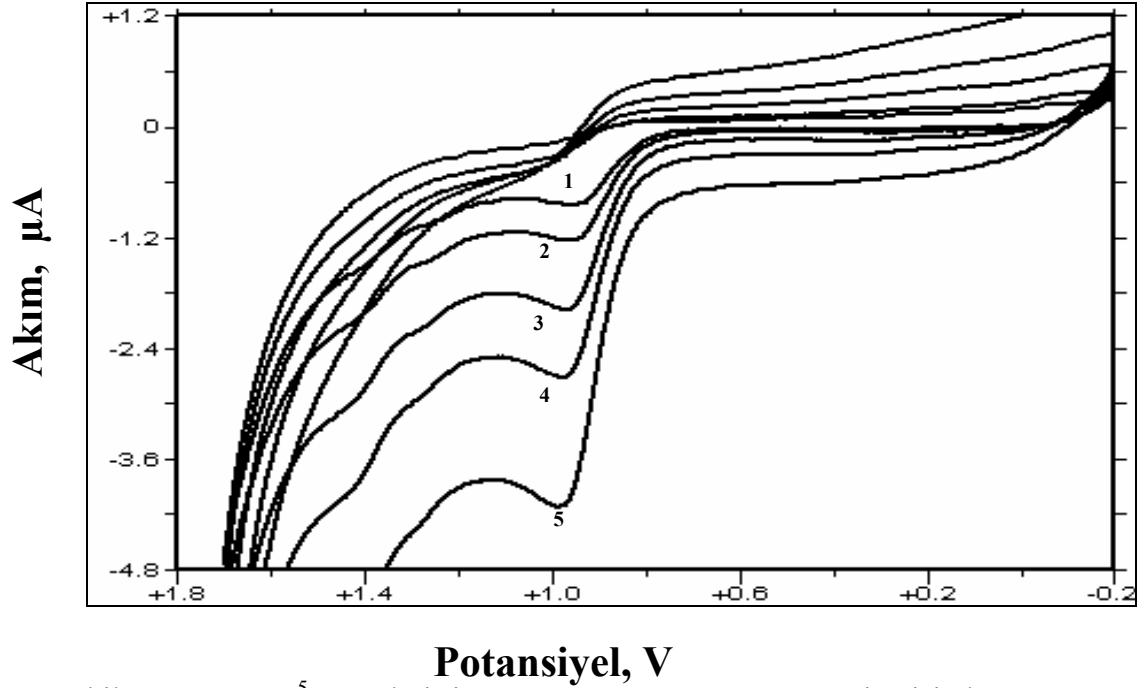


Şekil 3.10b. 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponunda 250-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}

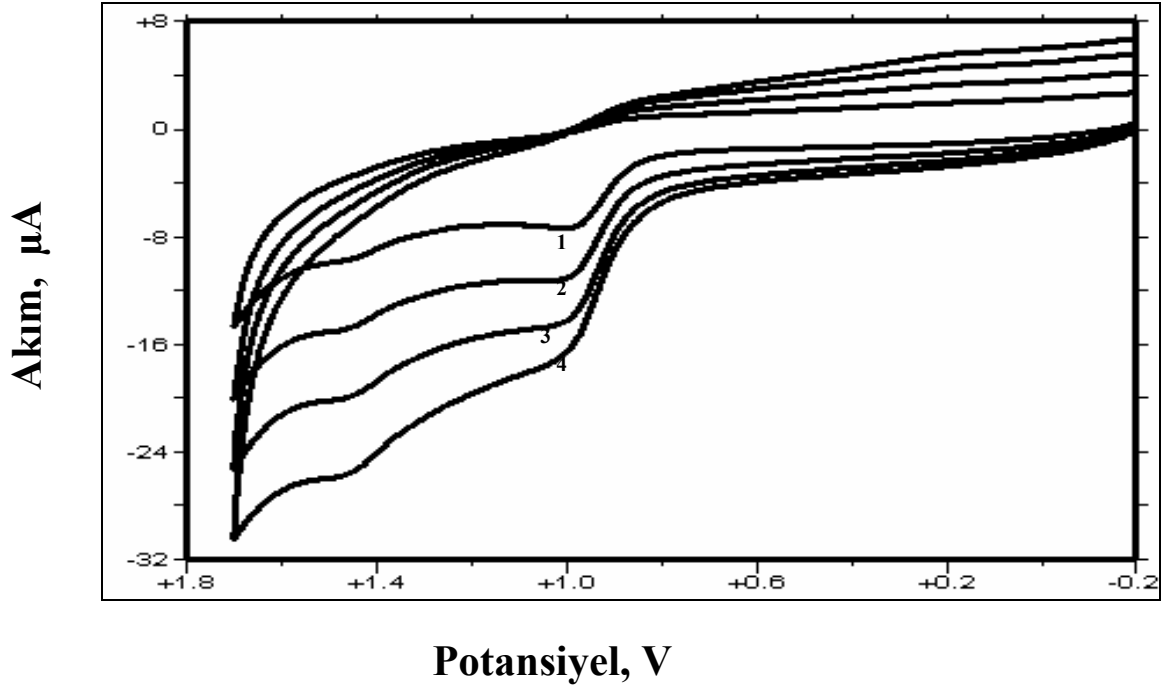
pH 3,04 BR tamponu içerisinde $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan derişiminde $5\text{-}1000 \text{ mVs}^{-1}$ aralığında hızın kara kökü ile akımın doğrusal olduğu ve potansiyelin bu aralıkta 72mV daha pozitif potansiyel değerlerine kaydığı, $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan derişiminde ise, hızın kara kökü ile akım ilişkisinin doğrusal olmakla beraber eğrini $\log v - \log i_p$ arasındaki eğim değerinin $0,5$ 'e yakın olduğu ve potansiyelin bu aralıkta hız artışıyla birlikte 74 mV daha pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür.

Çizelge 3.9. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde $5\text{-}1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

Tarama hızı (mV.s^{-1})	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,402	930	0,699	- 0,396
10	3,162	0,5997	946	1,000	- 0,222
25	5,000	0,913	959	1,397	- 0,040
50	7,071	1,237	961	1,699	0,092
100	10,000	1,852	966	2,000	0,268
250	15,811	2,780	981	2,398	0,444
500	22,361	3,690	992	2,699	0,567
750	27,386	4,175	988	2,875	0,621
1000	31,623	4,799	1002	3	0,681



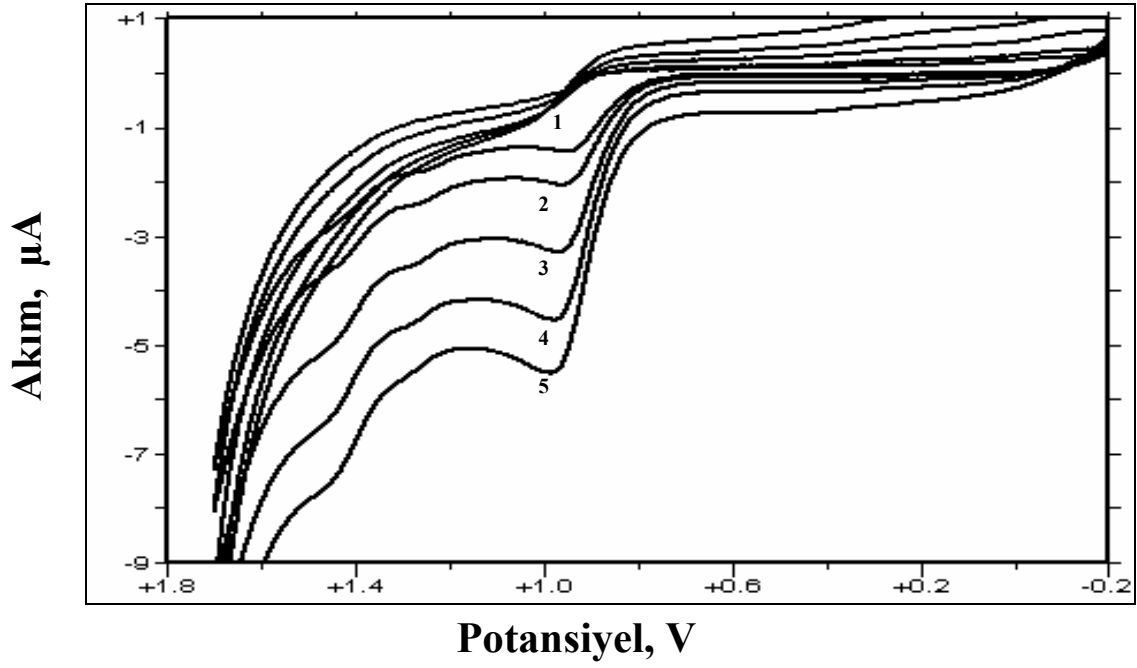
Şekil 3.11a. 4×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde 5-100 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5)100 mVs^{-1}



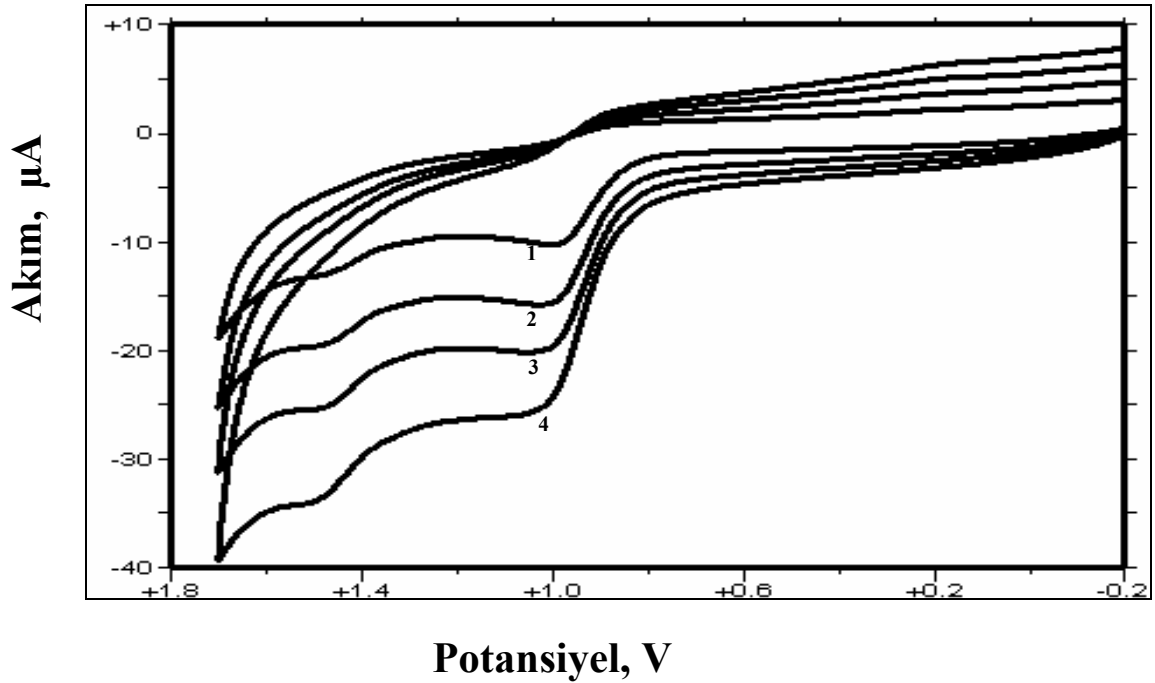
Şekil 3.11b. 4×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponunda 250-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1)250; 2)500; 3)750; 4)1000 mVs^{-1}

Çizelge 3.10. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde 5-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen potansiyel ve akım değerleri.

Tarama hızı ($\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$)	$v^{1/2}$	i_p (μA)	E_p (mV)	$\log v$	$\log i_p$
5	2,236	0,622	938	0,699	- 0,206
10	3,162	0,995	949	1,000	- 0,002
25	5,000	1,703	956	1,397	0,231
50	7,071	2,294	961	1,699	0,361
100	10,000	2,613	968	2,000	0,417
250	15,811	4,867	983	2,398	0,687
500	22,361	6,777	992	2,699	0,831
750	27,386	8,156	1002	2,875	0,912
1000	31,623	9,954	1012	3	0,998



Şekil 3.12a. 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde 5-100 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 5; 2) 10; 3) 25; 4) 50; 5) 100 mVs^{-1}



Şekil 3.12b. 1×10^{-4} M zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponunda 250-1000 mVs^{-1} tarama hızları arasında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. 1) 250; 2) 500; 3) 750; 4) 1000 mVs^{-1}

Değişik ortamlarda hız çalışmaları yapıldıktan sonra en düzgün pik şekillerinin elde edildiği pH 3,03 fosfat tamponu zolmitriptan çalışmaları için en uygun ortam olarak seçilmiş ve diğer çalışmalar bu ortamda yapılmıştır.

Eğrilerde geri dönüş pikinin olmaması ve hızla birlikte pik potansiyelinin kayması reaksiyonun geri dönüşümsüz olduğunu göstermektedir.

Hızın karekökünün akım ile doğrusal olarak değiştiği $5 - 1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında gerekli hesaplamalar yapıldığı zaman doğru denklemleri ($4 \times 10^{-5} \text{ M}$ konsantrasyonda zolmitriptan'ın 3 farklı ortam için) ;

$$i_p (\mu\text{A}) = 0,1143 v^{1/2} (\text{mVs}^{-1}) + 0,243 \quad (r: 0,9933 ; n: 9) \quad \text{pH:3,03 fosfat tamponu}$$

$$i_p (\mu\text{A}) = 0,1829 v^{1/2} (\text{mVs}^{-1}) + 0,147 \quad (r: 0,9913 ; n: 9) \quad \text{pH:3,7 asetat tamponu}$$

$$i_p (\mu\text{A}) = 0,1494 v^{1/2} (\text{mVs}^{-1}) + 0,202 \quad (r: 0,9932 ; n: 9) \quad \text{pH:3,04 BR tamponu}$$

olarak bulunmuştur.

Elde edilen bu doğrusallık da bize reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Şekil 3.13.a). $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ derişimdeki, aynı hız aralığındaki $\log v - \log i_p$ grafiği (Şekil 3.13.b) ve denklemi incelenince bulunan eğim değerinin sırasıyla 0,47; 0,52; 0,47 olması reaksiyonun her üç ortamda da difüzyon kontrollü olduğu bir sistemi göstermektedir. (Laviron, E., ve ark. 1980 ; Greef, R. ve ark. 1990).

Elde edilen doğru denklemleri;

$$\text{Log } i_p (\mu\text{A}) = 0,4698 \log v (\text{mVs}^{-1}) - 0,912 \quad (r: 0,9834 ; n: 9) \quad \text{pH:3,03 fosfat tamponu}$$

$$\text{Log } i_p (\mu\text{A}) = 0,5207 \log v (\text{mVs}^{-1}) - 0,820 \quad (r: 0,9980 ; n: 9) \quad \text{pH:3,7 asetat tamponu}$$

$$\text{Log } i_p (\mu\text{A}) = 0,4652 \log v (\text{mVs}^{-1}) - 0,695 \quad (r: 0,9973 ; n: 9) \quad \text{pH:3,04 BR tamponu}$$

Yukarıdaki çalışmalar 1×10^{-4} M zolmitriptan derişimi için her üç ortamda yapıldığında aşağıdaki doğru denklemleri elde edilmiştir:

$$i_p (\mu A) = 0,2647 v^{1/2} (mVs^{-1}) + 0,272 \quad (r: 0,9954 ; n: 9) \quad \text{pH:3,03 fosfat tamponu}$$

$$i_p (\mu A) = 0,3026 v^{1/2} (mVs^{-1}) + 0,248 \quad (r: 0,9906 ; n: 9) \quad \text{pH:3,7 asetat tamponu}$$

$$i_p (\mu A) = 0,3072 v^{1/2} (mVs^{-1}) + 0,034 \quad (r: 0,9958 ; n: 9) \quad \text{pH:3,04 BR tamponu}$$

Elde edilen doğrusallık bize reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Şekil 3.14.a). Aynı hız aralığındaki $\log v - \log i_p$ grafiği (Şekil 3.14.b) ve denklemi incelenince bulunan eğim değerinin sırasıyla 0,48; 0,52; 0,50 olması reaksiyonun her üç ortamda da difüzyon kontrollü olduğu bir sistemi göstermektedir. (Laviron, E., ve ark. 1980 ; Greef, R. ve ark. 1990).

Elde edilen doğru denklemleri;

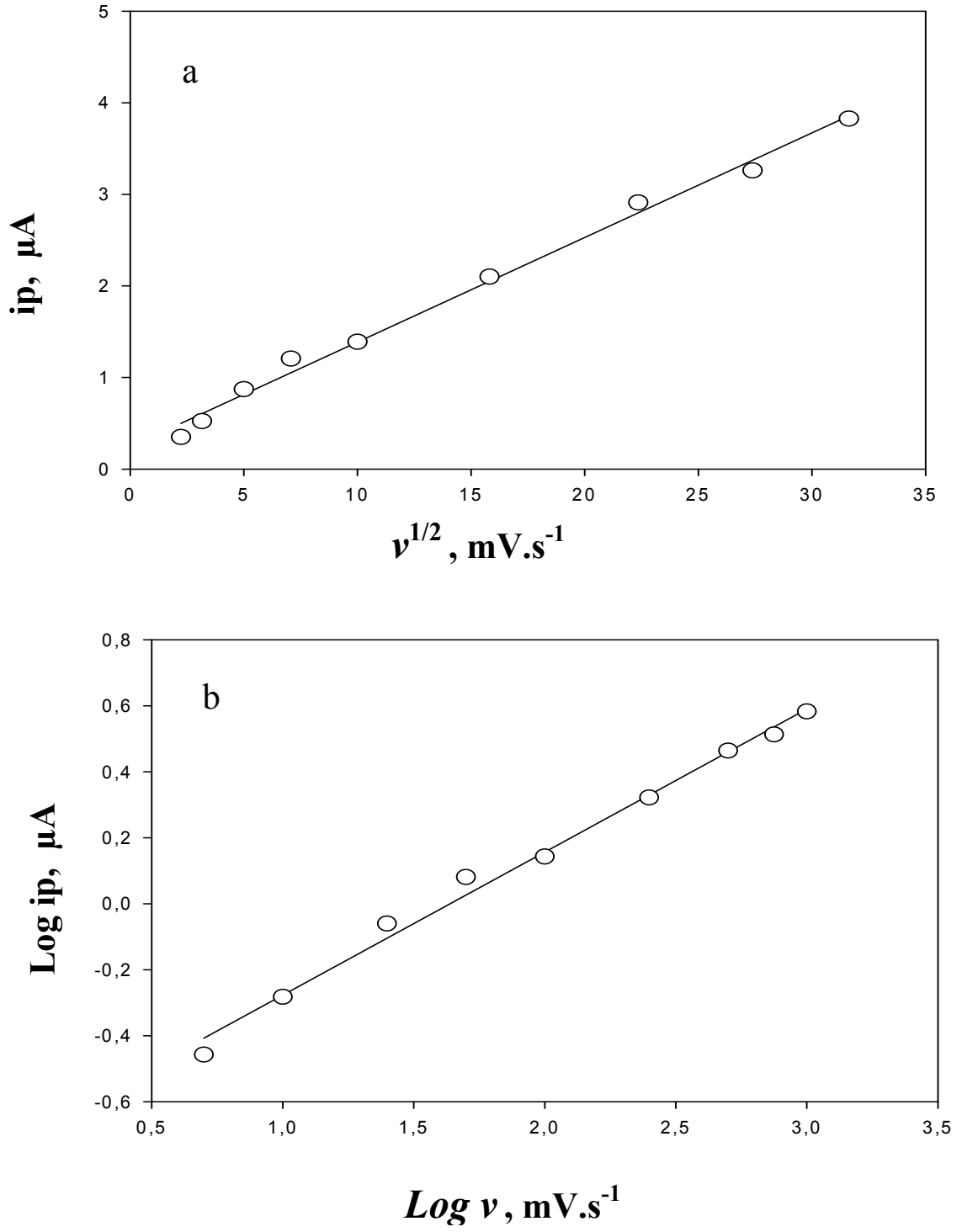
$$\text{Log } i_p (\mu A) = 0,4784 \log v (mVs^{-1}) - 0,493 \quad (r: 0,9985 ; n: 9) \quad \text{pH:3,03 fosfat tamponu}$$

$$\text{Log } i_p (\mu A) = 0,5221 \log v (mVs^{-1}) - 0,606 \quad (r: 0,9960 ; n: 9) \quad \text{pH:3,7 asetat tamponu}$$

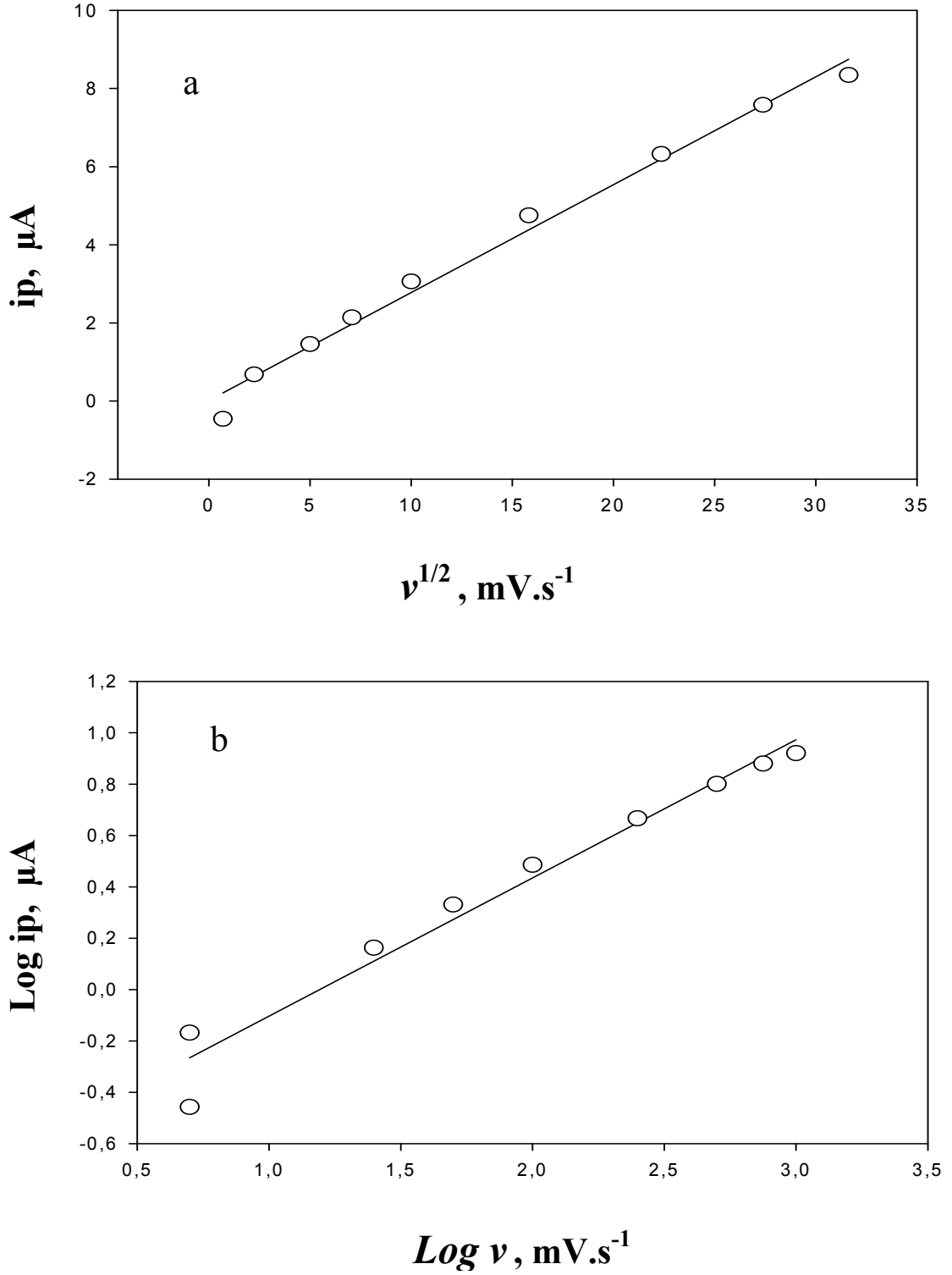
$$\text{Log } i_p (\mu A) = 0,5010 \log v () - 0,519 \quad (r: 0,9932 ; n: 9) \quad \text{pH:3,04 BR tamponu}$$

olarak bulunmuştur.

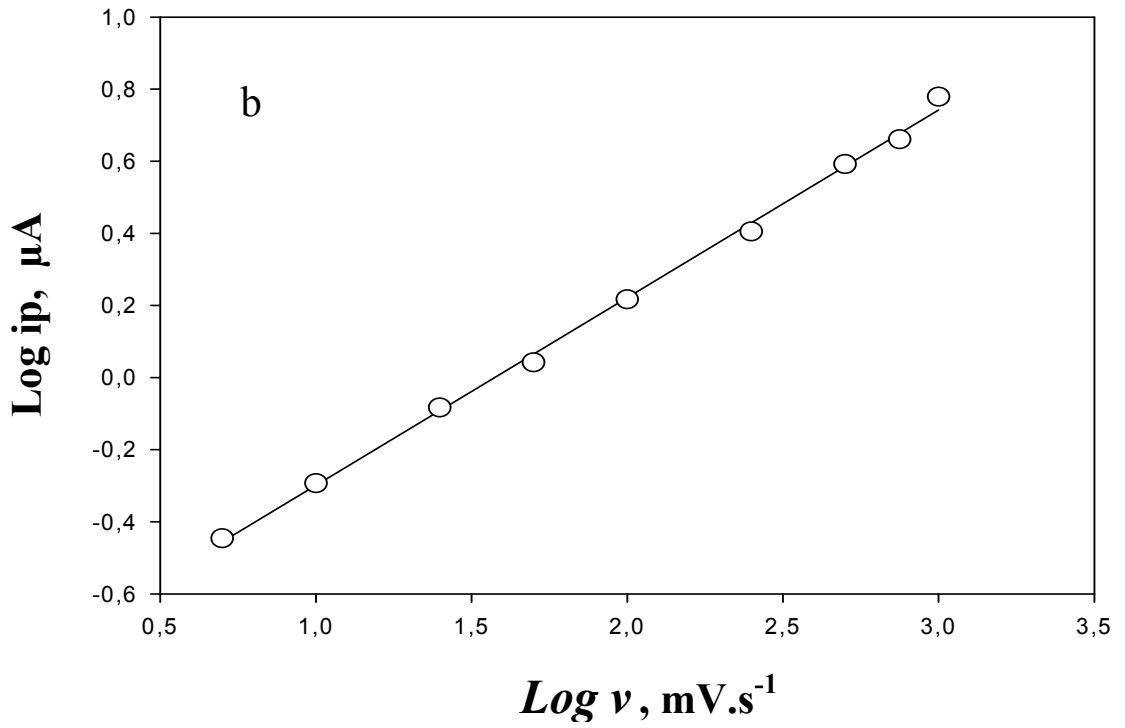
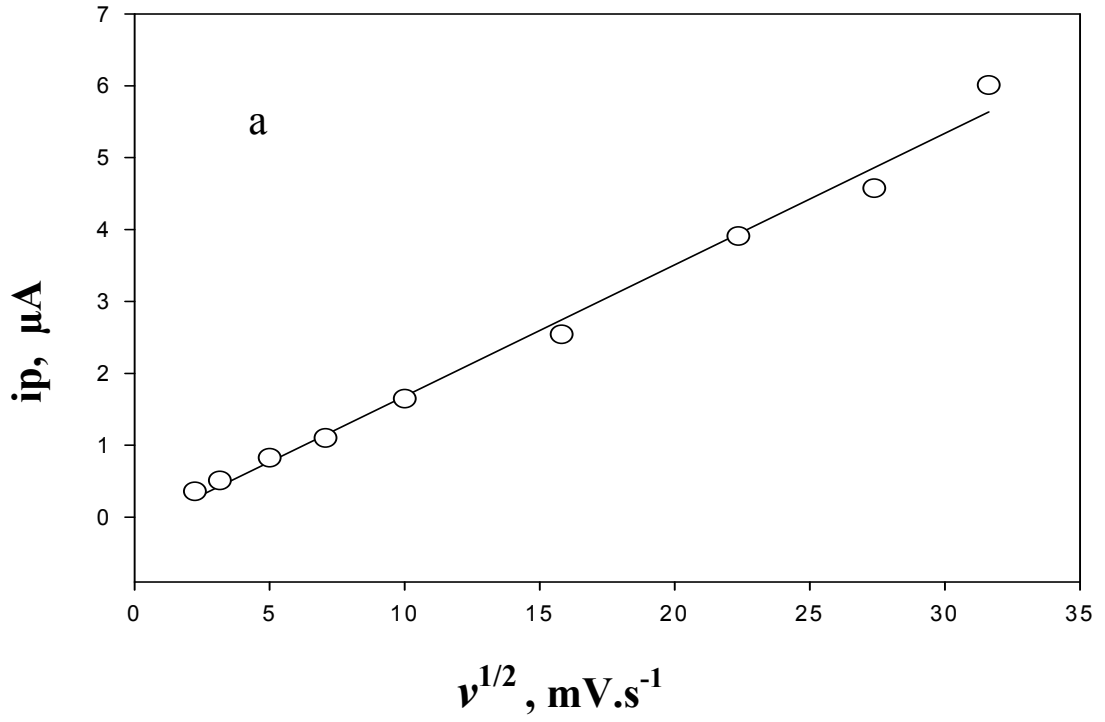
(Saf difüzyon kontrollü olduğu zaman ve çözeltinin bu madde için ideal olduğu durumlarda eğim 0,5 , saf adsorbsiyon kontrollü olduğu zaman ve kullanılan elektrodun o olay için ideal olduğu durumlarda eğim 1 olur) (Laviron, E., 1980).



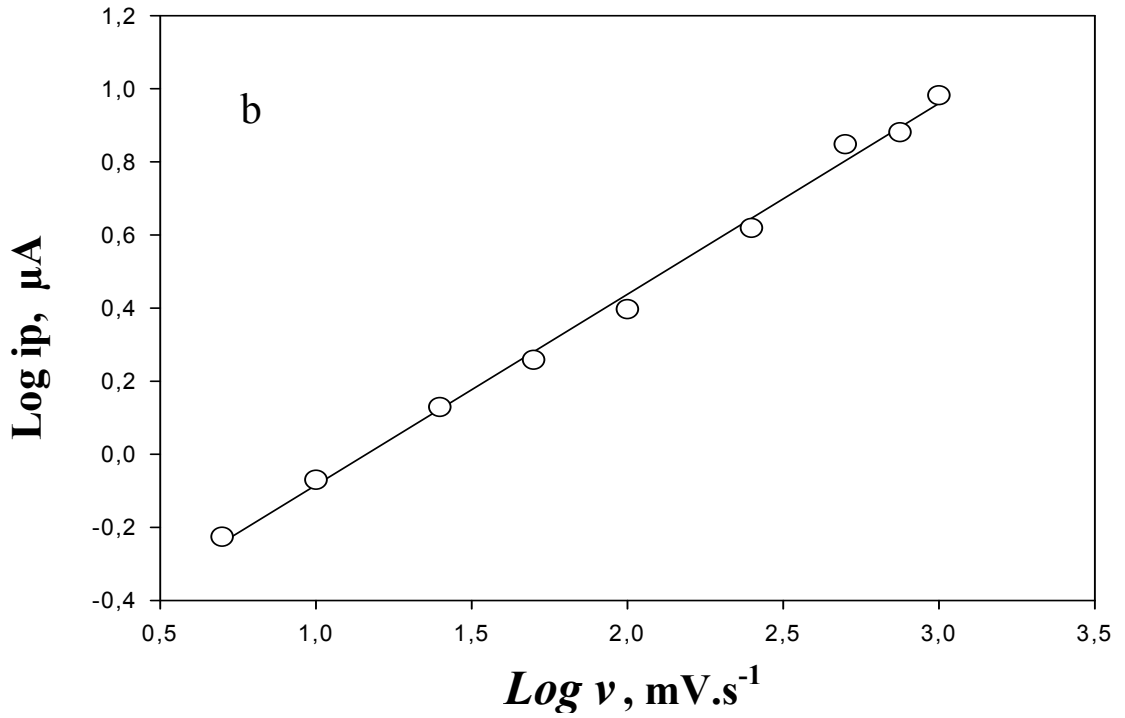
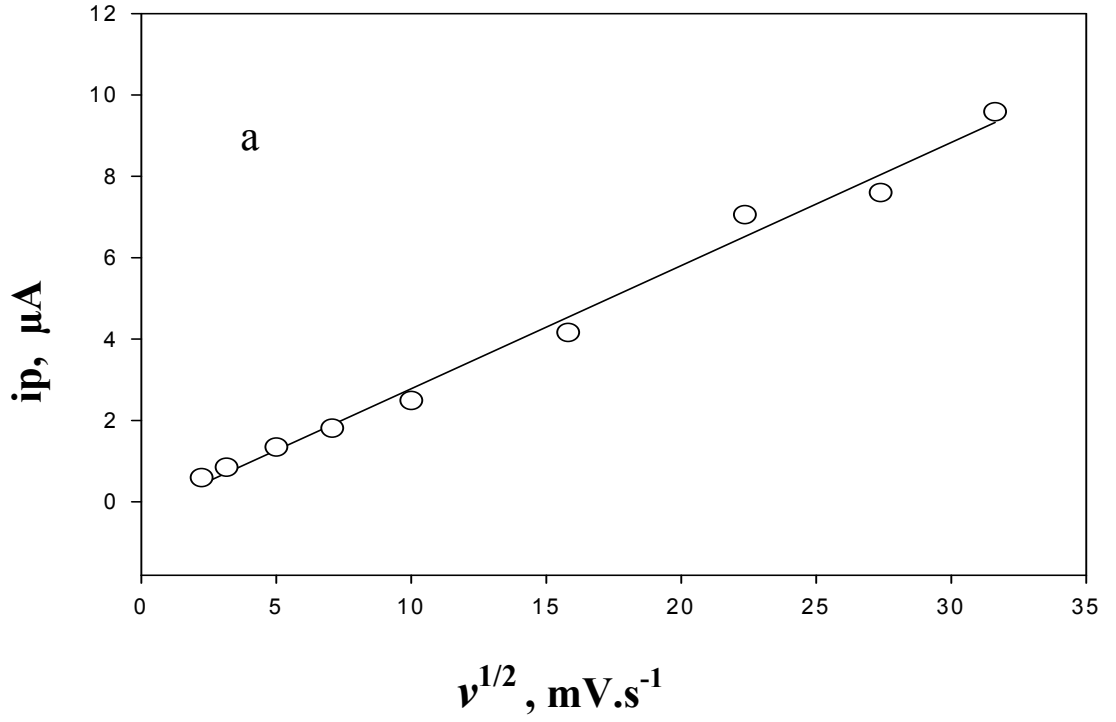
Şekil3.13. 4×10^{-5} M zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 5–1000 mVs^{-1} tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri



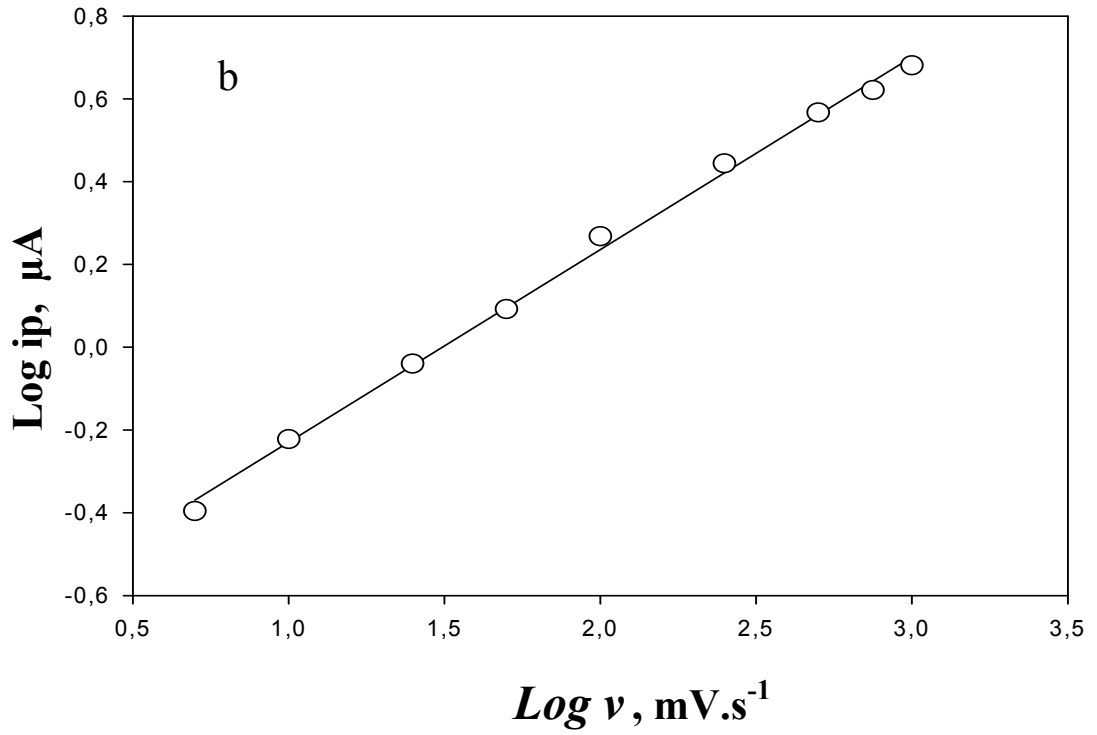
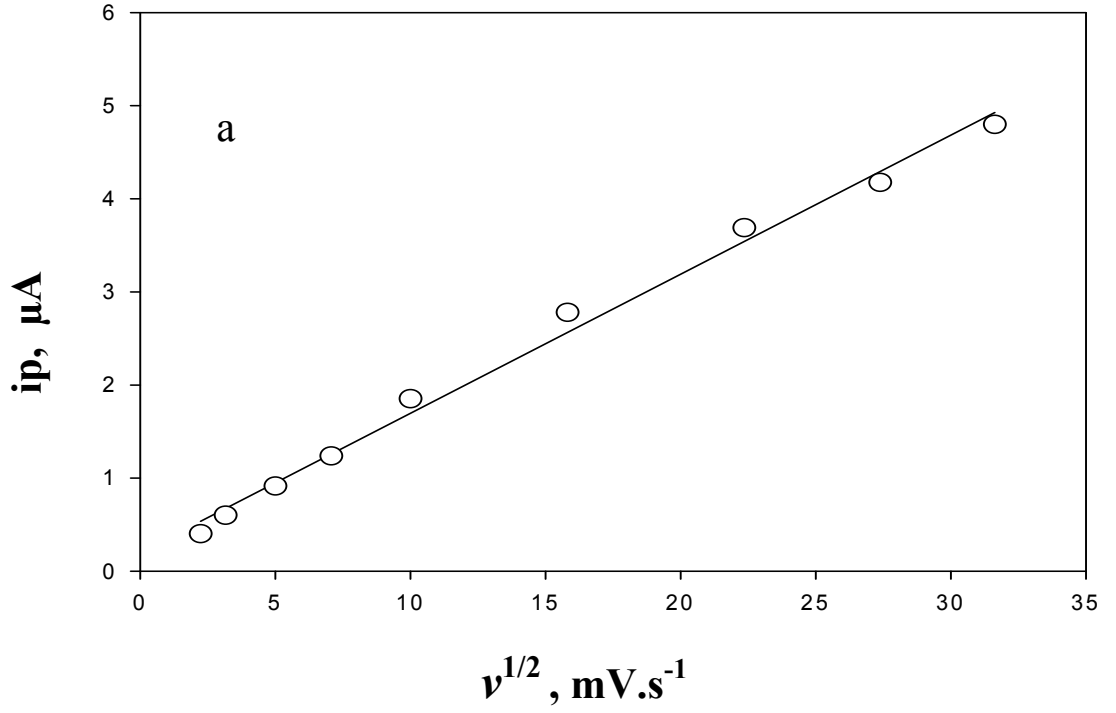
Şekil3.14. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 5–1000 mVs^{-1} tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri



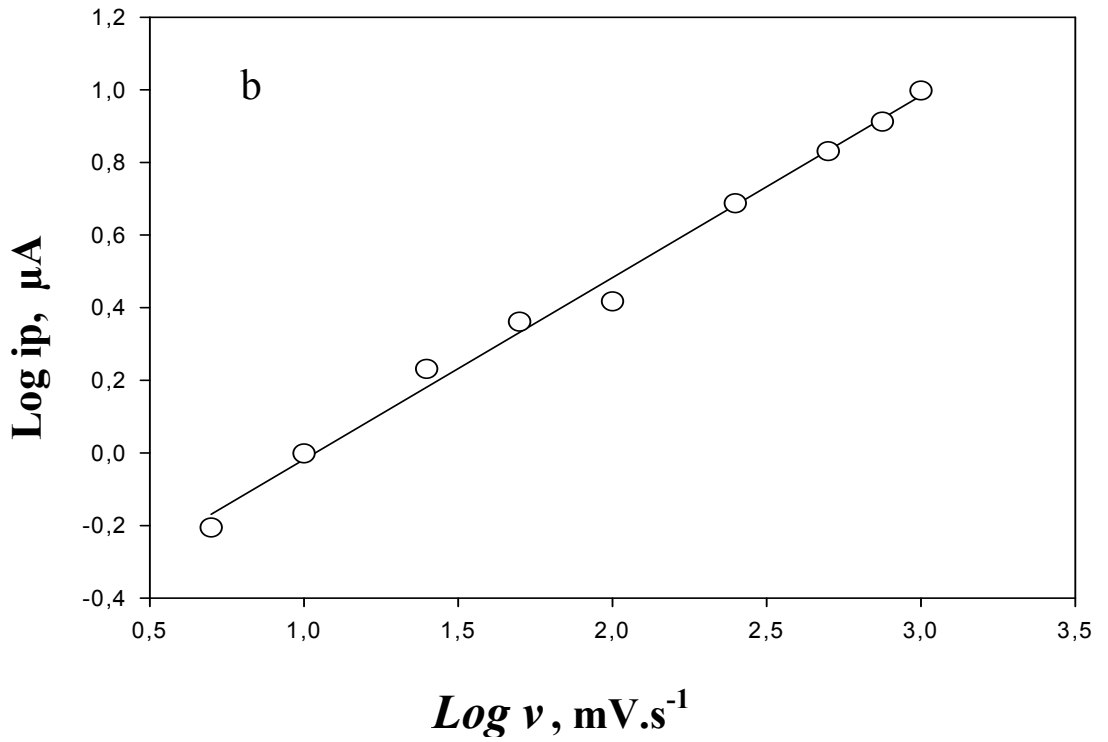
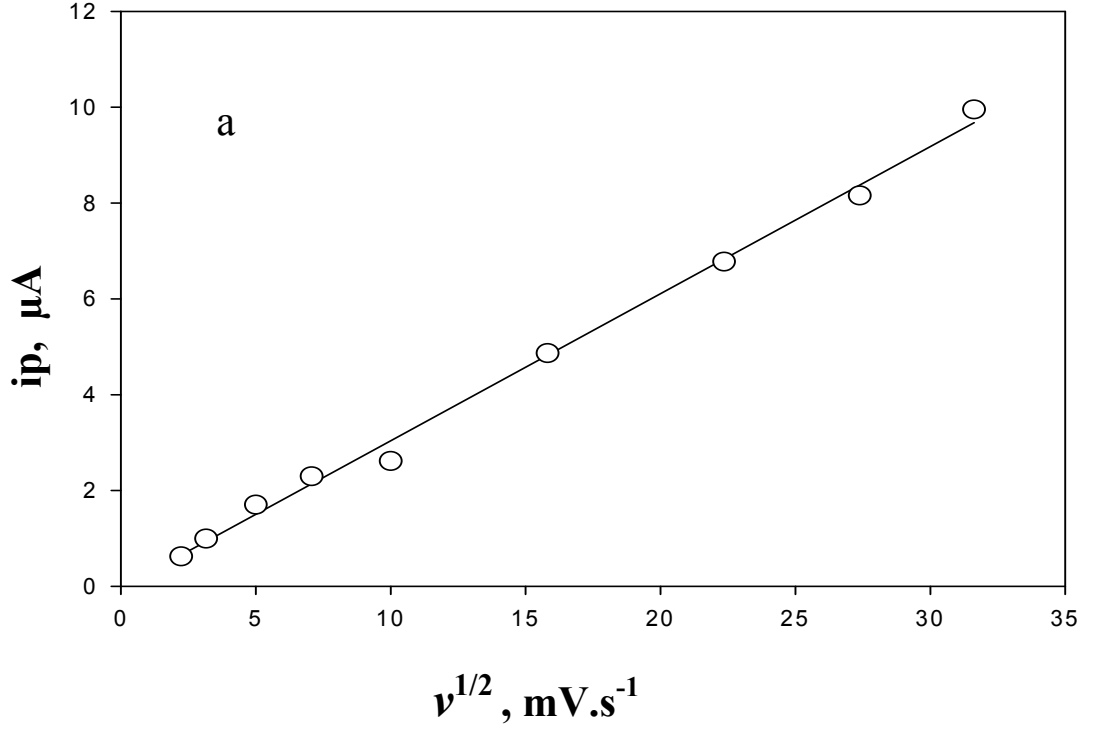
Şekil3.15. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde 5–1000 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri



Şekil 3.16. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 asetat tamponu içerisinde 5–1000 mVs^{-1} tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri



Şekil 3.17. $4 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde 5–1000 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri



Şekil 3.18. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,04 BR tamponu içerisinde 5–1000 mVs^{-1} tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramlara ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\text{log } v - \text{log } i_p$ grafikleri

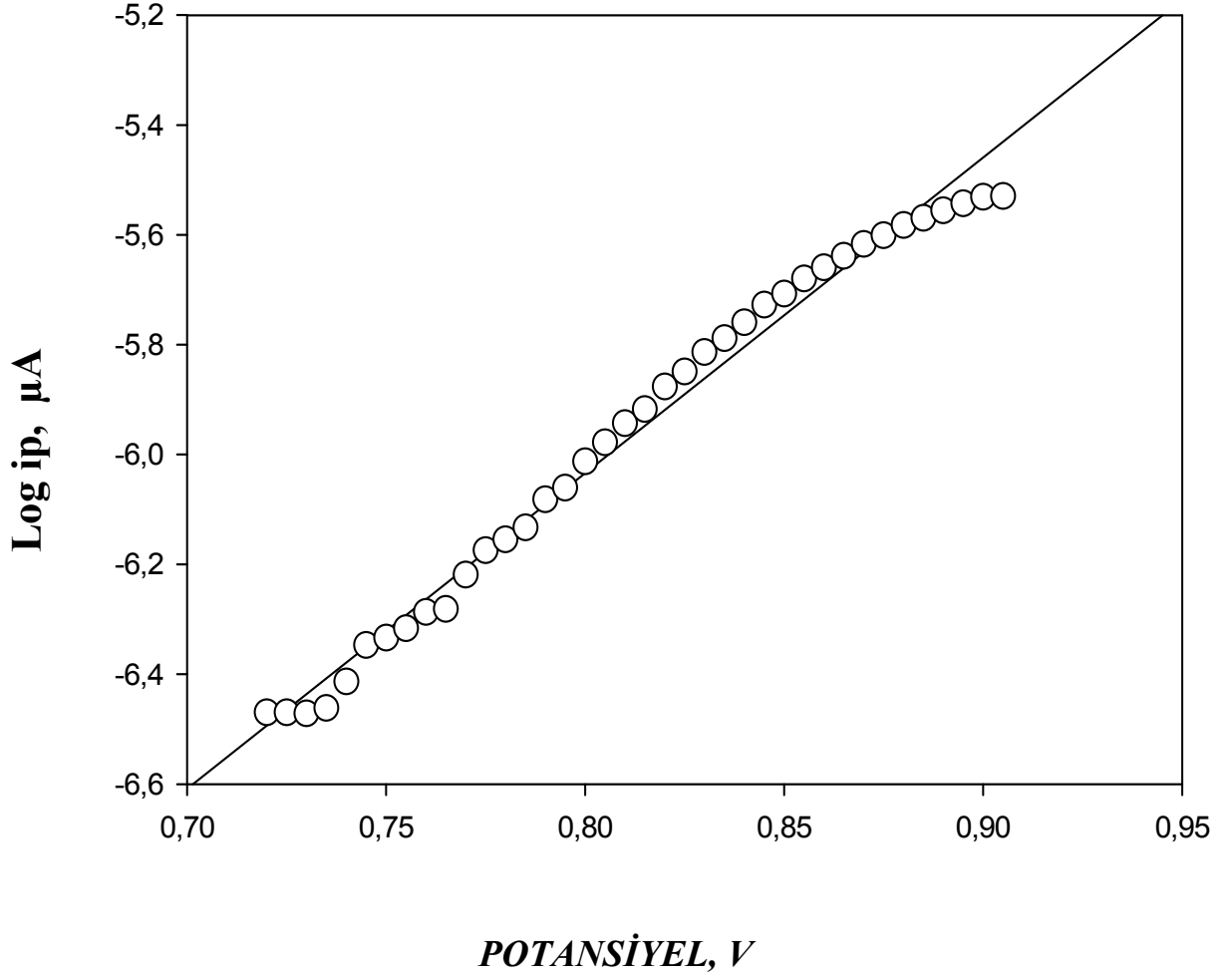
3.2.1.1.5.Zolmitriptan İçin Elde Edilen Mekanizma Verilerinin Değerlendirilmesi

Zolmitriptan için çalışılan bütün ortamlardan elde edilen eğrilerin geri dönüşlerinde pik görülmemesi ve pik potansiyellerinin hız ile beraber değişmesi olayın seçilen ortamlarda geri dönüşümsüz olduğunu göstermektedir.

Seçilen ortamlarda, değişik tarama hızlarında DV eğrileri kaydedilmiş ve bunlarla ilgili gerekli değerlendirmeler yapılmıştır (pH 3,03 fosfat, pH 3,70 asetat ve pH 3,04 BR tamponu için). Bunlar içinde zolmitriptan için en uygun ortamın pH 3,03 fosfat olduğuna karar verilmiş ve çalışmalar bu ortamda srdrlmştir.

pH 3,30 fosfat tamponu içerisinde yapılan değişik tarama hızlarında elde edilen değerlendirmeler sonucunda reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğu düşünülmektedir.

Mekanizma değerlendirmelerine ışık tutması açısından zolmitriptan'ın elmas elektrot ile karalı hal kinetiğini incelemek için pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 5 mVs⁻¹ tarama hızında elde edilen voltamogramlardan yararlanılarak Tafel grafiği çizilmiştir (Yıldız ve Genç, 1993 ; Kissinger ve Heineman, 1996). Tafel grafiği için kullanılan veriler izelge 3.11'de ve bu verilere karşılık gelen Tafel eğrisi de şekil 3.19'da verilmiştir. Doğrusal bölgenin (720mV – 905mV) eğiminden α_n hesaplanmıştır.



Şekil 3.19. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ zolmitriptan'ın 5mVs^{-1} tarama hızında pH 3,03 fosfat tamponunda elde edilen Tafel eğrisi

Çizelge 3.11. pH 3,03 fosfat tamponunda 5 mVs^{-1} tarama hızında potansiyele karşılık pik akımı değerleri

Potansiyel, V	Log i_p (μA)
0,72	-6,4693
0,725	-6,4693
0,73	-6,4713
0,735	-6,4614
0,74	-6,4133
0,745	-6,3468
0,75	-6,3336
0,755	-6,3165
0,76	-6,2867
0,765	-6,2813
0,77	-6,2188
0,775	-6,1742
0,78	-6,1545
0,785	-6,1329
0,79	-6,0819
0,795	-6,0603
0,8	-6,0126
0,805	-5,9778
0,81	-5,9432
0,815	-5,9173
0,82	-5,8762
0,825	-5,8491
0,83	-5,8134
0,835	-5,7882
0,84	-5,7593
0,845	-5,7274
0,85	-5,7074

0,855	-5,6796
0,86	-5,6594
0,865	-5,6386
0,87	-5,6165
0,875	-5,6009
0,88	-5,5824
0,885	-5,5694
0,89	-5,5556
0,895	-5,5427
0,9	-5,5310
0,905	-5,5294

pH 3,03 fosfat tamponunda Tafel değerleri hesaplanırken pikin görüldüğü 0,720 – 0,905 V arasındaki seçilmiş potansiyeller akıma karşı grafiğe geçirildiğinde;

$$i_p(\mu\text{A}) = 5,75 E_p - 10,63 \quad r=0,9935, (n = 38)$$

Buradan $\alpha_n = 0,34$; $I_0 = 2,34 \times 10^{-11} \text{ A/cm}^2$ olarak bulunmuştur.

3.2.1.2. Zolmitriptan'ın DPV çalışmaları

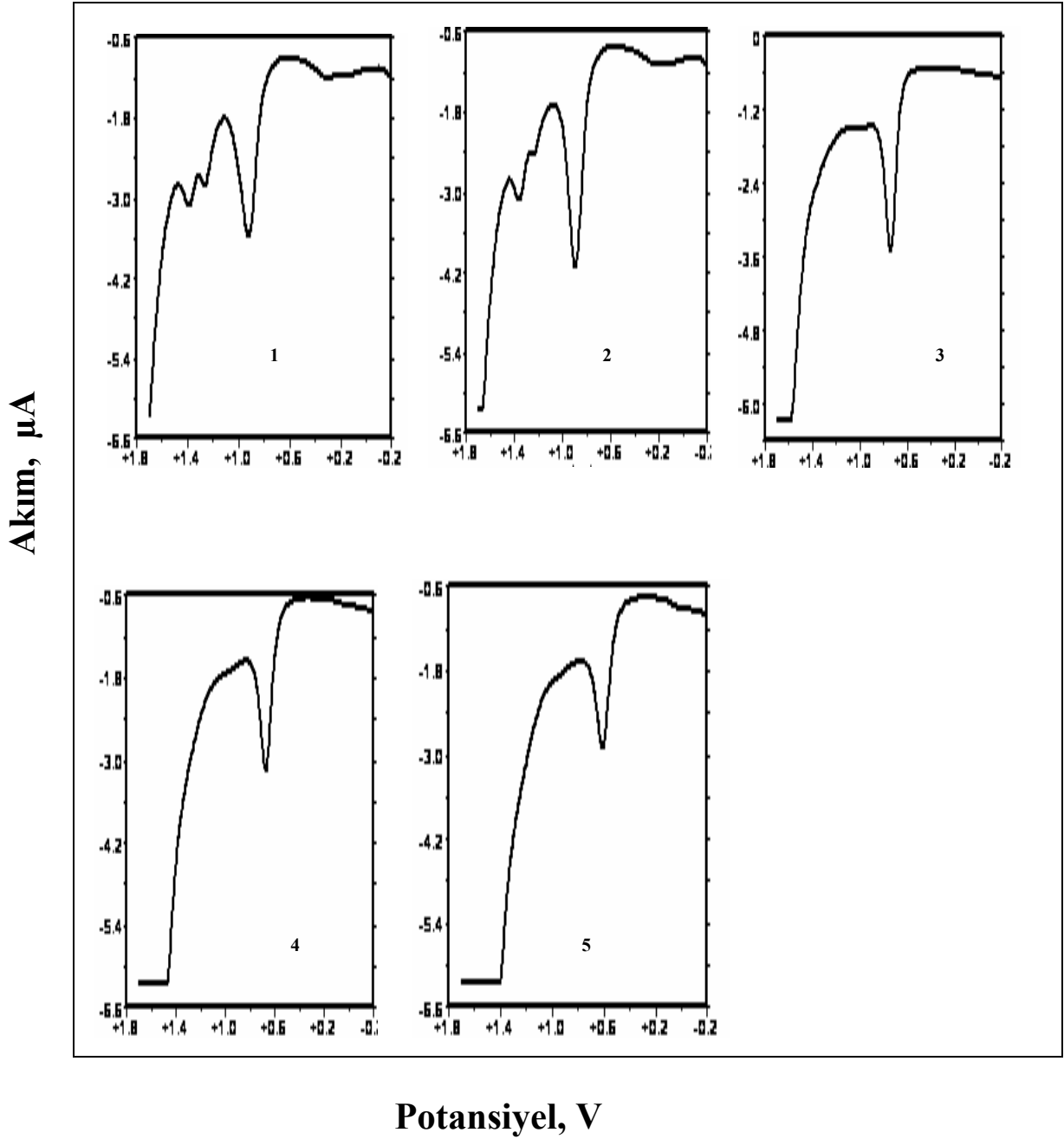
DPV tekniği ile çalışabilmek için önce en uygun koşullar saptandı. Bunun için pH 3,03 fosfat tamponu içerisindeki 8×10^{-5} M zolmitriptan çözeltileri kullanılmıştır. Elde edilen parametreler aşağıdaki gibi belirlendi:

Puls genliği; 50mV, tarama hızı; 20 mVs^{-1} , örnek genişliği; 17 milisaniye, puls periyodu; 200 milisaniye.

Elmas elektrot kullanılarak 0,1 M ve 0,5 M H_2SO_4 , pH 2,00 – 8,05 fosfat tamponları, pH 2,20 – 12,01 BR tamponları ve pH 3,70 – 5,70 asetat tamponları içerisinde çalışılmıştır. Bütün şekiller DPV tekniğine ait yukarıda belirtilen parametrelerle elde edilmiştir.

3.2.1.2.1. Zolmitriptan'ın Fosfat Tampon Çözeltileri İle Yapılan DPV Çalışmaları

pH 2,00 – 8,05 aralığındaki pH değerindeki fosfat tamponu içerisinde 8×10^{-5} M zolmitriptan derişimlerinde çalışılmış ve elde edilen voltamogramlar Şekil 3.20'de verilmiştir. DV çalışmaları ile paralellik sağlayabilmek için gerekli hesaplamalar 8×10^{-5} M derişimi üzerinden verilmiştir. Bu şekillerde pH arttıkça potansiyelin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür. pH 2,00 – 8,05 arasındaki potansiyel değerleri Çizelge 3.12'de verilmiştir



Şekil 3.20. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05.

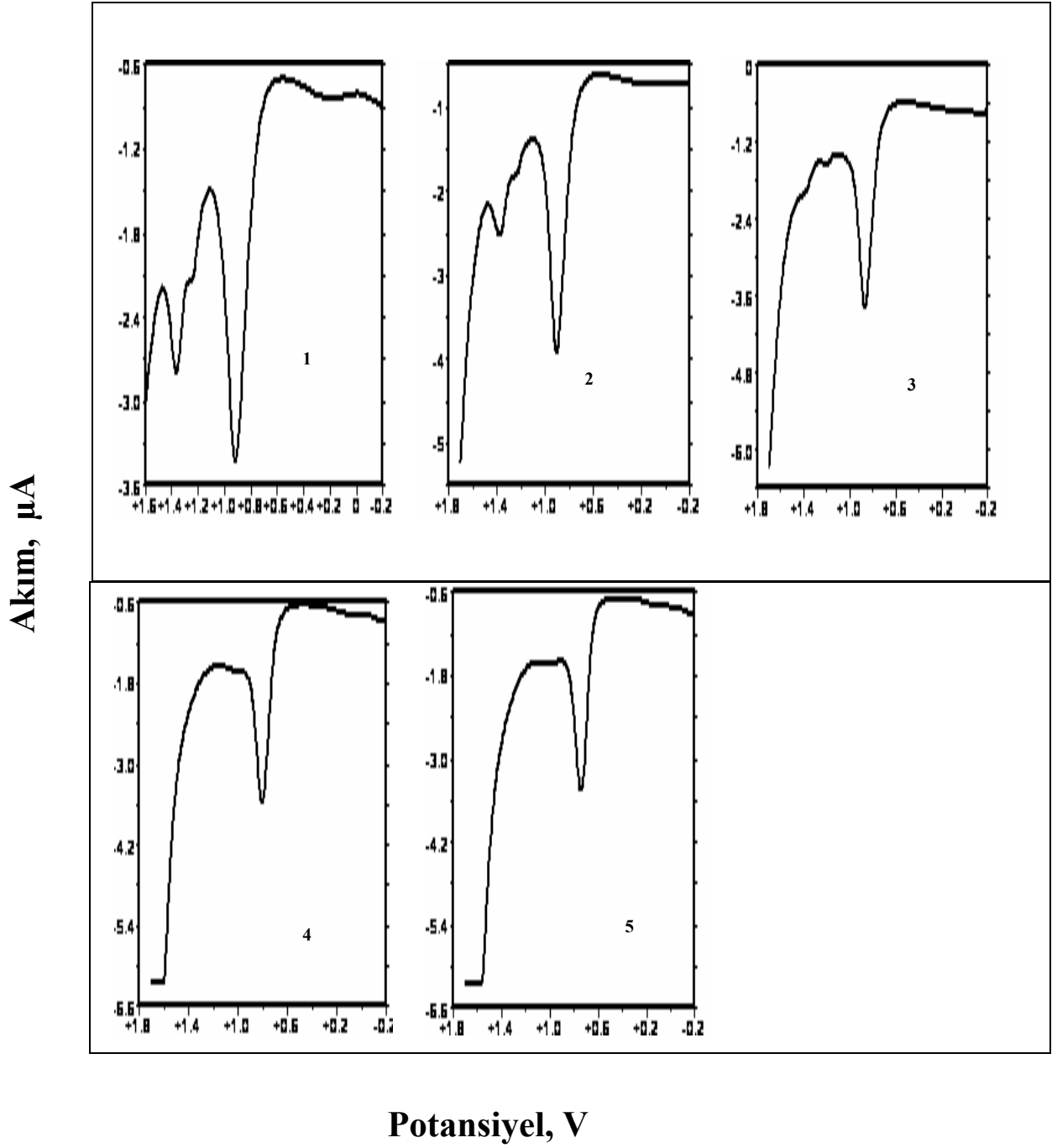
Çizelge 3.12. Fosfat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,00	916	2,160	1252	1334
3,03	892	2,76	1230	1330
6,00	743	2,445	-	-
7,00	668	1,81	-	-
8,05	604	1,94	-	-

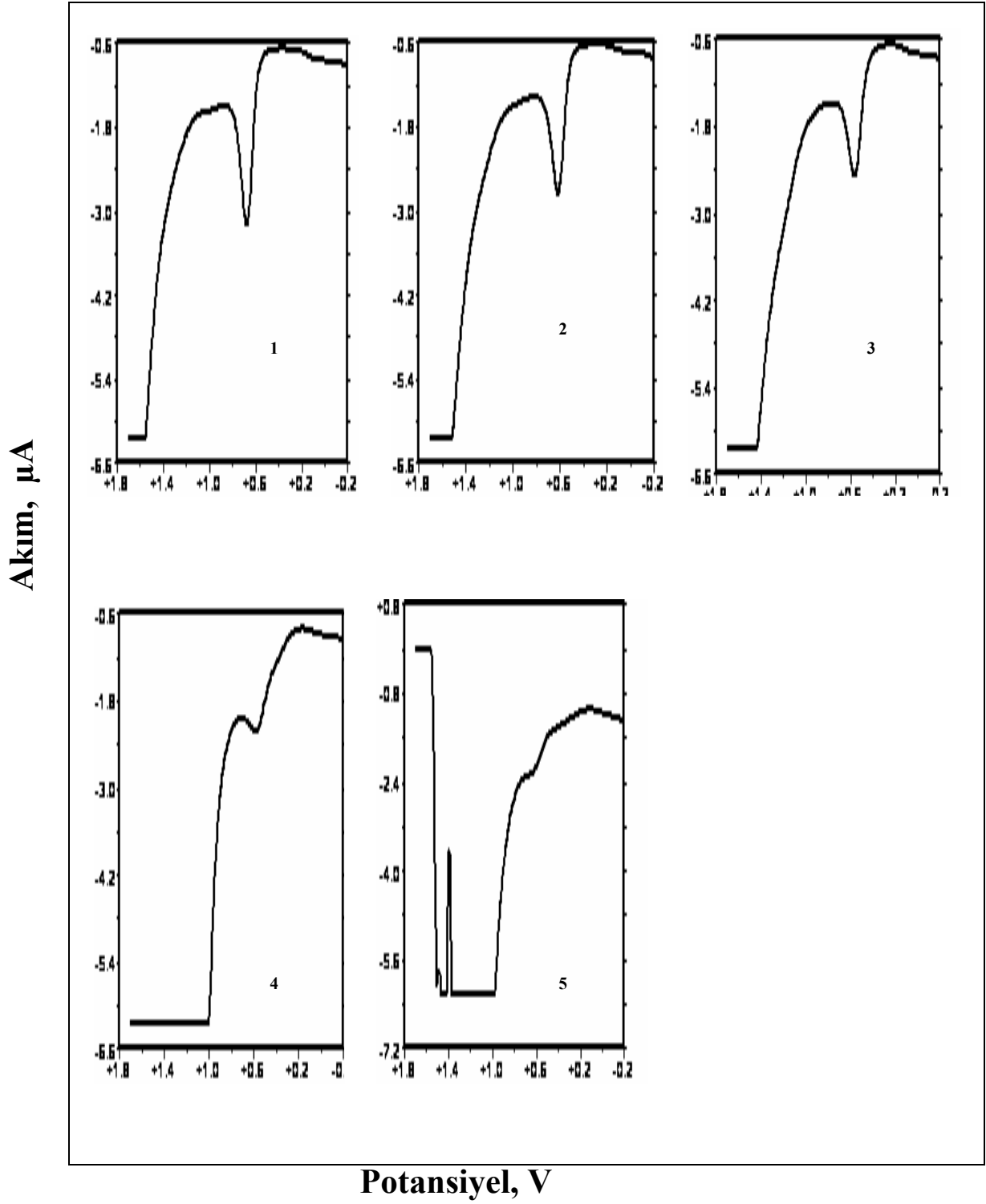
3.2.1.2.2. Zolmitriptan'ın BR Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan DPV Çalışmaları

Zolmitriptan'ın bu ortamda DPV tekniği ile yapılan incelemeleri için pH 2,20; 3,04; 4,00; 5,04; 6,02; 6,98; 8,03; 9,01; 11,00; 12,01 BR tampon çözeltileri kullanılmıştır. pH incelemelerinde $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimde çalışılmıştır. Değişik pH değerinde DPV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri Çizelge 3.13'de gösterilmiştir.

Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile pH 2,20-12,01 BR tampon çözeltileri içerisindeki voltamogramları Şekil 3.21a ve 3.21b.'de görülmektedir. Şekillerden de görüldüğü gibi pH artışı ile pik potansiyel değerleri daha az pozitif potansiyellere kaymaktadır.



Şekil 3.21a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,20 – 6,02 arası BR tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02.



Şekil 3.21b. $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ zolmitriptan'ın pH 6,98 – 12,01 arası BR tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01, 4) pH 11,00; 5) pH 12,01

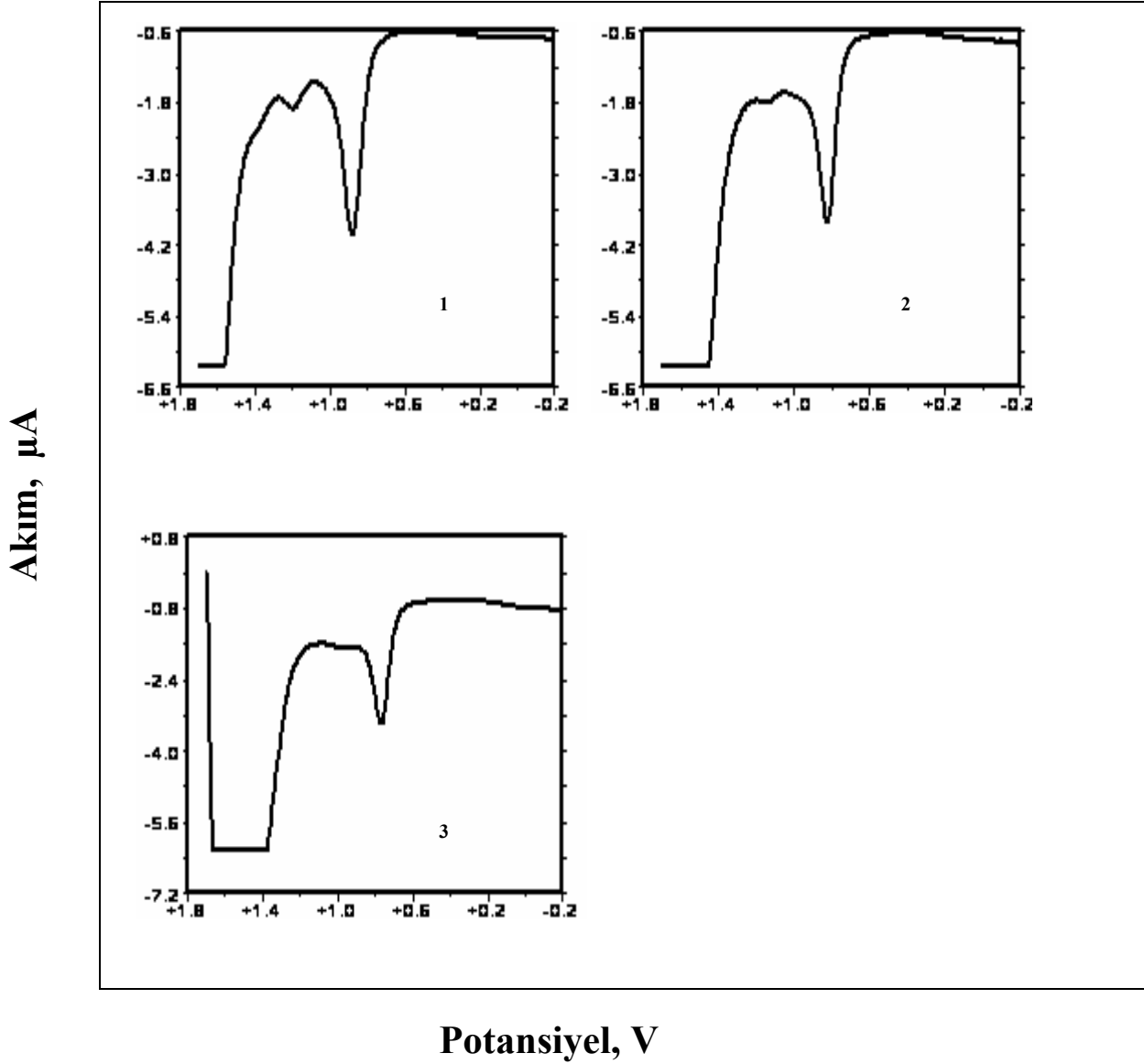
Çizelge 3.13. BR tampon çözeltileri içerisinde $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerinde DPV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,20	916	2,264	1247	1360
3,04	900	2,820	1241	1372
4,00	864	2,685	-	-
5,04	800	2,332	-	-
6,02	736	2,267	-	-
6,98	672	2,092	-	-
8,03	612	1,730	-	-
9,01	560	1,370	-	-
11,00	564	0,520	-	-

3.2.1.2.3. Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İle Yapılan DPV Çalışmaları

Zolmitriptan'ın asetat tamponu içerisinde DPV tekniği ile yapılan incelemeleri için pH 3,70; 4,70 ve 5,70 asetat tamponları seçilmiştir. pH incelemelerinde $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimde çalışılmıştır.

Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile pH 3,70 - 5,70 asetat tamponlarındaki DP voltamogramları Şekil 3.22.'de görülmektedir. Bu ortamda da pH ile pik potansiyelinin daha az pozitif potansiyellere kaydığı gözlenmektedir.(Çizelge 3.14)



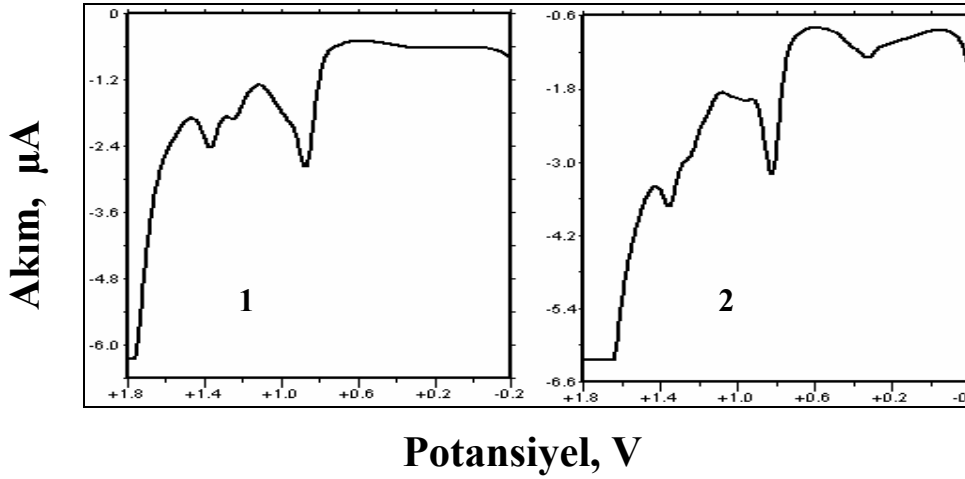
Şekil 3.22. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 – 5,70 arası asetat tamponları içerisindeki DP voltamogramları. 1) pH 3,70 , 2) pH 4,70, 3) pH 5,70

Çizelge 3.14. Asetat tamponu içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerinde DPV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
3,70	876	2,953	1192	-
4,70	820	2,570	1132	-
5,70	764	2,180	-	-

3.2.1.2.4. Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri ile Yapılan DPV Çalışmaları

Zolmitriptan'ın farklı derişimlerdeki (0,1M; 0,5M) H_2SO_4 çözeltileri kullanılmıştır. Zolmitriptan'ın 8×10^{-5} M derişimi ile 0,1 M; 0,5 M H_2SO_4 çözeltilerindeki voltamogramları Şekil 3.23.'de görölmektedir. Farklı pH değerlerindeki H_2SO_4 içerisinde elde edilen pik potansiyelleri ve bunlara karşılık elde edilen akımlar Çizelge 3.15.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.23. Zolmitriptan'ın 8×10^{-5} M derişimi ile 0,1 M ve 0,5 M H_2SO_4 çözeltilerindeki DP voltamogramları. 1) 0,1 M 2) 0,5 M H_2SO_4

Çizelge 3.15. Sülfürik asit çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın farklı pH değerinde DPV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyel değerleri.

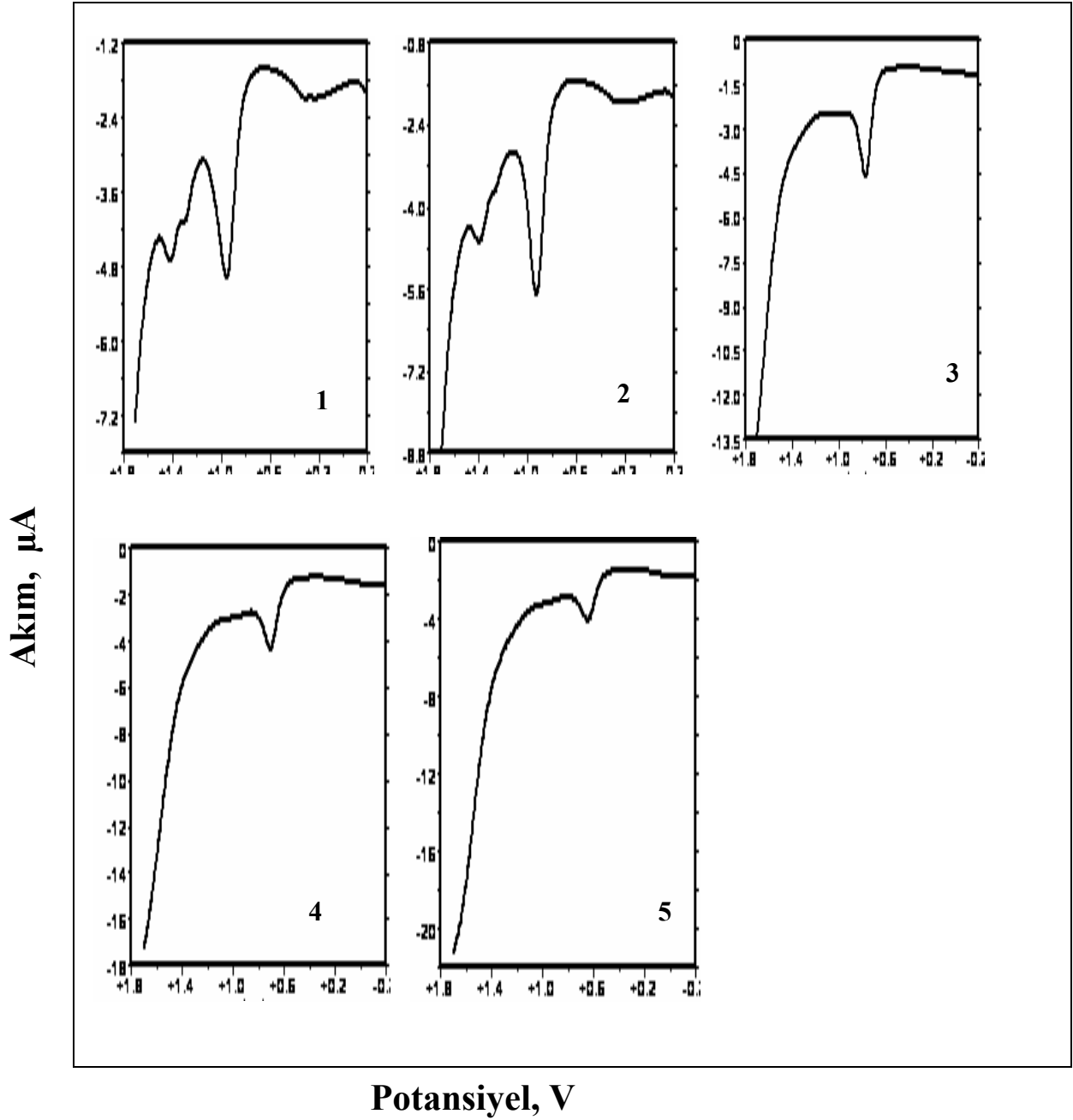
pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
0,1 M H ₂ SO ₄	872	1,900	1237	1365
0,5 M H ₂ SO ₄	822	1,960	1240	1350

3.2.1.3. Zolmitriptan'ın Kare Dalga Voltametri (KDV) Çalışmaları

KDV tekniği için önce parametrelerin optimizasyon çalışmaları yapıldı. Bunun için pH 3,03 fosfat tamponu içerisindeki 8×10^{-5} M zolmitriptan çözeltileri kullanıldı. Step E (potansiyel basamak) değerleri; 2 – 10 mV aralığında, kare dalga yüksekliği; 10-50 mV aralığında değiştirilerek voltamogramları alındı. En uygun parametre olarak, kare dalga genişliği 25 mV, kare dalga frekansı 15 Hz, numune nokta sayısı 256 olarak bulundu. Elmas elektrot kullanılarak 0,1 M ve 0,5 M H₂SO₄, pH 2,20 – 12,01 Britton – Robinson (BR) tamponları, pH 2,00 – 8,05 arasında bazı pH değerindeki fosfat tamponları ve pH 3,70 – 5,70 asetat tamponları içeren destek elektrolitleri ortamında çalışılmıştır. Bütün şekiller KDV tekniğine ait yukarıda belirtilen parametrelerle elde edilmiştir.

3.2.1.3.1. Zolmitriptan'ın Fosfat Tampon Çözeltileri İle Yapılan KDV Çalışmaları

pH 2,00 – 8,05 aralığında bazı pH değerindeki fosfat tamponu içerisinde 8×10^{-5} M zolmitriptan derişimlerinde çalışılmış ve elde edilen voltamogramlar Şekil 3.24'de verilmiştir. DV çalışmaları ile paralellik sağlayabilmek için gerekli hesaplamalar 8×10^{-5} M derişimi üzerinden verilmiştir. Bu şekillerde pH arttıkça potansiyelin daha az pozitif potansiyellere kaydığı görülmüştür. pH 2,00 – 8,05 arasındaki potansiyel değerleri Çizelge 3.16'de verilmiştir.



Şekil 3.24. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,00 – 8,05 arası fosfat tamponları içerisindeki KD voltamogramları. 1) pH 2,00; 2) pH 3,03; 3) pH 6,00; 4) pH 7,00; 5) pH 8,05.

Çizelge 3.16. Fosfat tamponu içerisindeki, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerlerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

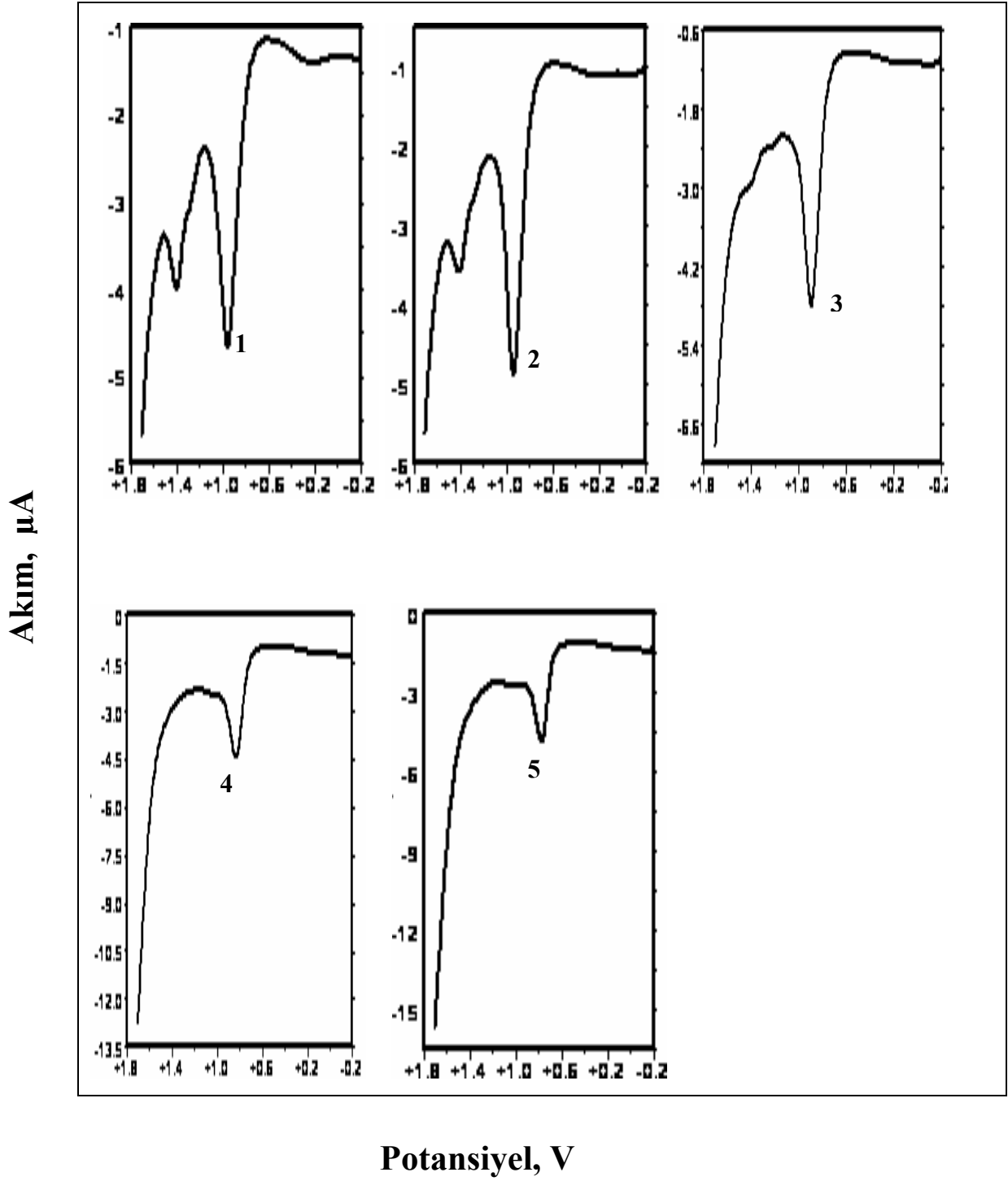
pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,00	950	2,160	1290	1416
3,03	924	2,760	1252	1388
6,00	770	2,445	-	-
7,00	704	1,940	-	-
8,05	640	1,640	-	-

3.2.1.3.2. Zolmitriptan'ın BR Tampon Çözeltileri İçerisinde Yapılan KDV Çalışmaları

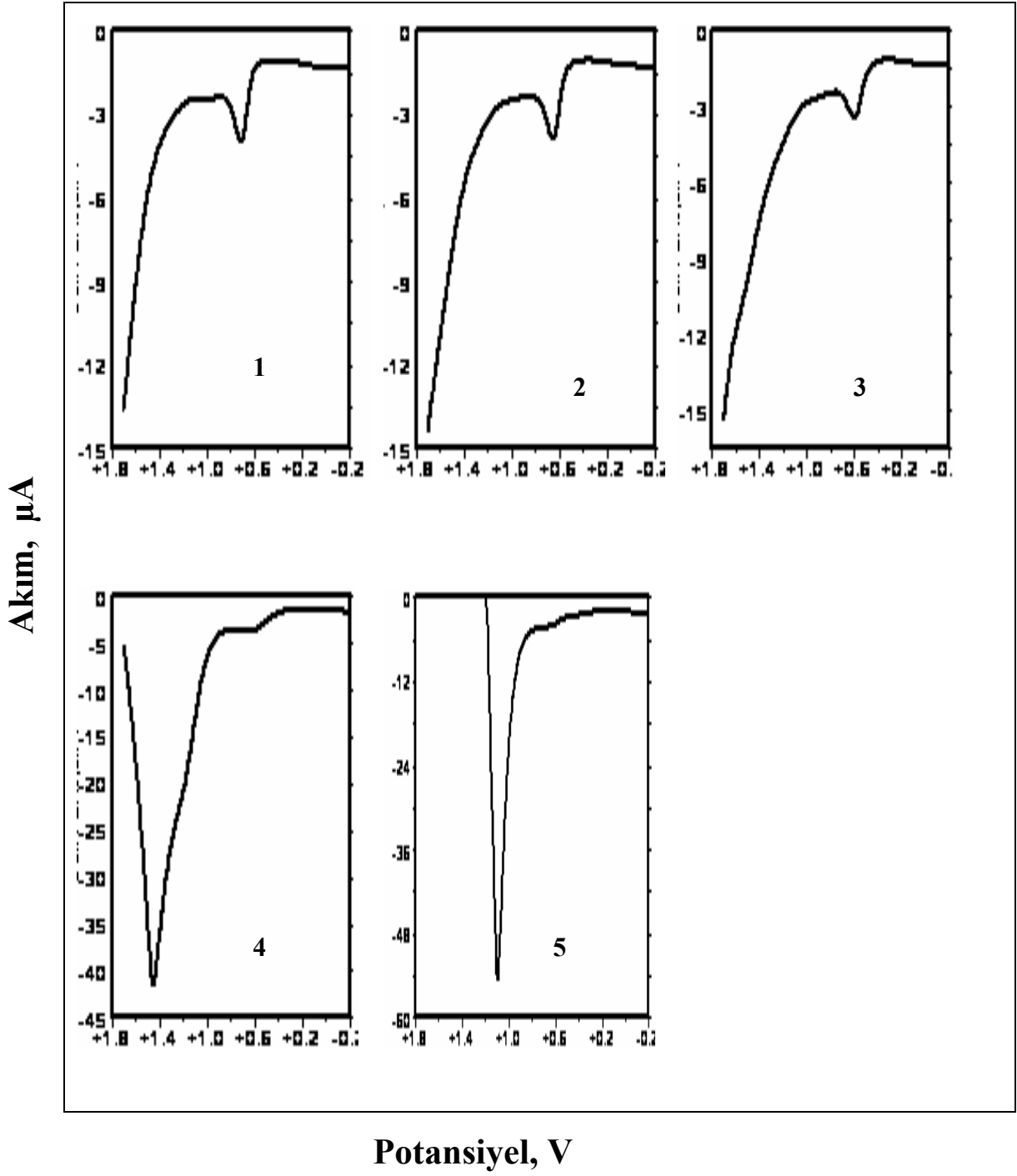
8×10^{-5} M derişimdeki zolmitriptan'ın bu ortamda KDV tekniği ile yapılan incelemeleri için pH 2,20; 3,04; 4,00; 5,04; 6,02; 6,98; 8,03; 9,01; 11,00; 12,01 BR tampon çözeltileri kullanılmıştır.

Zolmitriptan'ın 8×10^{-5} M derişimi ile pH 2,20-12,01 BR tampon çözeltileri içerisindeki KD voltamogramları Şekil 3.25a. ve 3.25b.'de görölmektedir. Şekillerden de göröldüğü gibi pH artışı ile pik potansiyel değerleri daha az pozitif potansiyellere kaymaktadır.

BR tampon çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın değişik pH değerinde KDV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri. Çizelge 3.17.'da gösterilmiştir.



Şekil 3.25a. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 2,20 – 6,02 arası BR tamponları içerisindeki KD voltamogramları. 1) pH 2,20 ; 2) pH 3,04; 3) pH 4,00; 4) pH 5,04; 5) pH 6,02.



Şekil 3.25b. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitripyan'ın pH 6,98 – 12,01 arası BR tamponları içerisindeki KD voltamogramları. 1) pH 6,98 ; 2) pH 8,03; 3) pH 9,01; 4) pH 11,00; 5) pH 12,01.

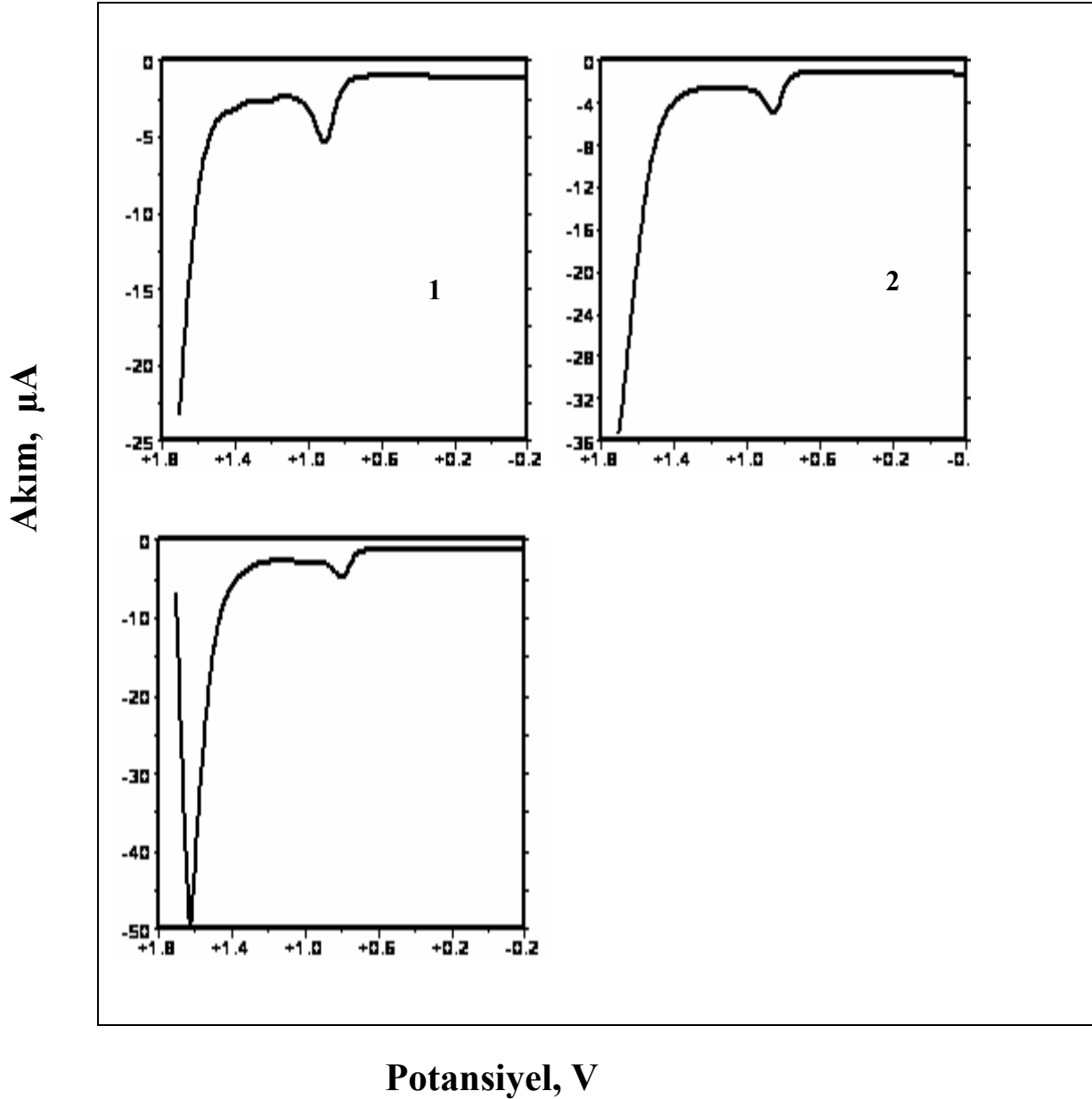
Çizelge 3.17. BR tampon çözeltileri içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerinde KDV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
2,20	948	2,783	1275	1392
3,04	932	3,212	1267	1396
4,00	892	3,170	-	-
5,04	832	2,543	-	-
6,02	768	2,743	-	-
6,98	704	2,184	-	-
8,03	644	2,163	-	-
9,01	596	1,506	-	-
11,00	600	0,980	-	-
12,01	644	0,410	-	-

3.2.1.3.3. Zolmitriptan'ın Asetat Tampon Çözeltileri İle Yapılan KDV Çalışmaları

Zolmitriptan'ın asetat tamponu içerisinde KDV tekniği ile yapılan incelemeleri için pH 3,70; 4,70 ve 5,70 asetat tamponları seçilmiştir. pH incelemelerinde $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimde çalışılmıştır.

Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile pH 3,70 - 5,70 asetat tamponlarındaki KD voltamogramları Şekil 3.26.'da görölmektedir. Bu ortamda da pH ile pik potansiyelinin daha az pozitif potansiyellere kaydığı gözlenmektedir. (Çizelge 3.18)



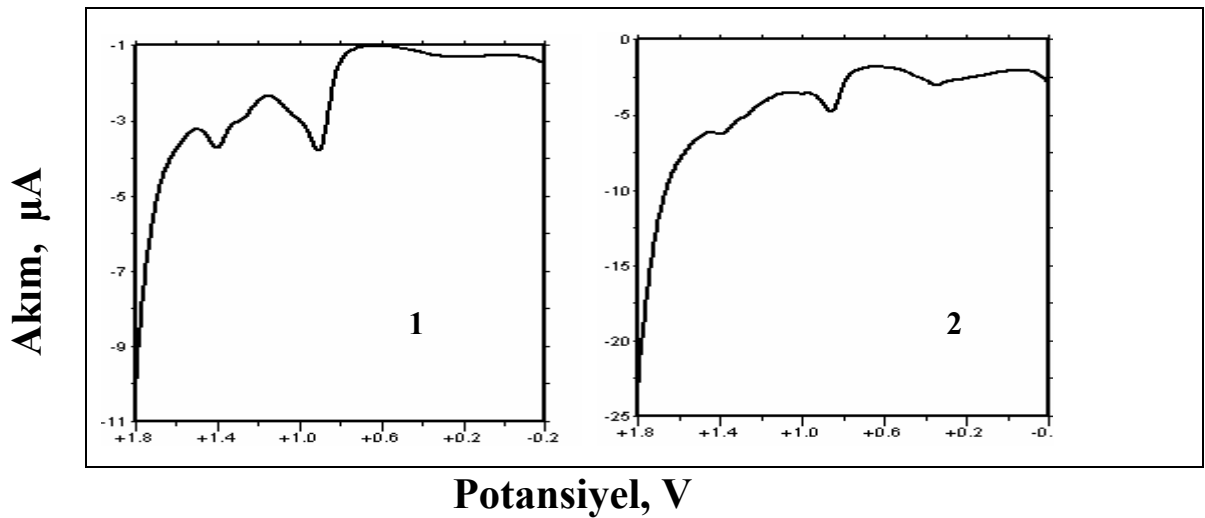
Şekil 3.26. $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın pH 3,70 – 5,70 arası asetat tamponları içerisindeki KD voltamogramları. 1) pH 3,70 , 2) pH 4,70, 3) pH 5,70

Çizelge 3.18. Asetat tamponu içerisinde, $8 \times 10^{-5} \text{M}$ zolmitriptan'ın değişik pH değerinde KDV ile kaydedilen eğrilerinden elde edilen pik akımı ve pik potansiyeli değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μA)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
3,70	908	3,609	1224	-
4,70	852	2,909	-	-
5,70	796	2,530	1000	-

3.2.1.3.4. Zolmitriptan'ın Sülfürik Asit Çözeltileri ile Yapılan KDV Çalışmaları

Zolmitriptan'ın farklı derişimlerdeki (0,1M; 0,5M) H_2SO_4 çözeltileri kullanılmıştır. Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile 0,1 M; 0,5 M H_2SO_4 çözeltilerindeki voltamogramları Şekil 3.27.'de görülmektedir. Farklı pH değerlerindeki H_2SO_4 içerisinde elde edilen pik potansiyelleri ve bunlara karşılık elde edilen akımlar Çizelge 3.19.'da gösterilmiştir.

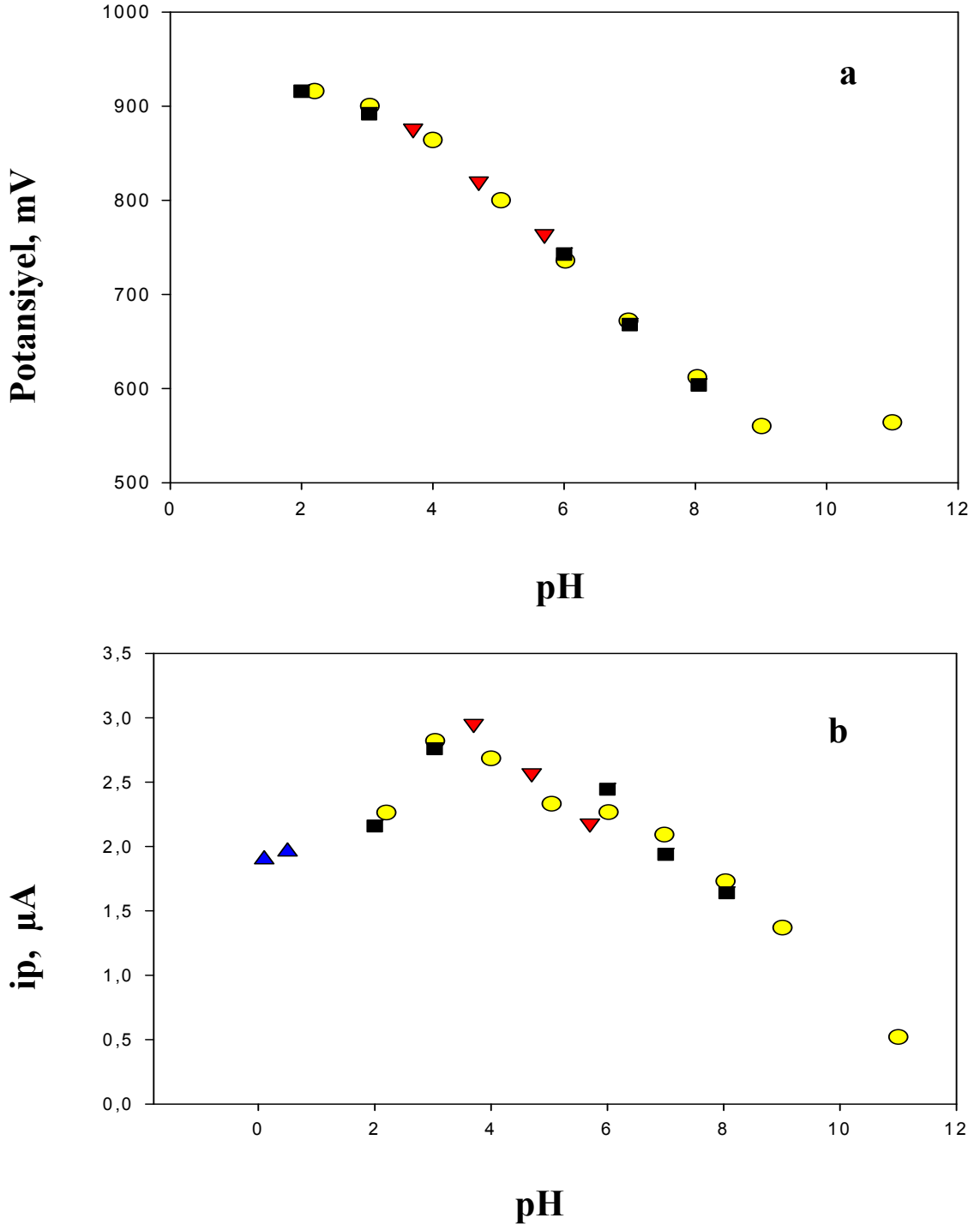


Şekil 3.27. Zolmitriptan'ın $8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimi ile 0,1 M; 0,5 M H_2SO_4 çözeltilerindeki KD voltamogramları. 1) 0,1 M 2) 0,5 M H_2SO_4

Çizelge 3.19. Sülfürik asit çözeltileri içerisinde, 8×10^{-5} M zolmitriptan'ın farklı pH değerinde KDV tekniği ile kaydedilen eğrilerden elde edilen pik akımı ve pik potansiyel değerleri.

pH	Pik Potansiyeli (mV)	Pik Akımı (μ A)	1.Dalga Potansiyeli (mV)	2.Dalga Potansiyeli (mV)
0,1 M H ₂ SO ₄ (pH:1,00)	910	2,114	1270	1400
0,5 M H ₂ SO ₄ (pH:0,30)	850	1,890	1270	1400

Yapılan pH taramaları sonucunda; pH'ın ve destek elektroliti cinsinin potansiyel üzerine etkisini daha rahat görebilmek amacıyla, zolmitriptan için fosfat, asetat ve BR tamponları içerisinde alınan DP voltamogramlarından okunan Ep ve Ip değerleri, pH değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş Çizelge 3.20. ve Şekil 3.28.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.28. DP voltamogramlarından okunan E_p ve I_p değerlerinin pH değerlerine karşı E_p -pH (a), I_p -pH (b) eğrileri.:(o): BRT; (□): Fosfat; (Δ): Asit; (▼): Asetat.

Çizelge 3.20. pH 2,00 – 12,01 arası pH'ya karşı okunan potansiyel değerleri

pH	Pik Potansiyeli (mV)
2,00	916
2,20	916
3,03	892
3,04	900
3,70	876
4,00	864
4,70	820
5,04	800
5,70	764
6,00	743
6,02	736
6,98	672
7,00	668
8,03	612
8,05	604
9,01	560
11,00	564

pH 2- 8,05 arası Çizelge değerlerine göre;

$$E_p \text{ (mV)} = 1057,83 - 54,106 \text{ pH} \quad r = 0,9880$$

(pH 2,00 – 8,05 arası)

3.2.2. Geliştirilen Voltametrik Yöntemlerle Yapılan Analiz Çalışmaları

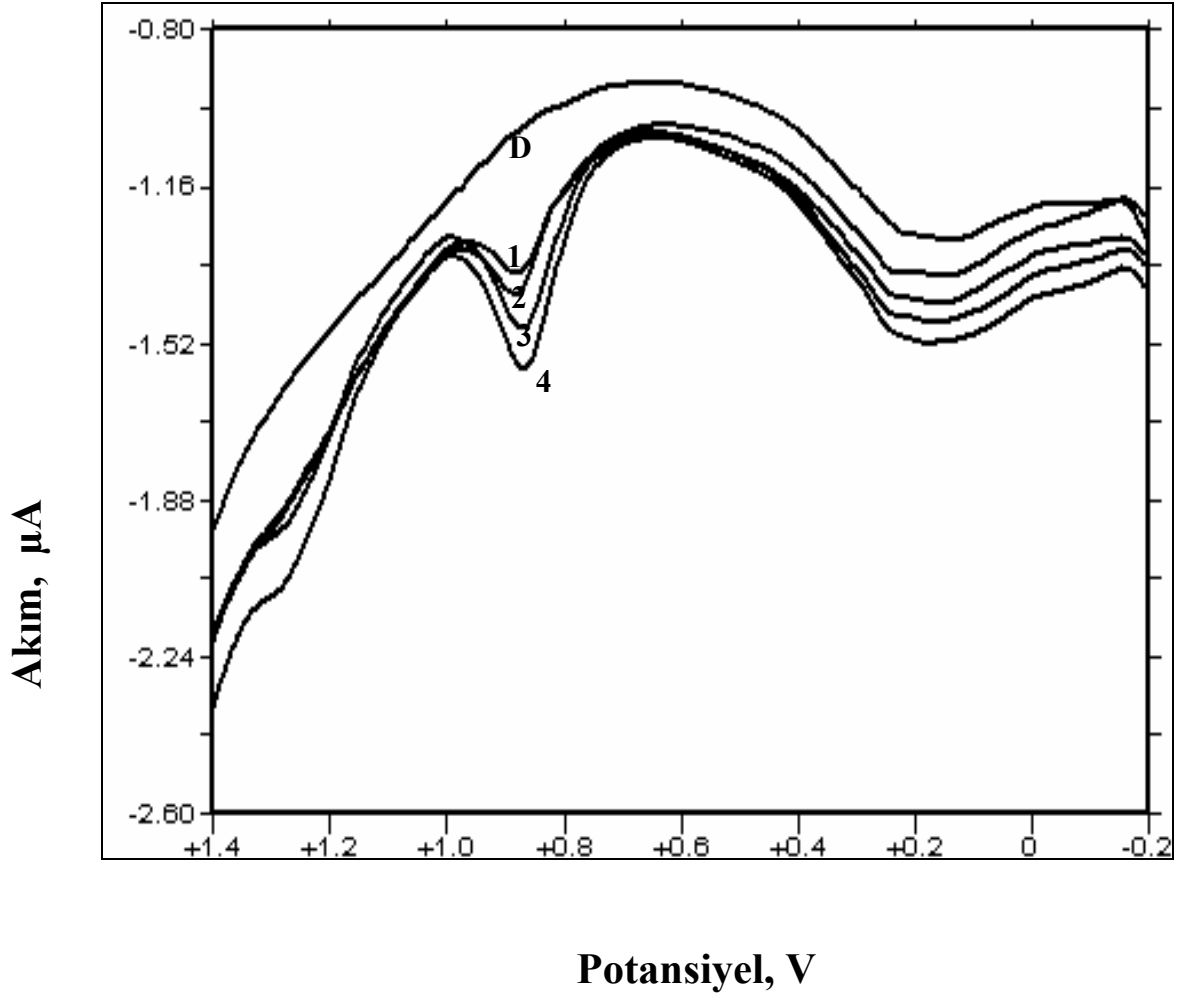
Zolmitriptan'ın voltametrik analizi için geliştirilen DPV ve KDV yöntemleri, oldukça yüksek akımın ve en iyi pik şeklinin elde edildiği pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde uygulanmıştır. Saf zolmitriptan için, pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $8 \times 10^{-7} \text{M} - 8 \times 10^{-6} \text{M}$ derişim aralığında (1 nolu eğri) ve $1 \times 10^{-5} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında (2 nolu eğri) 25 mVs^{-1} tarama hızı ile elde edilen DPV eğrilerinden bazı seçilmiş derişimler Şekil 3.29 ve Şekil 3.30'de verilmiştir. Burada görülen 1nolu eğri için yükseltgenme pikine ait akım değerlerinin (I_p), derişimle (C) değişimi Çizelge 3.21.'de kalibrasyon grafiği ise Şekil 3.31.'de verilmiştir. 2nolu eğri için yükseltgenme pikine ait akım değerlerinin (I_p), derişimle (C) değişimi Çizelge 3.22.'de kalibrasyon grafiği ise Şekil 3.31.'de verilmiştir.

Çizelge 3.21. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (1 nolu eğriye ait)

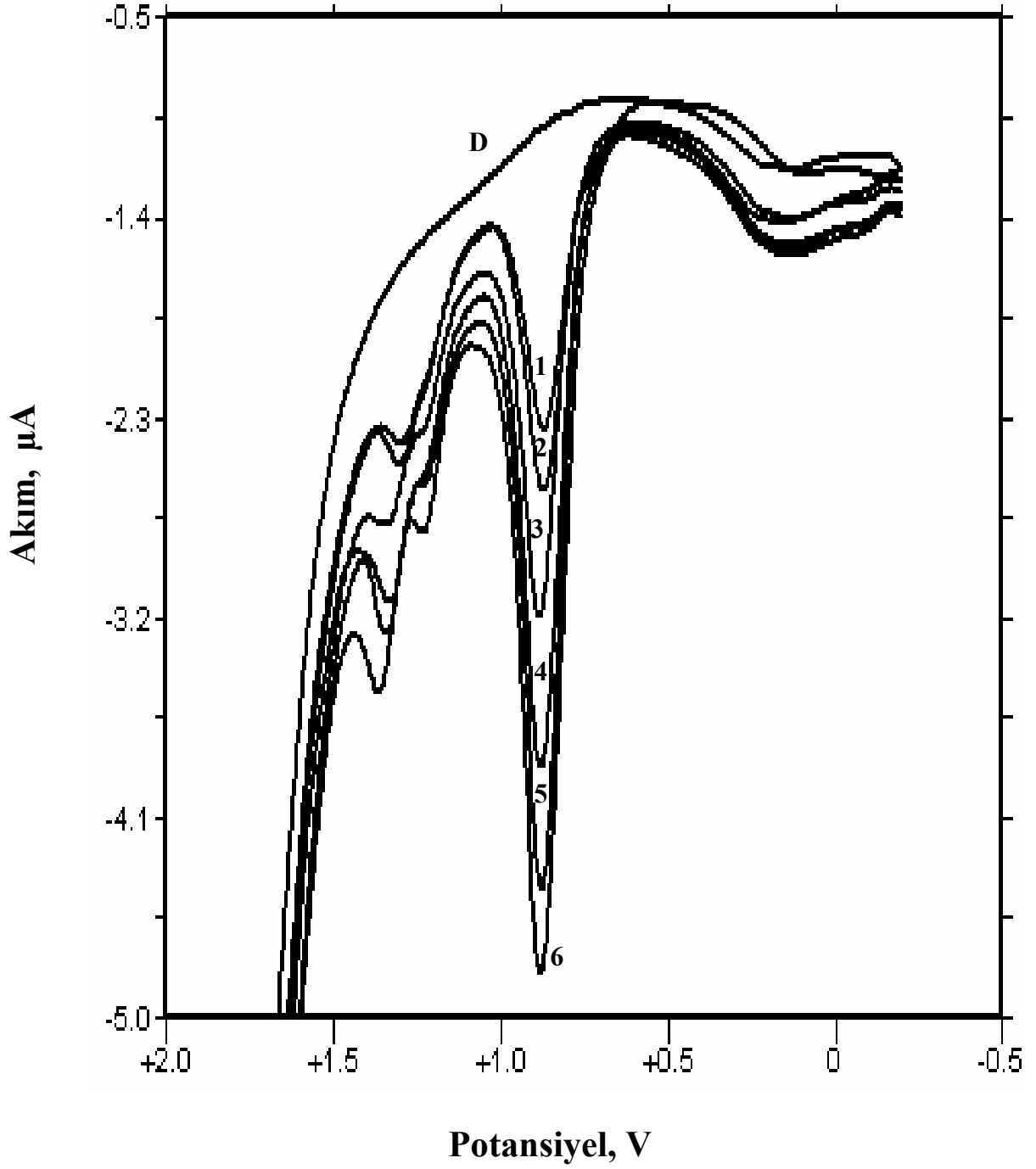
Derişim (M)	Pik Akımı (μA)
8×10^{-7}	0,0246
1×10^{-6}	0,1506
2×10^{-6}	0,1871
4×10^{-6}	0,2606
6×10^{-6}	0,3275
8×10^{-6}	0,4077

Çizelge 3.22. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen derişim – pik akım ilişkisine ait analiz sonuçları (2 nolu eğriye ait)

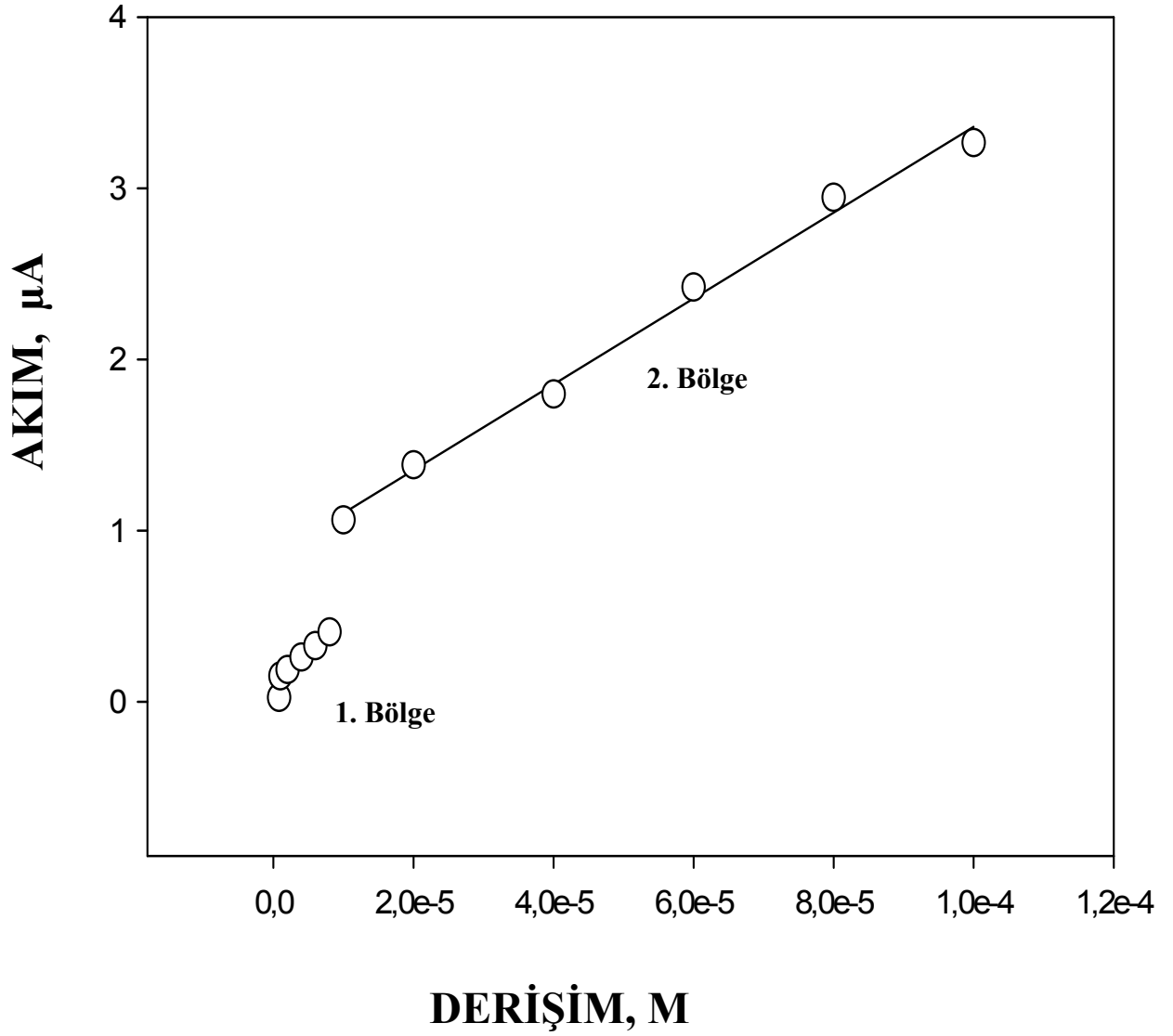
Derişim (M)	Pik Akımı (μA)
1×10^{-5}	1,062
2×10^{-5}	1,384
4×10^{-5}	1,798
6×10^{-5}	2,422
8×10^{-5}	2,947
1×10^{-4}	3,267



Şekil 3.29. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 1.bölgede yer alan bazı derişimlerdeki DPV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 2) $2 \times 10^{-6} \text{M}$ 3) $6 \times 10^{-6} \text{M}$ 4) $8 \times 10^{-6} \text{M}$



Şekil 3.30. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 2. bölgede bazı derişimlerdeki DPV eğrileri. D; destek 1) $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ 2) $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ 3) $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ 4) $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ 5) $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ 6) $1 \times 10^{-4} \text{ M}$



Şekil 3.31. $8 \times 10^{-7} \text{M}$ – $1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen kalibrasyon grafiği (1. ve 2. bölgeye ait).

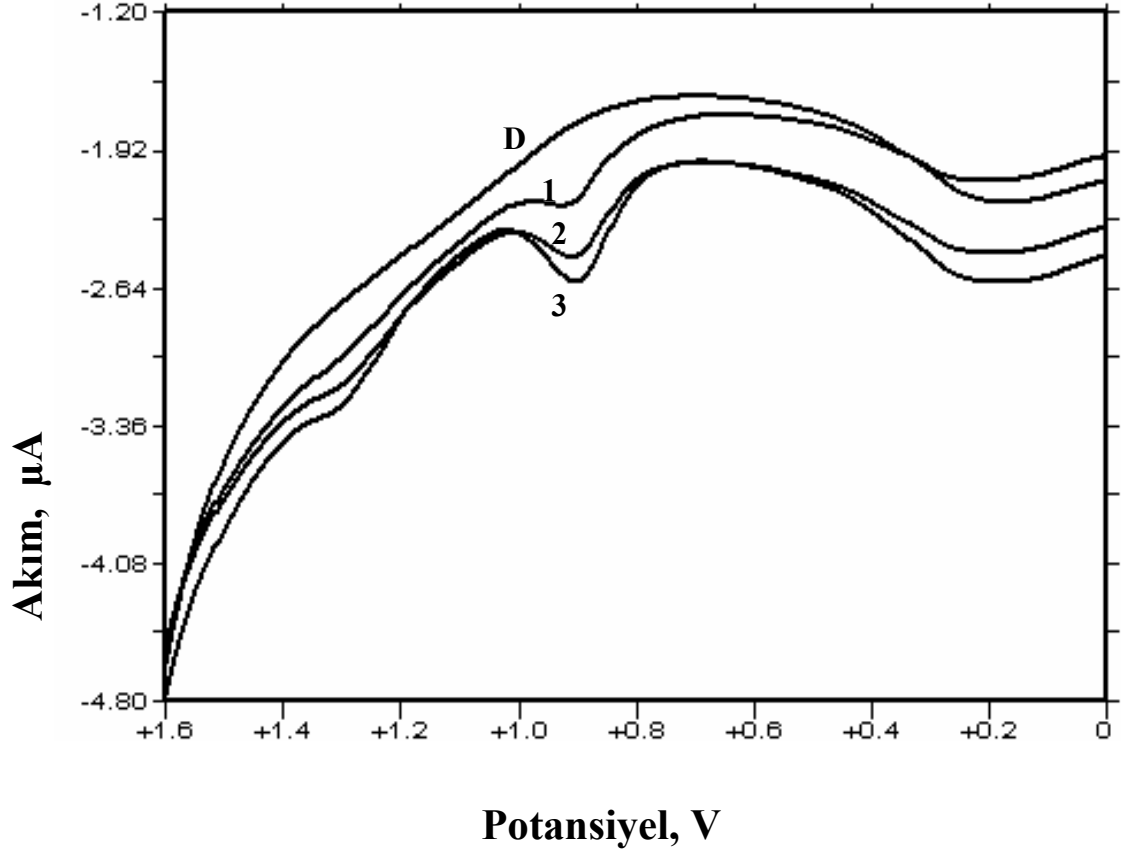
Kare dalga voltametri tekniği ile de aynı derişim aralığında iki farklı kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde elde edilen 1. bölgeye ait KDV eğrilerinden bazıları Şekil 3.32.'de ve burada görülen yükseltgenme pikine ait akım değerlerinin (I_p) derişimle (C) değişimi Çizelge 3.23.'de, kalibrasyon grafiği ise Şekil 3.34.'de verilmiştir. Aynı ortamda 2. bölgeye ait KDV eğrilerinden bazıları Şekil 3.33.'de ve burada görülen yükseltgenme pikine ait akım değerlerinin (I_p) derişimle (C) değişimi Çizelge 3.24.'de, kalibrasyon grafiği ise Şekil 3.34.'de verilmiştir.

Çizelge 3.23. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniği ile elde edilen 1. nolu eğriye ait derişim – pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları.

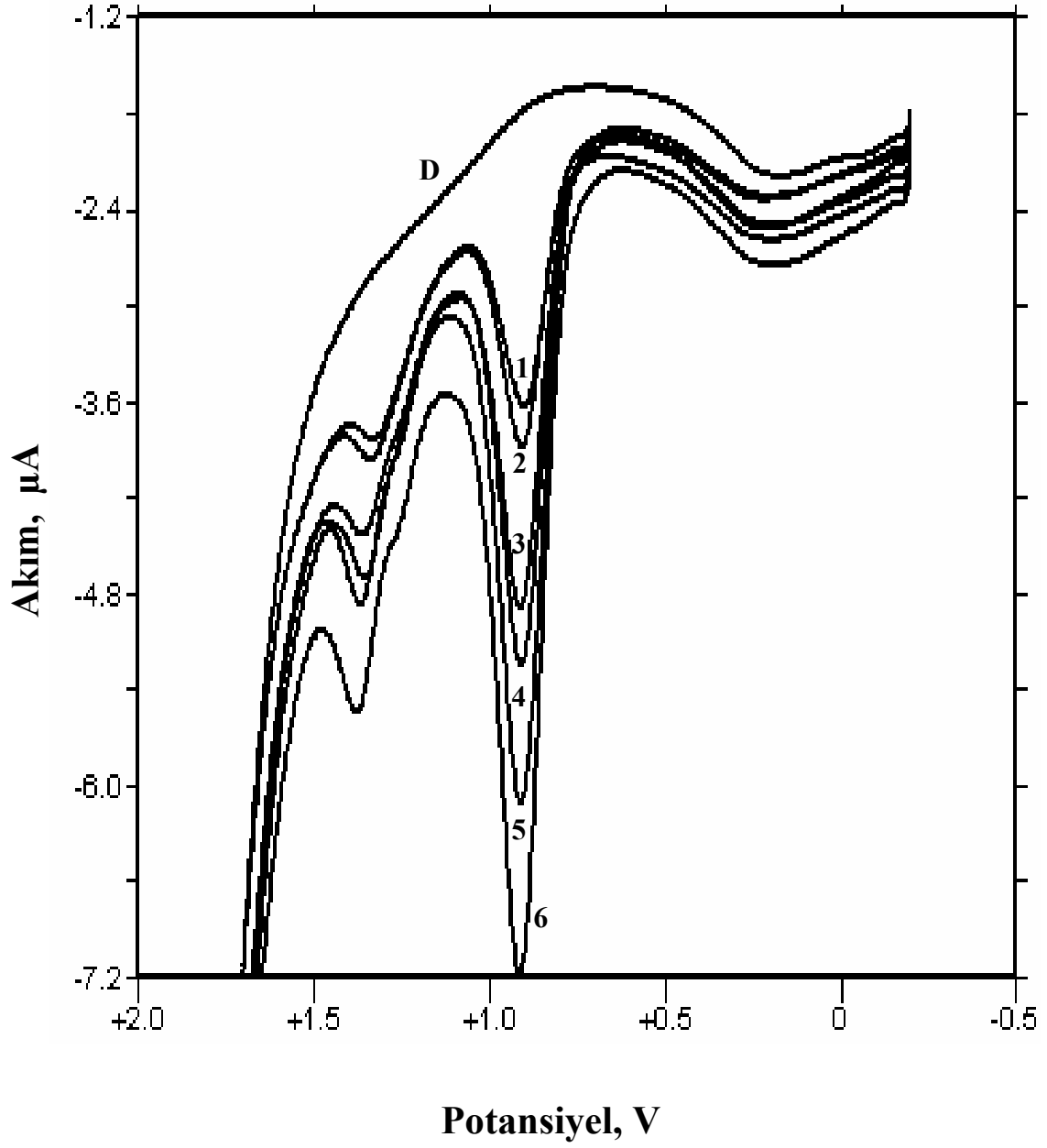
Derişim (M)	Pik Akımı (μ A)
8×10^{-7}	0,025
1×10^{-6}	0,1604
2×10^{-6}	0,1868
4×10^{-6}	0,2767
6×10^{-6}	0,3459
8×10^{-6}	0,4036

Çizelge 3.24. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniği ile elde edilen 2. nolu eğriye ait derişim – pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları.

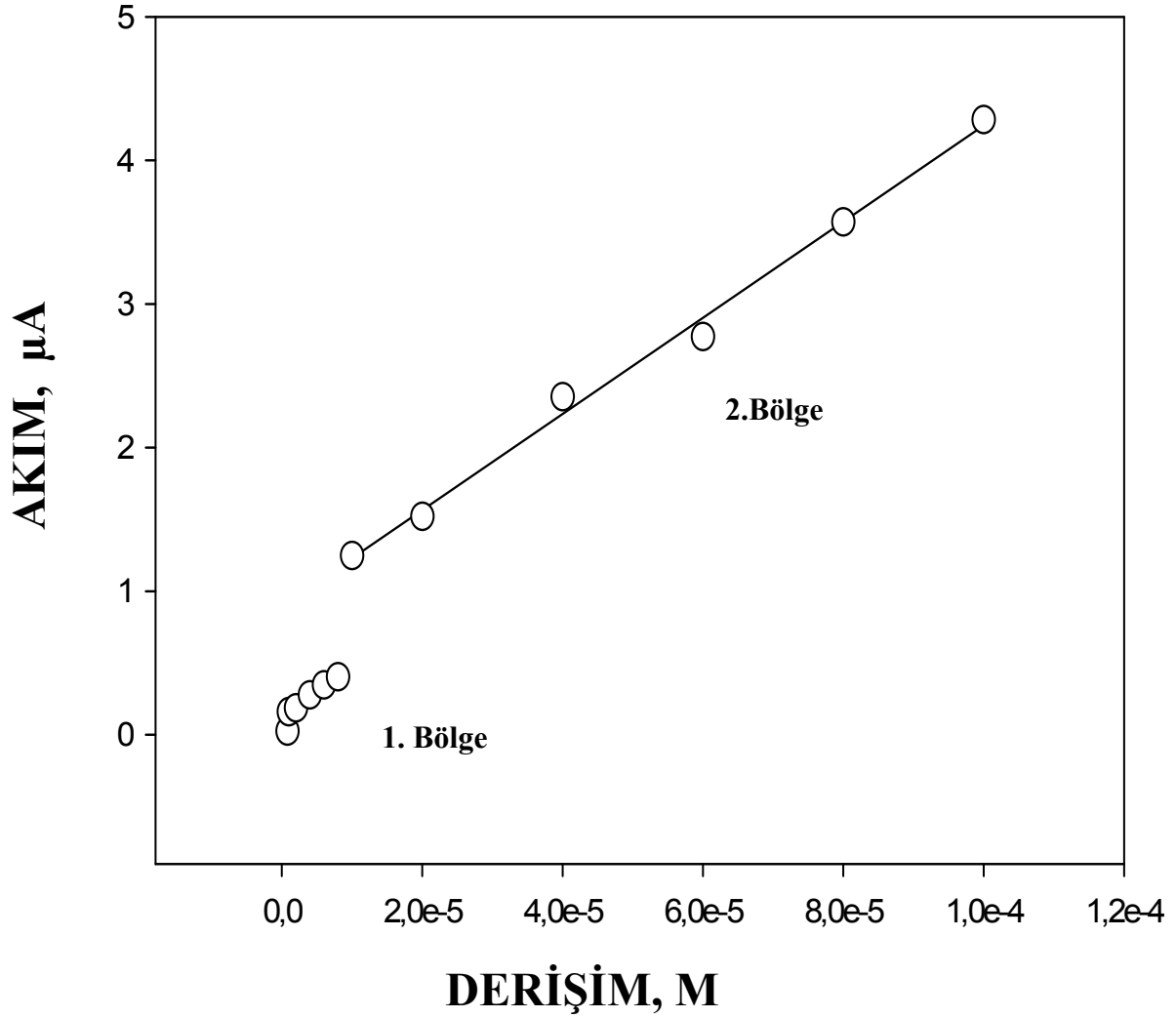
Derişim (M)	Pik Akımı (μA)
1×10^{-5}	1,248
2×10^{-5}	1,521
4×10^{-5}	2,353
6×10^{-5}	2,772
8×10^{-5}	3,571
1×10^{-4}	3,267



Şekil 3.32. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 1. bölgede yer alan bazı derişimlerdeki KDV eğrileri. D: destek; 1) $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 2) $4 \times 10^{-6} \text{ M}$ 3) $8 \times 10^{-6} \text{ M}$



Şekil 3.33. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 2. bölgede yer alan bazı derişimlerdeki KDV eğrileri. D: destek; 1) $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ 2) $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ 3) $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ 4) $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ 5) $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ 6) $1 \times 10^{-4} \text{ M}$



Şekil 3.34. $8 \times 10^{-7} \text{M}$ – $1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralğında zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde KDV tekniği ile elde edilen kalibrasyon grafiğı (1. ve 2. eğriye ait).

Çizelge 3.21. ve Çizelge 3.23. deki 1. bölge için DPV ve KDV tekniği ile elde edilen verileri kullanarak lineer regresyon analizi ve kalibrasyon eğrisi için gerekli validasyon parametreleri hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 3.25.'de gösterilmiştir. Çizelge 3.25.'de verilen yakalama sınırı (YS) ve tayin alt sınırı (TAS);

$$YS = 3 \text{ SS/m} \quad ; \quad TAS = 10 \text{ SS/m}$$

formüllerinden bulunmuştur. (Riley ve Rosanske,1996 ; Swartz,Krull,1997)

Bu formüllerde SS, kalibrasyondaki en düşük derişimin bir üst derişiminde 3 adet tekrarlanan sonucun standart sapması, m ise ilgili kalibrasyon eğrisine ait eğim değeridir.

Çizelge 3.25. 3,03 fosfat tamponu içerisinde elde edilen 1.bölge için kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri.

	DPV	KDV
Ölçüm Yapılan Potansiyel (V)	0,875	0,905
Potansiyelin gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,13	0,30
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,20	0,24
Doğrusallık Aralığı (M)	$1 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-6}$
Eğim ($\mu\text{A} \cdot \text{M}^{-1}$)	$3,64 \times 10^4$	$3,59 \times 10^4$
Kesişim (μA)	0,11	0,124
Korelasyon Katsayısı	0,999	0,994
Eğimin Standart Hatası	$5,63 \times 10^2$	$1,64 \times 10^2$
Kesişimin Standart Hatası	$2,77 \times 10^{-3}$	$8,06 \times 10^{-2}$
Yakalama Sınırı (M)*	$7,3 \times 10^{-8}$	$2,63 \times 10^{-7}$
Tayin Alt Sınırı (M)*	$2,44 \times 10^{-7}$	$8,78 \times 10^{-7}$

(*) Yakalama ve tayin alt sınırı hesabı için gerekli standart sapma sonuçları $4 \times 10^{-6} \text{M}$ derişiminin 3 değerinden elde edilmiştir.

Geliştirilen her iki yöntemin tekrar edilebilirlik düzeyini anlayabilmek için pik akımları için üç farklı derişimde (4×10^{-5} M, 8×10^{-5} M ve 1×10^{-4} M) gün içi ve günler arası (3 gün için) tekrar edilebilirlik çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.26.'de gösterilmiştir. Pik potansiyeli için yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları ise Çizelge 3.25.'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar pik akımları ve pik potansiyelleri için tekrar edilebilirliğin iyi olduğunu kanıtlamaktadır. Yapılan tekrar edilebilirlik deneylerinde oldukça iyi sonuçların elde edilmesi, zolmitriptan içeren ticari preparatlarda, miktar tayini çalışmalarının yapılabileceğini göstermiştir.

Çizelge 3.26. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV ve KDV teknikleri ile pik akımı gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları

DPV					KDV			
Teorik Derişim (M)	Gün İçi Ölçülen Derişim (M)*		Günler Arası Ölçülen Derişim (M)**		Gün İçi Ölçülen Derişim (M)*		Günler Arası Ölçülen Derişim (M)**	
	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS
6×10^{-6}	$5,87 \times 10^{-6}$	0,79	$5,85 \times 10^{-6}$	0,31	$6,09 \times 10^{-6}$	0,23	$6,08 \times 10^{-6}$	0,14
1×10^{-5}	$1,05 \times 10^{-5}$	0,50	$1,06 \times 10^{-5}$	0,17	$1,1 \times 10^{-5}$	0,41	$1,1 \times 10^{-5}$	0,21
6×10^{-5}	$6,05 \times 10^{-6}$	0,34	$6,04 \times 10^{-6}$	0,17	$6,01 \times 10^{-6}$	0,22	$6,01 \times 10^{-6}$	0,66

(*) Ortalama değerler 5 farklı çözeltinin aynı günde yapılan ölçümlerinin ortalaması

(**) 3 farklı günde hazırlanan 5 çözeltinin (süre içerisinde) ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri

3.2.3. Zolmitriptan için Geliştirilen Voltametrik Tekniklerin Uygulamaları

Zolmitriptan tayini için geliştirilen DPV ve KDV teknikleri daha duyarlı olması sebebiyle 1.bölge için ticari preparatlara ve insan serum numunelerinden % geri kazanım çalışmalarına uygulanmıştır.

3.2.4. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Dozaj Şekillerine Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları

Zolmitriptan içeren tabletlerden miktar tayini yapabilmek için bölüm 2.4.2.5.'de anlatıldığı şekilde tablet çözeltileri hazırlanmış ve saf zolmitriptan çözeltileri ile aynı şartlarda voltamogramları alınmıştır. Bu eğrilerden okunan pik akımı değerleri ilgili kalibrasyon denkleminde yerine konularak tabletlerin içerdiği zolmitriptan miktarları hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntemlerle yapılan analiz sonuçları Çizelge 3.27.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.27. Zolmitriptan içeren (2,5 mg) Zomig Rapimelt® tabletlerin pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde elmas elektrot ile geliştirilen DPV ve KDV yöntemleriyle elde edilen analiz bulguları

Numune No.	Tablette Bulunan Madde Miktarı (2,5 mg)	
	DPV	KDV
1	2,499	2,500
2	2,500	2,486
3	2,480	2,489
4	2,499	2,499
5	2,490	2,470
$X_{ort.}$	2,4936	2,488
SS	0,0086	0,012
% BSS	0,35	0,49
% BH	0,013	0,024

Tablet içerisinde yer alan katkı maddelerinin analiz yöntemlerimizi etkileyip etkilemediğini anlamak için % geri kazanım çalışmaları da yapılmıştır. Bölüm 2.4.2.6’da anlatıldığı gibi bilinen miktarda hazırlanan zolmitriptan içeren tablet numunelerinin üzerine, yine bilinen miktarda saf zolmitriptan ilave edilmiş ve gerekli hesaplamalar sonucunda % geri kazanımlar bulunmuştur. % geri kazanım sonuçları Çizelge 3.28.’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.28. Zolmitriptan tablet içeren tablet numunelerinden pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde voltametik tekniklerle elde edilen % geri kazanım sonuçları.

Yöntem	İlave Edilen Madde Miktarı (mg)	Bulunan Madde Miktarı (mg)	% Geri Kazanım
DPV	0,625	0,630	100,80
	0,625	0,628	100,48
	0,625	0,623	99,68
	0,625	0,625	100
	0,625	0,621	99,36
			$X_{ort} : 100,064$
			$SS : 0,584$
			$\% BSS : 0,583$
			$\% BH : -0,064$
	KDV	0,625	0,628
0,625		0,628	100,48
0,625		0,621	99,36
0,625		0,624	99,84
0,625		0,623	99,68
		$X_{ort} : 99,968$	
		$SS : 0,498$	
		$\% BSS : 0,498$	
		$\% BH : 0,032$	

Çizelge 3.29. pH 3,03 fosfat tamponunda zolmitriptan içeren Zomig Rapimelt® tabletlerden elde edilen analiz bulgularının karşılaştırmalı sonuçları

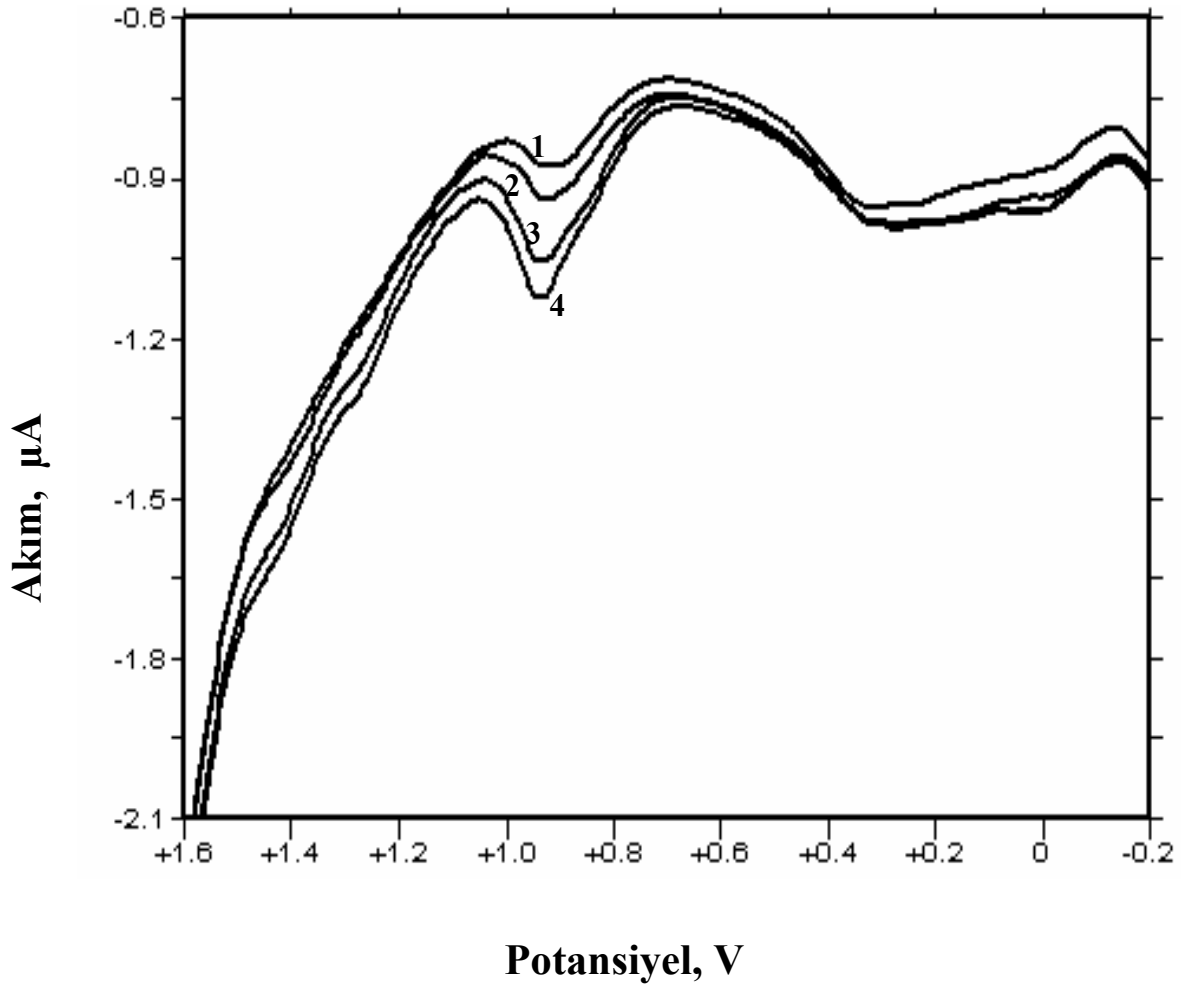
	DPV	KDV
Etiket miktarı (mg)	2,5	2,5
Bulunan madde miktarı(mg)	2,494	2,488
%BSS	0,35	0,49
Hesaplanan t değeri	–	0,7204
Hesaplanan F değeri	–	1,9879

T çizelge değeri: 2,31; F çizelge değeri: 2,60 (p:0,005)

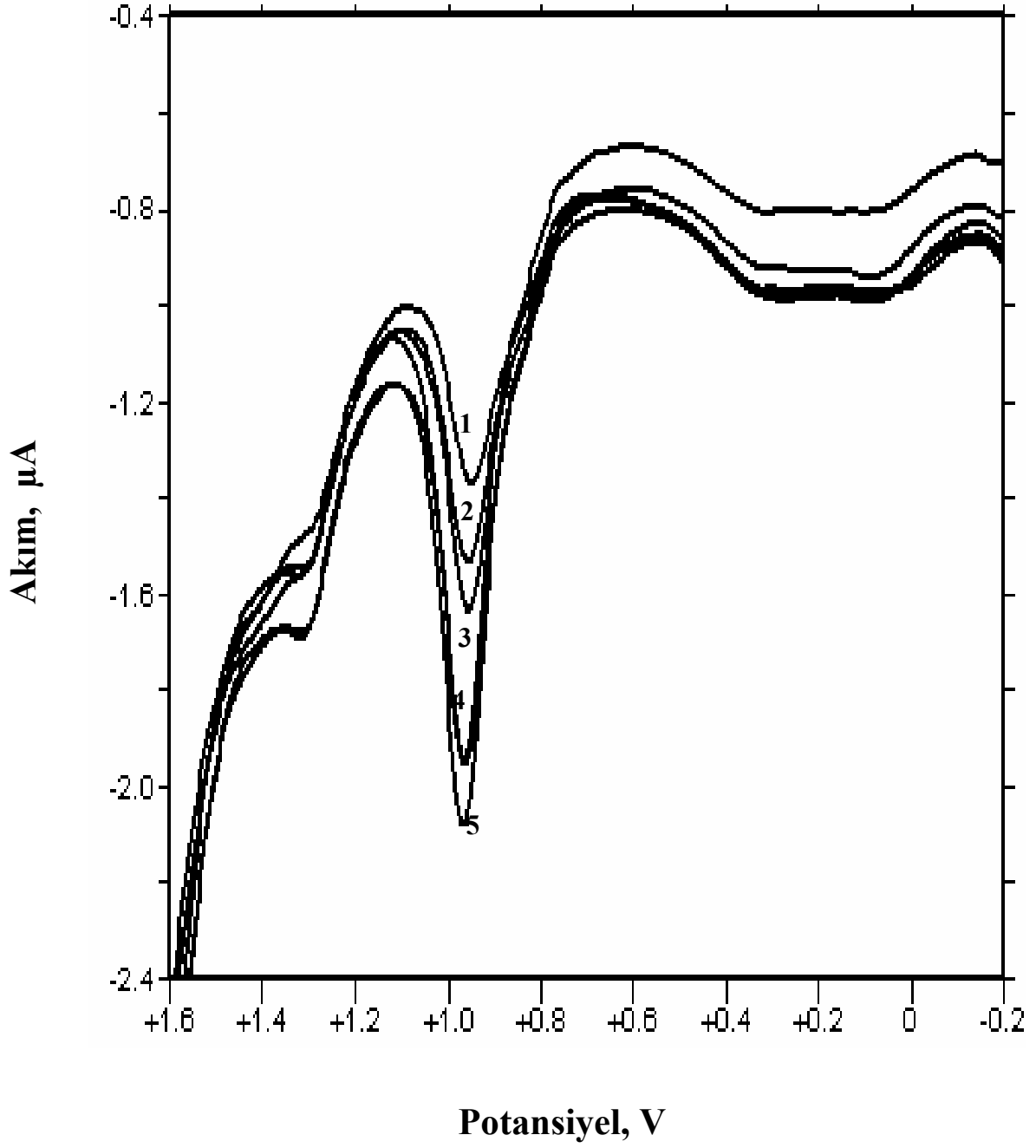
Bulunan değerler çizelge değerleriyle karşılaştırıldığında yöntemler arasındaki farkın anlamsız olduğu görülmektedir.

3.2.5. Geliştirilen Voltametrik Yöntemlerin İnsan Serumuna Uygulanması ve Serumda % Geri Kazanım Çalışmaları

Zolmitriptan için geliştirilen miktar tayini yöntemleri, zolmitriptan'ın serum örneklerinden tayin edilebilirliğinin araştırılması amacıyla insan serum örneklerine bölüm 2.4.2.2.'de anlatıldığı şekilde uygulanmıştır. Bu çalışma ile ilgili DP voltamogramları Şekil 3.35 ve Şekil 3.36'da görülmektedir. Elde edilen sonuçlar ise Çizelge 3.30 ve Çizelge 3.31.'da verilmiştir.



Şekil 3.35. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 1. bölgede elde edilen bazı konsantrasyonlara ait serum DP voltamogramları. 1) $6 \times 10^{-7} \text{ M}$ 2) $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ 3) $6 \times 10^{-6} \text{ M}$ 4) $8 \times 10^{-6} \text{ M}$



Şekil 3.36. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde 2. bölgede elde edilen bazı konsantrasyonlara ait serum DP voltamogramları. 1) $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ 2) $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ 3) $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ 4) $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ 5) $1 \times 10^{-4} \text{ M}$

Çizelge 3.30. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile serum içerisinde elde edilen 1 nolu eğriye ait derişim–pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları

Derişim (M)	Pik Akımı (μA)
	DPV
6×10^{-7}	0,08611
8×10^{-7}	0,09379
1×10^{-6}	0,09403
2×10^{-6}	0,1188
4×10^{-6}	0,1636
6×10^{-6}	0,1994
8×10^{-6}	0,2365

Çizelge 3.31. Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DP tekniği ile serum içerisinde elde edilen 2 nolu eğriye ait derişim – pik akımı ilişkisine ait analiz sonuçları.

Derişim (M)	Pik Akımı (μA)
1×10^{-5}	0,450
2×10^{-5}	0,570
4×10^{-5}	0,682
6×10^{-5}	0,867
8×10^{-5}	0,969
1×10^{-4}	1,095

Bu Çizelgelere göre $6 \times 10^{-7} \text{ M} - 8 \times 10^{-6} \text{ M}$ derişim aralığında (1. Bölgede) derişim-pik akımı arasında ;

$r = 0,997$ korelasyon katsayısı ile

DPV için $i(\mu\text{A}) = 2,04 \times 10^4 \text{ C(M)} + 0,077$
eşitliğine uyan doğrusal ilişki bulunmaktadır.

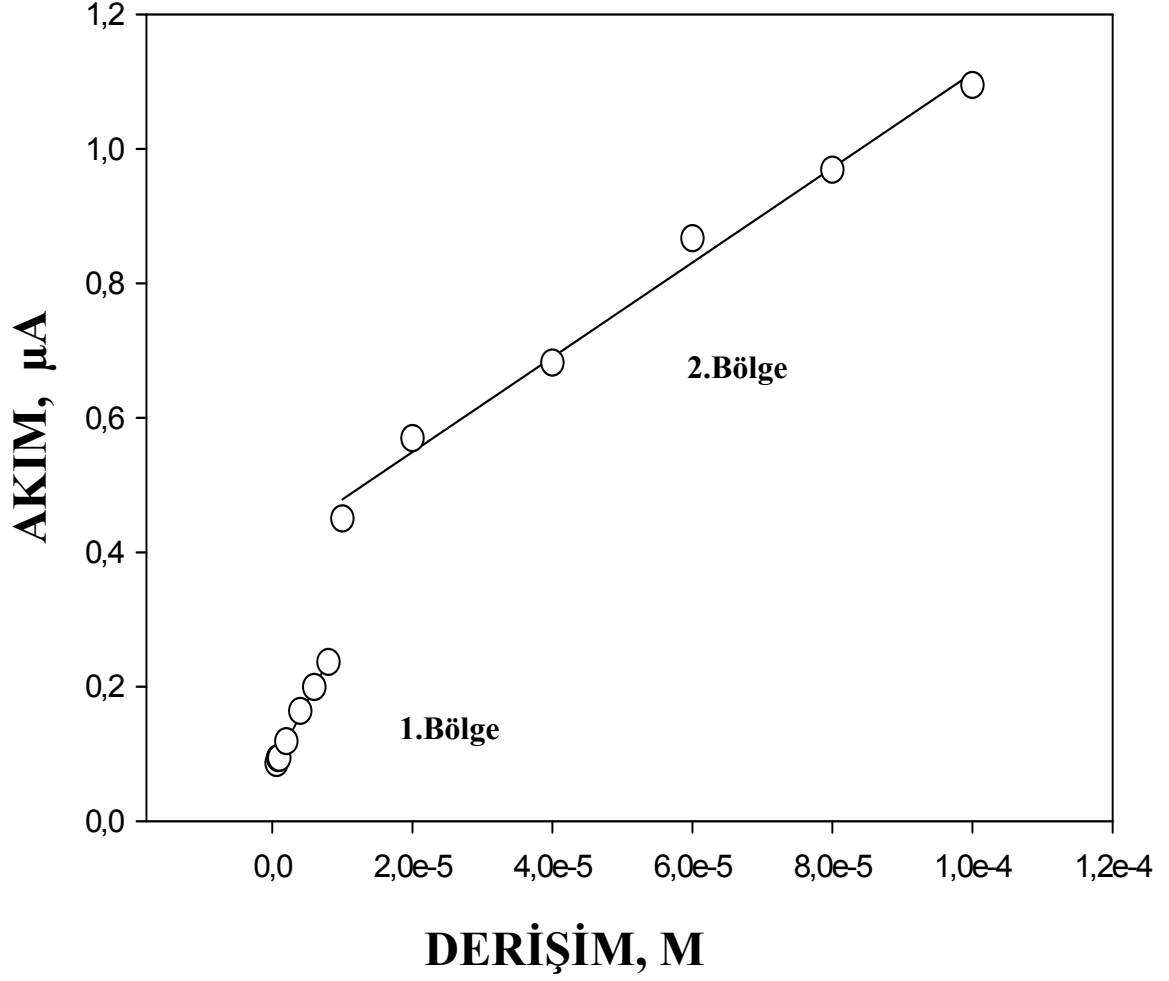
2. Bölgede yani $1 \times 10^{-5} \text{ M} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$ derişim aralığında derişim-pik akımı arasında;
 $r = 0,99$ korelasyon katsayısı ile

DPV için $i(\mu\text{A}) = 7,046 \times 10^3 \text{ C(M)} + 0,41$
eşitliğine uyan doğrusal ilişki bulunmaktadır.

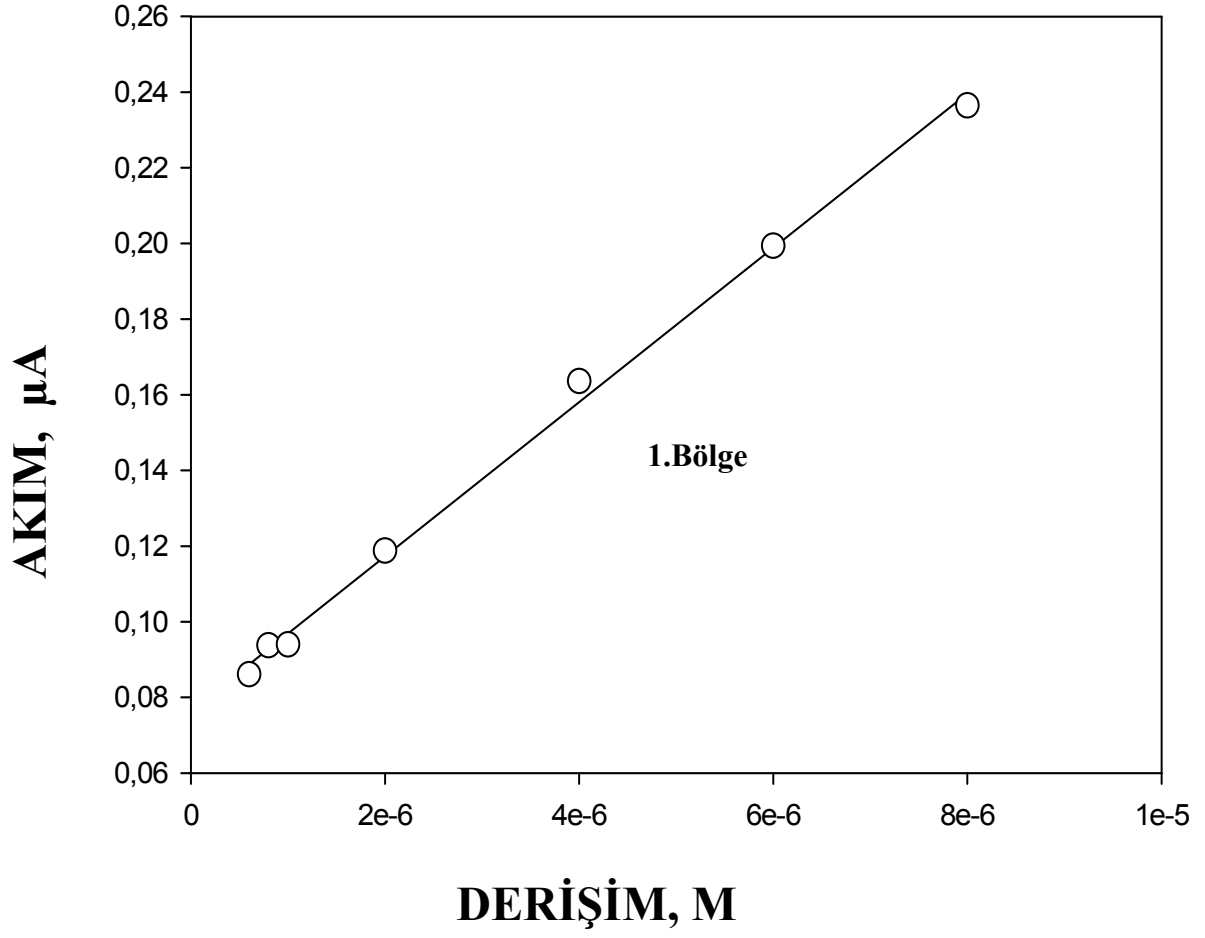
Birinci ve ikinci bölgelere ait DPV kalibrasyon eğrisi Şekil 3.37.'de gösterilmiştir (KD voltametri tekniği ile elde edilen bulgular da DP voltametri tekniği ile elde edilenlere benzerdir).

Bu sonuçlara dayanarak, elmas elektrot ile DPV ve KDV kullanılarak zolmitriptan'ın serumdan miktar tayininin yapılabileceğine karar verilmiştir.

pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen serum kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri Çizelge 3.32.'de verilmiştir.



Şekil 3.37. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen serum kalibrasyon grafiği (1. ve 2. Bölgelere ait).



Şekil 3.38. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV tekniği ile elde edilen 1. bölgeye ait serum kalibrasyon grafiği.

Çizelge 3.32. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde DPV ve KDV tekniği ile elde edilen serum kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri

	DPV	KDV
Ölçüm Yapılan Potansiyel (mV)	876,8	901,6
Potansiyelin gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,20	0,37
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)	0,31	0,24
Doğrusallık aralığı (M)	$6 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4}$	$6 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4}$
Eğim ($\mu\text{A} \cdot \text{M}^{-1}$)	$2,04 \times 10^4$	$1,96 \times 10^4$
Kesişim (μA)	0,077	0,083
Korelasyon Katsayısı	0,997	0,993
Yakalama Sınırı (YS)*	$2,94 \times 10^{-7}$	$1,3 \times 10^{-5}$
Tayin Alt Sınırı (TAS)*	$9,8 \times 10^{-7}$	$4,33 \times 10^{-5}$

(*) Yakalama ve tayin alt sınırı hesabı için gerekli standart sapma sonuçları $4 \times 10^{-6} \text{M}$ derişiminin 3 değerinden elde edilmiştir.

Geliştirilen her iki yöntemin tekrar edilebilirlik düzeyini anlayabilmek için $6 \times 10^{-6} \text{M}$ serum derişiminde gün içi ve günler arası (3 gün için) tekrar edilebilirlik çalışmaları yapılmıştır. Tekrar edilebilirlik hesaplamaları akım değerleri için $6 \times 10^{-6} \text{M}$ derişim için yapılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.33.'de gösterilmiştir. Pik potansiyeli için yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları ise Çizelge 3.32.'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar pik potansiyeli için tekrar edilebilirliğin çok iyi olduğunu kanıtlamaktadır.

pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde insan serumunda elde edilen geri kazanım sonuçları Çizelge 3.34.'de verilmiştir.

Çizelge 3.33. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde serum DPV ve KDV teknikleri için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları

Teorik Derişim (M)	DPV				KDV			
	Gün İçi Ölçülen Derişim (M)*		Günler Arası Ölçülen Derişim (M)**		Gün İçi Ölçülen Derişim (M)*		Günler Arası Ölçülen Derişim (M)**	
	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS	X _{ort}	%BSS
6×10^{-6}	$6,05 \times 10^{-6}$	0,46	$6,04 \times 10^{-6}$	0,27	$5,98 \times 10^{-6}$	0,76	$5,99 \times 10^{-6}$	0,24

(*) Ortalama değerler 5 farklı çözeltinin aynı günde yapılan ölçümlerinin ortalaması

(**) 3 farklı günde hazırlanan 5 çözeltinin (süre içerisinde) ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri

Çizelge 3.34. DPV ve KDV teknikleri ile pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde insan serumunda elde edilen geri kazanım sonuçları

Yöntem	Seruma İlave Edilen Madde Miktarı (M)	Bulunan Madde Miktarı (M)	Ortalama % Geri Kazanım	% BSS	%BH
DPV	$4 \times 10^{-6} \text{M}$	$4,03 \times 10^{-5} \text{M}$	100,75	0,32	-0,75
KDV	$4 \times 10^{-6} \text{M}$	$4,01 \times 10^{-6} \text{M}$	100,25	0,27	-0,25

4. TARTIŞMA

Zolmitriptan, triptan grubu antimigren ilaçlar içerisinde yer alır ve 5-hidroksitriptamin tip 1B ve 1D reseptörleri üzerinde agonist etki gösterir. Zolmitriptan hem periferik hem de santral etkileri olan bir ilaçtır. Bu tez kapsamında literatür araştırması yapılırken zolmitriptan'ın elektrokimyasal davranışlarına ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan literatür incelemelerinde zolmitriptan'ın miktar tayini için Spektrofotometrik (Raza A, Ansari TM, Niazi SB 2007; Aydoğmuş Z ve İnanlı I 2007), YPSK (Kılıç ve ark. 2007; Vishwanathan ve ark. 2000; Chen ve ark.2006; Yu LS,Yao TW, Ni SQ, Zeng S 2005; Clement EM, Franklin M 2002; Srinivasu MK ve ark. 2005; Rao BM ve ark. 2006; Zhang ZJ, Xu FG, Tian Y, Li W ve Mao GG 2004), kromatografik (Rao BM ve ark. 2005; Srinivasu MK ve ark. 2005) ve diğer (Wild MJ, McKillop D ve Butters CJ 1999) çalışmalarına rastlanmıştır.

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak tez kapsamında yürütülen araştırmada ilaç analizlerinde kromatografik ve optik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendirilen voltametrik teknikler kullanılarak, zolmitriptan'ın miktar tayininde kullanılabilecek yöntemler geliştirilmiş, molekülün yükseltgenmesine ait mekanizmaya ışık tutması düşüncesiyle çeşitli parametreler hesaplanmıştır.

Uygulanacak yöntemle ait deneylere başlamadan önce Astra Zeneca İlaç Firması'ndan sağlanan zolmitriptan standart maddesinin saflığını araştırmak amacıyla UV ve IR spektrumları alınmıştır. Elde edilen verilerde herhangi bir safsızlık pikine rastlanmadığı için bu maddenin çalışmayı yürütmek için yeterli saflıkta olduğu sonucuna varılmıştır.

Zolmitriptan'ın elektrokimyasal incelenmesi mekanik ön işleme temizlenmiş elmas elektrot kullanılarak yapılmıştır. Sonuçların tekrar edilebilirliği bu ön işlemin yeterli olacağı fikrini vermektedir (Çizelge 3.33). Bor ile dope edilmiş elmas elektrotla değişik pH değerlerinde ve farklı tampon çözeltileri içerisinde yapılan çalışmalar, zolmitriptan'ın bütün ortamlarda ve pH değerlerinde (pH 2,00-12,01) geri dönüşümsüz olarak yükseltgendiğini göstermektedir.

Zolmitriptan için, DV, DPV ve KDV teknikleri ile 0,1M H₂SO₄, 0,5M H₂SO₄, pH 2,20-12,01 arasındaki BR tamponları, pH 2,00-8,05 aralığındaki bazı pH değerindeki fosfat tamponları, pH 3,70-5,70 arasındaki asetat tamponları içerisinde çalışmalar yapılmıştır. DV, DPV ve KDV eğrilerinin pik akımı – pH verileri incelendiği zaman, bütün teknikler için hem oldukça yüksek akımın hem de pik şeklinin en keskin ve düzgün olduğu ortamın pH 3,03 fosfat tamponu olduğu görülmektedir.

Olayın özelliğini anlayabilmek amacıyla, seçilmiş olan pH 3,03 fosfat tamponu, pH 3,7 asetat tamponu ve pH 3,04 BR tamponlarında yapılan hız taraması deneylerini değerlendirmek için $i_p-v^{1/2}$, ve $\log i_p-\log v$ ilişkileri incelenmiştir. DV tekniği ile, zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu, pH 3,7 asetat tamponu ve pH 3,04 BR tamponları içerisinde 5 - 1000 mVs⁻¹ hız tarama aralığında incelemeleri yapılmıştır.

Zolmitriptan'ın pH 3,03 fosfat tamponu içeren ortamda verdiği pik difüzyon kontrollü bulunmuştur. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan'ın 4x10⁻⁵M ve 1x10⁻⁴M derişimlerde yapılan hız taraması sonucunda her iki derişim için de; pik akımı ile $v^{1/2}$ arasında doğrusal bir ilişki olduğu saptanmıştır.

$$i_p (\mu A) = 0,1143v^{1/2} (mVs^{-1}) + 0,243 \quad (r: 0,9933 ; n: 9) \quad (4x10^{-5}M \text{ zolmitriptan derişimi için})$$

$$i_p (\mu A) = 0,2647v^{1/2} (mVs^{-1}) + 0,2722 \quad (r: 0,9954 ; n: 9) \quad (1x10^{-4}M \text{ zolmitriptan derişimi için})$$

Hız taraması 5-1000 mVs⁻¹ arasında yapılmıştır. Pik potansiyelinin hız arttıkça 4x10⁻⁵ M zolmitriptan derişiminde 51 mV ve 1x10⁻⁴M zolmitriptan derişiminde 54mV daha pozitif değerlere kayması ve herhangi bir katodik pik veya dalganın olmaması olayın geri dönüşümsüz olduğunu göstermiştir. Tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denkleminin eğim değeri her iki konsantrasyon için 0,4698 ve 0,4784 olarak bulunmuştur. Bu değer difüzyon kontrollü teorik değer olan 0,5'e yakın olması (Laviron E.ve ark., 1980) yükseltgenme olayının difüzyon kontrollü olduğunu kanıtlamıştır.

(4×10^{-5} M zolmitriptan derişimi için)

$$\text{Log } i_p (\mu\text{A}) = 0,4698 \log v (\text{mVs}^{-1}) - 0,912 \quad (r: 0,9834 ; n: 9)$$

(1×10^{-4} M zolmitriptan derişimi için)

$$\text{Log } i_p (\mu\text{A}) = 0,4784 \log v (\text{mVs}^{-1}) - 0,493 \quad (r: 0,9985 ; n: 9)$$

Pik potansiyeli değerlerinin pH arttıkça daha düşük pozitif potansiyellere kayması, “konjuge baz asit forma göre daha düşük pozitif potansiyelerde yükseltgenir” genel kuralına uymaktadır. pH 9,00’den sonra potansiyel değerleri hemen hemen sabit kalmakta yani potansiyelden bağımsız olmaktadır.

Pik üzerindeki pH çalışmaları sonucu elde edilen sonuçlar bulgular bölümünde detaylı olarak verilmiştir. Zolmitriptan üzerinde yapılan pH incelemelerine göre:

$$E_p (\text{mV}) = 1057,83 - 54,106\text{pH} \quad r = 0,9880 \quad (\text{pH } 2,00 - 8,05 \text{ arası})$$

denklemleri bulunmuştur.

Yeni farmasötik maddelerin indirgenme-yükseltgenme davranışlarını incelemek için voltametrik yöntemler, özellikle bunlar arasından dönüşümlü voltametri en uygun olanıdır. DV sayesinde zolmitriptan saf maddesinin aktiviteye bağlı redoks mekanizması aydınlatılmakta ve bileşimin metabolitleri hakkında bilgi edinilmektedir. (Clohs L. ve McErlane K.M., 2001), (Demircigil B.T. ve ark., 2002; Özkan S.A. ve ark., 2003; Süzen S. ve ark., 2003; Bermejo E. ve ark., 2000; Grimshow J., 2000; Yılmaz S. ve ark., 2001; Sagar K. ve ark., 1992; Humphries K. ve Dryhurst G., 1987; Süzen S. ve ark., 2001; Özkan S.A. ve Uslu B., 2002), (Uslu B. ve Özkan S.A., 2004; Wang H.S. ve ark., 2002; Oliveira-Brett A.M. ve ark., 2002)

Bu verilere göre zolmitriptan’ın indol halkasındaki azot üzerinden asidik ve bazik ortamda yükseltgenildiğini düşünmekteyiz (S. Yılmaz, B. Uslu, S. A. Özkan, 2001). Olası reaksiyon mekanizması daha önceki çalışmalarımızda da incelenmiştir (P. Bozkaya, B. Doğan, S. Süzen, D. Nebioğlu, S. A. Özkan, 2006), (S. Süzen, B.T. Demircigil, E. Büyükbingöl, S. A. Özkan, 2003). Ayrıca, indol ve indol türevlerinin elektrokimyasal yükseltgenme çalışmaları indol halkasının kolaylıkla dimer ve trimer oluşturabildiğini de göstermektedir.

Ep – pH eğrisinin doğrusallık gösterdiği pH 2- 8,05 aralığında yukarıdaki eşitliğe bakıldığı zaman elde edilen eğimin 54,106 mV olarak bulunduğu görülmektedir. 59 mV'dan küçük değere sahip eğimle potansiyelin daha az pozitif potansiyellere kayması, bu olayda 1 elektron ve 1 proton iyonunun etkili olduğunu göstermektedir (Kissinger ve Heineman, 1996; Smyth ve Vos, 1992). pH 9 ve 10 dolaylarında pik potansiyellerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir, potansiyel hemen hemen sabit kalmıştır. pH 8,05'den daha büyük pH değerlerinde pik potansiyeli pH'dan bağımsız olduğundan elektrot reaksiyonunda protonun yer almadığı düşünülmüştür.

DV, DPV ve KDV yöntemlerine ait çeşitli tamponlar içerisinde elde edilen pik potansiyeli-pH eğrilerine bakıldığı zaman potansiyelin pH arttıkça daha az pozitif değerlere kaydığı pH: 9'dan sonra hemen hemen bağımsız hale geldiği görülmektedir.

DPV yöntemine ait bazı tampon çözeltilerinden elde edilen pik potansiyeli-pH eğrilerine bakıldığı zaman (Şekil 3.28) Ep – pH denkleminin eğimi incelendiğinde pH 2,00-8,05 arasında -54,106 mV olarak bulunmuştur. 59 mV'dan (Nernst denklemindeki eğimden) daha düşük olarak eğim değerinin bulunması olayda proton iyonlarının etkili olduğunu göstermektedir.

Elde edilen 8 devirli DV voltamogramlarında elektrot cevabı ilk devirde yüksek çıkmakta, daha sonraki devirlerde azalmaktadır. Tahmini olarak ilk devirde yüzeyde tutulmuş olan maddeler ve difüzyonla elektrot yüzeyine gelen moleküller reaksiyona girmektedir. Ancak 2. ve daha sonraki devirlerde yeni bir adsorbsiyon dengesinin kurulması için yeterli zaman olmadığından, elektrot yüzeyinde sadece difüzyonla ulaşan moleküller reaksiyona girmektedir.

Zolmitriptan'ın tayini için doğru, duyarlı ve seçici bir voltametrik yöntem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalarda DV'ye göre daha keskin ve iyi belirlenmiş piklerin elde edilmesinden dolayı DPV ve KDV teknikleri seçilmiştir. Analitik açıdan en düzgün ve keskin piklerin elde edildiği ve tekrar edilebilirliğin iyi olduğu pH 3,03 fosfat tamponu, çalışma ortamı olarak seçilmiştir. Bu koşullarda yapılan voltametrik analiz

çalışmaları, elmas elektrodun, zolmitriptan'ın voltametrik yöntemlerle analizine uygun elektrot olduğunu göstermiştir. pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde zolmitriptan için $1 \times 10^{-6} \text{M} - 8 \times 10^{-6} \text{M}$ ve $1 \times 10^{-5} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında iki farklı doğrusallık bulunmuştur. (Çizelge 3.21. ve 3.22. ve Çizelge 3.23. ve 3.24.) Yakalama sınırı olarak DPV için $7,3 \times 10^{-8} \text{M}$, KDV için $2,63 \times 10^{-7} \text{M}$ bulunmuştur. Tayin alt sınırı olarak ise DPV için $2,44 \times 10^{-7} \text{M}$, KDV için $8,78 \times 10^{-7} \text{M}$ değerleri bulunmuştur.

Voltametrik incelemenin standart madde üzerinde yapılmasından sonra her iki teknik de zolmitriptan'ın ticari preparatı olan Zomig Rapimelt® hızlı eriyen tabletlere uygulanmıştır. Tabletler iyice toz haline getirilip daha önceki bölümlerde (Bölüm 2.4.2.5) anlatıldığı gibi çözeltileri hazırlanıp süzöldükten sonra voltamogramlar alınmıştır. Toz edilmiş tablet örneğinden bilinen miktarda zolmitriptan içeren numunelerin üzerine, bilinen miktarda saf zolmitriptan ilave edilerek geri kazanım çalışmaları için örnekler hazırlanmıştır (Bu çalışmalarda 1. bölge kalibrasyon verileri kullanılmıştır). Bu örneklerden alınan voltamogramlardan ve hesaplanan % geri kazanım değerlerinin yüksek olmasından dolayı (DPV için %100,064; KDV için %99,968) tablet içerisindeki katkı maddelerinin yöntemimizi etkilemediği ve geliştirilen yöntemlerin zolmitriptan etken maddesi için seçici olduğu sonucuna varılmıştır.

Geliştirilen yöntemlerin insan serum örneklerine ilave edilen zolmitriptan'ın geri kazanım çalışmalarına uygun olup olmadığı da araştırılmış ve elde edilen sonuçlardan serum örnekleri içerisinde yer alan ve girişim yapması muhtemel maddelerden (endojen maddeler) etkilenmediği görüşüne hem voltamogramlara hem de hesaplanan % geri kazanım sonuçlarına bakılarak varılmıştır.

Geliştirilen voltametrik tekniklerin doğruluğu, kesinliği, duyarlılığı, uygulanabilirliği ve seçiciliğini gösterebilmek için validasyon çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlarla yöntemlerin tekrar edilebilirliği, duyarlılığı, doğruluğu, seçiciliği ve uygulanabilirliği gösterilmiştir (Çizelge 3.25. 3.26., 3.27., 3.28., 3.29. 3.30., 3.31., 3.32).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın birinci bölümünde Zolmitriptan'ın elmas elektrot üzerindeki yükseltgenme yönündeki davranışları, DV, DPV ve KDV teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Ortamın pH'mın, destek elektroliti cinsinin ve madde derişimlerinin yükseltgenme olayı üzerine etkileri duyarlı bir şekilde araştırılmıştır. Bunun için 0,1 ve 0,5 H₂SO₄, fosfat tamponu (pH 2,00 – 8,05), asetat tamponu (pH 3,7 – 5,7), BR tamponu (pH 2,20 - 12,01) kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu en uygun ortamın keskin, tekraredilebilir ve oldukça büyük pikin elde edildiği pH 3,03 fosfat tamponu olduğu bulunmuştur.

DV tekniği ile pH 3,03 fosfat tamponunda 5-1000 mVs⁻¹ tarama hızlarında iki farklı derişimde kinetik incelemeler yapılmıştır. Bu incelemelerde $i_p - v^{1/2}$, $\log i_p - \log v$ verileri incelenmiştir. Bunlara ilave olarak Tafel verileri de kinetik amaçla değerlendirilmiştir. Zolmitriptan'ın geri dönüşümsüz ve difüzyon kontrollü olarak yükseltgendiği bulunmuştur.

Çalışmanın ikinci bölümünde ise elmas elektrot kullanılarak zolmitriptan için geliştirilen voltametrik teknikler ile $1 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-6} \text{M}$ ve $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında iki farklı doğrusallık saptanmıştır. 1. bölgede kalibrasyon eğrilerine ait gerekli diğer validasyon hesaplamaları yapıp, çizelgelerde verilmiştir. Geliştirilen her iki voltametrik teknik de zolmitriptan'ın tablet formlarına basit, hızlı ve doğrudan uygulanabilmiştir. Tablet içindeki katkı maddelerinin çalışmamızı etkilemediğini, geliştirilen yöntemlerin zolmitriptan için seçici olduğunu kanıtlamak için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Geliştirilen yöntemlerin insan serum örneklerine uygulanabilirlik çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre bu ortamlarda herhangi bir girişim olmadan, her iki yöntemle de tayin yapılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Deney süresi boyunca örnek çözeltilerde herhangi bir bozulma olmamıştır.

Sonuç olarak, zolmitriptan'ın tayini için hızlı, kolay, doğru, kesin, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan voltametrik teknikler geliştirilmiş ve bunların zolmitriptan içeren tablet formlarına, insan serum rneklarine uygulanabilirliği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerinin tamamen validasyonu yapılmıştır.

Geliştirilen her iki yöntemin birbiriyle uyumunu kanıtlayabilmek için geliştirdiğimiz tekniklerle elde edilen tablet analiz sonuçları, birbirleri ile istatistiksel olarak student-t ve F testleri ile karşılaştırılmış ve aradaki farkın anlamsız bulunması geliştirilen yöntemlerin doğru, kesin ve birbirleriyle uyumlu, kesinliklerinin birbirlerine yakın olduğunu, zolmitriptan tablet analizlerinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Elde edilen bütün bu veriler ışığında geliştirilen bu analiz yöntemlerinin, yeterli doğruluk ve duyarlılıkla zolmitriptan'ın, farmasötik dozaj formlarından ve serum numunelerinden analizinde kullanılabileceği önerilmektedir.

ÖZET

Zolmitriptan'ın Elektroanalitik İncelenmesi ve Tayini

Zolmitriptan'ın yükseltgenme davranışı bor ile dope edilmiş elmas elektrot üzerinde geniş pH aralığında, dönüşümlü voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) teknikleri kullanılarak çalışıldı. Deneyler, destek elektroliti cinsinin, pH'ın ve tarama hızının yükseltgenme reaksiyonu üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile sülfürik asit, fosfat, asetat ve Britton-Robinson tamponları içerisinde geniş bir tarama aralığında (5-1000 mVs⁻¹) gerçekleştirildi. Molekül, geri dönüşümsüz ve difüzyon kontrollü olarak yükseltgendi.

Analitik amaçlar için en uygun şartlar belirlendi, parametre optimizasyonları yapıldı ve DPV ve KDV yöntemleri miktar tayini için seçildi.

Uygun şartlarda DPV ve KDV teknikleri kullanılarak pH 3,03 fosfat tamponu içerisinde $1 \times 10^{-6} \text{M} - 8 \times 10^{-6} \text{M}$ ve $1 \times 10^{-5} \text{M} - 1 \times 10^{-4} \text{M}$ derişim aralığında iki farklı doğrusallık bulundu.

Yöntemlerin uygulanabilirliği, zolmitriptan'ın farmasötik dozaj formlarında, insan serum örnekleri üzerindeki uygulamaları ile gösterildi. Yöntemlerin doğruluğu, kesinliği, seçiciliği, duyarlılığı, gün içi ve günler arası tekrar edilebilirliği istatistiksel olarak araştırıldı.

Anahtar sözcükler: Zolmitriptan, voltametri, miktar tayini, farmasötik dozaj formu, serum, validasyon.

SUMMARY

Electroanalytical Investigation and Determination of Zolmitriptan

The oxidative behavior of zolmitriptan was studied at a wide pH range on boron doped diamond electrode, using cyclic voltammetric (CV), differential pulse voltammetric (DPV) and square wave voltammetric (SWV) techniques. To investigate the effects of the nature of the supporting electrolyte, pH and scan rate on the anodic reactions were performed in sulphuric acid solution, phosphate, acetate and Britton-Robinson buffers in a wide scan rate interval (5-1000 mVs⁻¹). The molecule is oxidized irreversibly and by diffusion-controlled.

Optimum conditions were determined and optimization of parameters for analytical applications were obtained and DPV and SWV techniques were selected for the determination.

The currents were found two different linear region within a concentration range of $1 \times 10^{-6} \text{M}$ - $8 \times 10^{-6} \text{M}$ and $1 \times 10^{-5} \text{M}$ - $1 \times 10^{-4} \text{M}$ in pH 3,03 phosphate buffer by optimized DPV and SWV techniques.

The applicability of the proposed methods were shown by the analysis of zolmitriptan in pharmaceutical dosage forms and serum samples. The accuracy, precision, selectivity, sensitivity, repeatability and reproducibility of the methods were investigated statistically.

Key words : Zolmitriptan, voltammetry, determination, pharmaceutical dosage form, serum, validation.

KAYNAKLAR

- ADAMS, R.N., Mc CLURE, J.H., MORRIS, J.B. (1958) Chrono – potentiometric studies at solid electrodes. *Anal. Chem.*, **30**: 471
- AYDOĞMUŞ, Z.; İNANLI, I. (2007) “Extractive spectrophotometric methods for determination of zolmitriptan in tablets”. *Journal of Aoac International*, **90**:1237-1241
- AYESHA, S.; MAHESH, H.R.K.; AKHEEL A.S.(2005) 2,2'- Bipyridine as a new and sensitive spectrophotometric reagent for the determination of nanoamounts of certain dibenzazepine class of tricyclic antidepressant drugs. *Il Farmaco*, **60**:47-51
- BERMEJO E.; ZAPARDIEL A.; PEREZ-LOPEZ J.A.; CHICHARRO M.; SANCHEZ A.; HERNANDEZ L.:(2000), Electrochemical study of mefexamide at glassy-carbon electrodes and its determination in urine by differential pulse voltammetry. *J. Electroanal. Chem.*, **481**:52
- BİRYOL, İ., KABASAKALOĞLU, M., ŞENTÜRK, Z., (1989) Investigation of mechanism of the electrochemical oxidation of bampine hydrochloride by voltammetry. *Analyst*, **114**: 181 – 184
- BİRYOL, İ., USLU, B., KÜÇÜKYAVUZ, Z. (1996) “Voltammetric determination of imipramine hydrochloride and amitriptyline hydrochloride using a polymer modified carbon paste electrode”. *J.Pharm.Biomed.Anal.*, **15**: 371– 381
- BİRYOL, İ.,USLU, B., KÜÇÜKYAVUZ, Z. (1998) “Voltammetric determination of amoxicillin using a carbon paste electrode modified with poly (4- vinyl pyridine)”*STP Pharm.Sci.*, **8(6)**: 383-386
- BOCRIS, J.O.M., REDDY, A.K.N. (1970) Modern Electrochemistry. Vol:2 London : Mc Donald Co Ltd.
- BOND, A.M.,(1980). Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry, New York Marcel Dekker Inc.
- BOZKAYA P., DOĞAN B., SÜZEN S., NEBİOĞLU D., ÖZKAN S.A.,(2006), Can. J. Anal. Sciencis and Spectroscopy, **51**:125-139.
- BREZINA, M., ZUMAN, P., (1958) Polarography in Medicine. Biochemistry and Pharmacy. New York, Interscience Publishers
- CHEN,XY; LIU, D; LUAN, Y,(2006) Determination of zolmitriptan in human plazma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method: Application to a pharmacokinetic study.*Journal of Chromatography B-Analytical Tegnologies in the Biomedical and Life Sciences.* **832(1)**:30-35.
- CHRISTIE, J.H., TURNER, J.A., OSTERYOUNG, R.A., (1977) Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode . *Theory. Anal. Chem.*, **49 (13)**: 1899 - 1913

- CLEMENT, EM; FRANKLIN, M (2002) Simultaneous measurement of zolmitriptan and its major metabolites N-desmethylzolmitriptan and zolmitriptan N-oxide in human plasma by high-performance liquid chromatography with coulometric detection. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*.**766(2)**: 339-343
- CLOHS L., MCERLANE K.M., (2001) Development of a capillary electrophoresis assay for the determination of carvedilol enantiomers in serum using cyclodextrins *J.Pharm.Biomed. Anal.* **24**: 545
- COX, J.A., GADD, S.E., DAS, B.K.,(1988) Modification of glassy carbon with a stable film containing iridium oxide and palladium. *J. Electroanal. Chem.* **256**:199-205
- DEMİRCİGİL, B.T., ÖZKAN, S.A., ÇORUH, Ö., YILMAZ, S. (2002). Electrochemical behavior of formoterol fumarate and its determination in capsules for inhalation and human serum using differential pulse and square wave voltammetry. *Electroanalysis*, **14(2)**: 122 – 127
- DEMİRCİGİL, B.T., USLU, B., ÖZKAN, Y., ÖZKAN, S.A., ŞENTÜRK, Z., (2003) “Voltammetric oxidation of ambroxol and application to its determination in pharmaceutical and in drug dissolution studies, *Electroanalysis*,**15(3)**: 230-234
- DERMİŞ, S., BİRYOL, İ., (1990) Anodic oxidation of some phenothiazine derivatives on pretrated platinum and ruthenium electrodes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **8**: 999 – 1003
- DOĞAN, B., USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2004) “ Anodic adsorptive stripping voltammetry of the hypertensive drug candesartan cilextil at the glassy carbon electrode” *Die Pharmazie*, **11**:840-844
- DOGAN, B., ÖZKAN, S.A., USLU, B., (2005a) “Electrochemical characterization of flupenthixol and rapid determination of the drug in human serum and pharmaceuticals by voltammetry” *Anal. Lett.*, **38**: 641-656
- DOGAN, B., USLU, B., SÜZEN, S., ÖZKAN, S. A. (2005b). “Electrochemical evaluation of nucleoside analogue lamivudine in pharmaceutical dosage forms and human serum” *Electroanalysis*, **17**:1886-1894
- DOGAN, B., CANBAZ, D., ÖZKAN, S.A., USLU, B., (2006).“Electrochemical methods for determination of protease inhibitor indinavir sulfate in pharmaceuticals and human serum” *Die Pharmazie*, **61**: 409-413
- EGGERTSEN, F.T., WEISS, F.T.,(1956). Effect of structure of certain amine indicators on oxidation potential and color intensity on oxidation. *Anal Chem.* **28**: 1000
- EL-SEBAI, A.I., ISSA, A.S., ABDEL SALAMAN, M.A., MAHROUS, M.S., The use of chloranil for spectrophotometric determination of some tranquilizers and antidepressants. (1983). *Talanta*. **30**: 531-533
- ERDEM A., OZSOZ M., (2002). Electrochemical DNA biosensors based on DNA-drug interactions. *Electroanalysis*.**14**: 965-974

EVANS, J.F., KUWANA, T., (1977) Radiofrequency oxygen plasma treatment of pyrolytic graphite electro surface. *Anal. Chem.* **49**: 1632 – 1635

FAGAN, D.T., HU, I.F., KUWANA, T., (1985) Vacuum heat treatment for activation of glassy carbon electrode. *Anal. Chem.* **57**: 2759-2763

FERRET and PHILIPS, (1985) Studies in polarography. The rotating platinum electrode. *Trans. Faraday Soc.* **51**: 390

GREEF, R., PEAT, R., PETER, L.M., PLETCHER, D., ROBINSON, J., (1990) Instrumental Methods in Electrochemistry, London, Ellis Harwood Series in Physical Chemistry.

GRIMSHAW J.(Ed.) (2000). Electrochemical Reactions and Mechanisms in Organic Chemistry, 1st Ed., Elsevier Sci. Pub., Amsterdam, p. 201

HART, J.P., (1990) Electroanalysis of Biologically Important Compounds. Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry. P: 20 - 21

HEINZ LULLMANN, M.D.; KLAUS MOHR, M.D.; ALBRECHT ZIEGLER, PH.D.; DETLEF BIEGER, M.D.(2001) Farmakoloji Atlası, P: 322 - 323

HERSHENHART, E., Mc CREEY, R.L., KNIGHT, R.D., (1984) In situ cleaning and activation of solid electrode surface by pulsed laser light. *Anal. Chem.* **56**: 2256 – 2257

HU, I.F., KARWEIK, D.H., KUWATA, T., (1985) Activation and deactivation of glassy carbon electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, **188**: 59-72

HUMPHRIES K., DRYHURST., (1987). Electrochemical oxidation of 5-hydroxytryptophan in acid solution. *J.Pharm.Sci*, **76**: 839

HUSSEIN, S.A., MOHAMMED, A.M.I., HASSAN, H.Y., (1989) Spectrophotometric determination of some dibenzazepines with picryl chloride. *Talanta*. **36(11)** 1147 – 1149

<http://www.migraines.org/treatment/zomig.htm>

<http://www.turkmedikal.net/vademecum/Zomig.php>

<http://www.drugs.com/zomig.html>

ISSA A.S., BELTAGY Y.A., MAHROUS M.S., (1978). Spectrophotometric determination of some phenothiazine derivatives and opipramol with chloramine-T *Talanta*, **25**: 710-713

IBRAHIM MS., SHEHATTA IS., AL-NAYELI AA., (2002). Voltametric studies of the interaction of lumazine with cyclodextrins and DNA. *J. Pharm. Biomed.*, **28**: 271-225

- KABASAKALIAN, P., Mc GLOTTEN, J., (1958) Polarographic oxidation of phenothiazine tranquilizers. *Anal. Chem.* **30**: 471
- KAYAALP, O., (2002). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe Taş Yayınları, **87**: s. 1417-1426
- KEES, F., BUCHER, M., MAIR, G., GROBECKER, H., (2001). Determination of opipramol in human plasma by high-performance liquid chromatography with photometric detection using a cyanopropyl column *J.Biomed. Chromatogr.B*, **753**: 337-342
- KERMAN K., MERIC B., ÖZKAN D., KARA P., ERDEM A., OZSOZ M., (2001). Electrochemical DNA biosensor for the determination of benzo[a]pyrene-DNA adducts. *Anal.Chim.Acta.* **450**: 45-52
- KILIC, B; OZDEN, T; TOPTAN, S,(2007); Simultaneous LC-MS-MS determination of zolmitriptan and its activemetabolite N-desmethylzolmitriptan in human plasma, *Journal of Aoac International.* **66**:129-133
- KISSINGER, P.T. ; HEINEMAN, W.R., (1996) Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, 2nd Ed. Revised and Expanded, New York, Marcel Dekker Inc.
- KOLTHOF, I.M., TANAKA, N., (1954) Rotated and stationary platinum wire electrode. *Anal. Chem.* **26**: 632 - 636
- KRACMAR, J., KRACMAROVA, J., REMSOVA, M., BOKOVIKOVA, T.N.,; CHICHIRO, V.E., NESTEROVA, G.A., SURANOVA, A.V., TRIUS, N.V., (1990) Ultraviolet spectrophotometry in drug control. Drugs with the chromophores and auxochromes in the molecules of bicyclic and tricyclic systems (benzodiazepine, dibenzoazepine and dibenzodiazepine). *Cesk.Farm.* **39(3)**: 97 - 103
- LANE, R.F., HUBBARD, A.T., (1976) Differential double pulse voltammetry at chemically modified platinum electrodes for in vivo determination catecholamines. *Anal. Chem.* **48**: 1287 – 1293
- LA-SCALEA MA., SERRANO SHP, FERREIRA EL., BRETT A.M.O.(2002) Voltammetric behavior of benzimidazole at a DNA-electrochemical biosensor. *J. Pharm. Biomed.Anal.*, **29**:561-568
- LAVIRON, E., ROULIER, L., DEGRAND, C. (1980) A multiplayer model for the study of space distributed redox modified electrodes: Part II theory and application of linear potential sweep voltammetry for a simple reaction. *J. Electroanal. Chem.*, **112**: 11 - 23
- NAFISI, S., KAHANGI, F.G., AZIZI, E., ZEBARJAD, N., RIAHI, H.A.T., (2006) Interaction of zanamivir with DNA and RNA: Models for drug DNA and drug-RNA bindings *J. Pharm. Mol.Struc.*, (baskıda)
- NICHOLSON, R.S., SHAIN, I., (1964) Theory of stationary electrode polarography. *Anal.Chem.* **36**: 706 – 723

- OLIVEIRA-BRETT A.M., DICULESCU V., PIEDADE J.A.P., (2002). Electrochemical oxidation mechanism of guanine and adenine using a glassy carbon microelectrode. *Bioelectrochemistry*, **55**: 61-62
- OSTATNA, V., USLU, B., DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., PALECEK, E. (2006) "Native and denatured bovine serum albumin. DC polarography, stripping voltammetry and constant current chronopotentiometry" *J.Electroanal.Chem.*, **593**: 172-178
- ÖZKAN, S.A., BİRİYOL, İ., ŞENTÜRK, Z., (1994) An activation method for glassy carbon electrode. *Tr. J.Chem.* **18**: 34-38
- ÖZKAN, S.A., ŞENTÜRK, Z., BİRİYOL, İ., (1997) Voltammetric determination of ornidazole in pharmaceutical dosage forms based on reduction at an activated glassy carbon electrode. *Int.J. Pharm.* **157**: 137 - 144
- ÖZKAN, S.A., ÖZKAN, Y., ŞENTÜRK, Z., (1998) Electrochemical reduction of metronidazole at activated glassy carbon electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **17**: 3299 – 3305
- ÖZKAN, S.A., ERK, N., USLU, B., YILMAZ, N., BİRİYOL, İ., (2000) Study on electrooxidation of cefadroxil monohydrate and its determination by differential pulse voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **17**: 3299 - 3305
- ÖZKAN, B., BİRİYOL, İ., ŞENTÜRK, Z. (1993) "Modifiye elektrotlara genel bir bakış" *FABAD J.Pharm.Sci.*, **18**(2): 95-101
- ÖZKAN S.A. USLU B., (2002) Electrochemical study of fluvastatin sodium--analytical application to pharmaceutical dosage forms, human serum, and simulated gastric juice. *Anal.Bioanal.Chem.* **372**: 582-586
- ÖZKAN, S.A., USLU, B., ABOUL-ENEIN, H.Y. (2003a) Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Crit.Rev.Anal Chem.*, **33**:155-181
- ÖZKAN S.A., USLU B., ABOUL-ENEIN H.Y., (2003b). Voltammetric investigation of Tamsulosin. *Talanta*, **61**: 147
- ÖZKAN, S.A., USLU, B., ZUMAN, P., (2004) Electrochemical oxidation of sildenafil citrate (viagra) on carbon electrodes. *Anal. Chim. Acta.*, **501**: 227 – 233
- ÖZKAN, S.A., DOĞAN, B., USLU, B., (2006). Voltammetric analysis of the novel antipsychotic drug quetiapine in human serum and urine. *Microchim. Acta*, **153**:27-35
- ÖZKAN, D. KARADENİZ, H., ERDEM, A. MASCINI, M. ÖZSÖZ, M. (2004) Electrochemical genosensor for mitomycin C–DNA interaction based on guanine signal. *J.Pharm. Biomed. Anal.* **35**: 905-912

- PALECEK E., JELEN F., (2002). Electrochemistry of nucleic acids and development of DNA sensors. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **32**: 261-270
- PANZER, R.E., (1972) Behaviour of carbon electrodes in aqueous and non – aqueous system. *J. Electrochem. Soc.*, 119 – 864
- PATRIARCHE, G.J., CHATEAU – GOSSELIN, M., VANDENBALCK, J.L., (1979). Polarography and related electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology. *Electroanal. Chem.* **11**: 141 – 189
- PRAVDA, M., (1998) Application of electrochemical sensors and detection system in biomedical analysis. Thesis presented to fulfil the requirements for the degree of doctor in Pharmaceutical Sciences. Vrije Universiteit, Brussel.
- RAO, BM; SANGARAJU, S; SRĪNĪVASU, MK; (2006), Development and validation of a specific stability indicating hmg performance liquid chromatographic method for rizatriptan benzoate. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.**41(4)**:1146-1151
- RAO, BM; SRĪNĪVASU, MK; SRIDHAR, G; (2005), A stability indicating LC method for zolmitriptan. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.**39(3-4)**:503-509
- RAUF, S. GOODING, J.J., AKHTAR, K., GHAURI, M.A., RAHMAN, M., ANWAR, M.A., KHALID, A.M., (2005) Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction *J. Pharm.Biomed.Anal.* **37**:205-217
- RAZA, A; ANSARI, TM; NIAZI, SB; (2007), A novel spectrophotometric method for the determination of zolmitriptan in pharmaceutical formulations. *Journal of the Chinese Chemical Society.* **54(6)**:1413-1417
- RILEY, C.M., ROZANSKE, T.W., (1993) Development and Validation of Analytical Methods. New York, Elsevier Science Ltd.
- ROSS, Jr., (1977) The effect of anions hydrogen chemisorbtion and oxide formation in aquous acids. *J. Electroanal. Chem.* **76**: 139 - 145
- RxMediaPharma^R 2008, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı
- RUSLING,J.F., (1984). Variations in electron-transfer rate at polished glassy carbon electrodes exposed to air. *Anal. Chem.*, **56**:575-578
- K. SAGAR, J.M. FERNANDEZ ALVAREZ, C. HUA, MR. SMYTH, R. MUNDEN, (1992) *J.Pharm. Biomed. Anal.* **10**: 17
- SHEARER, C.M., CHRISTENSON, K., MUJHERJI, A., PAPARIELLO, C.J., (1972) Peak voltammetry at glassy carbon electrode of acetaminophen dosage forms. *J. Pharm. Sci.* **61**: 1627

- SKOOG, D.A., LEARY, J.J., (1996) *Principels of Instrumental Analysis*, 4th Ed., New York, Saunders College Publishing p: 538,
- SKOOG – HOLLER – NIEMAN. (2000). *Analitik Kimya Temelleri*. 7. Baskı Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve ark., Ankara, Bilim Yayıncılık s: 460 – 466
- SMYTH, M.R., VOS, J.G., (1992) *Analytical Voltammetry*, Volume XXVII, New York, Elsevier Publications,
- SRINIVASU, MK; RAO, BM; SRIDHAR, G;(2005), A validated chiral LC method for the enantiomeric separation of Zolmitriptan key intermediate, ZTR-5. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.**39(3-4):**796-800
- SRINIVASU, MK; RAO, BM; SRIDHAR, G;(2005), A validated chiral LC method for the determination of Zolmitriptan and its potential impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.**37(3):**453-460
- STUTTS, K.J., KOVACH, P.M., KUHR, W.G., WHITMAN, R.M. (1983). Enhanced electrochemical reversibility at heat treated glassy carbon electrodes. *Anal. Chem.* **55**: 1632 – 1634
- SÜZEN S, DEMİRCİGİL B.T., BUYUKBINGOL E., ÖZKAN S.A., (2003). Electroanalytical evaluation and determination of 5-(3'- indolal)- 2-thiohydantoin derivatives by voltammetric studies: possible relevance to invitro metabolism *New J. Chem.* **27**:1007
- SÜZEN S., ATEŞ-ALAGÖZ Z., DEMİRCİGİL B.T., ÖZKAN S.A., (2001). Synthesis and analytical evaluation by voltammetric studies of some new indole-3-propionamide derivatives. *Il Farmaco*, **56**: 835.
- SWARTZ, M.E., KRULL, I.S., (1997) *Analytical Method Development and Validation*, New York, Marcel Dekker,
- ŞENTÜRK, Z., ÖZKAN, S.A., USLU, B., BİRYOL, İ., (1996) Anodic voltammetry of fluphenazine at different solid electrodes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **15**: 365 – 370
- ŞENTÜRK, Z., ÖZKAN, S.A., ÖZKAN, N., (1998) Electroanalytical study of nifedipine using activated glassy carbon electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **16**: 801 – 807
- TAYLOR, R.J., HUMPFAY, A.A.(1973) Electrochemical studies on glassy carbon electrodes. *Electroanal. Chem. and Inerfacial Electrochem.*, **42**:347- 354
- THORNTON, D.C., CORBY, K.T., SPENDEL, V.A., JORDAN, J., ROBBAT, A., RUTSTORM, D.J., EROS, M., RITZLER, G., (1985). Pretreatment and validation procedure for glassy carbon voltammetric indicator electrodes. *Anal. Chem.*, **57**:150-155

- TJADEN, U.R., LANKELMA, J., POPPE, H., MUUSZE, R.G., (1976) Anodic coulometric detection with a glassy carbon electrode in combination with reversed phase high performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.* **125**: 275 - 286
- TUNÇEL, N., AYRAL, M.N., BİRYOL, İ., (1984) İn vivo ve in vitro elektrokimyasal oksijen tayini. *Doğa Bilim Dergisi*, **8**: 82 – 89
- TURNER, J.A., CHRISTIE, J.H., VUKOVIC, M., OSTERYOUNG, R.A., (1977) Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode: Experimental. *Anal. Chem.* **49 (13)**: 1904 - 1908
- USLU, B., BİRYOL, İ.(1999) “Voltammetric determination of amoxicillin using a poly (N-vinyl imidazole) modified carbon paste” *J.Pharm.Biomed.Anal.* ,**20**,591-598
- USLU, B., YILMAZ, S., ÖZKAN, S.A. (2001) “Determination of olsalazine sodium in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry” *Die Pharmazie* ,**56**(8): 629-632
- USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2002) Electrochemical characterisation of nefazodone hydrochloride and voltammetric determination of the drug pharmaceuticals and human serum. *Anal. Chim. Acta*, **462**: 49–57
- USLU, B., ÖZKAN, S.A., ABOUL-ENEIN, H.Y. (2002)“Electrochemical study of s-adenosyl-L-methionine and its differential pulse and square wave voltammetric determination” *Electroanalysis*,**14**(11): 736-740
- USLU, B., (2002) “Voltammetric analysis of alfuzosin HCl in pharmaceuticals, human serum and simulated gastric juice” *Electroanalysis* , **14**(12): 866-870
- USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2003) Electroanalytical characteristics of piribedil and its differential pulse and square wave voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum”. *J.Pharm.Biomed.Anal.*, **31**: 481-489
- USLU B., ÖZKAN S.A. (2004), Anodic voltammetry of abacavir and its determination in pharmaceuticals and biological fluids. *Electrochim.Acta* **49**: 4321
- USLU, B.,DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., ABAUL-ENEIN, H.Y.(2005) “Electrochemical behavior of vardenafil on glassy carbon electrode: Determination in tablets and human serum” *Anal. Chim. Acta*, **552**: 127 – 134
- USLU, B.,DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., ABOUL-ENEIN, H.Y., (2005a) “ Voltammetric investigation and determination of mefloquine” *Electroanalysis*, **17**: 1563-1570
- USLU, B., DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., (2005b) “Electrochemical studies of ganciclovir at glassy carbon electrodes and its direct determination in serum and pharmaceuticals by square wave and differential pulse voltammetry” *Anal. Chim. Acta* , **537**: 307-313

- USLU, B., ÖZKAN, S.A., ŞENTÜRK, Z., (2006) Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square-wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. *Anal. Chim. Acta*, **555**: 341-347
- USLU B., ÖZKAN SA. (2007) Electroanalytical application of carbon based electrodes to the Pharmaceuticals. *Anal.Lett.* (baskıda).
- ÜNERİ, S., (1979) Elektrokimya Cilt 2. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- VAN DER LINDEN, W.E., DIEKER, J.W., (1986) Glassy carbon as electrode material in electroanalytical chemistry. *Anal. Chim. Acta.*, **199**: 1-24
- VISHWANATHAN, K; BARTLETT, MG; STEWART, JT; (2000), Determination of antimigraine compounds rizatriptan, zolmitriptan, naratriptan and sumatriptan in human serum by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **14(3)**: 168-172
- WANG, J., HUTCHINS, L.D., (1985a) Activation of glassy carbon electrodes by alternating current electrochemical treatment. *Anal. Chim. Acta.*, **167**: 325-334
- WANG, J., LUO, D. B. (1985b). The determination of bilirubin by adsorptive stripping voltammetry. *J.Electroanal.Chem.*, **185**: 61-71
- WANG, H.S., HU, H.X., CHEN H.Y.(2002), Simultaneous determination of guanine and adenine in DNA using an electrochemically pretreated glassy carbon electrode. *Anal. Chim. Acta.*, **461**: 243-250
- WIGHTMAN R.M., DEAKIN, M.R., KOVACH, P.M., KUHR, W.G., STUTTS, K.J., (1984) Methods to improve electrochemical reversibility at carbon electrodes, *J. Electrochem. Soc.*, **131**: 1578 - 1583
- WILD, MJ; MCKILLOP, D; BUTTERS, CJ; (1999), Determination of the human cytochrome P450 isoforms involved in the metabolism of zolmitriptan. *Xenobiotica*, **29(8)**:847-857
- WILLIARD H.H., MERRIT, L.L., DEAN, J.A., SETTLE, F.A., (1981). Instrumental methods of analysis. 6th Ed., New York: Litton Educational Publishing Inc. p: 691-734
- YILDIZ, A., GENÇ, Ö., (1993). Enstrümental Analiz. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, s: 352
- YILMAZ, N., BİRYOL, İ., (1998) Anodic Voltammetry of Cefotaxime *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **17**: 349 - 355
- YILMAZ, N., ÖZKAN, S.A., USLU, B., ŞENTÜRK, Z., BİRYOL, İ. (1998) "Determination of terbutaline based on oxidation by voltammetry" *J.Pharm.Biomed.Anal.*, **17**, 349-355

- YILMAZ S., USLU B., ÖZKAN S.A. (2001), Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum. *Talanta* **54**: 351
- YU, LS; YAO, TW; NI SQ; (2005), Determination of zolmitriptan enantiomers in rat liver microsomes by chiral high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Biomedical Chromatography*,**19**:191-195
- ZHANG, ZJ; XU, FG; TIAN, Y;(2004), Quantification of zolmitriptan in plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **813**:227-233
- ZUMAN, P., BREZINA, M., (1962). Polarographic analysis in pharmacy progress in polarography. Vol. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Intersence Publishers.

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

ADI SOYADI CANBAZ Duygu		DOĞUM YERİ, TARİHİ ANKARA, 19.02.1983	
UYRUĞU TC		MEDENİ DURUMU BEKAR	
ASKERLİK DURUMU -			
YAZIŞMA ADRESİ : DUYGUM ECZANESİ/BANDIRMA İhsaniye Mh. E.İtfaiye Cd.No:41/A Bandırma/BALIKESİR			
TELEFON 0 266 712 15 19	FAKS 0 266 712 15 49	E-MAIL: duygumecz@hotmail.com	

II. Eğitimi

ÖĞRENİM DÖNEMİ	DERECE	ÖĞRENİM BİRİMİ	ÖĞRENİM ALANI
2001-2005	Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Eczacılık
1997-2001		Şehit Mehmet Gönenc YDAL (BALIKESİR)	
1994-1997		Nurettin Ersin İlköğretim Okulu (ANKARA)	
1989-1994		100.Yıl İlköğretim Okulu (ANKARA)	

YABANCI DİLİ	SEVİYESİ
İngilizce	İyi

III. Ünvanları

ÖĞRENİM DÖNEMİ	ÜNVANI
2001- 2005	ECZACI

IV. Mesleki Deneyimi

GÖREV DÖNEMİ	GÖREV TÜRÜ	KURULUŞ
2006-.....	ECZACILIK	DUYGUM ECZANESİ (BANDIRMA)
2006	ECZACILIK MESUL MÜDÜRLÜK	KARABEY ECZANESİ (BANDIRMA)
2005-2006	ECZACILIK	A.Ü.İBNİ SİNA HASTANESİ TIP FAKÜLTESİ ECZANESİ (ANKARA)
2001-2005	STAJ	ÜLKAR ECZANESİ (BANDIRMA)

IV. Bilimsel İlgi Alanları

Uluslararası Makaleler
Doğan, B., Canbaz, D., Özkan, S.A., Uslu, B., (2006). Electrochemical methods for determination of proteas inhibitor indinavir sulfate in pharmaceuticals and human serum, <i>Die Pharmazie</i> . 61 : 409-413.

