

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARDAKİ
ETKEN MADDELERİN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL
YÖNTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI

İbrahim Hüdai TAŞDEMİR

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA

2011

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

İbrahim Hüdai TAŞDEMİR tarafından hazırlanan ‘‘**Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Bazı İlaçlardaki Etken Maddelerin Tayini İçin Elektrokimyasal Yöntemlerin Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları**’’ adlı tez çalışması **05/07/2011** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Esmâ KILIÇ

Jüri Üyeleri :

Başkan: Prof. Dr. Orhan ÇAKIRER
Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Esmâ KILIÇ
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Kadir PEKMEZ
Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Adnan KENAR
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Mehmet Abdülkadir AKAY
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özer KOLSARICI

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARDAKİ ETKEN MADDELERİN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE ANALİTİK UYGULAMALARI

İbrahim Hüdai TAŞDEMİR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Esmâ KILIÇ

Bu tez çalışmasında hipertansiyon tedavisinde kullanılan hidrokloratiazit (HKA), indapamit (İNDA), peridopril (PER), moeksipril (MOE) ve zofenopril (ZOF) moleküllerinin asılı damla cıva elektrot (ADCE) ve camı karbon elektrot (CKE) yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları incelenmiş, elektrot tepkimesine katılan elektron ve proton sayıları ile difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısı hesaplanmıştır. Deneysel çalışmalarda elde edilen veriler teorik hesaplama sonuçları ile birlikte değerlendirilerek indirgenme-yükseltgenme tepkimeleri için olası elektrot tepkime mekanizmaları önerilmiştir.

Elektrokimyasal davranışları belirlenen ilaç etken maddelerinin; tablet ve kapsül gibi farmasötik örneklerden ve kan, idrar ve serum gibi biyolojik numunelerden tek halde ve birlikte eş zamanlı nicel tayini için voltametrik yöntem geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda her bir ilaç etken maddesi için diferansiyel puls voltametri (DPV), kare dalga voltametri (KDV), diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametri (DPAdSV) ve kare dalga adsorptif sıyırma voltametri (KDAdSV) yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik yöntem ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır. Optimum koşullarda yapılan kalibrasyon çalışmalarında her bir madde için doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Kalibrasyon verilerinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi ile geliştirilen yöntemlerin bazı validasyon parametreleri belirlenerek yöntemler valide edilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin tablet, serum ve idrar numunelerine uygulanması ile her bir yöntemin performans parametreleri belirlenmiştir. Yapılan uygulama çalışmalarında yöntemlerin geri kazanım değerlerinin % 100'e oldukça yakın olduğu, bununla birlikte gün içi ve günler arası akım ve potansiyel ölçümlerinde bağıl standart sapma değerlerinin % 10'dan küçük olduğu belirlenmiştir.

Temmuz 2011, 243 sayfa

Anahtar Kelimeler: Hipertansiyon, hidrokloratiazit, indapamit, peridopril, moeksipril, zofenopril, asılı damla cıva elektrot, camı karbon elektrot, elektrokimyasal davranış, voltametrik tayin yöntemi, adsorptif sıyırma voltametri.

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL METHODS TO ASSAY OF DRUG-ACTIVE MATERIALS FOUND IN SOME ANTI-HYPERTENSIVE DRUGS USED IN TREATMENT OF HYPERTENSIVE AND ANALYTICAL APPLICATIONS

İbrahim Hüdai TAŞDEMİR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Esmâ KILIÇ

In this study, electrochemical behavior of drug active materials found in some anti-hypertensive drugs namely as hydrochlorothiazide, indapamide, perindopril, moexipril, and zofenopril used in treatment of hypertensive were investigated on hanging mercury drop electrode (HMDE) and glassy carbon electrode (GCE), number of electrons and protons participated to electrode reaction mechanism were calculated. Diffusion coefficient and surface coverage coefficient were also calculated. Experimental and theoretical results were coevaluated to propose the tentative electrode reaction mechanism to electrooxidation and electroreduction.

Studies to develop voltammetric determination methods to be used to determine these drug-active materials from pharmaceuticals such as tablet and capsule form and biological samples such as blood, urine and serum samples were carried out. In such studies voltammetric methods such as; differential pulse voltammetry (DPV), square wave voltammetry (SWV), differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV) and square wave adsorptive stripping voltammetry (SWAdSV) were developed to determine each of these drug-active materials in both usage alone and combined with one another. In method development stage firstly optimization for experimental and equipmental variables were carried out. Calibration studies were done by using optimum variables after optimization studies. Calibration data were subjected to calculations in least square methods to evaluate some validation parameters and all methods were validated. Developed methods were applied to tablet, serum and urine samples to find out the performance of proposed methods. In such applications, recovery values around 100 % were reconised and with-in-day (intra-day) and between-day (inter-day) test for current and potential reproducibility resulted with relative standart deviation of 10.0 %.

July 2011, 243 pages

Key Words: Hypertension, hydrochlorothiazide, indapamide, perindopril, moexipril, zofenopril, hanging mercury drop electrode, glassy carbon electrode, electrochemical behavior, voltammetric assay methods, adsorptive stripping voltammetry.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarımın başlangıcından tez konusunun belirlenmesine, deneysel çalışmaların koordinasyonundan tezin oluşturulmasına kadar yapmış olduğum çalışmaların her aşamasında; bilimsel yönlendirme, rehberlik ve tartışmalarla bilimsel sürekliliğin ve motivasyonun sağlanmasında her zaman yanımda olduğunu hissettiren saygıdeğer hocam ve değerli danışmanım Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Esmâ KILIÇ'a,

Bilgi, birikim ve önerileriyle tez çalışmalarımın hedeflendiği şekilde sürekliliğinin sağlanmasında büyük emeği ve özverisi olan saygıdeğer hocalarım ve Tez İzleme Komitesinin değerli üyeleri, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyelerinden sayın Prof. Dr. Kadir PEKMEZ'e ve Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyelerinden sayın Prof. Dr. Adnan KENAR'a,

Tez çalışmalarımın önemli bir kısmını teşkil eden ve elektrokimyasal tepkime mekanizmalarının önerilmesinde oldukça önemli olan teorik hesaplamalarda birlikte özveriyle çalıştığımız, bilgi birikimi ve deneyiminden yararlandığım değerli arkadaşım, genç bilim insanı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Araştırma Görevlilerinden Sayın Dr. Abdulilah ECE'ye,

Hayatımın diğer alanlarında olduğu gibi, akademik çalışmalarımda da her zaman yanımda olduğunu hissettiren, özellikle sabrı ve anlayışı ile çalışmalara destek olan değerli eşim Sayın Bilge TAŞDEMİR'e,

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarında birlikte çalıştığımız bütün arkadaşlara,

en içten ve samimi duygularıyla teşekkür ederim

İbrahim Hüdai TAŞDEMİR

Ankara, Temmuz 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.KURAMSAL TEMELLER	5
2.1 Hipertansiyon ve Antihipertansif İlaçlar.....	5
2.1.1 Hidrokloratiazit (HKA).....	8
2.1.2 İndapamid (İNDA)	9
2.1.3 Perindopril (PER).....	10
2.1.4 Moeksipril (MOE)	11
2.1.5 Zofenopril (ZOF)	12
2.2 İlaç Analiz Yöntemleri	13
2.3 Kaynak Araştırması	14
2.3.1 HKA tayini için yapılan çalışmalar.....	14
2.3.2 İNDA tayini için yapılan çalışmalar.....	20
2.3.3 PER tayini için yapılan çalışmalar.....	25
2.3.4 MOE tayini için yapılan çalışmalar	27
2.3.5 ZOF tayini için yapılan çalışmalar	28
2.4 Elektrokimyasal Yöntemler	29
2.4.1 Dönüşümlü voltametri (DV).....	30
2.4.1.1 DV’de akım çeşitleri ve önemli parametreler	31
2.4.1.2 Çözelti ortamında başlıca madde taşınım çeşitleri ve elektron aktarımı	34
2.4.2 Puls voltametri.....	39
2.4.2.1 Normal puls voltametri (NPV).....	40
2.4.2.2 Diferansiyel puls voltametri (DPV)	43
2.4.2.3 Kare dalga voltametri (KDV)	44
2.4.3 Kronoamperometri (KA)	46
2.4.4 Kronokulometri (KK)	47
2.4.5 Bulk Elektroliz (BE)	49
2.4.6 Voltametik sıyırma yöntemleri.....	50
2.4.7 Elektrokimyada mekanizma çalışmaları	52
2.4.7.1 Tersinir mekanizmalar	54
2.4.7.2 Tersinmez mekanizmalar.....	57
2.4.7.3 Yarı tersinir mekanizmalar	58
2.4.7.4 Kimyasal dönüşümlerin de katıldığı mekanizmalar	58
3.MATERYAL VE YÖNTEM	62
3.1 Cihazlar ve Elektrotlar.....	62
3.2 Teorik Hesaplamalar.....	64
3.3 Etken Maddeler ve İlaçlar.....	64
3.3.1 Etken maddeler	64
3.3.2 İlaçlar	65

3.4	Çözeltiler.....	66
3.4.1	Britton-Robinson tamponu (BR)	66
3.4.2	Amonyak-amonyum klorür tamponu.....	66
3.4.3	Standart ilaç çözeltileri.....	67
3.5	İlaç Tabletlerinin Analize Hazırlanması.....	67
3.6	Serum Numunelerinin Analize Hazırlanması	67
3.7	İdrar Numunelerinin Analize Hazırlanması	68
3.8	Deneylerin Yapılışı	68
3.8.1	Dönüştürümlü voltametri.....	68
3.8.2	Diferansiyel puls ve kare dalga voltametri	68
3.8.3	Kronokulometri ve kronoamperometri	69
3.8.4	Diferansiyel puls ve kare dalga adsorptif sıyırma voltametri.....	69
3.8.5	Bulk elektroliz.....	69
3.8.6	Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması	70
3.8.7	İlaçlarda, serumda ve idrarda ilaç etken madde analizleri	70
3.9	Validasyon Parametrelerinin Belirlenmesi.....	71
3.9.1	Doğrusal çalışma aralığı.....	71
3.9.2	Doğruluk.....	71
3.9.3	Tekrarlanabilirlik.....	71
3.9.4	Duyarlık	71
3.9.5	Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ)	72
3.10	Elektron Sayısının (n) Hesaplanması.....	72
3.11	Yük Aktarım Katsayısının (β , α) Hesaplanması.....	72
3.12	Difüzyon Katsayısının (D) Hesaplanması	73
3.13	Yüzey Kaplama Katsayısının (Γ) Hesaplanması	73
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	74
4.1	İlaç Etken Maddelerinin Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi	74
4.1.1	HKA'nın elektrokimyasal davranışı	74
4.1.2	İNDA'nın elektrokimyasal davranışı.....	83
4.1.3	MOE'nin elektrokimyasal davranışı	96
4.1.4	PER'in elektrokimyasal davranışı	108
4.1.5	ZOF'un elektrokimyasal davranışı.....	115
4.2	Voltametik Tayin Yöntemi Geliştirme	129
4.2.1	HKA tayini için voltametik yöntemler	130
4.2.2	İNDA tayini için voltametik yöntemler	140
4.2.3	PER tayini için voltametik yöntemler	158
4.2.4	MOE tayini için voltametik yöntemler.....	167
4.2.5	ZOF tayini için voltametik yöntemler.....	185
4.3	İkili Karışım Halindeki İlaç Etken Maddeleri İçin Voltametik Tayin Yöntemleri	203
4.3.1	Eş zamanlı HKA –MOE tayini için voltametik yöntemler	204
4.3.2	Eş zamanlı HKA – ZOF tayini için voltametik yöntemler	216
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	228
	KAYNAKLAR.....	233
	ÖZGEÇMİŞ	242

SİMGELER DİZİNİ

[O]	Yükseltgenmiş türün denge derişimi (mol cm^{-3} , mol L^{-1})
[R]	İndirgenmiş türün denge derişimi (mol cm^{-3} , mol L^{-1})
A	Elektrodun yüzey alanı (cm^2)
ADCE	Asılı damla cıva elektrot
AdSV	Adsorptif sıyırma voltametri
ASV	Anodik sıyırma voltametri
BE	Bulk elektroliz
BR	Britton-Robinson tamponu
BSS	Bağıl standart sapma
C	Analitik derişim (mol cm^{-3} , mol L^{-1})
CKE	Camsı karbon elektrot
D	Difüzyon katsayısı (cm^2s^{-1})
DPAdSV	Diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametri
DPKAdSV	Diferansiyel puls katodik adsorptif sıyırma voltametri
DPV	Diferansiyel puls voltametri
DV	Dönüşümlü voltametri
E_{bir}	Biriktirme potansiyeli (V)
E_p	Pik potansiyeli (V)
$E_{p,a}$	Anodik pik potansiyeli (V)
$E_{p,k}$	Katodik pik potansiyeli (V)
F	Faraday sabiti (96485 C mol^{-1})
f	Frekans (s^{-1})
HKA	Hidrokloratiyazit
İNDA	İndapamit
i_p	Pik akımı (A)
$i_{p,a}$	Anodik pik akımı (A)
$i_{p,k}$	Katodik pik akımı (A)
KAdSV	Katodik adsorptif sıyırma voltametri
KDAdSV	Kare dalga adsorptif sıyırma voltametri

KDKAdSV	Kare dalga katodik adsorptif sıyırma voltametrısı
KDV	Kare dalga voltametri
KK	Kronokulometri
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Alt tayin sınırı
MOE	Moeksipril
n	Aktarılan elektron sayısı
PER	Perindopril
R	İdeal gaz sabiti ($J K^{-1} mol^{-1}$)
R	Regresyon katsayısı
s	Standart sapma
T	Sıcaklık (K)
t	Zaman (s)
t_{bir}	Biriktirme süresi (s)
UV	Ultraviole
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ZOF	Zofenopril
α	Katodik yük aktarım katsayısı
β	Anodik yük aktarım katsayısı
ΔE	Puls genişliği (V)
ΔE_s	Basamak yüksekliği (V)
Π	Pi sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	İnsanda merkezi dolaşım sisteminin başlıca elemanları ve kan basıncı	6
Şekil 2.2	HKA'nın kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.3	İNDA'nın kimyasal yapısı	9
Şekil 2.4	PER'in kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.5	MOE'nin kimyasal yapısı	11
Şekil 2.6	ZOF'un kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.7	Voltametik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan potansiyel ve akım işaret ve yönlerinin isimlendirilme sistemleri	31
Şekil 2.8	Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası dönüşümler.....	34
Şekil 2.9	Çalışma elektroduna puls uygulamasından sonra zamanla Faradayik ve kapasitif akım bileşenlerinin değişimi	39
Şekil 2.10	Normal Puls voltametrisinde kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri.....	41
Şekil 2.11	İki farklı potansiyelde elektrokimyasal dönüşüme uğrayan bir molekülün normal puls (NPV) ve dönüşümlü voltametri (DV) yöntemlerinde alınan voltamogramları	42
Şekil 2.12	DPV yönteminde kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri.....	44
Şekil 2.13	KDV'de kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri	45
Şekil 2.14	Kronoamperometrik yöntemin parametreleri, (A) potansiyel-zaman dalgasının formu, (B) elektrot yüzeyine çok yakın bölgelerdeki elektroaktif türün derişiminin zamanla değişimi, (C) sistemden alınan akım-zaman cevabı	46
Şekil 2.15	Kronokulometri çalışmalarda elektrot yüzeyine adsorbe olmayan türler (A) ve adsorbe olan türler (B) için elde edilen yük-zaman grafikleri.....	49
Şekil 2.16	Elektro indirgenme (A) ve elektro yükseltgenme (B) olaylarının şematize hali.....	53

Şekil 2.17	Tersinir mekanizmaya sahip bir elektrot tepkimesi için alınan dönüşümlü voltamogram.....	55
Şekil 2.18	Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir bir elektrot tepkimesi için alınan voltamogramlarda indirgenme ve yükseltgenme piklerinin bir birlerine göre konumları. (A)indirgenmiş tür(R) ile yükseltgenmiş türün (O) Gibbs serbestlik enerjileri eşit, (B) indirgenmiş türün Gibbs serbestlik enerjisi yükseltgenmiş türünkinden daha yüksek, (C) yükseltgenmiş türün Gibbs serbestlik enerjisi indirgenmiş türünkinden daha yüksek	56
Şekil 2.19	(A) Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir ve yarı tersinir mekanizmalara ait voltamogramlar, (B) tarama hızı ile mekanizma arasındaki bağlantı.....	58
Şekil 3.1	Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan elektrotlar ve hücre stantları	62
Şekil 4.1	Farklı derişimlerde HKA içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: anodik pik akımının HKA derişimi ile değişimi) (ÇE: CKE, v : 0,100 Vs^{-1} , pH: 5,0, E_b : 0,10 V, E_d : 0,90V, E_s : 0,10 V)	75
Şekil 4.2	Sabit derişimde HKA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi, $C_{HKA} = 0,85$ mM, ÇE: CKE, v : 0,100 Vs^{-1}).....	76
Şekil 4.3	Sabit derişimde HKA içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafik: anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, ÇE: CKE, $C_{HKA} = 2,0$ mM, pH: 5,0, E_b : 0,0V, E_d : 0,8 V, E_s : 0,0 V).....	79
Şekil 4.4	Tarama hızının HKA'nın pik akımına etkisi ($C_{HKA} = 2,0$ mM) (a) pik akımının tarama hızı ile değişimi, (b) pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi ve (c) pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi	80
Şekil 4.5	Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak HKA molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri	81

Şekil 4.6	HKA moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektroyükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma	82
Şekil 4.7	Farklı derişimlerde İNDA içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının İNDA derişimi ile değişimi, ÇE: ADCE, v : 0,100Vs ⁻¹ , pH: 5,0, E_b : -1,00V, E_d : -1,60V, E_s : -1,00V).	84
Şekil 4.8	Sabit derişimde İNDA içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi, ÇE: ADCE, C_{INDA} = 0,50 mM, pH: 5,0, E_b : -1,05V, E_d : -1,60V, E_s : -1,05V).	86
Şekil 4.9	İNDA'nın KDV ile alınan voltamogramlarının pH'nın etkisi (a) pH 1,0 – 7,4, (b) pH 8,3 – 11,6 ve (c) Pik potansiyelinin pH ile değişimi, (C_{INDA} = 5,0µM, ÇE: ADCE)	87
Şekil 4.10	Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak İNDA molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağlı enerji değerleri.....	90
Şekil 4.11	İNDA moleküllerinin ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektroindirgenme tepkimesi için önerilen mekanizma	90
Şekil 4.12	İNDA'nın çeşitli frekanslardaki KD voltamogramları İç grafikler: (a) anodik pik akımının frekans ile değişimi, (b) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi, (c) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi ve (d) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi (C_{INDA} = 22,5 µM, pH: 8,5, E_b : 0,30V, E_s : 1,10 V, ÇE: CKE)	92
Şekil 4.13	İNDA'nın farklı pH'lardaki KD voltamogramlar. İç grafik: anodik pik potansiyelinin pH ile değişimi (C_{INDA} = 22,5 µM, ÇE: CKE).....	94
Şekil 4.14	İNDA moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektroyükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma.....	95

Şekil 4.15	MOE'nin dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının MOE derişimi ile değişimi (ÇE: ADCE, v : 0,100 Vs ⁻¹ , pH: 5,5, E_b : -0,7 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,7 V).	97
Şekil 4.16	MOE'nin voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi (ÇE: ADCE, C_{MOE} = 0,50 mM, pH: 5,5, E_b : -0,70 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,7 V).....	99
Şekil 4.17	MOE'nin KD voltamogramlarına pH'nın etkisi. İç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi (C_{MOE} = 2,0µM, ÇE: ADCE).....	100
Şekil 4.18	Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak MOE için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri.....	102
Şekil 4.19	MOE için ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektro-indirgenme tepkimesi için önerilen olası mekanizmalar.....	102
Şekil 4.20	MOE'nin dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: pik akımının MOE derişimi ile değişimi (ÇE: CKE, v : 0,100Vs ⁻¹ , pH: 5,0, E_b : 0,65 V, E_d : 1,40V, E_s : 0,65 V).....	104
Şekil 4.21	MOE'nin dönüşümlü voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, (b) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi, (c) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi, (d) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi (ÇE: CKE, C_{MOE} = 0,45 mM, pH: 5,0, E_b : 0,70 V, E_d : 1,40V, E_s : 0,70 V).....	105
Şekil 4.22	MOE'nin dönüşümlü voltamogramlarına pH'nın etkisi (İç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi, C_{MOE} = 0,45 mM, ÇE: CKE).....	106
Şekil 4.23	MOE'nin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektro-yükseltgenme tepkimesi için önerilen olası mekanizmalar.....	108
Şekil 4.24	PER'in dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının PER derişimi ile değişimi(ÇE: ADCE, v : 0,100Vs ⁻¹ , pH: 10,0, E_b : -0,40 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,40 V).	109

Şekil 4.25	PER'in dönüşümlü voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi (ÇE: ADCE, $C_{PER} = 0,30$ mM, pH: 10,0, E_b : -0,40 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,40 V).....	110
Şekil 4.26	Sabit PER'in KD voltamogramlarına pH'nın etkisi ($C_{PER} = 5,0\mu\text{M}$, ÇE: ADCE)	111
Şekil 4.27	Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak PER molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri	114
Şekil 4.28	PER moleküllerinin ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektro indirgenme tepkimesi için önerilen mekanizmalar	114
Şekil 4.29	ZOF'un dönüşümlü voltamogramına tarama hızının etkisi. Tarama hızı ile pik akımlarının değişimi (a) PI (b) PII (c) PIII; tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritmasının değişimi (d) PI (e) PII (f) PIII (ÇE: ADCE, $C_{ZOF} = 0,15$ mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -1,70V, E_s : -0,20V)	116
Şekil 4.30	ZOF'un pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi (a) PI, (b) PII ve (c) PIII; (ÇE: ADCE, $C_{ZOF} = 0,15$ mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -1,70V, E_s : -0,20V).....	117
Şekil 4.31	ZOF'un dönüşümlü voltamogramına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) $i_p - v$, log, (b) $i_p - \log v$, (c) $i_p - \sqrt{v}$ ($C_{ZOF} = 0,05$ mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -0,80V, E_s : -0,20 V).....	117
Şekil 4.32	ZOF'un KD voltamogramlarına pH'nın etkisi. İç grafikler pik potansiyeli-pH grafiği (a) PI, (b) PII ($C_{ZOF} = 10\mu\text{M}$)	119
Şekil 4.33	Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak ZOF molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri	123
Şekil 4.34	ZOF moleküllerinin ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektro-indirgenme tepkimeleri için önerilen mekanizma.....	123

Şekil 4.35 Farklı derişimlerde ZOF içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: anodik pik akımının ZOF derişimi ile değişimi, ÇE: CKE, $V: 0,100Vs^{-1}$, pH: 5,0, $E_b: 0,60 V$, $E_d: 1,30V$, $E_s: 0,60V$).	124
Şekil 4.36 Sabit derişimde ZOF içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafikler: (a) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi, (b) anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, (c) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (d) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi, ÇE: CKE, $C_{ZOF} = 0,56 mM$, pH: 5,0).	126
Şekil 4.37 Sabit derişimde ZOF içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltamogramları, (iç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi, $C_{ZOF} = 4 mM$, ÇE: CKE)	128
Şekil 4.38 ZOF moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektro yükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma	129
Şekil 4.39 HKA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)	132
Şekil 4.40 HKA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)	132
Şekil 4.41 HKA'nın farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,4 V$, $t_{bir.}: 120 s$)	133
Şekil 4.42 HKA'nın farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,4 V$, $t_{bir.}: 120 s$)	133
Şekil 4.43 HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları	136
Şekil 4.44 HKA tayini için yapılan uygulamalarda Çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları	136
Şekil 4.45 HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları	137

Şekil 4.46	HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları.....	137
Şekil 4.47	İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE).....	141
Şekil 4.48	İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE).....	141
Şekil 4.49	İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,45 V, $t_{bir.}$: 90 s).....	142
Şekil 4.50	İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDKAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,45 V, $t_{bir.}$: 90 s).....	142
Şekil 4.51	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	145
Şekil 4.52	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları.....	145
Şekil 4.53	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPKAdSV voltamogramları.....	146
Şekil 4.54	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDKAdSV voltamogramları.....	146
Şekil 4.55	İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE).....	150
Şekil 4.56	İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE).....	150
Şekil 4.57	İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s).....	151
Şekil 4.58	İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s).....	151
Şekil 4.59	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	154

Şekil 4.60	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları	154
Şekil 4.61	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları	155
Şekil 4.62	İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları.....	155
Şekil 4.63	PER'in farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)	160
Şekil 4.64	PER'in farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)	160
Şekil 4.65	PER'in farklı derişimlerdeki DPAdSV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,50 V, $t_{bir.}$: 180 s)	161
Şekil 4.66	PER'in farklı derişimlerdeki KDCAAdSV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,50 V, $t_{bir.}$: 180 s)	161
Şekil 4.67	PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	163
Şekil 4.68	PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları	164
Şekil 4.69	PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPKAdSV voltamogramları	164
Şekil 4.70	PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDKAdSV voltamogramları.....	165
Şekil 4.71	MOE'nin farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)	169
Şekil 4.72	MOE'nin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)	169
Şekil 4.73	MOE'nin farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,5 V, $t_{bir.}$: 210 s)	170

Şekil 4.74	MOE'nin farklı derişimlerdeki KDKAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,5 V, $t_{bir.}$: 210 s)	170
Şekil 4.75	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	172
Şekil 4.76	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları	173
Şekil 4.77	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPKAdSV voltamogramları	173
Şekil 4.78	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDKAdSV voltamogramları.....	174
Şekil 4.79	MOE'nin farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)	178
Şekil 4.80	MOE'nin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)	178
Şekil 4.81	MOE'nin farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi, C_{MOE} , ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)	179
Şekil 4.82	MOE'nin farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi, C_{MOE} , ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)	179
Şekil 4.83	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	181
Şekil 4.84	MOE tayini için yapılan uygulamalarda Çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları	182
Şekil 4.85	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları	182
Şekil 4.86	MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları.....	183
Şekil 4.87	ZOF'un farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafikler: her üç pik için ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE).....	187

Şekil 4.88 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafikler: her üç pik için ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE).....	187
Şekil 4.89 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafikler: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir}:$ 0,0 V, t_{bir} : 180 s).....	188
Şekil 4.90 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafikler: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir}:$ 0,0 V, t_{bir} : 180 s).....	188
Şekil 4.91 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	190
Şekil 4.92 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları.....	191
Şekil 4.93 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları.....	191
Şekil 4.94 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları.....	192
Şekil 4.95 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE).....	196
Şekil 4.96 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE).....	196
Şekil 4.97 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir}:$ 0,5 V, t_{bir} : 120 s).....	197
Şekil 4.98 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir}:$ 0,5 V, t_{bir} : 120 s).....	197
Şekil 4.99 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.....	199
Şekil 4.100 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları.....	200
Şekil 4.101 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları.....	200

Şekil 4.102 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları.....	201
Şekil 4.103 Sabit MOE derişiminde HKA için DPV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{MOE} = 195 \mu M$, ÇE: CKE).....	205
Şekil 4.104 Sabit MOE derişiminde HKA için KDV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{MOE} = 195 \mu M$, ÇE: CKE)....	205
Şekil 4.105 Sabit MOE derişiminde HKA için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{MOE} = 220 nM$, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 V$, $t_{bir.}: 180 s$).....	206
Şekil 4.106 Sabit MOE derişiminde HKA için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{MOE} = 220 nM$, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 V$, $t_{bir.}: 180 s$).....	206
Şekil 4.107 Sabit HKA derişiminde MOE için DPV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu M$, ÇE: CKE).....	207
Şekil 4.108 Sabit HKA derişiminde MOE için KDV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu M$, ÇE: CKE).....	207
Şekil 4.109 Sabit HKA derişiminde MOE için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50 nM$, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 V$, $t_{bir.}: 180 s$).....	208
Şekil 4.110 Sabit HKA derişiminde MOE için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50 nM$, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 V$, $t_{bir.}: 180 s$).....	208
Şekil 4.111 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının DPV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE).....	209
Şekil 4.112 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının KDV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE).....	209
Şekil 4.113 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının DPAAAdSV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 V$, $t_{bir.}: 180 s$).....	210

Şekil 4.114 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının KDAAdSV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	210
Şekil 4.115 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları	211
Şekil 4.116 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları.....	212
Şekil 4.117 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları.....	212
Şekil 4.118 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları	213
Şekil 4.119 Sabit HKA derişiminde ZOF için DPV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu\text{M}$, ÇE: CKE).....	216
Şekil 4.120 Sabit HKA derişiminde ZOF için KDV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu\text{M}$, ÇE: CKE).....	217
Şekil 4.121 Sabit HKA derişiminde ZOF için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	217
Şekil 4.122 Sabit HKA derişiminde ZOF için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	218
Şekil 4.123 Sabit ZOF derişiminde HKA için DPV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{ZOF} = 100 \mu\text{M}$, ÇE: CKE).....	218
Şekil 4.124 Sabit ZOF derişiminde HKA için KDV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{ZOF} = 100 \mu\text{M}$, ÇE: CKE).....	219
Şekil 4.125 Sabit ZOF derişiminde HKA için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{ZOF} = 1 \mu\text{M}$, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	219
Şekil 4.126 Sabit ZOF derişiminde HKA için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{ZOF} = 1 \mu\text{M}$, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	220

Şekil 4.127 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının DPV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE).....	220
Şekil 4.128 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının KDV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE).....	221
Şekil 4.129 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının DPAAAdSV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	221
Şekil 4.130 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının KDAAdSV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 180 s).....	222
Şekil 4.131 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayinindeğeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları (ÇE: CKE).....	223
Şekil 4.132 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayinindeğeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları (ÇE: CKE).....	223
Şekil 4.133 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayinindeğeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları (ÇE: CKE).....	224
Şekil 4.134 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayinindeğeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları (ÇE: CKE).....	224

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1	CKE yüzeyinde HKA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	131
Çizelge 4.2	CKE kullanılarak HKA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	134
Çizelge 4.3	Tabletlerde HKA analizine ait sonuçlar.	138
Çizelge 4.4	İdrarda HKA analizine ait sonuçlar.	138
Çizelge 4.5	Serumda HKA analizine ait sonuçlar.	139
Çizelge 4.6	ADCE yüzeyinde İNDA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	140
Çizelge 4.7	ADCE kullanılarak İNDA tayinine yönelik geliştirilen yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri	143
Çizelge 4.8	Tabletlerde İNDA analizine ait sonuçlar.	147
Çizelge 4.9	İdrarda İNDA analizine ait sonuçlar.....	147
Çizelge 4.10	Serumda İNDA analizine ait sonuçlar.	148
Çizelge 4.11	CKE yüzeyinde İNDA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	149
Çizelge 4.12	CKE kullanılarak İNDA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	152
Çizelge 4.13	Tabletlerde İNDA analizine ait sonuçlar.	156
Çizelge 4.14	İdrarda İNDA analizine ait sonuçlar.....	157
Çizelge 4.15	Serumda İNDA analizine ait sonuçlar.	157
Çizelge 4.16	CKE yüzeyinde PER analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	159
Çizelge 4.17	ADCE kullanılarak PER analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	162
Çizelge 4.18	Tabletlerde PER analizine ait sonuçlar.....	166

Çizelge 4.19 İdrarda PER analizine ait sonuçlar.	166
Çizelge 4.20 Serumda PER analizine ait sonuçlar.....	166
Çizelge 4.21 ADCE yüzeyinde MOE analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	168
Çizelge 4.22 ADCE kullanılarak MOE analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	171
Çizelge 4.23 Tabletlerde MOE analizine ait sonuçlar.	175
Çizelge 4.24 İdrarda MOE analizine ait sonuçlar.....	175
Çizelge 4.25 Serumda MOE analizine ait sonuçlar.	175
Çizelge 4.26 CKE yüzeyinde MOE analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	177
Çizelge 4.27 CKE kullanılarak MOE analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	180
Çizelge 4.28 Tabletlerde MOE analizine ait sonuçlar.	184
Çizelge 4.29 İdrarda MOE analizine ait sonuçlar.....	184
Çizelge 4.30 Serumda MOE analizine ait sonuçlar.	184
Çizelge 4.31 ADCE yüzeyinde ZOF analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	186
Çizelge 4.32 ADCE kullanılarak HKA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	189
Çizelge 4.33 Tabletlerde ZOF analizine ait sonuçlar.....	193
Çizelge 4.34 İdrarda ZOF analizine ait sonuçlar.	193
Çizelge 4.35 Serumda ZOF analizine ait sonuçlar.	193
Çizelge 4.36 CKE yüzeyinde ZOF analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler	195
Çizelge 4.37 CKE kullanılarak ZOF analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri.....	198
Çizelge 4.38 Tabletlerde ZOF analizine ait sonuçlar.....	202

Çizelge 4.39 İdrarda ZOF analizine ait sonuçlar.	202
Çizelge 4.40 Serumda ZOF analizine ait sonuçlar.	202
Çizelge 4.41 Tabletlerde MOE–HKA analizine ait sonuçlar.	214
Çizelge 4.42 İdrarda MOE–HKA analizine ait sonuçlar.	214
Çizelge 4.43 Serumda MOE–HKA analizine ait sonuçlar.	215
Çizelge 4.44 Tabletlerde ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.	225
Çizelge 4.45 İdrarda ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.	226
Çizelge 4.46 Serumda ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.	226

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon olarak ta bilinen yüksek kan basıncı; tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça yaygın olarak görülen ve önemini her geçen gün attırarak hissettiren bir halk sağlığı sorunudur. Hipertansiyonu bu kadar önemli bir sağlık sorunu haline getiren sebepler arasında, hipertansiyonun; koroner kalp hastalıkları, inme, kalp ve böbrek yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlara yol açması ve gözde ciddi hasarlara sebep olabilecek etkileri sayılabilir. Yüksek kan basıncının kontrol edilmesiyle kalp yetmezliği ve inme sıklığının yarı yarıya, kalp krizlerinin de dörtte bir oranında azaltılabildiği bilinmektedir. Kontrol altına alınmaması durumunda ise kalp, böbrek, beyin ve gözler başta olmak üzere birçok organda kalıcı hasarlara sebep olabileceği bilinmektedir (www.saglık.gov.tr 2011).

Dünya genelinde hipertansiyonun toplam ölümlerin %13'ünün (yılda 7,1 milyon ölüm) ana sebebi olduğu bilinmektedir. Buna rağmen gerek dünyada gerekse ülkemizde hipertansiyondan farkında olma oranları ve kan basıncı kontrol oranları istenilen düzeylerde değildir. Ülkemizde 18 yaş üstündeki yaklaşık her üç kişiden birinde hipertansiyon olduğu bilinmesine rağmen, yine her üç kişiden birinin tansiyon ölçümü ve kontrolü yaptırmadığı bilinen bir gerçektir. Yüksek kan basıncı sorunu olan bireylerin sadece % 40'ı kan basıncı yüksekliğinin farkında olup, yalnızca % 31'inin antihipertansif tedavi aldığı da bilinmektedir (www.saglık.gov.tr 2011).

Hipertansiyon nadiren belirti vermekte, çoğu kez sinsi seyrederek organlarda hasara yol açabilmektedir. Seyrek rastlanan belirtileri;

- baş ve ense ağrısı,
- kulakta uğultu,
- çarpıntı hissi,
- yorgunluk hissi

şeklindedir.

Yüksek kan basıncından korunmak için;

- ağır ve yağlı yemeklerden,

- tuzdan,
- sigaradan,
- alkolden ve şişmanlıktan

korunmak, bunların yanında;

- düzenli egzersiz yapmak,
- kan basıncını düzenli ölçtürüp kaydetmek,
- hekimin vereceği ilaçları düzenli olarak kullanmak

gerekmektedir.

Günümüzde yüksek kan basıncının tedavisinde gerekli tanı ve teşhisler yapıldıktan sonrakullanılan çeşitli antihipertansif ilaçlar mevcuttur. Bu ilaçlar;

- anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri
- adrenerjik reseptör blokerleri
- adrenerjik nöron blokerleri
- santral etkilili sempatolitik ilaçlar ve diğer sempatolitikler
- kalsiyum kanal blokerleri
- beta blokerleri
- anjiyotensin II reseptör antagonistleri (ARA II)
- tiyazit ve tiyazit benzeri diüretikler

sınıflarından birine dahil olan ilaçlardır. Bazı durumlarda tedavinin etkinliğini arttırmak için farklı gruplardaki ilaçların bileşimini içeren ilaçlar da kullanılmaktadır.

Bunun yanı sıra; tedavi edici özelliği yüksek, daha az yan etkiye sahip, aynı anda farklı rahatsızlıkları tedavi edebilecek özelliklere sahip yeni ilaç geliştirme çalışmaları da hızla devam etmektedir. Diğer sağlık sorunlarında olduğu gibi hipertansiyonda da tedavinin başarısı için seçilen ilacın etki alanı, canlı bünyede etkilediği organ/organlar, etki gücü, tedavi edici dozu, kullanım süresi, yan etkileri, diğer ilaçlarla etkileşimi, canlı bünyeden atılma şekli ve toksik etkileri iyi araştırılmalıdır. İlaç geliştirme ve uygulamaçalışmalarında geliştirilen ilaçların bazı kimyasal/biyokimyasal, farmakolojik, ve toksikolojik özelliklerinin belirlenmesi için bu ilaçların;

- hedef doku ve organlarının,
- varsa metabolit(ler)inin

- canlı bünyeden uzaklaştırılma şekli ve yolunun

belirlenmesi oldukça önem arz etmektedir. Bu parametrelerin belirlenmesinde ilaç etken maddelerinin ve/veya ilaçlar ile etkileşen maddelerin canlı bünyede veya bünye dışında ilacın bünyeye alınmasını takip eden farklı zamanlarda yüksek doğruluk ve kesinlikte tayin edilebilmeleri oldukça önemlidir. Bunun için; validasyonu yapılmış, düşük maliyetli, hassas ve hızlı ilaç analiz yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

İlaç analiz yöntemleri yukarıda sayılan sebeplerin yanında; araştırma, geliştirme ve kalite kontrol çalışmalarında kullanılmak üzere de geliştirilmektedir. Bilinen pek çok etken madde ve ilaç için geliştirilmiş analiz yöntemleri Amerikan Farmakopesi (USP), Avrupa Farmakopesi (EP) ve British Farmakope (BP)'de yayınlanmaktadır.

Geliştirilen her yeni etken madde için analiz yöntemine ihtiyaç vardır. Mevcut analiz yöntemlerini daha güvenilir, hassas ve uygun maliyetli hale getirebilmek en az yeni yöntem geliştirmek kadar önemlidir. Gelişen teknoloji ile kullanımı kolay, hızlı cevap verebilen, otomasyona elverişli ve yüksek hassasiyete sahip yeni cihaz ve teknikler kullanılarak yeni analiz yöntemleri geliştirme çalışmaları artan bir hızla devam etmektedir.

Yeni analitik yöntemlerin geliştirilmesi, mevcut analitik yöntemlerin iyileştirilmesi ve yöntemlerin validasyonu; maliyetinin yanında zaman ve deneyim de gerektiren bir süreci kapsamaktadır. Uygun bir analiz yönteminin;

- kolay kullanılabilir,
- kısa sürede sonuç verebilir,
- ön hazırlık gerektirmeyen veya mümkün olduğunca basit ve kolay ön hazırlık gerektiren,
- düşük kurulum ve kullanım maliyetine sahip,
- otomasyona uygun ve elverişli
- sonuçları kesin, doğru, hassas ve özgün

olmalıdır.

İlaç analizlerinde kullanılan çeşitli analitik yöntemler vardır. Bunlar içerisinde en yaygın olarak kullanılanı değişik kromatografik yöntemlerdir. Bunun dışında infrared

spektroskopisi, atomik spektroskopi, NMR spektroskopi, kütle spektrometri yöntemleriyle, titrimetrik ve voltametrik yöntemler de kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, hipertansiyon tedavisinde kullanılan bazı ilaçlarda etken madde olarak bulunan ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri grubuna ait olan;

- perindopril
- zofenopril
- moeksipril

molekülleri ile, tiyazit diüretikler grubunda bulunan;

- hidrokloratiazit
- indapamit

moleküllerinin asılı damla cıva elektrot (ADCE) ve camlı karbon elektrot (CKE) yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve bu etken maddelerin ilaç formları, insan serumu ve insan idrarı gibi farklı biyolojik örneklerden tayinine yönelik voltametrik yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin validasyon çalışmaları yapılmış ve söz konusu moleküllerin tayini için geliştirilen mevcut yöntemlerle gerekli karşılaştırmalar yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

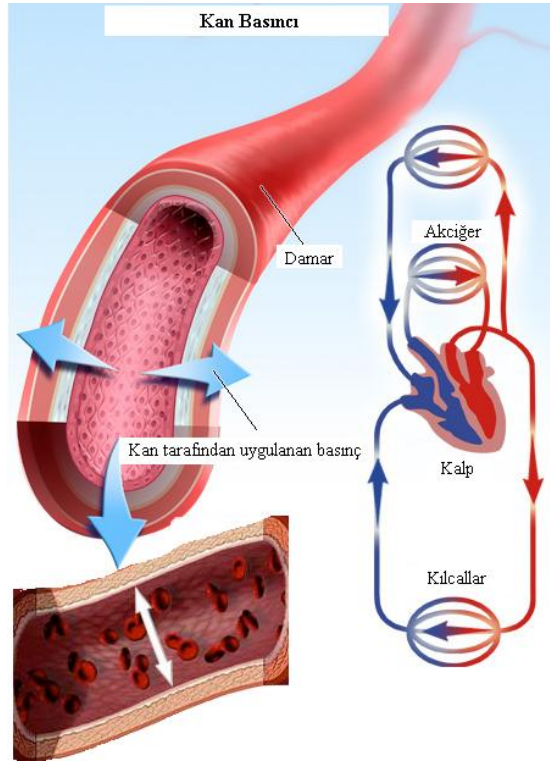
Tezin bu kısmında hipertansiyon ile ilgili kısa bir bilgilendirmeden sonra hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlarla ilgili bilgi verilmiştir. Sonrasında tez kapsamındaki ilaçların bazı özellikleri verildikten sonra söz konusu ilaçların tayinine yönelik kaynak araştırmasının sonuçları verilmiştir. Kaynak araştırmasından sonra elektrokimyasal yöntemlere değinilmiş ve tez çalışmasında kullanılan deneysel yöntemler kısaca açıklanmıştır. Deneysel yöntemlerden sonra elektrokimyasal çalışmalarda karşılaşılmaları en muhtemel mekanizmalar ile ilgili kısa bilgi verilmiştir.

2.1 Hipertansiyon ve Antihipertansif İlaçlar

Organların canlılığını koruyabilmeleri ve görevlerini yapabilmeleri için besin maddelerine ve oksijene gereksinimleri vardır. Söz konusu bu maddeler organlara kan ile ulaştırılır. Kan ise organlara atardamarlar (arter) yolu ile taşınır. Kanın atardamarlara pompalanması işini kalb yapar (Şekil 2.1). Kalp, bu görevini yapmak için dakikada ortalama 70 kere kasılır ve her defasında ortalama 70 mL kanı organlara gönderir. Ortalama bir insanın ömrü boyunca, kalb 2,5 milyar kez kasılmakta ve bu süre boyunca 180 milyon litre kanı vücuda pompalamaktadır (Kayaalp 1998, Rx Media Pharma 2005, www.saglik.gov.tr).

Tansiyon; kalbin, doku ve organlara ulaşması için pompaladığı kanın damarlara uyguladığı basıncı ifade eder. Sistolik ve diasistolik kan basıncı olmak üzere iki türlü kan basıncı değeri vardır. Normal kan basıncı değerleri bireyden bireye bir miktar değişikli gösterse de sistolik için 120 mmHg, diasistolik için ise 80 mmHg olarak verilmektedir. Hipertansiyon basit olarak yüksek kan basıncı demektir. Kan basıncı hastaya ait özellikler (yaş, cinsiyet, ırk gibi) ve fiziksel durumdan (istirahat, efor gibi) etkilenen bir parametredir. Bu nedenle de normal kan basıncı değerlerini belirlemek gerçekte oldukça güçtür. Normal şartlarda, kan basıncı sürekli olarak 120/80 mmHg

üzerinde olan kişiler hipertansiyon hastalığı adayı kabul edilmektedir ve bu değer devamlı olarak 140/90 mmHg üzerinde seyrediyorsa hipertansiyondan bahsedilir.



Şekil 2.1 İnsanda merkezi dolaşım sisteminin başlıca elemanları ve kan basıncı

Hipertansiyon kalp hastalıkları için ana risk faktörüdür. Eğer tedavi edilmezse beyin dolaşımı, kalp, damar, göz ve böbrek hastalıkları için ciddi hastalıklara ve ölüm oranlarında artışa sebep olur. Bir kez teşhis yapıp tedaviye başlanırsa artan kan basıncı düşürülebilir, kalp ve dolaşım sistemindeki hastalık riski azaltılabilir. Baş dönmeleri, bayılmalar, burun kanaması, kulak çınlaması ve görme bozuklukları gibi bir takım belirtileri olsa da hipertansiyon, genelde sinsi ve belirtisi olmayan bir sağlık problemidir. Hipertansiyonun tek bir sebebi yoktur. Oluşum mekanizması bakımından iki tür yüksek tansiyon vardır: Birincil (ya da esansiyel) ve ikincil. Birincil yüksek tansiyonun nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte, hastalığın oluşumunda kalıtım, ruhsal açıdan çabuk etkilenen heyecanlı kişilik, şişmanlık gibi bazı etkenler saptanmıştır. İkincil yüksek tansiyon ise; böbrek dokusu ve böbrek atardamarlarında yerleşen hastalıklar (akut ve kronik böbrek iltihabı, polikistik böbrek), böbreküstü bezinin kabuk bölümündeki hastalık nedeniyle kortizon ya da aldosteron hormonlarının fazla salgılanması sonucu görülen Cushing hastalığı ve Crohn hastalığı, böbreküstü

bezinin iç kısmının (medulla) tümörü (feokromositom), aortun kalpten çıktığı bölgedeki darlığı, kafa içi basıncının artması gibi daha önce geçirilen bir takım rahatsızlıklardan sonra ortaya çıkan yüksek kan basıncı problemidir. Hipertansiyona karar verirken yüksek tansiyonla basınç reaksiyonu arasındaki ayrımın da yapılması gerekir. Yüksek tansiyon terimi kan basıncının sürekli olarak bazı sınırların üzerinde kaldığını belirtirken, basınç reaksiyonu tansiyonun heyecanlanma ya da kan içine ilaç şırınga edilmesi gibi bir uyarana nedeniyle geçici olarak yükselmesidir. Yükselmeye yol açan uyarının etkisi kaybolunca tansiyon normale döner. Kişinin yaşı, cinsiyeti ve ırkı hipertansiyon sıklığı konusunda belirleyici faktörlerdir. Hipertansiyon siyah ırkta ve kadınlarda daha çok görülmektedir. Kişi yaşının hipertansiyona olan katkısı öncelikle damarlarda yaşlanmaya eşlik eden anormalliklerdir. Bu durum özellikle de kanı taşıyan damarlardaki esneklik kaybı ile açıklanabilir. Ancak yaşla hipertansiyon arasındaki bu bağlantıya bazı ilkel toplumlarda hiç rastlanmamaktadır. Bu durumda etkili faktörün "uygarlaşma" ve bununla bağlantılı tuz kullanımı, aşırı beslenme, hareketsiz ve stresli yaşam gibi faktörlerin belirlediği yaşam biçimi olduğu söylenebilir. Hipertansiyon ciddi bir durumdur. Hipertansiyon, kendi başına öldürücü değildir; fakat tedavi edilmediğinde hipertansiyonun sonuçları öldürücü olabilir. Hipertansiyon kalbi zorlayarak kalp yetmezliğine neden olabilir. Üstelik ateroskleroz ve bunun yol açabileceği iskemik kalp hastalığı (belli bir bölgede kan akımının kesilmesi nedeniyle oluşan geçici kansızlık sonucu dokuların oksijen alamaması) riskini önemli ölçüde artırır. Buna ek olarak; hipertansiyonlu hastalar kanama ve beyindeki kan damarlarının trombozuna (pıhtıyla tıkanmasına) diğerlerinden daha kolay yakalanırlar. Hipertansiyon ayrıca koroner arter hastalığına da büyük katkıda bulunur ki, bu hastalık sanayileşmiş toplumlarda ölümlerin başlıca nedenlerinden biridir. Bahsettiklerimizin hepsi tedavi edilmeyen hipertansiyonun sonuçları olup hipertansiyona bağlı morbidite (hastalık) ve mortalite (ölüm) büyük bir bölümünü oluşturur.

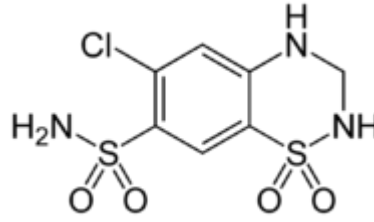
Hipertansiyon az ya da çok bilinen nedenlere dayanan sınıflandırılmasına ek olarak şiddet derecesine göre de sınıflandırılabilir (Kayaalp 1998, www.saglık.gov.tr 2011):

- Arteriyel hipertansiyon tipi kan basıncı düzeyi, normal 120/80 mmHg ve altı
- Prehipertansiyon (Hipertansiyon adayı) 120–139/80–89 mmHg
- Evre 1 hipertansiyon 140–159/90–99 mmHg

- Evre 2 hipertansiyon 160–179/100–109 mmHg
- Evre 3 hipertansiyon 180/110 mmHg ve üstü

Bu tez çalışması, aşağıda bazı kimyasal ve farmakolojik özellikleri verilen antihipertansif ilaç etken maddeleri ile ilgili yapılan çalışmaları kapsamaktadır:

2.1.1 Hidrokloratiazit (HKA)



Şekil 2.2 HKA'nın kimyasal yapısı

IUPAC isimlendirmesi: 6-kloro-1,1-dioksa-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiyadiazin-7-sülfonamid

Kapalı formülü: $C_7H_8ClN_3O_4S_2$

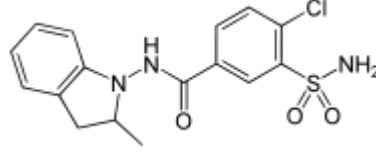
Molekül kütlesi: $297,74 \text{ g mol}^{-1}$

Sınıfı: Tiyazit grubu diüretik

Bazı farmakolojik özellikleri

HKA diüretik ve antihipertansif bir ajandır. Elektrolit geri emiliminin distal böbrek tübüler mekanizmasını etkiler. Eşit miktarda sodyum ve klorür atılımının yanında bir miktar potasyum ve bikarbonat atılımı da sağlar. Diürez özelliği uygulamadan yaklaşık 2 saat sonra başlar, 4 saatte doruk noktaya ulaşır ve duruma göre 6 ila 12 saat devam eder. Oral uygulamayı takiben % 65–70 oranında absorbe olur. Plazma proteinlerine, özelliklede albümine büyük oranda bağlanır. Alınan dozun en az % 95'lik kısmı idrar ile değişmeden atılır. Tedavi edici dozu hastaya göre değişmekle birlikte günde 12,5 mg dır (Kayaalp 1998, www.menarini.com 2011, www.saglık.gov.tr 2011).

2.1.2 İndapamit (İNDA)



Şekil 2.3 İNDA'nın kimyasal yapısı

IUPAC isimlendirmesi: 4-kloro-N-(2-metil-2,3-dihidroindol-1-il)-3-sulfamoil-benzamide

Kapalı formülü: $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$

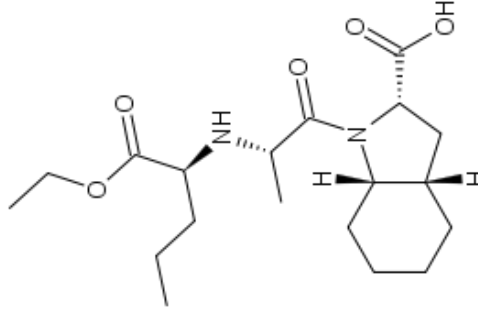
Molekül kütlesi: $365,84 \text{ g mol}^{-1}$

Sınıfı: Tiyazit benzeri diüretik

Bazı farmakolojik özellikleri

İNDA farmakolojik olarak tiyazid diüretiklerde ilişkili sülfonamid birdiüretiktir ve korteksteki dilüsyonu sağlayan segmentte sodyumreabsorpsiyonunu inhibe edip idrarda sodyum ve klorüratılımını ve bir ölçüye kadar potasyum ve magnezyum atılımını arttırarak idrar çıkışını arttırıp antihipertansif etki gösterir. Yapılan çalışmalar antihipertansif etkisinin 24 saatsürdüğünü göstermektedir. Bu etkiler diüretik özelliklerinin zayıf olduğudozlarda belirgindir. Belirli bir dozun ötesinde, istenmeyen reaksiyonlar artmaya devam ederken, tiyazidin ve benzeri diüretiklerin terapötik etkisi bir plato'ya ulaşır. Tedavietkisiz olduğunda, doz arttırılmaya çalışılmamalıdır. Tepe serum derişimlerine ulaşmak için gerekli olan süre bir dozdan sonra 12 saattir, tekrarlanan uygulamalar, 2 doz arası serum düzeylerindeki değişiklikleri azaltır. İndepamitin plazma proteinlerine bağlanma oranı %79'dur. Plazma yarılanma ömrü 14 ile 24 saat arasındadır (ortalama 18 saat). Sabit duruma 7 gün sonra ulaşır. Tekrarlanan uygulamalar birikime neden olmaz. Başlıca idrar (dozun % 70'i) ve feçes (%22) ile inaktif metabolitler halinde elemine edilir. Tedavi edici dozu hastaya göre değişmekle birlikte günde 1,25 mg civarındadır (Kayaalp 1998, www.biofarma.com 2011, www.wikipedia.org 2011).

2.1.3 Perindopril (PER)



Şekil 2.4 PER'in kimyasal yapısı

IUPAC isimlendirmesi: (2S,3aS,7aS)-1-[(2S)-2-[(2S)-1-etoksi-1-oksopentan-2-il]amino}propanoil]-oktahidro-1H-indol-2-karboksilik asit

Kapalı formülü: $C_{19}H_{32}N_2O_5$

Molekül kütlesi: $368,47 \text{ g mol}^{-1}$

Sınıfı: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

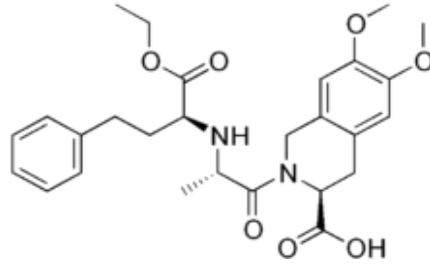
Bazı farmakolojik özellikleri

PER anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştüren enzimin inhibitörüdür (AnjiyotensinDönüştürücü Enzim, ADE). Dönüştürücü enzim ya da kinaz, anjiyotensin I'i vazokonstriktöranjiyotensin II'ye çevirirken bir yandan da vazodilatör bradikininin inaktif heptapeptidedegradasyonununa sebep olan bir eksopeptidastır. ADE inhibisyonu, plazmadaki anjiyotensinII'nin azalmasına neden olarak, plazma renin aktivitesinin artmasına (renin salımından negatifgeribeslemeyi inhibe ederek) ve aldosteron sekresyonunun azalmasına yol açar.

PER hipertansiyonun tüm derecelerinde etkilidir: Tedavi için kullanıldığında hafif, orta, şiddetli; hem yatarpozisyonda hem de ayakta sistolik ve diyastolik kan basıncında bir azalma gözlemlenmektedir. PER periferel vasküler direnci azaltarak kan basıncının düşmesine yol açar. Sonuç olarak, kalp hızına bir etkisi olmadan periferel kan akışı artar. Antihipertansif aktivite, tek bir dozdan 4 ila 6 saat sonra maksimum düzeye çıkar ve en az 24 saat sürer. Tedaviye yanıt veren hastalarda, bir ayın sonundanormalizasyona

ulaşmıştır ve bu durum taşifilaksi oluşmaksızın sürmektedir. Tedavinin kesilmesi, rebound etkisine neden olmaz. Geniş arter elastisitesini artırır ve küçük arterlerin ortam/lümen oranını azaltır. Gerekli olduğunda, bir tiazid diüretikle yapılan ek tedavi, ilave türde bir sinerjinin oluşmasına yol açar. ADE inhibitörü ile tiazid kombinasyonu, tek başına diüretik tedavisinin oluşturduğu hipokalemi riskini azaltır (www.servier.com, 2011, www.wikipedia.org, 2011, Kayaalp, 1998). PER oral yolla hızla emilir ve doruk derişime bir saatte ulaşır. Emilimden sonra yaklaşık % 35–50 oranında ana metaboliti olan perindoprilata hidroliz olur. Bundan dolayı yaklaşık % 4–12 oranında değişmeden idrar ile atılır. Tedavi edici dozu hastaya göre değişmekle birlikte 5 mg ile 10 mg arasındadır (Kayaalp 1998, www. servier.com 2011).

2.1.4 Moeksipril (MOE)



Şekil 2.5 MOE'nin kimyasal yapısı

IUPAC isimlendirmesi: (3S)-2-[(2S)-2-[(2S)-1-etoksi-1-okso-4-fenilbütan-2-il]amino]propanoic asit

Kapalı formülü: $C_{27}H_{34}N_2O_7$

Molekül kütlesi: $498,57 \text{ g mol}^{-1}$

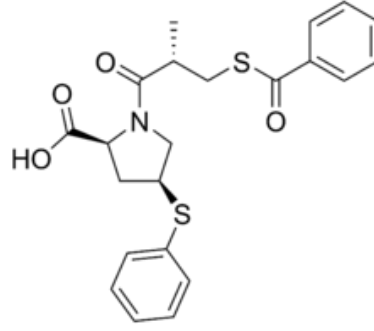
Sınıfı: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

Bazı farmakolojik özellikleri

MOE anjiyo tensin dönüştürücü enzim sınıfındadır. Vücutta anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşmesini engeller. Bu engelleme sonucunda kan basıncında düşme gözlenir. MOE gerek ayakta, gerekse yatan hipertansif hastalardahastaların

tansiyonunu; kalp hızında, pompalama hacminde ve kalp debisinde her hangi bir değişme oluşturmaksızın kontrol altına alan bir kimyasaldır. Kullanan hastalarda nadiren hipotansiyona rastlanmıştır (Kayaalp 1998, www.adeka.com.tr 2011).

2.1.5 Zofenopril (ZOF)



Şekil 2.6 ZOF'un kimyasal yapısı

IUPAC isimlendirmesi: (2S,4R)-1-((S)-3-(benzoiltiyo)-2-metilpropanoil)-4-(feniltiyo)prolidin-2-karboksilik asit

Kapalı formülü: $C_{22}H_{23}NO_4S_2$

Molekül kütlesi: $429,55 \text{ g mol}^{-1}$

Sınıfı: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

Bazı farmakolojik özellikleri

ZOF anjiyotensin I'in vazokonstriktör peptid anjiyotensin II'ye dönüşümünü katalize eden enzimi bloke eden bir sülfidril anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörüdür. ZOF kan basıncını, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini baskılayarak azaltır. ZOF oral yolla alımından sonra hızla ve tamamen absorbe olur ve yaklaşık olarak tamamı zofenoprilata dönüşür. Plazma proteinlerine bağlanma oranı yaklaşık % 88 civarındadır. Alınan dozun % 76'lık kısmı idrar ile zofenoprilat olarak atılırken bu metaboliti dışında tanımlanan 7 tane metaboliti daha vardır. Tedavi edici dozu günde hastaya göre değişiklik göstermekle birlikte 30 mg seviyesindedir (Kayaalp 1998, www.menarini.com 2011,).

2.2 İlaç Analiz Yöntemleri

Geniş çeşitlilikteki numunelerin değerlendirilmesinde genellikle farklı kromatografik yöntemler kullanılmakla birlikte genelde sıvı kromatografi yöntemi tercih edilmektedir. Bu yöntem kullanılarak elde edilen hassas, özgün, kararlı ve hızlı sonuçların düşük dozlar içinde elde edilebilmesi ve tekniğin çoklu karışımlara uygulanabilmesi en önemli avantajıdır. Ancak, cihaz maliyetlerinin yanı sıra kullanılan kimyasalların miktarı ve maliyeti oldukça fazladır. Sıvı kromatografi yönteminin yanı sıra, pek çok ilaç etken maddesinin kromofor gruplara sahip olmasından dolayı spektrofotometrik tekniklerde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak kromatografik çalışmalarda kullanılan yöntemin gözlenebilme ve alt tayin sınırı değerleri sistemde kullanılan dedektöre bağlı olduğundan sıradan dedektörler kullanıldığında plazma, idrar ve serumda çoğu zaman eser miktarda bulunan türlerin tayini mümkün olmamaktadır. Eser miktarda bulunan türlerin tayini için daha gelişmiş dedektör sisteminin kullanılması gerekmektedir ki bu gereksinim analiz yöntemini daha karmaşık hale getirirken yöntemin ekonomik maliyetini de arttırmaktadır. Spektrofotometrik yöntemlerde ise gözlenebilme ve alt tayin sınırı değerlerinin diğer yöntemlere göre göreceli olarak daha yüksek olmasının yanında kan ve plazma sıvılarında uygulama alanlarının oldukça kısıtlı olması yöntemin geçerliliğini sınırlandırmaktadır. Diğer taraftan biyolojik numunelerin ve ilaçların analizinde elektrokimyasal yöntemlerin kullanımı giderek artmaktadır. Bu artışın sebebi, kolaylıkla ve güvenle kullanılabilen geniş çeşitliliğe sahip elektrotların, elektrokimyasal cihazların ve elektrokimyasal yöntemlerin ticari olarak geliştirilmesidir. İlaç etken maddelerinin birçoğu voltametrik yöntemlerle cevap vermektedir. Voltametrik yöntemlerle saf etken maddelerin analizi, çözünmeyen ilaç katkı maddeleri, serumda ve plazmada bulunabilen endojen maddeler gibi bozucu etkilere rağmen girişim etkisi olmadan duyarlı bir biçimde yapılabilmektedir. Voltametrik yöntemleri diğer yöntemlerden üstün kılan önemli özellikleri; az miktarda etken maddenin ve çözücülerin analiz için yeterli olması, kurulumunun oldukça basit ve diğer yöntemlere göre daha ekonomik olması, kolay uygulanabilir olması, analitlerin ön saflaştırma işlemine ihtiyaç duyulmaması ve oldukça hassas bir yöntem olmasıdır (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001).

2.3 Kaynak Araştırması

Bu bölümde tez çalışması kapsamında ele alınan ilaç etken maddelerinin tayini için literatürde mevcut olan yöntemlerin performans parametreleri ve uygulama sonuçları kısaca özetlenmiştir.

2.3.1 HKA tayini için yapılan çalışmalar

Li Hang *vd.* tarafından 2011’de yapılan bir çalışmada basit bir ön hazırlık aşamasından sonra HKA ve Reserpine’nin eş zamanlı tayini için sıvı kromatografisi (SK) yöntemi geliştirilmiştir. Bu çalışmada, idrardaki olası proteinlerin çöktürülmesi için metenol kullanılmış olup, ilaç karışımı çöktürme basamağından sonra etil asetat ile özütlemeye tabii tutulmuştur. Ayırma ve özütlemeyen sonra karışımda bulunan Reserpine ve HKA asetonitril/amonyum klorür karışımından oluşan taşıyıcı faz kullanılarak taşınmış, C18 kolonu ile ayrılmış ve ultraviyole-görünür bölge dedektörü kullanılarak 268 nm’de ölçüm yapılmıştır. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 0,05 – 20,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. HKA için gözlenebilme ve alt tayin sınırı değerleri sıra ile 5,5 ng/mL ve 18,2 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen bu yöntem ile yapılan numune analizlerinde geri kazanım değerlerinin % 89’dan daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir.

Li Hang *vd.* tarafından 2011’de yapılan başka bir çalışmada HKA, triamterene ve Reserpine’nin eş zamanlı tayini için hareketli faz olarak asetonitril/asetik asit karışımının kullanıldığı biryüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) yöntemi önerilmiştir. Bu yöntemde, katı faz özütlemesi yapıldıktan sonra analitler C18 kolonu kullanılarak ayrılmış ve 265 nm’ye ayarlanan ultra viyole-görünür bölge dedektörü kullanılmıştır. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 20,0 – 1600 ng/mL olarak belirlenirken, gözlenebilme ve alt tayin sınırları sırası ile, 1,70 ng/mL ve 5,5 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem rat plazmasına ilave edilen HKA miktarının tayini için kullanılmış ve % 89,4 ile % 100,8 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Gonzalez *vd.* (2011) içersinde HKA'nın da bulunduğu bazı ilaç karışımlarında bulunan ilaç etken maddelerinin tayini için YPSK (LC-MS/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada hareketli faz olarak formik asit/amonyum format tamponu içeren su (pH 4,1) ile asetonitril karışımı kullanılmış ve analit moleküllere C18 kolon ile ayrılmıştır. Numunede bulunan proteinler çöktürüldüğünde analizin daha kısa sürede tamamlanacağı belirlenmiştir. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 20,0 – 2000 µg/mL, alt tayin sınırı 20,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Yapılan uygulama çalışmalarında % 97,5'ten daha yüksek geri kazanım değeri bulunmuştur.

Tutunji *vd.* (2010) irbesartan ve HKA'nın eş zamanlı tayini için kütle spektrometri ile kombine SK yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada plazma proteinleri asetonitril kullanılarak çöktürülüp süzöldükten sonra iç standart olarak kullanılan losartan ve analit molekülleri C18 kolonu kullanılarak ayrılmıştır. Söz konusu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 3 – 88 ng/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı 1,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Plazma örneklerine standart analitlerin eklenmesi ile yapılan geri kazanım çalışmalarında HKA için geri kazanım değeri % 90 ile % 110 arasında rapor edilmiştir.

Tutunji *vd.* (2009) bisoprolol ve HKA'nın plazma ortamında eş zamanlı tayini için YPSK (LC-MS/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada hareketli faz olarak formik asit/amonyum asetat tamponu içeren su ile asetonitril ve metanol karışımı kullanılmış ve analit molekülleri C8 kolonu ile ayrılmıştır. HKA için doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 80,0 ng/mL olarak belirlenen bu çalışmada, hesaplanan alt tayin sınırı ise 1,0 ng/mL'dir. Yapılan uygulama çalışmalarında geri kazanım değeri % 98 ile % 105 arasında bulunmuştur.

Vujic *vd.* (2009) cilizapril ile HKA'nın idrarda eş zamanlı tayinine olanak sağlayacak şekilde ultraviyole-görünür bölge dedektörü kullandıkları bir SK yöntemi geliştirmişlerdir. Katı faz özütlemesi sonucu hazırlanan numune metanol-fosfat tamponu karışımından oluşan hareketli faz ile taşınarak C18 kolonunda ayrılmıştır. Geliştirilen bu yöntemin 2,4 – 30,0 µg/mL aralığındaki HKA derişimleri için uygun olduğu belirlenmiş ve HKA için alt tayin sınırı 2,4 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Yapılan uygulamalarda HKA için geri kazanım değerleri % 95,4 ile % 103,1 arasında bulunmuştur.

Parekh *vd.* (2008) HKA, quinapril ve quinaprilatın birlikte tayini için LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde analiz için katı faz özütlemesi işlemi ile hazırlanan numune, formik asit-asetonitril karışımı ile taşınmış ve C8 kolonu ile ayrılmıştır. Bu yöntemde HKA'nın doğrusal çalışma aralığı 5 – 500 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 5,06 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulamalarda HKA için geri kazanım değerlerinin % 93 ile % 105 arasında olduğu belirlenmiştir.

Obando *vd.* (2008) HKA ve losartanın eş zamanlı tayini için yüksek performanslı-düşük basınçlı kromatografik bir yöntem önermişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak potasyum dihidrojen fosfat-asetonitril-metanol karışımı kullanılmıştır. Bu yöntemde, analit molekülleri diyod array dedektörün kullanıldığı C18 kolonu ile ayrılmıştır. Söz konusu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 10,0 µg/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı ise 0,69 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Söz konusu yöntemde yapılan geri kazanım çalışmalarında HKA'nın geri kazanım değeri % 94 ile % 103 arasında hesaplanmıştır.

Maggio *vd.* (2008) losartan potasyum ve HKA tayini için 220-274 nm arasındaki dalga boylarında alınan spektral ölçüm sonuçlarının kısmi en küçük kareler algoritması ile değerlendirilmesine dayanan çok değişkenli analiz yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 1,06 – 5,70 mg/L olarak belirlenirken alt tayin sınırı 0,21 mg/L olarak hesaplanmıştır. Yapılan geri kazanım çalışmalarında numunede bulunan HKA'nın ortalama olarak % 99'unun belirlenebildiği rapor edilmiştir.

Tagliari *vd.* (2008) çocuklar için geliştirilen oral süspansiyonlarda bulunan HKA'nın tayini için hareketli faz olarak sodyum fosfat tamponu/asetonitril karışımının kullanıldığı bir SK yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde numune ayırma işlemi C18 kolon kullanılarak yapılırken, analit tanıma işlemi ise 254 nm'de ultraviyole dedeksiyon ile gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 10 – 50 µg/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı ise 1,23 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Yapılan uygulama çalışmalarında geri kazanım değerleri % 100,9 ile % 102,1 arasında bulunmuştur.

Obando *vd.* (2008) farklı su örneklerinde losartan potasyum ve HKA'nın eş zamanlı tayini için katı faz özütlemesinden sonra uygulanacak bir kromatografik yöntem önermişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak sodyum dihidrojen fosfat-asetonitril-metanol karışımı kullanılırken, dedeksiyon 226 nm'ye ayarlanmış ultraviyole lamba ile yapılmıştır. Bu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 0,3 – 1,7 mg/L olarak belirlenirken alt tayin sınırı 0,3 mg/L olarak hesaplanmıştır. Farklı su örneklerine standart HKA çözeltilerinden eklemeler yapılarak gerçekleştirilen geri kazanım çalışmalarında yöntemin geri kazanım değerinin % 95 ile % 118 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Shaikh *vd.* (2008) bisoprolol fumarat ve HKA'nın tablet örneklerinde eş zamanlı tayinine olanak sağlayacak bir kromatografik yöntem önermişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak fosfat tamponu-asetonitril-tetrahidrofuran karışımı kullanılırken, dedeksiyon için 225 nm'de ölçüm yapan ultraviyole sistem kullanılmıştır. Söz konusu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 125 – 375 µg/mL olarak bulunurken ortalama geri kazanım değeri ise % 100,4 olarak belirlenmiştir.

Yan *vd.* (2008) plazmada telmisartan ve HKA'nın eş zamanlı tayinine olanak sağlayan ve numune hazırlamak için sıvı-sıvı özütlemesi basamağını içeren bir LC-MS/MS yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde analit molekülleri ve iç standart amonyum asetat-formik asit-asetonitril karışımından oluşan hareketli faz ile taşınmıştır. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 600,0 ng/mL olarak belirlenirken HKA için alt tayin sınırı 1,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında % 100 civarında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Liu *vd.* (2008) plazma örneklerinde valsartan ve HKA'nın eş zamanlı tayini için SK yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada analit molekülleri su- metanol karışımında taşınırken, ayırma C8 kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde HKA için

doğrusal çalışma aralığı 3,13 – 800 ng/mL olarak bulunurken, geri kazanım değerleri % 85 ile % 105 arasında rapor edilmiştir.

Stolarczyk *vd.* (2008) bazı antihipertansif ilaçlarla birlikte HKA'nın tayini için kromatografik ve dansitometrik tayin yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada HKA analizi için hareketli faz olarak etil asetat- tetrahidrofuran-asetik asit karışımı kullanılmıştır. HKA için doğrusal çalışma aralığı 0,02 – 0,38 µg/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı olarak 0,025 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında geri kazanım değerlerinin % 96 ile % 101 arasında hesaplandığı rapor edilmiştir.

Rezaei *vd.* (2008) ilaç formlarında bulunan HKA'nın nicel olarak tayini için çalışma elektrodu olarak çok duvarlı karbon nano tüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotun kullanıldığı bir adsorptif sıyırma voltametri yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 2,0 – 20,0 nM, alt tayin sınırı ise 2,5 nM olarak belirlenmiştir. Yapılan tayin uygulamalarında geri kazanım değerlerinin % 95 ile % 103 arasında bulunduğu belirtilmiştir.

Kolocouri *vd.* (2007) diğer bazı maddelerin bulunduğu ortamda HKA analizi için katı faz özütlemesi sonrasında uygulanabilecek bir kromatografik yöntem önermişlerdir. Bu yöntemde analitlerin ayrılması C18 kolonu ile gerçekleştirilirken hareketli faz olarak asetonitril-amonyum asetat karışımı kullanılmıştır. HKA için belirlenen doğrusal çalışma aralığı 0,50 – 200 ng/mL iken yapılan analiz uygulamalarında geri kazanım değerleri % 95 ile % 105 arasında bulunmuştur.

Song *vd.* (2007) amiloride ve HKA karışımının eş zamanlı tayini için SK (LC/MS/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada örnek hazırlama aşamasında çöktürücü olarak asetonitril kullanılarak biyolojik numunelerdeki proteinler çöktürülmüş ve analit karışımı formik asit-amonyum asetat-metanol karışımından oluşturulan hareketli faz ile taşınmıştır. Bu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı iki farklı doğrusal bölgede 1,0–5,0 ng/mL ve 5,0 – 80,0 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 1,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Kan plazması örnekleri kullanılarak yapılan analiz çalışmalarında HKA için % 96,5 – %105,7 arasında geri kazanım sonuçları rapor edilmiştir.

Sağırılı *vd.* (2007) medoksomil ve HKA karışımının eş zamanlı tayini için YPSK yöntemi önermişlerdir. 260 nm'ye ayarlanmış ultraviyole dedektörün kullanıldığı bu çalışmada taşıyıcı faz olarak metanol-fosforik asit-trimetil amin karışımı kullanılırken ayırma işlemi siyano kolon kullanılarak yapılmıştır. Analiz için önerilen bu yöntemde HKA için doğrusal çalışma aralığı 0,1 – 4,0 µg/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı 0,1µg/mL olarak hesaplanmıştır. Uygulama sonucunda hesaplanan geri kazanım değerleri ise % 99,5 civarında bulunmuştur.

Liu *vd.* (2007) insan plazmasında HKA tayini için kütle spektrometri ile kombine bir SK yöntemi önermişlerdir. Başka bir ilaç etken madde olan irbesartanın iç standart olarak kullanıldığı bu çalışmada analit ve iç standart, metanol kullanılarak plazmadan özütlenmiştir. Su-metanol karışımının taşıyıcı faz olarak kullanıldığı çalışmada ayırma işlemi C8 kolonu ile gerçekleştirilmiştir. HKA için doğrusal çalışma aralığının 0,78 – 200 ng/mL olarak belirlendiği bu çalışmada alt tayin sınırı 0,78 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Önerilen yöntem kullanılarak yapılan analiz çalışmalarında % 88,7 ile % 108,3 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Vignaduzzo *vd.* (2006) HKA ve propranolol karışımının analizi için türev spektrofotometri ve kısmi en küçük kareler şeklinde iki farklı spektrofotometrik yöntem önermişlerdir. HKA için 277 nm ve 294 nm değerlerinde ölçümlerinin değerlendirildiği bu çalışmada 250 – 350 nm arasında tarama yapılmış ve HKA için doğrusal çalışma aralığı 8,7 – 16,0 mg/L olarak belirlenmiştir. HKA için hesaplanan alt tayin sınırının 0,37 mg/L olarak hesaplandığı bu çalışmada geri kazanım değerleri % 92 ile % 101 arasında rapor edilmiştir.

Baing *vd.* (2006) ramipril-losartan potasyum-HKA karışımının analizi için ters faz-SK yöntemi önermişlerdir. Sodyum perklorat-asetonitril karışımının taşıyıcı faz olarak kullanıldığı bu çalışmada analit karışımı C18 kolon kullanılarak ayrılmıştır. Söz konusu çalışmada dedektör olarak 215 nm'ye ayarlanan ultraviyole lamba kullanılırken HKA için doğrusal çalışma aralığı 8,75 – 16,25 µg/mL olarak belirlenmiştir. HKA için alt tayin sınırı değerinin 0,08 µg/mL olarak belirlendiği bu çalışmada HKA için % 99-% 100 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Huang *vd.* (2006) kaptopril ve HKA karışımının eş zamanlı analizi için ters faz-YPSK yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada asitlendirilen serum örneklerindeki analit molekülleri önce eter, sonra diklor metan ile özütlenerek analiz numunesi hazırlanmıştır. Dedektör olarak ultraviyole lambanın kullanıldığı bu çalışmada karışım C18 kolnu ile ayrılmıştır. HKA için belirlenen doğrusal çalışma aralığı 10 – 1200 ng/mL iken alt tayin sınırı ise 3,3 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında geri kazanım değerleri % 93 – % 104 arasında bulunmuştur.

Li *vd.* (2006) HKA'nın kan plazmasından tayini için bir SK (LC/ESI/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada iç standart olarak kullanılan madde eklendikten sonra analit etil asetat ile özütlenmiştir. Elde edilen analit su-asetonitril taşıyıcı fazı ile taşınarak C18 kolon ile ayırma yapılmıştır. HKA için doğrusal çalışma aralığının 2,5 – 200 ng/mL olarak belirlendiği bu çalışmada alt tayin sınırı 1,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem kullanılarak yapılan analiz çalışmalarında geri kazanım değerleri % 98,2 ile % 101,6 arasında bulunmuştur.

Razzak, A (2004) HKA tayini için diferansiyel puls voltametri yöntemi önermiştir. Söz konusu çalışmada çalışma elektrodu olarak camısı karbon elektrot kullanılmıştır. Bu çalışmada, HKA için doğrusal çalışma aralığı 24 – 320 ng/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı 24 ng/mL olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada önerilen yöntemin analiz için uygulanması sonucu elde edilen geri kazanım değerlerinin % 99 ile % 103 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

2.3.2 İNDA tayini için yapılan çalışmalar

Omar, M.A. (2010) İNDA ve HKA'nın da bulunduğu bazı diüretik ilaç aktif maddelerinin tayini için söz konusu ilaç etken maddelerinin eosin ve kurşun ile kompleks oluşturmalarına dayanan spektrofotometrik ve spektrofolorimetrik yöntemler geliştirmiştir. Spektrofotometrik yöntemde doğrusal çalışma aralığı her iki madde için de 8,0–40,0 µg/mL olarak belirlenirken, spektrofolorimetrik yöntemde 0,05 – 0,25 µg/mL olarak belirlenmiştir. İNDA için alt tayin sınırı spektrofotometrik yöntemde 0,138 µg/mL olarak, spektrofolorimetrik yöntemde ise 0,039 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

HKA için alt tayin sınırı spektrofotometrik yöntemde 0,123 µg/mL olarak, spektrofolorimetrik yöntemde ise 0,044 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında % 98 ile % 100 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Zhao *vd.* (2010) İNDA tayini için ultraviyole dedektörlü (LC-UV) ve kütle spektrometre ile kombine (LC/MS/MS) olmak üzere iki farklı kromatografik yöntem geliştirmişlerdir. LC-UV yönteminde doğrusal çalışma aralığı 5,0 – 160,0 ng/mL olarak belirlenirken, LC/MS/MS yönteminde ise 0,2–160,0 ng/mL olarak belirlenmiştir. LC – UV’de alt tayin sınırı 5,0 ng/mL olarak hesaplanırken ikinci yöntemde 0,2 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında % 94 ile % 104 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Zheng *vd.* (2010) içersinde İNDA’nın da bulunduğu bazı doping etkili ilaçların tayinine yönelik amperometrik dedeksiyonlu kapiler elektroforez yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde İNDA için belirlenen doğrusal çalışma aralığı 3,7 – 3200 pM olarak rapor edilmiştir. Söz konusu yöntemde gözlenebilme sınırı 0,95 pM olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulamalarda geri kazanım değerinin % 102 civarında olduğu belirtilmiştir.

Elshanawane *vd.* (2008) ikili karışımlarda İNDA tayini için ters faz SK yöntemini geliştirmişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak potasyum dihidrojen fosfat-metanol karışımı kullanılırken, analitlerin ayrılması siyanopropil kolon kullanılarak yapılmış, dedeksiyon ise 210 nm’de yapılmıştır. İNDA için doğrusal çalışma aralığı 2,0 – 10,0 µg/mL olarak belirlenirken, aynı parametre PER için ise 8,0 – 32,0µg/mL olarak belirlenmiştir. Alt tayin sınırı değerleri ise PER için 0,03µg/mL, İNDA için ise 0,062 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Alnajjar A.O. (2008) ilaçlarda bulunan kaptopril ve İNDA’nın eş zamanlı tayini için UV foto diyot array dedeksiyonlu kapiler elektroforez yöntemi geliştirmiştir. Bu çalışmada İNDA için doğrusal çalışma aralığı 0,10 – 40,0 mg/L olarak belirlenirken, gözlenebilme sınırı 0,045 mg/L olarak hesaplanmıştır. Söz konusu çalışmada yapılan analizlerde İNDA için % 90 – % 97 arasında geri kazanım değeri elde edilmiştir.

Zheng *vd.* (2008) İNDA ve HKA'nın da bulunduğu bazı ilaçların eş zamanlı tayini için amperometrik dedektörlü ve ön zenginleştirme basamağı bulunan kapiler elektroforez yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 0,06 – 110 µg/mL, İNDA için ise 0,03 – 25 µg/mL olarak belirlenirken, gözlenebilme sınırı HKA için 20µg/mL, İNDA için ise 9,0 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 93 ile % 102 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Lu *vd.* (2007) İNDA ve HKA'nında bulunduğu 12 farklı diüretik ilacın eş zamanlı tayini için kütle spektrometresi ile kombine halde kapilari elektroforez yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada HKA için doğrusal çalışma aralığı 8,7 – 517 µM, İNDA için ise 1,8 – 210 µM olarak belirlenirken, alt tayin sınırı HKA için 2,7µM, İNDA için ise 0,57 µM olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 76 ile %86 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Ding *vd.* (2006) İNDA tayini için bir SK (LC/ESI/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak amonyum asetat-metanol karışımı kullanılırken analit karışımı C18 kolon kullanılarak ayrılmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 0,10 – 100 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 0,10 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 90 ile % 94 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Hang *vd.* (2006) İNDA tayini için bir YPSK yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde numune dietil eter kullanılarak özütlenmiştir. Özütleme ile hazırlanan numune asetonitril-metanol-su karışımında oluşan hareketli faz ile taşınmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 10 – 400 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 10 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 100 ile % 104 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Chen *vd.* (2006) İNDA tayini için bir SK (LC/ESI/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemde sıvı-sıvı özütlemesi ile hazırlanan numune C18 kolon kullanılarak ayrılmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 0,5 – 100 ng/mL olarak belirlenirken alt

tain sınırı 0,20 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 85 ile % 115 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Suo *vd.* (2005) İNDA tayini için sıvı-sıvı özütlemesini takip eden bir YPSK yöntemi önermişlerdir. Özütleme ile hazırlanan numune asetonitril-tetrahidrofuran-trifloroasetik asit karışımında oluşan hareketli faz ile taşınmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 0,048 – 200 µg/mL olarak belirlenirken alt tain sınırı 0,048 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 98 ile % 103 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Albu *vd.* (2005) İNDA tayini için tersiyer bütıl metil eter kullanarak yapılan sıvı-sıvı özütlemesini takip eden birSK (LC/ESI/MS) yöntemi önermişlerdir. Özütleme ile hazırlanan numune metanol-formik asit karışımından oluşan hareketli faz ile taşınıp C18 kolonu ile ayrılmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 0,25 – 50 ng/mL olarak belirlenirken alt tain sınırı 0,25ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 98 ile % 104 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Gao *vd.* (2005) İNDA tayini için metil tersiyer bütıl eter kullanarak yapılan sıvı-sıvı özütlemesinden sonra ters faz YPSK yöntemi önermişlerdir. Özütleme ile hazırlanan numune asetonitril-2-propanol karışımından oluşan taşıyıcı faz ile taşınmıştır. Söz konusu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 5,0 – 500 ng/mL olarak belirlenirken alt tain sınırı 5,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 96 ile % 102 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Fei *vd.* (2005) İNDA tayini için çözünür Mn⁴⁺ ile İNDA arasındaki kemilüminesans tepkimesine dayanan bir kimyasal lüminesans yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 0,2 – 5000 ng/mL olarak belirlenirken alt tain sınırı 8,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 96 ile % 104 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Ciborowski *vd.* (2004) İNDA ve HKA'nın da bulunduğu bazı diüretiklerin tayini için kemilümünometrik bir yöntem önermişlerdir. Bu yöntemde İNDA için doğrusal çalışma aralığı 0,5 – 14 µg/mL, HKA için ise 0,5 – 5,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı İNDA için 0,02 µg/mL, HKA için ise 0,005 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Wang *vd.* (2004) İNDA tayini için akışa enjeksiyon yöntemi ile kombine bir kimyasal lüminesans yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde doğrusal çalışma aralığı 10,0 – 1000 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 3,4 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 99 ile % 102 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Zendelovska *vd.* (2003) İNDA tayini için katı faz özütlemesini mütakip uygulanacak bir YPSK yöntemi önermişlerdir. Özütleme ile hazırlanan numune asetonitril-su karışımından oluşan taşıyıcı faz ile taşınıp C8 kolonu ile ayrılmıştır. Dekdeksiyonun 240 nm'de yapıldığı söz konusu çalışmada doğrusal çalışma aralığı serum örnekleri için 10,0 – 100 ng/mL, tam kan örnekleri için ise 50 – 500 ng/mL olarak belirlenmiştir. Aynı örnekler için alt tayin sınırı değerleri 10 ng/mL ve 50 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 97 ile % 106 arasında geri kazanım değeri rapor edilmiştir.

Süslü *vd.* (2002) İNDA tayini için türev spektrofotometri yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada 252,8 nm'de alınan spektrumların birinci türevleri ile 260,4 nm'de alınan spektrumların ikinci türevleri değerlendirilerek yöntem geliştirilmiştir. Birinci türev çalışmalarında doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 30,0 µg/mL olarak belirlenirken, ikinci türev çalışmalarında ise 1,0 – 35,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Alt tayin sınırı birinci türev yönteminde 0,43 µg/mL olarak hesaplanırken, ikinci türev yönteminde ise 0,73 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 100 değerine yakın geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Saleh *vd.* (2001) İNDA tayini için iki farklı kalorimetrik yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemler asidik ortamda İNDA ile Fe²⁺ arasında gerçekleşen tepkimeye dayandırılmıştır. Birinci yöntemde doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 12,0 µg/mL olarak

belirlenirken, ikinci çalışmalarda ise 4,0 – 18,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Alt tayin sınırı birinci yöntemde 0,83 µg/mL olarak hesaplanırken, ikinci yöntemde ise 3,1 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 100 değerine yakın geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Radi A. (2001) İNDA tayini için çalışma elektrodu olarak karbon pasta elektrodun kullanıldığı diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametri yöntemi önermiştir. Bu çalışmada doğrusal çalışma aralığı 0,05 – 0,1 µM olarak belirlenirken, alt tayin sınırı 15,0 nM olarak hesaplanmıştır.

2.3.3 PER tayini için yapılan çalışmalar

Georgakakou *vd.* (2010) PER analizi ve PER'in plazmadaki ana metabolitlerin belirlenmesi için bir SK (LC/ESI/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada analiz çözeltisi plazma örneği katı-faz özütlemesine tabii tutularak hazırlanmıştır. Amonyum asetat çözeltisi-asetonitril-metanol karışımının hareketli faz olarak kullanıldığı bu çalışmada PER için doğrusal çalışma aralığı 50 – 500 ng/mL olarak belirlenirken alt tayin sınırı 1,61 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında elde edilen geri kazanım değerleri ise % 96,1 ile % 105,1 arasında rapor edilmiştir.

Medenica *vd.* (2007) tabletlerdeki PER miktarının ve safsızlıkların tayininde kullanılmak üzere bir ters faz-YPSK yöntemi geliştirmişlerdir. Bu çalışmada taşıyıcı faz olarak su-asetonitril karışımı kullanılırken ayırma işlemi C8 kolonu kullanılarak, dedeksiyon ise diyot array detektör kullanılarak yapılmıştır. PER için doğrusal çalışma aralığının 0,01 – 1,0 mg/mL olarak belirlendiği bu çalışmada alt tayin sınırı ise 0,04 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında % 100 ile % 105 arasında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Ozoemena *vd.* (2004) PER tayini için maltodextrin temelli potansiyometrik membran elektrot geliştirmişlerdir. Bu çalışmada doğrusal çalışma aralığı 10 nM – 5 mM olarak belirlenirken alt tayin sınırı 1,0 nM olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz uygulamalarında % 100 civarında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Emara *vd.* (2003) bazı anjiyo tensin dönüştürücü enzimlerin tayini için CuO taneciklerinin reaktör olarak kullanıldığı akış-enjeksiyon yöntemi önermişlerdir. Bu çalışma, akışa enjekte edilen ilaç madde karışımındaki ilaç aktif maddelerinin CuO ile etkileşimleri sonucu türevlendirilmesi ve elde edilen kompleks yapının ultraviyole-görünür bölgede spektrumlarının alınması temeline dayandırılmıştır. PER için yapılan çalışmalarda doğrusal çalışma aralığı 5,0 – 11,0 µg/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı 0,12 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulama çalışmalarında % 100 civarında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Stefan *vd.* (2002) PER tayini için akış sisteminde amperometrik biyosensor dedektör kullanılan bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde PER'in farklı enantiyo izomerleri için farklı analitik parametreler belirlenmiştir. S-PER için doğrusal çalışma aralığı 60,0 – 800,0 nM iken R-PER için 60,0–900,0 nM olarak belirlenmiştir. Her iki izomer için gözlenebilme sınırı 40,0 nM olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada % 100 civarında geri kazanım değerleri rapor edilmiştir.

Erk, N. (2001) İNDA ve PER tayini için spektrofotometrik ve kromatografik (YPSK) yöntem geliştirmiştir. Bu çalışmada hem farklı yöntemler geliştirilmiş hem de geliştirilen yöntemler arasında karşılaştırma yapılmıştır. Bu yöntemlerden YPSK yönteminde hareketli faz olarak fosfat tamponu ve asetonitril karışımı kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada analit karışımı C18 kolonu ile ayrılırken, dedeksiyon 215 nm'ye ayarlanmış olan ultraviyole lamba ile yapılmıştır. Kromatografi çalışmasında PER için doğrusal çalışma aralığı 5,0 – 70,0 µg/mL olarak belirlenirken İNDA için ise 8,0 – 35,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu maddeler için hesaplanan alt tayin sınırları ise PER için 0,78 µg/mL, İNDA için ise 0,67 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Çalışmaların spektrofotometri kısmında ise türev ve oran spektrofotometri çalışmaları yapılmıştır. Söz konusu çalışmalarda PER için doğrusal çalışma aralığı 10,0 – 50,0 µg/mL olarak belirlenirken, İNDA için ise 10,0 – 30,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Spektrofotometrik çalışmalarda PER için hesaplanan alt tayin sınırı değeri 0,79 µg/mL olarak rapor edilirken İNDA için ise 0,89 µg/mL olarak rapor edilmiştir. Yapılan analiz uygulamalarında % 98-% 99 arasında geri kazanım değerleri bulunmuştur.

Staden *vd.* (2000) PER'in enantiyo izomeri olan R-PER tayini için D-amino asit oksidaz temelli amperometrik biyosensör geliştirmişlerdir. Bu çalışmada doğrusal çalışma aralığı 20 – 400 nM olarak belirlenirken, gözlenebilme sınırı 10 nM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen biyosensör kullanılarak yapılan tayin çalışmalarında % 100 civarında geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Stefan *vd.* (1999) PER'in enantiyo izomeri olan S-PER tayini için grafit pasta temelli potansiyometrik membran elektrot geliştirmişlerdir. Bu çalışmada doğrusal çalışma aralığı 10 µM – 10 mM olarak belirlenirken, gözlenebilme sınırı 5µM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen membran elektrot kullanılarak yapılan tayin çalışmalarında % 100 civarında geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

2.3.4 MOE tayini için yapılan çalışmalar

Attia (2010) MOE tayini için karbon pasta elektrot yüzeyinde diferansiyel puls voltametri yöntemi önermiştir. Bu çalışmada karbon pasta elektrodun yüzeyi sodyum dedosil sülfat kullanılarak modifiye edildikten sonra çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada doğrusal çalışma aralığı 0,40 – 5,2 µM olarak belirlenirken, alt tayin sınırı ise 0,23 µM olarak hesaplanmıştır. Piyasada bulunan tablet örneklerindeki MOE'yi tayin etmeye yönelik yapılan çalışmalarda geri kazanım değerlerinin % 99 ile % 101 arasında bulunduğu ilan edilmiştir.

Ertürk *vd.* (2003) tabletlerde MOE ve HKA'nın eş zamanlı tayini için türev spektrofotometri ve YPSK yöntemleri önermişlerdir. Türev spektrofotometrik yöntemde MOE için doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 11,0 µg/mL olarak belirlenirken, HKA için 0,5 – 9,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde MOE için hesaplanan alt tayin sınırı 1,0 µg/mL iken HKA için 0,5 µg/mL olarak belirtilmiştir. Aynı çalışmada verilen YPSK yönteminde ise hareketli faz olarak fosfat tamponu-asetonitril karışımı kullanılmıştır. Bu yöntemde doğrusal çalışma aralığı her bir ilaç için 0,50 – 12,0 µg/mL olarak belirlenirken, alt tayin sınırı değeri MOE için 0,10 µg/mL ve HKA için 0,025µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan uygulamalarda MOE için geri kazanım

değerleri % 95 ile % 101 arasında bulunurken, HKA için % 96 ile % 102 arasında bulunmuştur.

2.3.5 ZOF tayini için yapılan çalışmalar

Carlucci *vd.* (2010) ZOF ve HKA'nın eş zamanlı tayini için ultraviyole-görünür bölge spektrofotometri yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde dördüncü türev spektrumları kullanılmış ve doğrusal çalışma aralığı ZOF için 5,0 – 40,0 µg/mL, HKA için ise 1,0 – 20,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Alt tayin sınırı değeri ise ZOF için 2,0 µg/mL olarak hesaplanırken, HKA için 0,2 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında geri kazanım değerlerinin her iki ilaç için % 98 ile % 102 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Carlucci *vd.* (2010) ilaç tabletlerinde ZOF ve HKA'nın eş zamanlı tayinine yönelik diyod-array dedektörlü YPSK yöntemi önermişlerdir. Bu yöntemde hareketli faz olarak su-TFA karışımı kullanılırken analitlerin ayrılması için C18 kolonu kullanılmıştır. Söz konusu çalışmada ZOF için doğrusal çalışma aralığı 5,0 – 40,0 µg/mL olarak belirlenirken, HKA için 1,0-20,0 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde ZOF için alt tayin sınırı 0,08 µg/mL olarak hesaplanırken, HKA için ise 0,06 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan tayin çalışmalarında her iki ilaç için geri kazanım değerlerinin % 99 ile % 100 arasında bulunduğu rapor edilmiştir.

Dal Bo *vd.* (2000) ZOF ve ZOF'un metaboliti olarak bilinen zofenoprilatın plazmadan tayini için dedektör olarak kütle spektrometrinin kullanıldığı bir SK yöntemi önermişlerdir. Bu çalışmada ZOF için belirlenen doğrusal çalışma aralığı 1,0 – 300 ng/mL olarak verilirken, alt tayin sınırı ise 1,0 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz çalışmalarında geri kazanım değerleri % 70 ile % 85 arasında bulunmuştur.

Tez kapsamındaki moleküllerin tayinine yönelik yapılan kaynak özetlerinden de anlaşılacağı gibi ZOF, MOE ve PER için az sayıda tayin yöntemi geliştirme çalışması varken HKA ve İNDA tayini için ise oldukça fazla sayıda tayin yöntemi geliştirme çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışmaların büyük bir bölümünün farklı türden

kromatografik yöntemler olduğu görülmektedir. Kromatografik yöntemlerin büyük bir kısmında katı faz veya sıvı-sıvı özütlemesi başta olmak üzere zaman alıcı ve oldukça zahmetli ön hazırlık ve ön deriştirmeye yönelik çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Deriştirme ve/veya numune hazırlama amacı ile çalışmalara ihtiyaç duymayan yöntemlerin ise oldukça yüksek maliyetler ile kurulabilen bileşenlere sahip oldukları bir gerçektir. Ayrıca tayin için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarında kullanılan yöntemlerin birçoğunun sadece tayin için kullanılabildiği, söz konusu ilaç etken maddesinin indirgenme-yükseltgenme davranışları, olası etki mekanizmaları, farmakolojik özellikleri vb. birçok konuda yardımcı ve tamamlayıcı bilgilerin elde edilemeyeceği açıktır. Bunların yanında elektrokimyasal yöntemler;

- hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi,
- kromatografik yöntemlere göre oldukça az miktardaki kimyasal gerektirmesi,
- bir çok madde için ön deriştirme ve saflaştırmaya ihtiyaç duymaması,
- gerekli cihaz ve kurumun oldukça basit, ekonomik ve taşınabilir olması,
- yeterince farklı potansiyellerde pik veren maddelerin eş zamanlı tayinine olanak sağlaması,
- adsorptif sıyırma uygulaması ile ng/mL seviyesindeki derişimlere kadar ölçüm ve tayin yapılmasına olanak sağlaması,
- hızlı, tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçlar vermesi

gibi bir takım avantajlara sahiptir. Bu avantajların yanı sıra elektrokimyasal yöntemler kullanılarak maddelerin elektrokimyasal davranışı ve indirgenme-yükseltgenme yeteneğibelirlenmektedir. Bazı ilaç etken maddelerin canlı bünye içersinde elektron alış/verişi ile (redoks tepkimeler ile) etki gösterdiği düşünöldüğünde, söz konusu maddenin elektrokimyasal davranışının belirlenmesi, ilaç etken maddesinin; etki mekanizması, etkilediği organlar ile birtakım farmakolojik ve farmakinetik özelliklerinin belirlenmesine ışık tutabileceği düşünölmektedir.

2.4 Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler, çözelti ortamında homojen olarak veya elektrot yüzeyinde heterojen olarak gerçekleşen yük aktarımının incelendiği ve aktarılan yük miktarının madde miktarı ve elektron sayısı ile ilişkilendirildiği analitik yöntemlerdir. Bir

çalışmada kullanılacak olan elektrokimyasal yöntem söz konusu çalışmanın amacına ve içeriğine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu kısımda sadece tez çalışmasında yararlanılan elektrokimyasal yöntemlerle ilgili kısa bilgi verilmiştir.

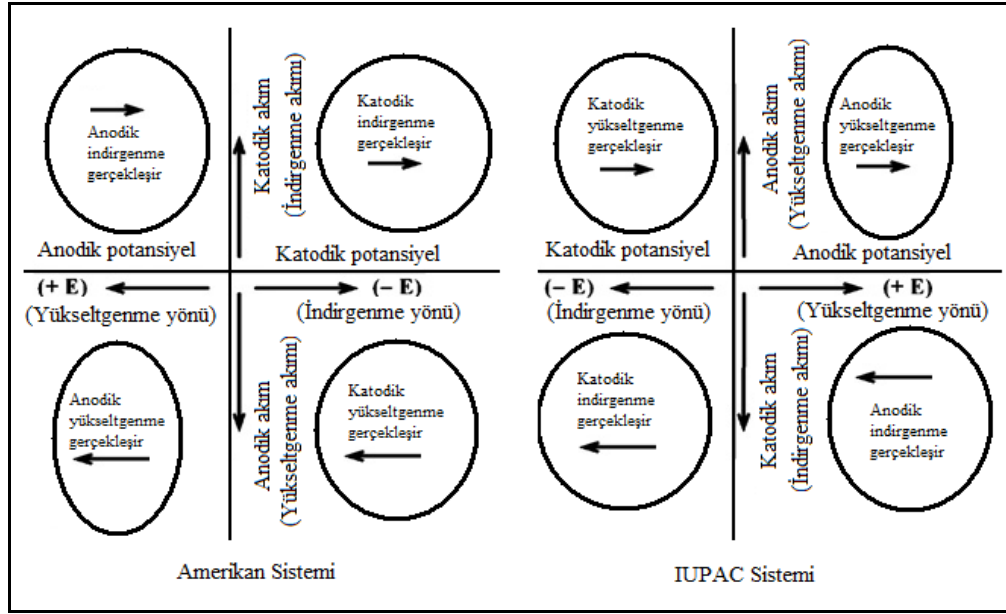
2.4.1 Dönüşümlü voltametri (DV)

Dönüşümlü voltametri; durgun bir çözelti ortamındaki çalışma elektroduna uygulanan üçgen şeklindeki potansiyel uyarma (polarizasyon) dalgasının düzenli bir şekilde değiştirilmesi sonucu oluşan akım-potansiyel davranışının incelenmesine dayanan elektrokimyasal yöntemdir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000). Bu yöntemde çalışma elektroduna uygulanan potansiyel başlangıç ve bitiş potansiyelleri arasında zamanla düzenli bir şekilde değiştirilerek tarama yapılır. Araştırılması düşünülen özelliklere göre potansiyel taraması başlangıç potansiyelinde sonlandırılabilir gibi başka bir potansiyel değerinde de sonlandırılabilir. Yine araştırılması planlanan özelliğe göre dönüşümlü voltametrde tek dönüşüm alınabileceği gibi istenilen sayıda dönüşüm de alınabilir. Bütün bu taramalarda çalışma elektroduna uygulanan potansiyele karşı sistemden geçen akım incelenir.

Elektrokimyasal çalışmaların mekanizma aydınlatma kısmında, çözelti/elektrot ara yüzeyinde gerçekleşen değişimlerin kinetiği ve termodinamiği ile ilgili nitelikli bilgilerin elde edilmesinde ve olası kimyasal/elektrokimyasal dönüşümler ile bu dönüşümlere eşlik eden birtakım elektrokimyasal parametrelerin belirlenmesinde en sık başvurulan deneysel yöntemlerden birisi dönüşümlü voltametridir. Dönüşümlü voltametrimin yaygın olarak tercih edilmesi bu yöntemin redoks tepkimelerinin termodinamiği, heterojen elektron transferinin kinetiği ve incelenen tepkimeye adsorpsiyon-difüzyon gibi taşınım ve tutunma olaylarının etkisiyle ilgili hızlı, doğru ve önemli bilgiler vermesinden kaynaklanmaktadır (Brett ve Brett 1992, Gosser 1994, Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001).

Dönüşümlü voltametrde negatif potansiyel yönündeki potansiyel taramalarına katodik, pozitif potansiyel yönündeki taramalara ise anodik tarama denilmesinde sağlanmış birlik varken, potansiyel eksenin hangi tarafının negatif hangi tarafının pozitif alınması

konusunda ve indirgenme-yükseltgenme akımının polaritesi (işareti) konusunda henüz birlik sağlanmış değildir. Şekil 2.7’de voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan potansiyel ve akım işaret ve yönlerinin isimlendirilme sistemleri verilmiştir (Bard ve Faulkner 2001, Zoski vd. 2007, Scholz vd.2010).



Şekil 2.7 Voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan potansiyel ve akım işaret ve yönlerinin isimlendirilme sistemleri

2.4.1.1 DV’de akım çeşitleri ve önemli parametereler

Diğer elektrokimyasal yöntemlerde olduğu gibi voltametrik çalışmalarda da kaynağına bağlı olarak isimlendirilen iki farklı akım vardır:

- i. *Kapasitif akım*: Çalışmalarda kullanılan çözücü-destek elektrolit moleküllerinin çalışma elektrodu çevresinde bulunan kısımları uygulanan potansiyel sonucunda bir kapasitör gibi davranır. Bu kapasitörlerin elektriksel yüklenmeleri sonucu oluşan akıma kapasitif akım denir. Bazı kaynaklarda artık akım olarak ta isimlendirilen bu akımın elektron transferi ile ilgisi yoktur. Kullanılan çözücü-destek elektrolit çeşidi ve derişimi, sıcaklık, çalışma elektrodu cinsi ve yüzey alanı, pH ve tarama hızı gibi bazı deneysel

parametrelerden etkilenir. Elektrokimyasal tayin yöntemi çalışmalarında bu akım bileşenin minimum olması istenir.

- ii. *Faradayik akım*: Elektron akırtarımı sonucu oluşan akımdır. Elektrokimyasal çalışmalarda değerlendirilen ve değerlendirilmesi sonucu sistem ile ilgili termodinamik ve/veya kinetik bilgilerin elde edildiği akım çeşididir.

Dönüşümlü voltametrizde çalışma elektroduna uygulanan potansiyel için deneysel olarak kontrol edilebilecek değişik parametreler vardır:

- i. *Başlangıç potansiyeli*: Çalışma elektroduna uygulanacak olan potansiyel taramasının başladığı potansiyel değeridir. Çalışmalarda başlangıç potansiyelinin elektron aktarımının olmadığı bir değer seçilmesi tercih edilir.
- ii. *Dönme potansiyeli*: Potansiyel taramasının yönünün değiştirileceği (anodik yönden katodik yöne veya katodik yönden anodik yöne) potansiyel değeridir.
- iii. *Bitiş potansiyeli*: Potansiyel taramasının sonlandırılacağı potansiyel değeridir. Bu değer incelenen özelliklere göre başlangıç potansiyeli ile aynı veya başlangıç potansiyelinden farklı bir değer olabilir.
- iv. *Anodik tarama*: Başlangıç potansiyeline göre daha pozitif potansiyel değerine doğru yapılan potansiyel taramasıdır. Bu taramada olası yükseltgenme davranışları incelenir.
- v. *Katodik tarama*: Başlangıç potansiyeline göre daha negatif potansiyel değerlerine doğru yapılan potansiyel taramasıdır. Bu taramada olası indirgenme davranışları incelenir.
- vi. *Tarama hızı*: Başlangıç potansiyelinden bitiş potansiyeline kadar yapılacak olan potansiyel taramasında potansiyelin hangi hızda değişeceğini belirten parametredir. Tepkime mekanizmasının aydınlatılmasında oldukça önemlidir.

vii. *Segment*: Başlangıç potansiyelinden dönme potansiyeline kadar yapılan taramaya veya bu tarama sonucu elde edilen voltamograma segment denir.

viii. *Döngü*: Başlangıç potansiyelinden bitiş potansiyeline kadar yapılan, genelde iki segmentten oluşan taramaya veya bu tarama sonucu elde edilen voltamograma döngü denir.

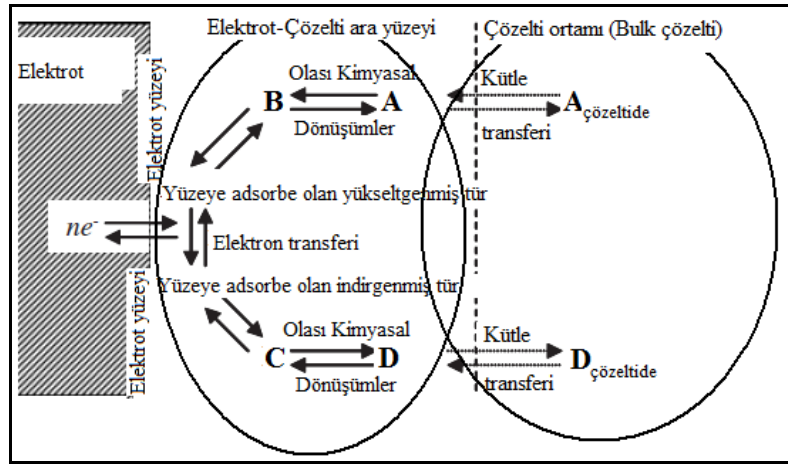
Bu parametreler kontrol edilerek sabit tarama hızında, uygulanan potansiyele karşı oluşturulan akım grafiğine volt-amperogram (voltamogram) denilir. Bir voltamogramın çalışmalara ışık tutabilecek farklı parametreleri şunlardır:

- i. *Pik potansiyeli (E_p)*: Uygulanan potansiyelin elektron aktarımına sebep olduğu, faradayik akımın en yüksek değere ulaştığı andaki potansiyel değeridir. Elektrokimyasal çalışmalarda elde edilebilecek olası bir pikin potansiyeli; incelenen molekülün yapısal özelliklerine, çalışmaların yapıldığı çalışma elektroduna, pH'ya, kullanılan destek elektrolit ve çözücü cinsine, sıcaklığa ve tarama hızına göre değişiklik gösterebilir. Pik potansiyeli ve pik potansiyelinde deneysel koşullara göre meydana gelebilecek değişiklik yapılan elektrokimyasal çalışmada elde edilecek termodinamik ve kinetik sonuçlar için oldukça önemlidir.
- ii. *Yarı pik potansiyeli ($E_h, E_{ph}, E_{p1/2}$)*: Pik akımının en yüksek değerinin yarısına ulaştığı noktadaki potansiyel değeridir. Bazı durumlarda yarı pik potansiyelinin pik potansiyeline göre daha spesifik ve termodinamik-kinetik sonuçlar için daha kesin sonuçlar verdiği bilinmektedir.
- iii. *Yarı pik genişliği (y_{pg})*: Pik akımının en yüksek değerinin yarısına ulaştığı noktadaki pik genişliğidir.
- iv. *Pik akımı (i_{pa}, i_{pc})*: Uygulanan potansiyel sonucunda meydana gelen elektron aktarımının oluşturduğu akımdır. Bu akımın büyüklüğü; elektron aktarımına katılan türlerin derişimine, bu türlerin difüzyon ve adsorpsiyon özelliklerine, kullanılan çalışma elektroduna ve bu elektrodunun yüzey alanına, kullanılan destek elektrolit ve çözücü cinsine ve derişimine,

sıcaklığa ve tarama hızına bağlıdır. Pik akımının ölçülmesinde farklı yaklaşımlar sergilenmekle birlikte faradayik akımın kapasitif akımdan farklılaşmaya başladığı noktaya çizilen teğet ile pik akımının maksimum değere ulaştığı noktaya çizilen teğet arasındaki dik uzaklığın ölçülmesi en doğru yaklaşımdır.

- v. *Pik alanı* (A_p): Yapılan çalışmalarda elde edilen pikin altında kalan alandır. Bazı yazılım programlarında birimi kulon bazılarında ise voltamper olarak verilmektedir.

Dönüşümlü voltametri çalışmaları yapıldığı moleküllere ait karakteristik pikin şekli ve akımı Şekil 2.8’de şematik olarak gösterilen ve elektrot yüzeyinin çok yakınındaki difüzyon tabakasında meydana gelen dönüşümlerden etkilenmektedir (Bard ve Faulkner 2001, Scholz vd. 2010).



Şekil 2.8 Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası dönüşümler

2.4.1.2 Çözelti ortamında başlıca madde taşınım çeşitleri ve elektron aktarımı

Şekil 2.8’den de görüleceği gibi elektrot yüzeyinde veya elektrot/çözelti ara yüzeyinde gerçekleşecek olan elektron aktarımı, elektron aktarımını gerçekleştirecek olan türlerin bu bölgelere taşınmasını sağlayan kütle aktarımına oldukça bağlıdır ve bu aktarımın genel olarak 3 farklı şekilde gerçekleştiği bilinmektedir:

- i. *Difüzyon*: Atom, iyon veya moleküllerin bölgeler arasındaki derişim farkından dolayı istemli (kendiliğinden) gerçekleştirdikleri taşınma hareketidir. Bu taşınmanın hızı sıcaklık, tanecik büyüklüğü ve derişim farkı gibi faktörlerden etkilenir ve söz konusu türün bölgelerdeki derişimleri eşitleninceye kadar devam eder.
- ii. *Göç (Migrasyon)*: Taneciklerin elektrostatik etki ile taşınmasıdır. Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin polaritesine (işaretine) göre hücredeki türlerin elektrot yüzeyine yaklaşma veya elektrot yüzeyinden uzaklaşmaya yönünde hareket ettiği düşünülmektedir.
- iii. *Konveksiyon (Nakil)*: Çözeltide bulunan türlerin çözeltinin karıştırılması ile taşınması olayıdır.

Kütle aktarımı, birim zamanda birim yüzeye giriş yapan veya taşınan madde olarak tanımlanan ve birimi $\text{mol cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ olan **akı** ile ölçülmektedir. Çalışma elektrodu yüzeyine akı ile aktarılan madde miktarı Nernst-Planck eşitliği olarak ta bilinen aşağıdaki diferansiyel eşitlik ile tanımlanmaktadır (Bard ve Faulkner 2001):

$$J(x,t) = -D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} - \frac{zFDC}{RT} \frac{\partial \phi(x,t)}{\partial x} + C(x,t)V(x,t) \quad (2.1)$$

Bu eşitlikteki D; cm^2s^{-1} biriminde difüzyon katsayısı, $\partial C(x,t)/\partial x$ ifadesi t anında, elektrot yüzeyine x kadar uzaklıkta bulunan noktadaki derişim farkının uzaklık ile değişimi, $\partial \phi(x,t)/\partial x$ terimi t anında, elektrot yüzeyine uzaklığı x olan bir noktadaki taneciğin potansiyelinin uzaklık ile değişimini, z ve C ise sırası ile elektro aktif türün yükü ve derişimini, V(x,t) ise elektro aktif türün x doğrultusundaki hidrodinamik hızını sembolize etmektedir.

Voltametik çalışmalarda ölçülen akım (i) yukarıda tanımlanan ve matematiksel eşitliği verilen akı ile doğru orantılıdır ve Eşitlik 2.2 ile ifade edilir:

$$i = -nFAJ \quad (2.2)$$

Bu eşitlikteki i amper cinsinden ölçülen akımı, n , 1 mol elektro aktif tür kullanıldığında aktarılan elektron sayısını (mol e^- /mol molekül), F , Faraday sabitini (96485 C/mol e^-), A , cm^2 cinsinden elektrodun yüzey alanını sembolize etmektedir. Eşitlikteki “-” işareti ise akımın indirgenme veya yükseltgenme yönünde olduğunu ifade etmek için kullanılmaktadır.

Elektrokimyasal dönüşümde her üç kütle aktarımında etkin olması durumunda Eşitlik 2.1’in çözümü oldukça zor ve karmaşık olacaktır. Bu zorluk ve karmaşa akım ile analit derişimini bağlantılandırmada da ortaya çıkmaktadır. Bu karmaşanın önüne; analit ortamına analitin derişiminden göreceli olarak daha yüksek derişime sahip, elektrokimyasal olarak aktifliğe sahip olmayan bir tuz çözeltisi (destek elektrolit) eklenerek ve çalışma süresince çözeltinin durgun koşullarda tutulması (karıştırılmaması) ile geçilebilir. Böylece elektro aktif türün elektrot yüzeyine taşınmasında etkin olan tek faktör difüzyon olacaktır. Bu durumda elektrot yüzeyinin çok yakınında veya elektrot yüzeyinde gerçekleşecek olan elektrokimyasal değişiklik çözelti-elektrot ara yüzeyinde analit ve ürün açısından bir derişim farkı oluşturacaktır. Bu derişim farkı ise elektron aktarımını gerçekleştirmiş olan türün elektrottan çözeltiye doğru, henüz elektron aktarımına katılmamış olan türlerin ise çözeltiden elektrot yüzeyine doğru difüzyonuna sebep olacaktır. Bu şartlarda *Fick* tarafından geliştirilen difüzyon yasasına göre; difüzyon hızı, yani “**akı**” oluşturulan derişim farkının eğimi ile doğru orantılıdır ve Eşitlik 2.1’de verilen ilk terim geçerli olacaktır.

$$J(x,t) = -D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \quad (2.3)$$

Oluşturulan son eşitlikteki akı (J), Eşitlik 2.2’de yerine konulursa akım için;

$$i = nFAD \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \quad (2.4)$$

eşitliği oluşturulmuş olur. Bu eşitlikten de anlaşılacağı üzere deneysel çalışmanın (potansiyel uygulamanın) her anında oluşan akım elektro aktif türün derişim farkı ile doğru orantılıdır.

Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrodu ve çalışmaların yapıldığı tür arasında gerçekleşen elektron aktarımının gerçekleşebileceği iki bölge söz konusudur:

- i. Çözelti – elektrot ara yüzeyi
- ii. Elektrot yüzeyi

Elektron aktarımının çözelti-elektrot ara yüzeyinde gerçekleştiği elektrokimyasal dönüşümler kinetik kontrollü veya difüzyon kontrollü sistemler olarak adlandırılırken, bu aktarımın elektrot yüzeyinde gerçekleştiği dönüşümlere ise adsorpsiyon kontrollü sistemler denilmektedir. Dönüşümlü voltametri, gerçekleşen elektrokimyasal değişimin yukarıda verilen iki temel sistemden hangisine ait olduğunu belirlemede en sık kullanılan deneysel yöntemdir. Bunun belirlenmesinde dönüşümlü voltametri çalışmalarında elektro aktif türün derişimi sabit tutularak tarama hızı çalışması yapılır. Bu çalışmalarda potansiyel tarama hızı sistematik olarak değiştirilir ve işaretine bakılmaksızın pik akımının tarama hızı ile değişimi incelenir. Bu incelemede aşağıda tanımlanan grafikler oluşturulur:

- i. Tarama hızına karşı pik akımı ($i_p - v$)
- ii. Tarama hızının kareköküne karşı pik akımı ($i_p - \sqrt{v}$)
- iii. Tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması ($\log i_p - \log v$)

Oluşturulan bu grafiklerden birincisinin ($i_p - v$) doğrusal bulunması ve üçüncünün ($\log i_p - \log v$) eğiminin 1,0 değerine yaklaşması incelenen elektrot aktarımının elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini (adsorpsiyon kontrollü olduğunu) belirtirken; ikinci grafiğin ($i_p - \sqrt{v}$) doğrusal ve üçüncü grafiğin eğiminin 0,5 değerine yaklaşması ise incelenen elektron aktarımının elektrot – çözelti ara yüzeyinde gerçekleştiğini (difüzyon kontrollü olduğunu) göstermektedir (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001, Çakırer ve Taşdemir 2010). Dönüşümlü voltametrde bu incelemeler yapılırken tarama hızı değerlerinin çok yüksek ($v \geq 2,0 \text{ Vs}^{-1}$) veya çok düşük ($v \leq 20 \text{ mVs}^{-1}$) değerlerde olmamasına dikkat edilmelidir. Zira tarama hızının saniyede birkaç mili volt olduğu çok düşük değerlerde tutulması durumunda söz konusu elektro aktif türün elektrot yüzeyine adsorbe olmak için yeterli zaman bulacağı ve incelenen dönüşümün difüzyon kontrollü olsa bile adsorpsiyon kontrollüymüş gibi görüleceği bilinmelidir. Tarama hızının saniyede birkaç

volt gibi yüksek seçilmesi durumunda ise adsorpsiyon kontrollü mekanizmalardaki elektro aktif türün yüzeye yeterince adsorbe olması zaman yetersizliğinden dolayı mümkün olmayabilecek ve bu durumda sistem difüzyon kontrollüymüş gibi algılanacaktır. Bundan dolayı dönüşümlü voltametri çalışmalarında sistemin adsorpsiyon kontrollü mü, difüzyon kontrollü mü olduğuna karar vermek için yapılan tarama hızı çalışması makul seviyedeki tarama hızı değerlerinde yapılmalıdır.

Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tarama hızı çalışması sadece yukarıdaki sonuçların elde edilmesi için yapılmaz. Tarama hızı çalışmaları dönüşümlerde gerçekleştirilecek olası radikalik ara ürünlerin tespitinde ve bu ara ürünlerin çalışmaların yapıldığı ortamdaki göreceli kararlılığının belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda seçilen tarama hızı değeri önem kazanmaktadır. Ancak çok yüksek tarama hızı ($v \geq 50 \text{ Vs}^{-1}$) seçilerek yapılan çalışmalarda oldukça yüksek kapasitif akımla karşılaşılacağı göz önünde tutulmalıdır. Bu tür çalışmalarda çözeltiyeye elektro aktif tür eklenmeden alınan ölçümlerdeki akım değerleri elektro aktif tür eklendikten sonra alınan ölçümlerdeki akım değerlerinden çıkarılarak net akımların kullanılması daha doğru sonuçlar verebilmektedir.

Yapılan çalışmalarda elektrokimyasal dönüşümün hangi olay tarafından kontrol edildiğinin (difüzyon/adsorpsiyon) anlaşılması için daha detaylı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda yine tarama hızı çalışmalarında yukarıda verilenlerin yanında şu grafiklerde oluşturulmaktadır (Wopschall ve Shain, 1969):

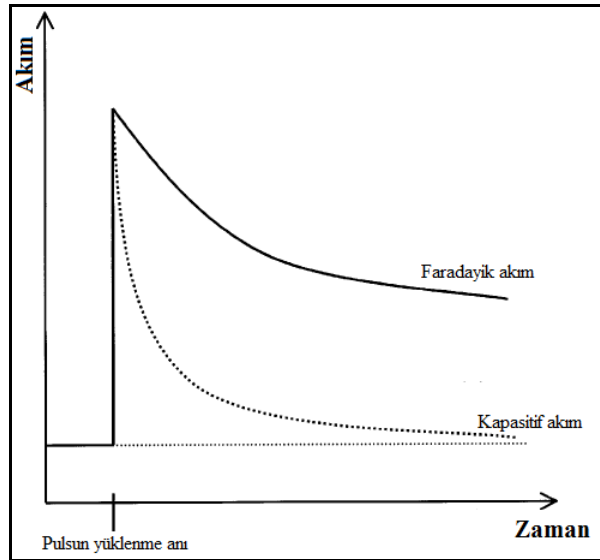
- i. Derişime karşı pik akımının derişime oranı ($i_p/C - C$)
- ii. Tarama hızına karşı pik akımının derişim ve tarama hızının çarpımına oranı ($i_p/Cv - v$)
- iii. Tarama hızına karşı pik akımının derişim ve tarama hızının karekökünün çarpımına oranı ($i_p/Cv^{1/2} - v$)

Bu çalışmalarda birinci grafiğin azalan bir yaklaşım göstermesi, ikinci grafiğin makul değerlerdeki tarama hızlarında yaklaşık olarak sabit kalması, üçüncü grafiğin ise artan

yönde yaklaşım sergilemesi incelenen elektron aktarımının yüzeye adsorbe olan türler ile elektrot arasında gerçekleştiğini göstermektedir.

2.4.2 Puls voltametri

Elektrokimyasal çalışmalarda daha öncede belirtildiği gibi ölçülen akıma Faradayik akım ve Faradayik olmayan (kapasitif) akım bileşenlerinin katkıları vardır. İdeal bir elektrokimyasal çalışmada hedeflenen ise kapasitif akım katkısının asgari seviyeye çekilmesidir. Yapılan onca çalışma ve iyileştirme çabalarına rağmen bir ölçümdeki kapasitif akımın etkisi sıfırlanabilmiş değildir. Son zamanlarda kapasitif akımın sıfırlanması yerine Faradayik akımın kapasitif akıma oranının maksimum olacağı yöntemlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Belirli aralıklarla çalışma elektroduna potansiyel pulsları uygulanan ve puls uygulamalarının öncesinde ve/veya sonrasında akım ölçümü yapılarak Faradayik akımın kapasitif akıma oranının kayda değer şekilde arttırıldığı voltametrik yöntemler puls voltametri olarak isimlendirilmektedir. Bu yöntemlerde puls şeklinin ve ölçüm zamanının seçilen puls yöntemine göre farklılıkları olsa da genel olarak akım ölçümleri kapasitif akımın Faradayik akıma göre ihmal edilebilecek kadar azaldığı bir zamanda yapılmaktadır. Şekil 2.9'da çalışma elektroduna potansiyel pulsu uygulandığında her iki akım bileşeninin zamanla nasıl değiştiği görülmektedir (Wang 2000, Scolz *vd.* 2010).

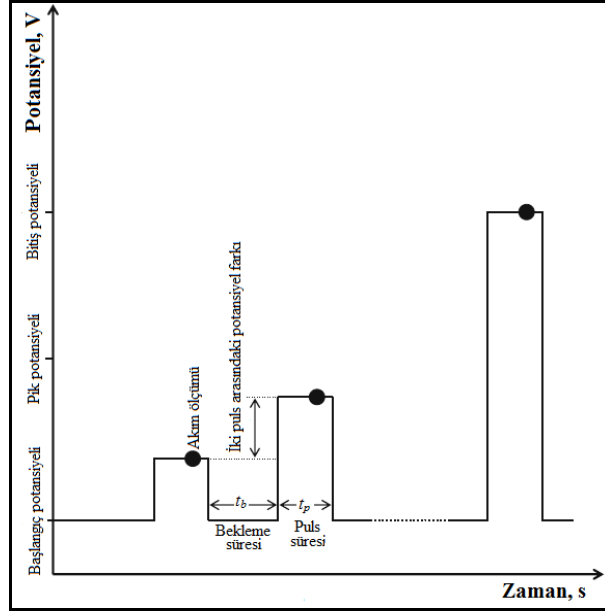


Şekil 2.9 Çalışma elektroduna puls uygulamasından sonra zamanla Faradayik ve kapasitif akım bileşenlerinin değişimi

Puls voltametrisinin birçok çeşidi olmasına rağmen burada tez çalışmasında kullanılan üç farklı puls voltametrisinden bahsedilecektir:

2.4.2.1 Normal puls voltametri (NPV)

NPV yönteminde çalışma elektroduna Şekil 2.10'da gösterilen formda bir potansiyel pulsu uygulanır (Bard ve Faulkner 2001, Zoski *vd.* 2007, Scholz *vd.* 2010). Bu yöntemde çalışma elektroduna uygulanan potansiyel indirgenme potansiyelinden daha negatif tutulunca indirgenme, yükseltgenme potansiyelinden daha pozitif potansiyel değerlerinde tutulunca yükseltgenme gerçekleşir. Her bir potansiyel pulsu uygulanmadan önce çalışma elektrodunun potansiyeli bekleme süresi olarak isimlendirilen t_b kadarlık zaman diliminde başlangıç potansiyelinde tutulur. Bu süreçte eğer çalışmaların yapıldığı elektron aktarımı tersinir ise puls uygulamasında oluşturulan ürün tekrar başlangıç molekülüne dönüşerek başlangıçtaki hücre kompozisyonu oluşturulmuş olur. Bu yöntem başlangıç moleküllerinin tekrar oluşturulmadığı (tersinmez) dönüşümler için kullanıldığında ise bekleme süresinin uzun tutulmasıyla her bir pulstan sonra başlangıç hücre kompozisyonu elde edilir. Çünkü bekleme süresi uzatılınca elektrokimyasal dönüşüm sonucu oluşan ürün elektrot yüzeyinden veya elektrot yüzeyinin çok yakınından çözelti içersine difüze olur ve elektrot çevresindeki derişim kompozisyonu başlangıçtaki haline geri döner. Bu yöntemde puls süresi olarak bilinen t_p 'nin birkaç mili saniye gibi kısa süreler seçilememesi veya bekleme süresinin birkaç saniye gibi uzun tutulacağı şartlar kaçınılmaz olursa, çalışma elektroduna puls uygulamasından sonra çözeltinin kısa bir süre karıştırılması faydalı olacaktır.



Şekil 2.10 Normal Puls voltametrisinde kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri

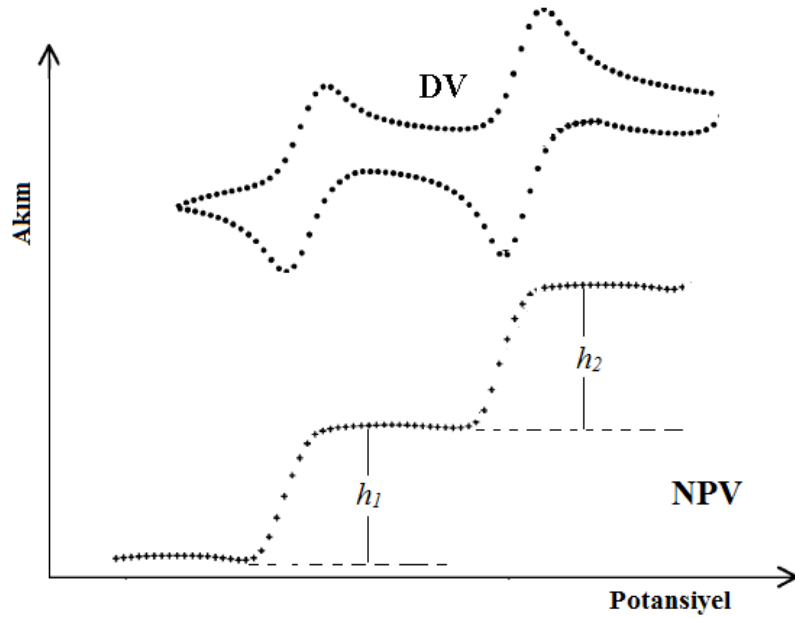
NPV çalışmalarında Şekil 2.10'da verilen yöntem parametreleri optimize edilerek yapılan ölçümlerde; bazı kaynaklarda akım, (i), bazı kaynaklarda ise limit akımı, (i_{lim}), şeklinde sembolize edilen ve Şekil 2.11'de h_1 ve h_2 olarak gösterilen dalga yükseklikleri ölçülür ve bu yüksekliklerin akım olarak eşdeğeri Eşitlik 2.5'te verilen bağıntı ile hesaplanır (Scholz *vd.* 2010):

$$i = \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t_p}} \quad (2.5)$$

Bu eşitlikte:

- n : aktarılan elektron sayısı (mol e^- / mol molekül)
- F : Faraday sabiti (96485 C/mol e^-)
- A : elektrot alanı (cm^2)
- C : elektroaktif türün derişimi (mol/ cm^3)
- D : elektroaktif türün difüzyon katsayısı (cm^2/s)
- t_p : puls süresi (s)

Bu eşitlikten de anlaşıldığı üzere, NPV’de akım veya limit akımı elektron sayısı, n , elektrodun yüzey alanı, A , elektroaktif türün derişimi, C , ve difüzyon katsayısının karekökü, \sqrt{D} , ile doğru orantılı, puls süresinin karekökü, $\sqrt{t_p}$ ile ise ters orantılıdır. Şekil 2.5’te iki farklı potansiyelde elektrokimyasal dönüşüme uğrayan bir molekülün normal puls voltamogramı (NPV) ve aynı molekülün dönüşümlü voltamogramı (DV) verilmiştir (Scholz *vd.* 2010). NPV çalışmalarında her pulstan sonra çalışma koşulları ve çözelti bileşimi başlangıç koşullarındaki gibi ayarlanabilirse bulunan limit akım değerleri veya yüksekliklerinin oranı bu dönüşümlerde transfer edilen elektron sayılarının oranına eşittir.



Şekil 2.11 İki farklı potansiyelde elektrokimyasal dönüşüme uğrayan bir molekülün normal puls (NPV) ve dönüşümlü voltametri (DV) yöntemlerinde alınan voltamogramları

NPV, bu yöntemde kullanılan elektro aktif türün veya elektrokimyasal dönüşüm sonucu oluşan ürünün elektrot yüzeyine adsorbe olup olmadığını kontrol etmek için oldukça faydalı ve pratik bir yöntemdir. Zira bu yöntemde kullanılan başlangıç molekülünün yüzeye adsorpsiyonu söz konusu olduğunda Şekil 2.11’de NPV için verilen voltamogram dalga şeklinden pik şekline dönüşmektedir (Scholz *vd.* 2010). Adsorpsiyonun kuvvetli olması, adsorpsiyon durumunda derişimin azaltılması ve puls süresinin kısaltılması durumunda bu piklerin şekli daha düzgün gözlenmektedir.

NPV çalışmalarında ana dalgadan daha önce bir ön-dalga gözlenmesi ise elektrot tepkimesi sonucu oluşan ürünün elektrot yüzeyine adsorbe olduğunun göstergesidir.

2.4.2.2 Diferansiyel puls voltametri (DPV)

DPV, elektrokimyasal ve elektro analiz çalışmalarda kapasitif akımın elemine edilmesi için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemin kapasitif akımı diğer yöntemlere göre daha etkin olarak elemine edebilmesinin altında çalışma elektroduna uygulanan pulsun şekli ve bu uygulamada akımın ölçülme şekli yatar. Zira DPV çalışmalarında aynı puls için iki akım ölçümü yapılır. Bu ölçümlerden ilki puls uygulamasının hemen öncesinde (daha pulsu uygulamadan) ikincisi ise uygulanan pulsun bitiminden hemen önce yapılır. Yöntemin akımı olarak ise ikinci akım ile birinci akımın farkı alınır. Bu fark alma işlemi kapasitif akımın elemine edilmesine olanak sağlar ve akımlar arasındaki fark Eşitlik 2.6'da da gösterildiği gibi elektro aktif türün derişimi ile doğru orantılıdır (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001):

$$\Delta i = \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t_p}} \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \right) \quad (2.6)$$

Bu eşitliğin ilk kısmındaki terimler Eşitlik 2.5'teki terimler ile aynıdır ve bu eşitliğin Eşitlik 2.5'ten tek farkı σ terimlerinin bulunduğu ikinci kısımdır. Bu kısımdaki σ terimi:

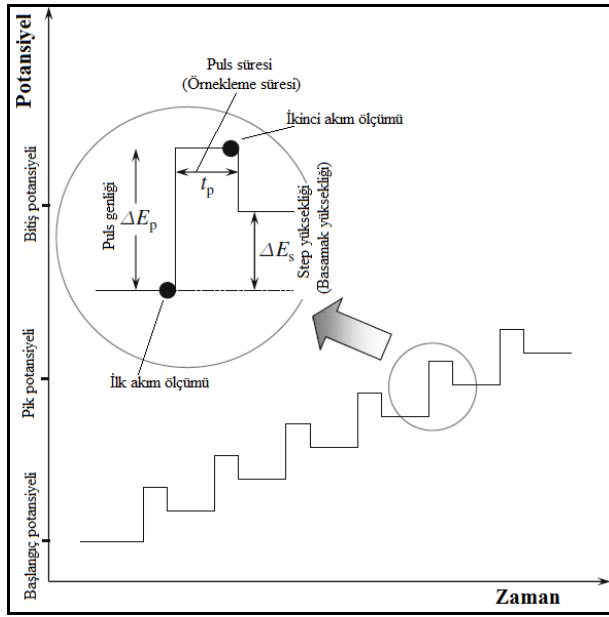
$$\sigma = e^{\frac{nF\Delta E}{2RT}} \quad (2.7)$$

eşitliği ile verilir. DPV' de pik akımının yarı değerindeki pik genişliğine yarı pik genişliği denir (YPG) ve puls genliğinin makul seviyede küçük olduğu ölçümlerde:

$$YPG(mV) = \frac{3,52RT}{nF} \quad (2.8)$$

bağıntısına eşittir. Bu eşitlik kullanılarak elektrokimyasal dönüşümde (elektrot mekanizmasında) aktarılan elektron sayısı hesaplanabilir.

Ayrıca DPV’ de alınan potansiyel-akım grafiği NPV’ deki gibi dalga değil pik şeklindedir. Bu yöntemde çalışma elektroduna uygulanan pulsun şematize edilmiş hali Şekil 2.12’de verilmiştir (Scholz *vd.* 2010). DPV yönteminde kapasitif akımın bu kadar minimize edilebilmesinin yönteme kattığı en önemli üstünlüklerden birisi birkaç nanomolar ve mikro molar seviyedeki birçok türün elektro analizine olanak sağlamasıdır. Ayrıca bu yöntem ile pik potansiyel değerleri yeterince farklı olan ve karışım halinde bulunan bazı türlerin eş zamanlı tayini de mümkün olabilmektedir.



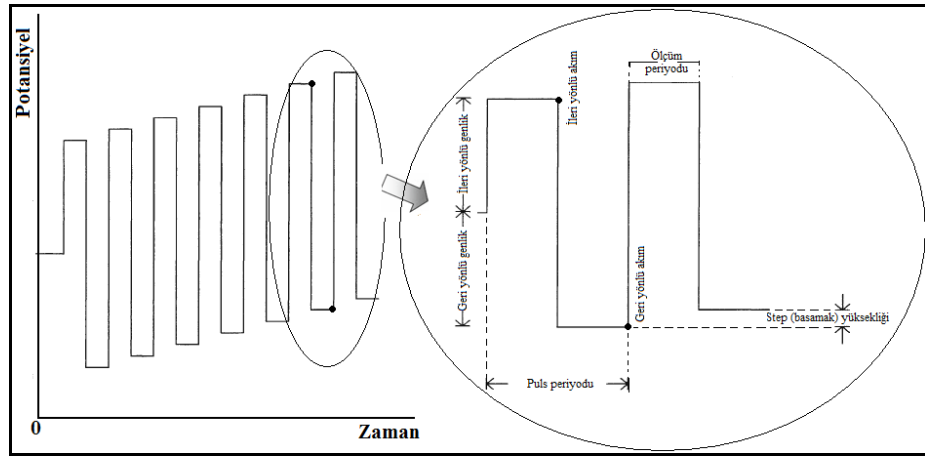
Şekil 2.12 DPV yönteminde kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri

2.4.2.3 Kare dalga voltametri (KDV)

KDV, basamak şekilli yüksek genlikteki simetrik kare-dalga formunun üst-üste getirilmesiyle oluşan potansiyel pulslarının çalışma elektroduna uygulandığı bir diferansiyel puls tekniğidir. Bu yöntemde de DPV yönteminde olduğu gibi her bir puls döngüsünde iki defa akım ölçülmektedir. DPV yönteminden ana farkları ise geri yönde de puls uygulanması sonucu, akımın ileri yönde uygulanan pulsun bitişi ile geri yönde uygulanan pulsun bitişinde ölçülmesi ve net akım olarak iki akım arasındaki farkın alınmasıdır (Şekil 2.13). Bu durumda hesaplanan net akım hem ileri yönde uygulanan pulsun akımından hem de geri yönde uygulanan pulsun akımından daha büyük olacaktır. Çünkü ileri yönde uygulanan pulsun akımı pozitif, geri yönlü pulsun akımı ise negatiftir. Bu durumda elde edilen potansiyel-akım eğrisi (voltamogram) yarı pik

potansiyeline göre simetrik ve akımı elektro aktif türün derişimi ile doğrusal değişen bir grafikdir (Bard ve Faulkner 2001, Wang 2000).

KDV'yi DPV'den ayıran en önemli iki özellik KDV'de yöntemin tarama hızının ($v = \Delta E f$) ve akımın daha yüksek olmasıdır. Hızın yüksek olması rutin analizlerde zaman tasarrufunun yanında çalışma elektrodu olarak damlayan cıva kullanıldığında bir tek damlada ölçüm yapılabilmesi sağlarken, akımın yüksek olması daha yüksek duyarlığa ve daha düşük alt tayin sınırına sahip tayin yöntemlerinin geliştirilmesini sağlamaktadır. ΔE değerinin 0 olduğu durumda KDV yönteminde tarama hızı faktörü elemine edilmiş olur ve yöntem verileri DPV yöntemi kullanılarak elde edilen verilere yaklaşır.



Şekil 2.13 KDV'de kullanılan dalga formu ve yöntem parametreleri

KDV yönteminde ileri yönlü pulsun sonunda okunan akım ile geri yönlü pulsun sonunda okunan akım arasındaki farka net akım, (Δi), denir ve bu değer:

$$\Delta i = nFA\Delta\phi C\sqrt{Df} \quad (2.9)$$

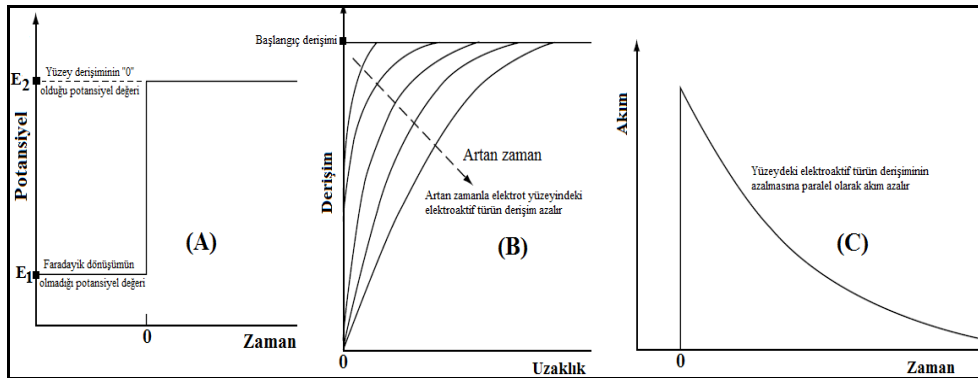
eşitliği ile ifade edilir. Bu eşitlikte Eşitlik 2.5'te verilen terimlerin dışında ϕ ve f terimleri kullanılmıştır ve bu terimlerden f , uyarma sinyalinin frekansını sembolize ederken, ϕ boyutsuz net akım fonksiyonu olarak isimlendirilen bir fonksiyonu sembolize eder. Boyutsuz net akım fonksiyonu, aktarılan elektron sayısı ile basamak yüksekliğinin çarpımına, ($n\Delta E$), bağlı olarak değişir (Scholz vd. 2010).

2.4.3 Kronoamperometri (KA)

KA, içerisinde elektro aktif türün bulunduğu ve karıştırılmayan çözeltiliye daldırılmış durgun bir çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin, pik potansiyelini de kapsayacak şekilde Faradayik tepkimenin gerçekleşmediği değerden yüzeydeki elektro aktif türün derişiminin ‘0’ olduğu değere tek basamak olarak değiştirilmesi sonucu elde edilen akım-zaman grafiğinin incelendiği elektro analitik yöntemdir. Şekil 2.14’te bu yöntemde elektroda uygulanan potansiyelin zamanla değişimi (A), elektrot yüzeyinin yakınlarında bulunan elektro aktif türün derişiminin zamanla değişimi (B) ve bu uygulamalar sonucunda elde edilen akım – zaman grafiği (C) verilmiştir (Bard ve Faulkner 2001, Zoski vd. 2007, Scholz vd. 2010). Bu koşullarda çözeltili içerisinde meydana gelen kütle taşınımı sadece difüzyon olayı ile sağlanır ve zamana karşı akım grafiği bir nevi elektrot yüzeyinin çok yakınındaki bölgede gerçekleşen derişim değişimini ifade eder. Bu durumda elde edilen akım değeri Cottrell eşitliği olarak ta bilinen Eşitlik 2.10 ile ifade edilir (Wang 2000):

$$i(t) = \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t}} \quad (2.10)$$

Bu eşitlikte kullanılan terimler Eşitlik 2.5’te kullanılan terimler ile aynı terimlerdir.



Şekil 2.14 Kronoamperometrik yöntemin parametreleri, (A) potansiyel-zaman dalgasının formu, (B) elektrot yüzeyine çok yakın bölgelerdeki elektro aktif türün derişiminin zamanla değişimi, (C) sistemden alınan akım-zaman cevabı

Eşitlik 2.10'dan da anlaşılacağı üzere KA yöntemi genel olarak elektro aktif türlerin difüzyon katsayısının hesaplanması için kullanılmaktadır.

2.4.4 Kronokulometri (KK)

KK yönteminin temeli Faraday tarafından keşfedilen ve Eşitlik 2.11'de verilen eşitlikler ile ifade edilen iki temel yasaya dayanmaktadır:

- Elektroliz boyunca elektrotta biriktirilen veya elektrot yüzeyinden salınan madde miktarı devreden geçen akım ve elektroliz süresi ile orantılıdır.
- Elektroliz sonucu oluşturulan ürünün miktarı bu ürünün eşdeğer kütlesi ile orantılıdır.

$$Q = \int_0^t i dt = neF = MVeF \quad (2.11)$$

Bu eşitlikte;

Q : Elektroliz boyunca sistemden geçen toplam elektriksel yük (Kulon, C)

i : Elektroliz süresince dönüşümler sonucu oluşturulan akım (Amper, A)

t : Elektroliz süresi (saniye, s)

n : Elektroliz sistemine konulan elektro aktif maddenin miktarı (mol)

F : Faraday sabiti (96485 C/mol e⁻)

e : 1 mol elektro aktif maddenin elektroliz süresince aktardığı elektron sayısı (mol e⁻/mol molekül)

Bu eşitlikteki elektro aktif maddenin mol sayısı yerine molar derişimi, M , ile elektrolizde kullanılan çözelti hacminin çarpımı (MV) yazılırsa Eşitlik 2.11'de verilen son kısım elde edilir.

KK yönteminde sistemden geçen toplam yükün üç farklı bileşeni vardır:

- Elektriksel çift tabakadaki kapasitif yüklenme için harcanan yük miktarı (Q_{ct})
- Çalışma elektrodu yüzeyine adsorbe olan elektro aktif türün elektrolizi için harcanan yük miktarı (Q_{ads})

- Elektrot yüzeyine veya yüzeyin çok yakın bölgelerine difüzyon ile taşınan elektro aktif türün elektrolizi için harcanan yük miktarı (Q_{dif})

KK deneylerinde yukarıda verilen her üç bileşen için harcanan yükün toplamı elde edilir (Brett ve Brett 1992). Bu bileşenlerden difüzyon kaynaklı olan üçüncü bileşen Eşitlik 2.11'de verilen akım ifadesi yerine KA yöntemde verilen Cottrell eşitliği yazılınca hesaplanan yük miktarıdır ve bu akım Eşitlik 2.12 ile hesaplanmaktadır.

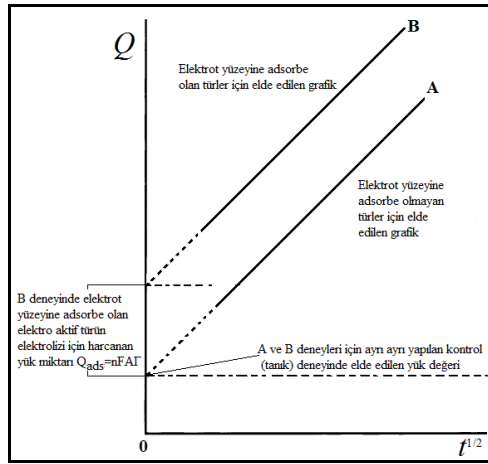
$$Q_{dif} = \int_0^t i dt = \int_0^t \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t}} dt = \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi t}} t = \frac{nFAC\sqrt{D}}{\sqrt{\pi}} \sqrt{t} \quad (2.12)$$

KK yönteminde hesaplanan toplam yüke katkı veren adsorpsiyon kaynaklı yük ise:

$$Q_{ads} = nFA\Gamma \quad (2.13)$$

eşitliği ile hesaplanmaktadır (Wang 2000). Bu eşitlikte daha önce kullanılan eşitliklerdeki sembollerden farklı olarak Γ sembolü kullanılmıştır. Bu sembol, yüzey kaplama katsayısı olarak bilinmekte ve mol/cm² birimi ile değerlendirilmektedir. KK yönteminde elektroliz süresince zamanın kareköküne karşı sistemden geçen toplam yük grafiğe geçirildiğinde Şekil 2.15'te verilen grafik elde edilir. Şekil 2.15'te iki farklı KK deneyine ait Q-t grafiği verilmiştir. Sonuçları Şekil A ile gösterilen deneyde, kullanılan elektro aktif tür çalışma elektrodunun yüzeyine adsorbe olmamakta, B ile gösterilen deneyde ise kullanılan elektro aktif tür çalışma elektrodunun yüzeyine adsorbe olmaktadır. Her iki grafik deneyin başlangıç anındaki yükü hesaplamak üzere ekstrapole edildiğinde, yük eksenini kesen noktadaki yük miktarı A deneyinde sadece elektriksel çift tabakada gerçekleşen kapasitif yüklenme için harcanan yük miktarını verir. B deneyinde ise adsorbe olan elektro aktif türün elektrolizi ve elektriksel çift tabakadaki kapasitif yüklenme için harcanan yükün toplamını verir. Bu deney elektro aktif türlerin bulunmadığı kontrol (tanık) çözeltileri için tekrarlandığında her iki durum için de zaman eksenine paralel olan alttaki kesikli çizgi elde edilir. Bu çizginin başlangıç noktası (yük eksenini kestiği nokta) ile ekstrapolasyon sonucu Şekil A'da elde edilen kesim noktasının aynı olması, A deneyinde kullanılan elektro aktif türün elektrot yüzeyine adsorbe olmadığını gösterir. B deneyinde ise tanık deney sonucunda bulunan kesim

noktası ile numunenin bulunduğu çözelti için bulunan kesim noktalarının farklı olmasındeyde kullanılan elektro aktif türün elektrot yüzeyine adsorbe olduğunu gösterir. B deneyi için iki kesim noktası arasındaki fark alındığında yüzeye adsorbe olan türün elektrolizi için harcanan yük miktarı, bu miktar Eşitlik 2.13'te kullanıldığında ise yüzey kaplama katsayısı hesaplanmış olur. Her iki deneyde elde edilen doğruların eğimleri ve deneylerde kullanılan sabit büyüklükler Eşitlik 2.12'de kullanıldığında çalışmalarda kullanılan elektro aktif türlerin difüzyon katsayıları hesaplanabilir.



Şekil 2.15 Kronokulometri çalışmalarında elektrot yüzeyine adsorbe olmayan türler (A) ve adsorbe olan türler (B) için elde edilen yük-zaman grafikleri

2.4.5 Bulk Elektroliz (BE)

En genel anlamıyla elektroliz, elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştürülme işlemidir. Elektrokimyasal anlamda elektroliz ise elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşümü sırasında indirgenme ve/veya yükseltgenme olayları ile hedeflenen atom, molekül veya maddelerin elde edilmesidir. Endüstriyel ölçekte üretimin yapıldığı kuruluşlarda elektroliz yöntemi vazgeçilmez bir elektrokimyasal yöntemdir. Mikro ölçekte çalışmaların yapıldığı Ar-Ge ve bilimsel araştırma laboratuvarlarında elektroliz endüstriyel ölçekteki kadar fonksiyonel bir yöntem değildir. Bu çalışmalarda elektroliz yöntemi elektrokimyasal davranışın ve elektrot tepkime mekanizmasının belirlenmesi çalışmalarında aktarılan elektron sayısının hesaplanması için kullanılmaktadır. Aktarılan elektron sayısının hesaplanmasında iki farklı elektroliz uygulaması vardır (Brett ve Brett 1992):

- *Sabit potansiyelli bulk elektroliz:* Elektroliz süresince çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin sabit tutulduğu yöntemdir. İndirgenme davranışı için çalışma elektroduna, pik potansiyelinden daha katodik, yükseltgenme davranışı için ise pik potansiyelinden daha anodik bir potansiyel uygulanarak elektroliz yapılmaktadır. Uygulama süresince potansiyel kontrol edildiği için kombine halde bulunup farklı potansiyellerde elektrokimyasal dönüşüme uğrayan moleküllerin seçimli şekilde elektroliz edilmesinde uygulama alanı bulan bir yöntemdir.
- *Sabit akımlı bulk elektroliz:* Elektroliz süresince sistemden geçen akımın sabit tutulduğu yöntemdir. Bu yöntemde akımın sabit olabilmesi için elektrolizin farklı sürelerinde çalışma elektroduna uygulanan potansiyel değeri değişmektedir. Farklı zamanlarda farklı potansiyel uygulanması bu yöntemde seçimli elektroliz yapılmasını imkânsız kılmaktadır.

Elektroliz yönteminde deney boyunca sistemden geçen elektriksel yükün sayımı yapılmakta ve Faraday yasaları kullanılarak elektron sayısı hesaplanmaktadır. Ancak elektrolizde geçen zaman ile sıradan bir voltametrik yöntemde gerçekleşen elektrot tepkimesi için harcanan zaman oldukça farklı ölçeklerde olduğundan elektroliz çalışmaları elektrot tepkime mekanizmalarının aydınlatılmasında bazen sonuçsuz kalabilmektedir.

2.4.6 Voltametrik sıyırma yöntemleri

Voltametrik sıyırma yöntemleri, eser miktardaki elektro aktif türlerin analizi için geliştirilen oldukça yüksek duyarlılığa sahip elektro analitik yöntemlerdir. Bu yöntemlerin yüksek duyarlılığa sahip olmasının en önemli sebebi elektro aktif türün yöntem sonucunda alınan ölçümde sinyal-gürültü oranını kayda değer derecede artıracak şekilde çalışma elektrodu yüzeyine biriktirilebilmesidir. Ön deriştirme basamağı olarak ta kabul edilen bu biriktirme işleminden sonra belirli bir yönde (anodik veya katodik yönde) potansiyel taraması yapılarak sıyırma işlemi gerçekleştirilir. Biriktirme basamağından sonra yapılan sıyırma basamağında yüzeye biriktirilen tür yükseltgenerek sıyırılacaksa potansiyel taraması anodik yönde (yükseltgenme yönünde)

yapılır ve yöntemin adı **‘Anodik Sıyırma Voltametri’** ,(ASV), olur. Bunun yanında yüzeye biriktirilen türün sıyırılması indirgenerek gerçekleştirilecekse potansiyel taraması katodik yönde (indirgenme yönünde) yapılır, bu durumda yöntem **‘Katodik Sıyırma Voltametri’**, (KSV), adını alır. Sıyırma voltametrinde yöntem elektro aktif türün yüzeye biriktirilmesi için seçilen potansiyel değerine göre de farklı isimler alır. Şöyle ki, biriktirme için seçilen potansiyel değerinde herhangi bir elektron transferi gerçekleşmiyorsa (elektrokimyasal dönüşüm gerçekleşmiyorsa) biriktirme adsorptif biriktirme, yöntemin adı ise **‘Adsorptif Sıyırma Voltametri’** ,(AdSV), olur. Adsorptif biriktirme basamağından sonra uygulanan sıyırma basamağı yükseltgenme yönünde yapılırsa yöntem **‘Anodik Adsorptif Sıyırma Voltametri’** ,(AAdSV), adsorptif biriktirme basamağından sonra uygulanan sıyırma basamağı indirgenme yönünde yapılırsa yöntem **‘Katodik Adsorptif Sıyırma Voltametri’** ,(KAdSV), adını alır. Bu durumda, adsorptif sıyırma yöntemi için indirgenme davranışı çalışılan elektro aktif türün elektrot yüzeyine biriktirilmesi için seçilen potansiyel değeri türün indirgenme potansiyelinden daha küçük bir potansiyel değerinde (türün indirgenme potansiyeline göre daha anodik değerinde), yükseltgenme davranışı çalışılan elektro aktif türün yüzeye biriktirilmesi için ise türün yükseltgenme potansiyelinden daha küçük bir potansiyel değerinde (türün yükseltgenme potansiyeline göre daha katodik bir değerinde) biriktirme yapılmalıdır (Bond, A.M. 1980, Zoski vd. 2007, Barek vd. 2008, Scholz vd. 2010).

Analizi yapılacak elektro aktif türün elektron aktarımı yaparak elektrot yüzeyine biriktiriliyorsa yöntemin adı sıyırma voltametridir. Bu durumda anodik sıyırma voltametrisi için biriktirme basamağında tür indirgenerek elektrot yüzeyinde biriktirilir. Sıyırma basamağında yükseltgenme yönünde tarama yapıldığından indirgenerek yüzeyde biriktirilen tür tekrar yükseltgenerek elektrot yüzeyinden sıyırılır. Katodik sıyırma voltametrinde ise biriktirme basamağında madde yükseltgenerek elektrot yüzeyinde biriktirilir. Sıyırma basamağında katodik yönde potansiyel taraması yapılarak yüzeyde yükseltgenme sonucu biriktirilen madde indirgenerek yüzeyden sıyırılır.

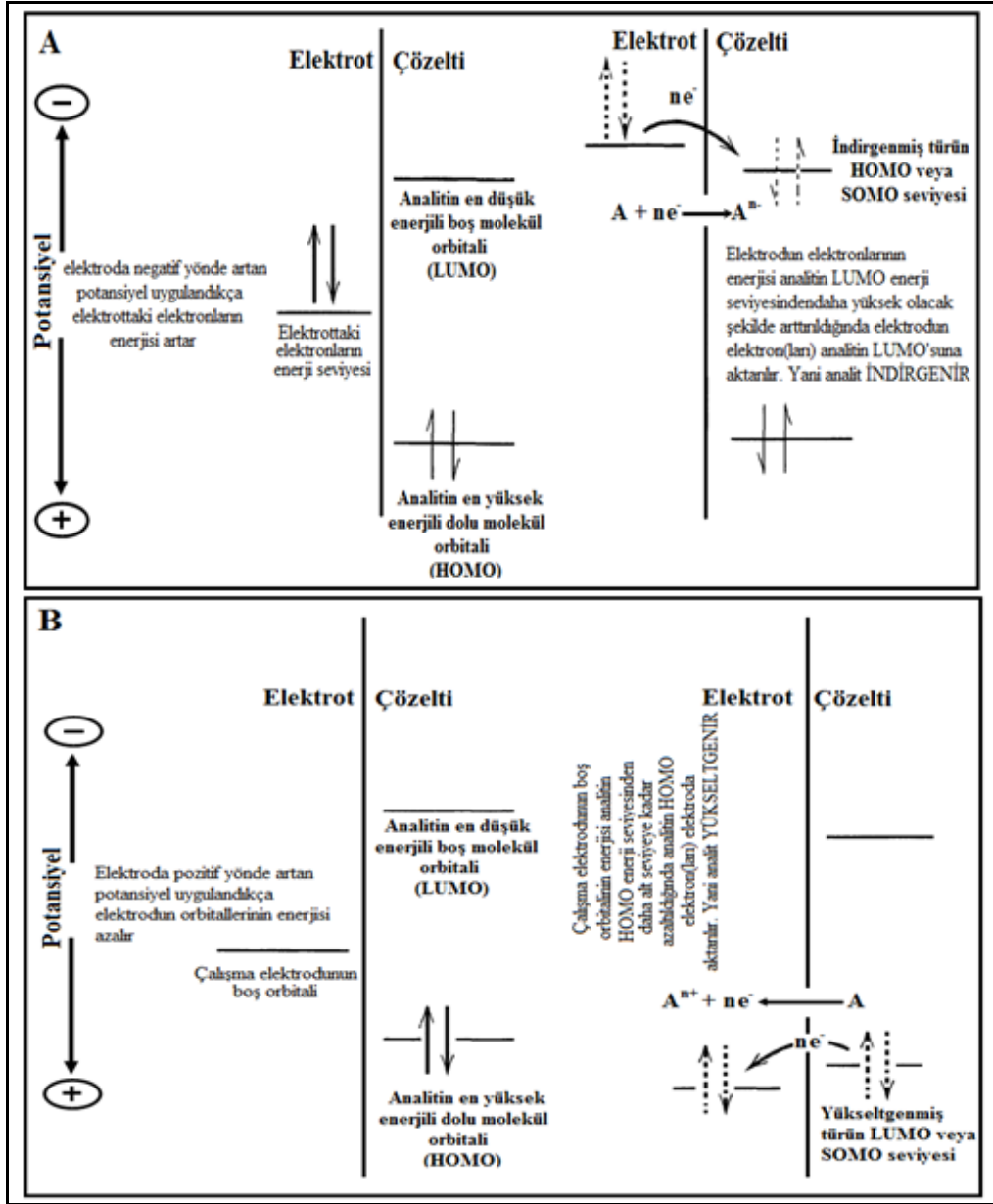
Sıyırma voltametri yönteminde çalışılacak yöntem belirlendikten sonra biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi için optimizasyon çalışması yapılmalıdır. Biriktirme potansiyeli seçimi için yöntemin adsorptif olup olmadığına karar verildikten sonra,

analizi yapılacak çözeltilerde bulunan türlerin potansiyelleri de (özellikle karışımdaki bileşenlerin eş zamanlı tayininde önemlidir) dikkate alınarak birkaç biriktirme potansiyelinde ölçümler alınıp optimizasyon yapılır. Biriktirme süresini optimize ederken optimizasyon çözeltilerindeki hedef türün derişimi önemlidir. Zira biriktirme süresi bir nevi yüzeyin ne kadar sürede hedef türe doyaçağının bir ölçüsüdür. Bundan dolayı geliştirilecek yöntemin olası uygulama alanları ve bu alanlarda çalışmaların yapılacağı örneklerde bulunacak madde derişimi göz önüne alınarak biriktirme süresi optimize edilmelidir.

2.4.7 Elektrokimya mekanizma çalışmaları

Elektrokimyasal çalışmalarda elektrot yüzeyi ve/veya elektrot-çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarımının farklı şekil ve türlerde olabilmektedir. Bir elektrokimyasal çalışmada elektrokimyasal olarak aktif bir türün indirgenmesi ve yükseltgenmesinin Şekil 2.16'da şematize edildiği gibi gerçekleştiği düşünülmektedir (Bard ve Faulkner 2001, Zoski *vd.* 2007, Scholz *vd.* 2010). Şekilden de anlaşılacağı üzere çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin negatif yönde artırılması (katodik potansiyel taraması) çalışma elektrodunun enerjisini arttırmaktadır. Bu durumda çalışma elektrodunun elektron(lar) bulduran en üst enerjili orbitalinin enerji seviyesi hücre içersindeki analitin en alt enerjili boş molekül orbitalinin (LUMO) enerji seviyesinden daha yüksek bir seviyeye çıkarıldığında elektrottaki elektron(lar) analitin LUMO seviyesine aktarılacaktır. Yani analit indirgenecektir. Elektrottan analite aktarılan elektronlar çiftleşmiş elektron çiftleri şeklinde olursa elektrottan elektron alan analit orbitali artık indirgenmiş türün HOMO seviyesini belirleyecektir. Aksine, elektrottan analite aktarılan elektron sayısı indirgenen analitte çiftleşmemiş elektron oluşturacak sayıda ise (tek sayıda elektron aktarılmış ise) indirgenmiş türde çiftleşmemiş elektron bulduran orbital bu türün SOMO (single occupied molecular orbital) seviyesini belirleyecektir. Bunun yanında çalışma elektroduna pozitif yönde artan potansiyel uygulandığında (anodik yönde tarama yapıldığında) ise elektrodun enerjisi azalacaktır. Bu potansiyel taraması elektrodun boş orbitalinin enerji seviyesi analitin HOMO seviyesinden daha alt seviyelere ininceye kadar devam ettirildiğinde, analitin HOMO seviyesindeki elektron(lar) çalışma elektroduna transfer edilmiş ve elektrot indirgenmiş,

analit yükseltgenmiş olacaktır. Yükseltgenmeden önce analitin HOMO seviyesini oluşturan molekül orbitalleri, aktarılan elektronun sayısına göre yükseltgenmiş türün LUMO veya SOMO enerji seviyesini oluşturacaktır.



Şekil 2.16 Elektro indirgenme (A) ve elektro yükseltgenme (B) olaylarının şematize hali

Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrodu ile elektro aktif tür arasında gerçekleşen elektron aktarımının öncesi ve sonrasında herhangi bir kimyasal dönüşüm

gerçekleşmiyorsa gözlenebilecek mekanizma çeşidi 3 tanedir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001):

2.4.7.1 Tersinir mekanizmalar

Elektrokimyasal dönüşüme eşlik eden standart hız sabitinin, difüzyona eşlik eden difüzyon hızı sabitinden çok daha yüksek olduğu durumlarda gözlenen mekanizmadır. Bu koşullarda indirgenen ve yükseltgenen türlerin difüzyon tabakasından çözelti ortamına difüzenmesi için geçmesi gereken süreden çok daha kısa sürede hem indirgenme hem de yükseltgenme yönündeki elektron aktarımı gerçekleşmektedir. Bir elektrot tepkimesinin tersinir olabilmesi için dönüşümlü voltametri çalışmalarında aşağıda verilen koşulları sağlaması gerekir:

- Ters taramada pik gözlenmeli
- Pik potansiyeli tarama hızından etkilenmemeli (tarama hızı ile değişmemeli)
- Anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1,0 olmalı
- Kuvvetli adsorpsiyon olmadıkça pik potansiyeli ve yarı pik potansiyeli derişim ile değişmemeli

Tersinir elektrot mekanizmaları için elektrokimyasal çalışmalara ışık tutacak bazı parametreler DV yönteminde aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanır:

$$E_p - E_{p,h} = \frac{2,21RT}{nF}, 25^\circ C' de E_p - E_{p,h} = \frac{56,6}{n} mV \quad (2.14)$$

Yani, yarı pik potansiyeli ile pik potansiyeli arasındaki farktan yararlanılarak transfer edilen elektron sayısı hesaplanabileceği gibi pik potansiyelleri arasındaki fark aşağıdaki eşitlikte kullanılarakta elektron sayısı hesaplanabilir:

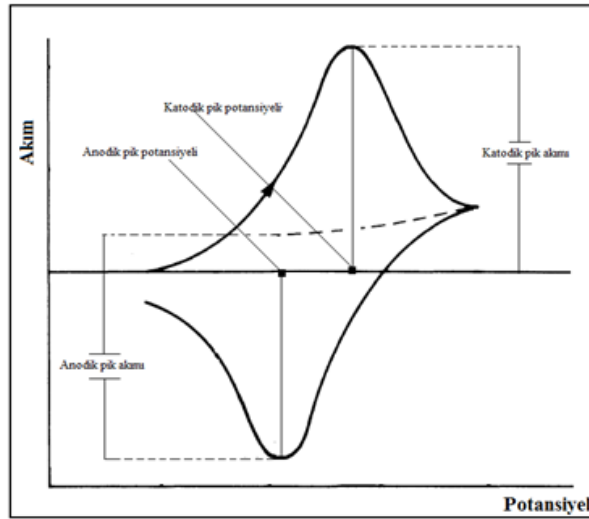
$$| E_{p,a} - E_{p,c} | = \frac{57}{n} mV \quad (2.15)$$

Bu eşitliğe göre ise anodik pik potansiyeli ile katodik pik potansiyeli arasındaki farktan yararlanılarak aktarılan elektron sayısı hesaplanabilir. Bu mekanizmalarda pik akımı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$i_p = \mp 2,69 \times 10^5 AC \sqrt{n^3 D \nu} \quad (2.16)$$

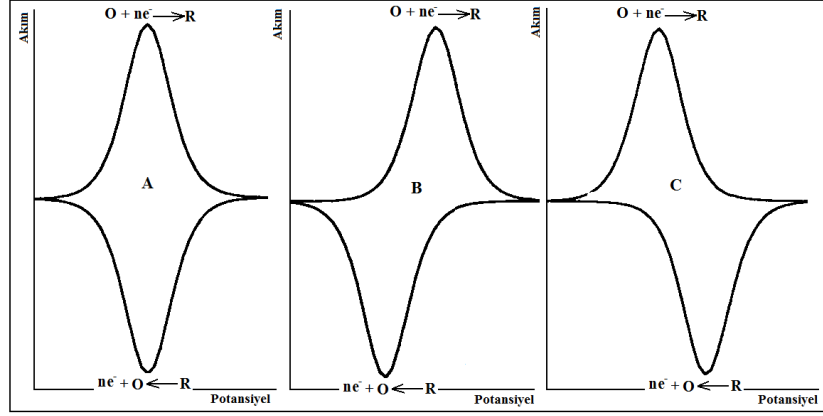
Bu eşitlikte anodik pikler için işaret pozitif, katodik pikler için negatif alınır. Bu ifadedeki terimler ve birimleri daha önce verildiği şekildedir.

Tersinir sistemlerde DV yöntemi için yukarıda verilen parametreler Şekil 2.17'de gösterildiği gibi belirlenir (Brett ve Brett, 1992):



Şekil 2.17 Tersinir mekanizmaya sahip bir elektrot tepkimesi için alınan dönüşümlü voltamogram

DV çalışmalarında tersinir sistemler için alınan voltamogramlarda anodik pik ile katodik pikin bir birine göre hangi potansiyelde gözlenecekleri elektrot ile elektro aktif tür arasındaki etkileşime ve indirgenmiş tür ile yükseltgenmiş türün Gibbs serbestlik enerjilerine bağlı olarak değişir. Şekil 2.18'de her iki türün de elektrot yüzeyine adsorbe olarak elektron transferini gerçekleştirilmesi durumunda piklerin birbirine göre konumları verilmiştir (Gosser 1994).



Şekil 2.18 Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir bir elektrot tepkimesi için alınan voltamogramlarda indirgenme ve yükseltgenme piklerinin bir birlerine göre konumları. (A) indirgenmiş tür(R) ile yükseltgenmiş türün (O) Gibbs serbestlik enerjileri eşit, (B) indirgenmiş türün Gibbs serbestlik enerjisi yükseltgenmiş türünkinden daha yüksek, (C) yükseltgenmiş türün Gibbs serbestlik enerjisi indirgenmiş türünkinden daha yüksek

Elektrokimyasal çalışmalarda indirgenmiş ve yükseltgenmiş türlerin aktarımını elektrot yüzeyine adsorbe olarak gerçekleştirmeleri durumunda pik akımı Eşitlik 2.16'dan daha çok Eşitlik 2.17'ye uyar (Wang 2000):

$$i_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} \vartheta A \Gamma \quad (2.17)$$

Pik akımı için bu eşitliğin geçerli olduğu durumlarda yüzey kaplama katsayısı olarak tanımlanan terim için:

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (2.18)$$

eşitliği geçerlidir. Eşitlikler 2.17 ve 2.18 birlikte değerlendirildiğinde pik akımı için:

$$i_p = \frac{nF\vartheta Q}{4RT} \quad (2.19)$$

eşitliği elde edilir. Dikkat edilirse bu eşitlikte deneysel olarak kontrol edilebilecek tek parametre tarama hızıdır. Yani ölçümlerde çalışma elektrodu için aynı yüzey alanı oluşturulabilen elektrokimyasal deneylerde tarama hızı çalışması yapılarak sadece

dönüşümlü voltametri yöntemi ile elektron sayısı hesaplanabilmektedir (Taşdemir *vd.* 2010).

2.4.7.2 Tersinmez mekanizmalar

Elektrokimyasal dönüşüme eşlik eden standart hız sabitinin difüzyona eşlik eden difüzyon sabitinden çok daha küçük olduğu durumlarda gözlenen mekanizmadır. Bu koşullarda indirgenen türün tekrar yükseltgenmesi veya yükseltgenen türün tekrar indirgenmesi için gereken süreden çok daha kısa bir sürede indirgenen veya yükseltgenen tür difüzyon tabakasından çözelti ortamına difüzyonlanmaktadır. Elektrokimyasal olarak bir elektrot tepkimesinin tersinmez olduğunu gösteren ilk gözlem dönüşümlü voltametri çalışmalarında ters tarama yönünde herhangi bir pikin gözlenmemesidir. Ayrıca bir elektrot tepkimesinin tersinmez olduğunu gösteren veDV çalışmalarında elde edilen en önemli gözlemler şunlardır:

- Tarama hızı arttırıldıkça katodik pikler daha katodik, anodik pikler daha anodik potansiyel değerlerine kayar,
- Pik potansiyeli tarama hızının logaritması ile yaklaşık olarak $30/(\alpha n')$ değerine eşit bir eğim ile değişir.

Tersinmez elektrot mekanizmalarında pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki fark:

$$|E_p - E_{p,h}| = \frac{1,857RT}{n\alpha F} mV, \quad 25^\circ C'de |E_p - E_{p,h}| = \frac{47,7}{n\alpha} mV \quad (2.20)$$

şeklinde ifade edilir. Bu eşitlikteki α terimi yük aktarım katsayısı olarak isimlendirilen ve reaktifler ile ürünler arasındaki simetri eksenini belirleyen bir parametredir.

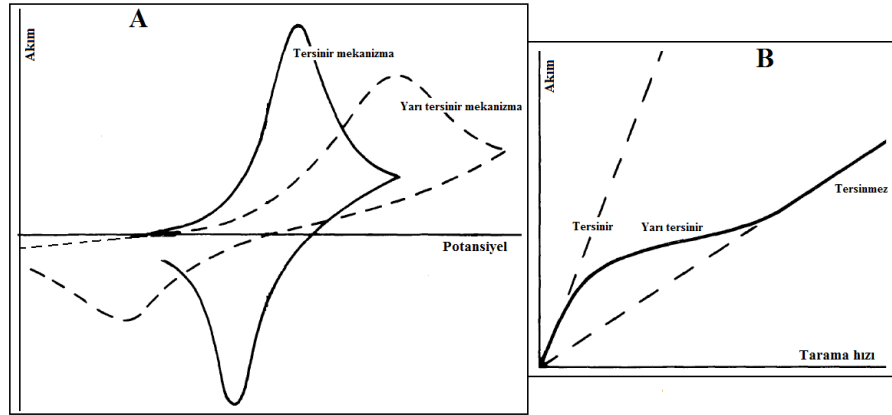
Tersinmez mekanizmalarda pik akımı da yük transfer katsayısını içeren bir eşitlik ile verilir:

$$i_p = \mp 2,99 \times 10^5 nAC\sqrt{n'\alpha Dv} \quad (2.21)$$

Bu eşitlikteki n , elektrot mekanizmasında aktarılan toplam elektron sayısını, n' ise hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısıdır.

2.4.7.3 Yarı tersinir mekanizmalar

Bu tür mekanizmalarda sistem tersinir mekanizmalar ile tersinmez mekanizmalar arasında bir davranış sergiler. Bu sistemler Şekil 2.19(B)'de görüldüğü gibi tarama hızı arttıkça tersinmez mekanizmalara doğru bir kayma gösterirken düşük tarama hızı değerlerinde ise tersinir mekanizmalara doğru kayma gösterir. Yarı tersinir mekanizma ile elektron aktarımı gerçekleştiren dönüşümlerin akımları tersinir mekanizmalardaki akımlardan daha düşük, tersinmez mekanizmalardaki akımlardan ise daha yüksektir. Ayrıca yarı tersinir mekanizmanın anodik ve katodik pik potansiyeli arasındaki fark Şekil 2.19 (A)'da görüldüğü gibi tersinir mekanizmanıninkine göre daha yüksektir ve fark tarama hızı arttıkça artar (Brett ve Brett 1992).

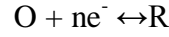


Şekil 2.19 (A) Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir ve yarı tersinir mekanizmalara ait voltamogramlar, (B) tarama hızı ile mekanizma arasındaki bağlantı

2.4.7.4 Kimyasal dönüşümlerin de katıldığı mekanizmalar

Elektron aktarımı öncesinde ve/veya sonrasında kimyasal dönüşüm gerçekleşmesi durumunda karşılaşılabilecek mekanizma çeşitleri artmaktadır (Wang 2000, Scholz *vd.* 2010):

- Tersinir elektrokimyasal dönüşümü takip eden tersinir kimyasal dönüşüm ($E_r C_r$)



Bu mekanizmada;

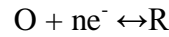
- Anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1,0 değerinden küçüktür
- Artan tarama hızlarında kimyasal basamak tersinmeze doğru kayma gösterir
- Yüksek tarama hızlarında tarama hızındaki 10 katlık bir değişimde anodik pik potansiyeli ile katodik pik potansiyeli arasında 25 °C’de elektron başına 30 mV’luk bir değişim gözlenir
- Düşük tarama hızlarında yarı pik potansiyelleri arasındaki fark, ($\Delta E_{p,h}$)

$$\Delta E_{p,h} = \frac{RT}{nF \ln K} \quad (2.22)$$

eşitliği ile ifade edilir ve bu eşitlikte kullanılan K heterojen hız sabitidir.

- Artan tarama hızında tek elektronluk tersinir elektrokimyasal basamaktan sonra dimerleşme içeren ve tersinmez bir kimyasal dönüşüm gerçekleşir. Dimerleşme olayı elektrokimyasal dönüşüm sonucu üretilen radikalik monomere göre ikinci dereceden olacağından voltamogramın farklı tarama hızlarındaki şekli kullanılan elektro aktif türün derişimine oldukça bağlıdır.

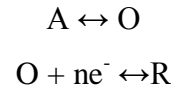
- Tersinir elektrokimyasal dönüşümü takip eden tersinmez kimyasal dönüşüm ($E_r C_i$)



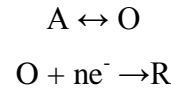
Bu mekanizmada;

- Anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1,0 değerinden küçüktür

- Düşük tarama hızlarında tersinmezken kimyasal dönüşüme olanak vermeyecek kadar yüksek tarama hızlarında tersinir özellik gösterir
 - Tarama hızındaki 10 katlık bir değişimde anodik pik potansiyeli ile katodik pik potansiyeli arasında 25 °C’de elektron başına 30 mV’luk bir değişim gözlenir
 - Pik akımı Randles-Sevcik eşitliğine uyar
- Tersinir kimyasal dönüşümü takip eden tersinir elektrokimyasal dönüşüm (C_rE_r)

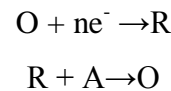


- Tersinir kimyasal dönüşümü takip eden tersinmez elektrokimyasal dönüşüm (C_rE_i)



Bu mekanizmalarda;

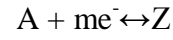
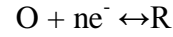
- Voltamogram şekilleri sıcaklık ile ciddi şekilde değişim gösterir, zira kimyasal denge sıcaklıktan ciddi şekilde etkilenmektedir
 - Elektrokimyasal denge için yeterli elektro aktif türün oluşması için zamana ihtiyaç duyulduğundan düşük tarama hızı çalışmalarında tersinir voltamogramlar elde edilir. Tarama hızı arttırıldıkça pikler gözlenmemeye başlar
- Tersinmez elektrokimyasal dönüşümden sonra başlangıç molekülünün tekrar üretildiği tersinmez kimyasal dönüşüm (katalitik mekanizma)



Bu mekanizmalarda;

- Voltamogram şekilleri ile tersinirlik tarama hızı ile kimyasal dönüşüme eşlik eden hız sabiti ve kimyasal dönüşümün kinetiğine bağlı olarak değişebilmektedir.

- İki elektrokimyasal dönüşümün arasında meydana gelen kimyasal dönüşüm (ECE)



Bu mekanizmalarda;

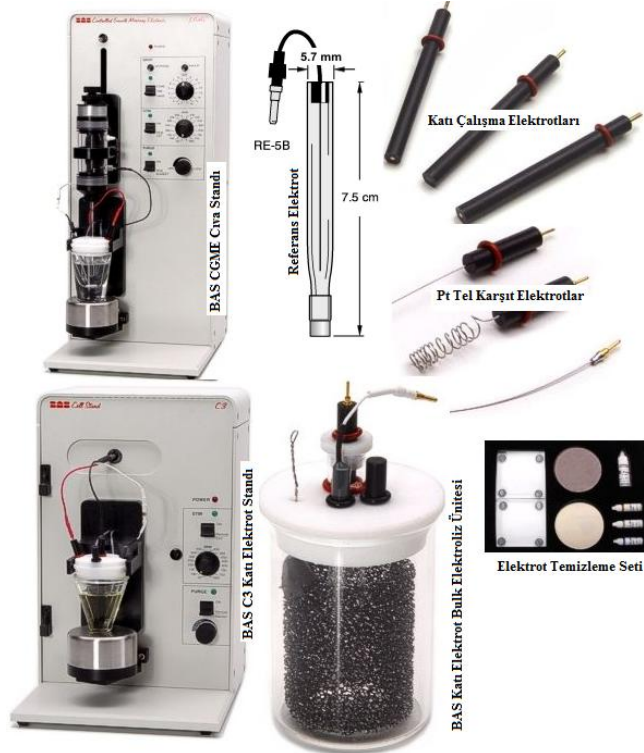
- Son mekanizmadaki elektrokimyasal basamakların birlikte tersinir, sadece birisinin tersinir, her ikisinin de tersinmez ve kimyasal basamağın tersinir ve tersinmez olmasına göre burada belirtilenlerden fazla sayıda ECE mekanizmasının olabileceği açıktır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu bölümde, deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ile donanımları, ilaç etken maddeleri ile diğer kimyasal maddeler, çözeltiler ile hazırlanmaları, ilaç tabletlerinin, serum ve idrar numunelerinin analize hazırlamaları ve kullanılan deneysel teknikler kısaca anlatılmıştır.

3.1 Cihazlar ve Elektrotlar

Cıva yüzeyindeki elektrokimyasal çalışmalar BAS marka cıva elektrot standı (BAS, CGME), CHI-760 marka elektrokimyasal çalışma ünitesi; camcı karbon yüzeyindeki çalışmalarda BAS C3 katı elektrot standı, BAS 100W elektrokimyasal çalışma ünitesi ve CHI-760 marka elektrokimyasal çalışma ünitesi kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan elektrotlar ve hücre stantları

Voltametik çalışmalarda, çalışma elektrodu olarak asılı damla cıva elektrodu (ADCE, HMDE) ve 3mm çaplı, BAS marka camsı karbon elektrot (CKE) (BAS MF 2012); karşıt elektrot olarak BAS marka Pt tel (BAS MW-1032); referans elektrot olarak ise Ag/AgCl elektrot (BAS MF-2052 RE-3M KCl) kullanılmıştır. Bulk elektroliz çalışmaları, ADCE'deki ilaç etken maddelerinin indirgenmesinde aktarılan elektron sayısının belirlenmesi için çalışma elektrodu olarak yüzey alanı 56 cm²olan cıva havuzu, CKE'deki ilaç etken maddelerinin yükseltgenmesinde aktarılan elektron sayısının belirlenmesi için ise BAS marka grafit kafes elektrot (BAS MF 2077), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot (BAS MF-2052 RE-3M KCl), karşıt elektrot olarak ise Pt tel (BAS MW-1033) kullanılarak yapılmıştır. Voltametik çalışmaların öncesinde ve sonrasında referans elektrot ile karşıt elektrot kullanılan çözücü-destek elektrolit çözeltisi ve saf su ile yıkanmıştır. Çalışma elektrodu olarak ADCE'nin kullanıldığı durumlarda cıva standındaki kılcal seyreltik nitrik asit çözeltisi ile korunmuştur. Bu kılcal çalışmaların öncesinde makul bir süre sıra ile saf suda ve kullanılan çözücü-destek elektrolit çözeltisinde bekletilmiştir. Çalışmalarda kullanılan cıva elektrot standı tam otomatik ve bilgisayar kontrollü olarak ayarlanmıştır. Çalışmalarda her voltametik ölçüm öncesinde 2 damla cıvanın akıtılması şeklinde ayarlama yapılmış ve her ölçümde taze (temiz) cıva damlası kullanılmıştır.

CKE'un kullanıldığı çalışmalarda, elektrot her ölçümden önce üretici firma tarafından sağlanan temizleme pedi ve alimüna süspansiyonu kullanılarak mekanik olarak temizlenmiştir. Mekanik temizleme aşamasından sonra yüzeyde birikmesi muhtemel organik kirliliklerin giderilmesi için belirli bir süre (1-2 dakika) etanol veya metanolde ultrasonik banyoda tutulmuştur. Bu aşamadan sonra sıra ile saf su ve kullanılan çözücü-destek elektrolit çözeltisi ile yıkanmıştır. Katı elektrot için bazı durumlarda farklı potansiyel aralıklarında elektrokimyasal temizleme işlemi de yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin tartımları, 0,1 mg duyarlılıkla tartım yapan GEC AVERY marka elektronik terazi ve 0,01 mg duyarlılıkla tartım yapan Mettler Toledo marka elektronik terazi ile yapılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında ve temizleme sonrası durulamada, Elga Purelab marka saf su cihazından elde edilen ultra saf su kullanılmıştır.

pH ölçümleri, Thermo Orion Model 720A pH-iyon metre ve ona bağlı Orion kombine cam pH elektrodu (912600) kullanılarak yapılmıştır. pH elektrotları kullanımdan önce hidrojenfталattan hazırlanan pH4,13 ve sodyum bikarbonattan hazırlanan pH 8,20 tampon çözeltileri ile oda sıcaklığında kalibre edilmiştir.

Hazırlanan çözeltileri karıştırmak için farklı marka ve modellerde magnetik karıştırıcılar kullanılmıştır.

Çalışma elektrotlarının temizleme ve gerekli çözünme işlemlerinde Ultrasonic LC30H marka ultrasonik banyo kullanılmıştır.

3.2 Teorik Hesaplamalar

Çalışılan ilaç etken maddelerinin geometri optimizasyonu ile her bir molekül orbitalinin bağıl enerjisi ve elektrostatik yük yoğunluğu Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde bulunan lisanslı Gaussian 03 paket programı kullanılarak (Frisch *vd.* 2003) hesaplanmıştır.

3.3 Etken Maddeler ve İlaçlar

3.3.1 Etken maddeler

Hidrokloratiyazit (HKA): Beyaz ve kokusuz toz halindeki etken madde % 99,0 saflıkta olup Adeka İlaç San. ve Tic. AŞ'den temin edilmiştir.

İndapamit (İNDA): Beyaz ve kokusuz toz halindeki etken madde % 99,0 saflıkta olup Servier İlaç San. ve Tic. AŞ'den temin edilmiştir.

Moeksipril (MOE): Beyaz ve kokusuz toz halindeki etken madde % 98,0 saflıkta olup Adeka İlaç San. ve Tic. AŞ'den temin edilmiştir.

Perindopril (PER): Beyaz ve kokusuz toz halindeki etken madde % 99,0 saflıkta olup Servier İlaç San. ve Tic. AŞ'den temin edilmiştir.

Zofenopril (ZOF): Beyaz ve kokusuz toz halindeki etken madde % 98,0 saflıkta olup Menarini'den (Italian Pharmaceutical Group)temin edilmiştir.

3.3.2 İlaçlar

Ezide: HKA'ya yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 12,5 mg HKA içerdiği bilinen Oceanic Pharmachem PVT. LTD India firması tarafından üretilen EZIDE® (HydroDIURIL) tabletleri kullanılmıştır.

Flupamid: İNDA'ya yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 2,5 mg İNDAiçerdiği bilinen, Sanovel İlaç A.Ş. tarafından üretilenFLUPAMİD® tabletleri kullanılmıştır.

Univacs: MOE'ye tönelik analitik uygulamalarda her tablette 7,5 mg MOE içerdiği bilinen, Adeka İlaç A.Ş., Samsun tesislerinde üretilenUNIVACS® tabletleri kullanılmıştır.

Uniretic: MOE–HKA karışımına yönelik analitik uygulamalarda her tablette 7,5 mg MOE, 12,5 mg HKA içerdiği bilinen, Adeka İlaç A.Ş., Samsun tesislerinde üretilenUNIRETIC® tabletleri kullanılmıştır.

Coversyl: PER'e yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 3,395 mg PER'e eşdeğer 5,0 mg perindopril arjanin tuzu içerdiği bilinen, Servier İlaç ve Araştırma A.Ş. İstanbul tesislerinde üretilen COVERSYL® tabletleri kullanılmıştır.

Coversyl plus: PER– İNDA karışımına yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 3,395 mg PER'e eşdeğer 5,0 mg perindopril arjanin tuzu ve 1,25 mg indapamid içerdiği bilinen, Servier İlaç ve Araştırma A.Ş. İstanbul tesislerinde üretilenCOVERSYLPLUS® tabletleri kullanılmıştır.

Zoprotec: ZOF'a yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 28,5 mg ZOF'a eşdeğer 30,0 mg zofenopril kalsiyum tuzu içerdiği bilinen, A.Menarini Manufacturing Logistics and Services S.r.l. lisansı ile Ufsa ilaç A.Ş. tarafından İstanbul'da üretilen ZOPROTEC® tabletleri kullanılmıştır.

Zoprotec plus: ZOF–HKDA karışımına yönelik analitik uygulamalarda, her bir tablette etken madde olarak 28,5 mg ZOF'a eşdeğer 30,0 mg zofenopril kalsiyum tuzu ve 12,5 mg HKA içerdiği bilinen, A.Menarini Manufacturing Logistics and Services S.r.l. lisansı ile Ufsa ilaç A.Ş. tarafından İstanbul'da üretilen ZOPROTECPLUS® tabletleri kullanılmıştır.

3.4 Çözeltiler

3.4.1 Britton-Robinson tamponu (BR)

BR çözeltisi glasiyal asetik asit, borik asit ve fosforik asit çözeltilerinden her bir bileşenin analitik derişimi 0,04 M olacak şekilde gerekli miktarlar ölçülerek hacim 1,0 L olacak şekilde su ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin pH'ları 0,10M NaOH ve 0,10 M HCl çözeltileri kullanılarak istenilen değere ayarlanmıştır. Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.4.2 Amonyak-amonyum klorür tamponu

Toplam analitik derişim 1,2 M, pH değeri yaklaşık 8,5 olacak şekilde derişik NH₃ çözeltisi ile NH₄Cl çözeltisinin belirli oranlarda karıştırılıp hacmin 1,0 L'ye tamalanması ile hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin pH'ları 0,10M NaOH ve 0,10 M HCl çözeltileri kullanılarak istenilen değere ayarlanmıştır. Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.4.3 Standart ilaç çözeltileri

Çalışmalarda kullanılan her bir ilaç etken maddelerin stok çözeltisi 25,0 mL çözeltide 5,0 mM olacak şekilde tartılan katının etanol veya metanolde çözülmesi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiler ışık almayacak şekilde alüminyum folye ile sarılmış ve +4 °C'de saklanmıştır. Çalışmalarda kullanılan ilaç etken madde çözeltileri, stok çözeltilerin deneysel çalışmalarda kullanılacak olan çözücü-destek elektrolitle belirli oranlarda seyreltilmesi ile günlük olarak hazırlanmıştır.

3.5 İlaç Tabletlerinin Analize Hazırlanması

Her bir ilaç için 10 tablet ayrı-ayrı tartılarak 1 tabletin ortalama kütlesi belirlenmiş; tartılan bu tabletlerin tamamı porselen havanda öğütülerek toz haline getirilmiş; bir tabletin kütlesine eşit miktarda tartılmış; 100,0 mL'lik ölçülü balona aktarılmıştır. Ölçülü balona yaklaşık 75–80 mL etanol konup 30 dakika ultrasonik banyoda ilaç etken maddesinin çözünmesi sağlanmış ve hacmi etanol ile 100,0 mL'ye tamamlanmıştır. Çözünmeyen destek ve katkı maddelerinin çökmesi için, oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Çökme işlemi tamamlandıktan sonra 100,0 mL'lik ölçülü balondaki karışımın berrak kısmından belirli hacimde çözelti alınmış ve kullanılan çözücü-destek elektrolitle seyreltilerek analizlerde kullanılmıştır. Tablet çözeltileri kullanılacağı zaman taze olarak çözücü-destek elektrolitle seyreltilmiştir.

3.6 Serum Numunelerinin Analize Hazırlanması

Serum numuneleri söz konusu ilacı kullanmayan gönüllülerden alınmış ve –25°C'de saklanmıştır. Her bir çalışma için 2,0 mL serum numunesine belirli miktarda standart ilaç etken maddesi veya tablet çözeltisi ilave edilmiş ve iki kısma ayrılmıştır. İlk kısım üzerine serum proteinlerini çöktürmek için asetonitril ilave edilmiş ve 5000 devir/dakika hızla 5 dakika santrifüjlenerek çöken proteinler ayrılmıştır. Diğer kısım ise, serum proteinlerini çöktürmeden analizlerde kullanılmıştır. Analizler sırasında, bu kısımlardan alınan belirli miktarlar çözücü-destek elektrolit ile seyreltilmiştir.

3.7 İdrar Numunelerinin Analize Hazırlanması

İdrar numuneleri söz konusu ilacı kullanmayan sağlıklı bireylerden alınmıştır. Her bir çalışma için 1,0 mL idrar numunesine belirli miktarda standart ilaç etken maddesi veya tablet çözeltisi eklenmiş ve toplam hacim 10,0 mL olacak şekilde çözücü-destek elektrolit ile belirli oranlarda seyreltilerek kullanılmıştır.

3.8 Deneylerin Yapılışı

3.8.1 Dönüşümlü voltametri

Çalışma çözeltisinin 10,0 mL'sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra, çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için, çözeltiden başlangıçta 25–30 dakika argon veya azot gazı geçirilmiştir. İner gaz geçişi kesildikten sonra (ancak çözelti üzerinden gaz geçirilerek) başlangıç ve bitiş potansiyeli aynı olacak şekilde ayarlama yapıp sabit tarama hızında dönüşümlü voltamogramlar kaydedilmiştir. Ölçüm aralarında 30 s gaz geçirilmiş ve 2 s'lik durulma süresinden sonra voltamogramlar ölçüm yapılmıştır. Bu voltamogramın pik parametreleri yazılım tarafından otomatik olarak belirlenmiştir.

3.8.2 Diferansiyel puls ve kare dalga voltametri

Çalışma çözeltisinin 10,0 mL'sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra, çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için, çözeltiden başlangıçta 25–30 dakika argon veya azot gazı geçirilmiştir. İner gaz geçişi kesildikten sonra (ancak çözelti üzerinden gaz geçirilerek) basamaklı adım yüksekliği 1–8 mV; sinyal genliği 10–90 mV; puls periyodu 50–300 ms; örnekleme genişliği 50–300 ms; uyarma sinyalinin frekansı (sadece KDV'de) 5–250 Hz aralığında değiştirilerek voltamogramlar kaydedilmiştir. Pik akımı ve pik şekli dikkate alınarak optimum parametreler belirlenmiştir.

3.8.3 Kronokulometri ve kronoamperometri

Çalışma çözeltisinin 10,0 mL'sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra, çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için, çözeltiden başlangıçta 25–30 dakika argon veya azot gazı geçirilmiştir. İnerit gaz geçişi kesildikten sonra (ancak çözelti üzerinden gaz geçirilerek) dönüşümlü voltametriden elde edilen voltamogramlardan yararlanarak indirgenme veya yükseltgenmenin başladığı ve tamamlandığı potansiyeller seçilerek yükün (coulomb olarak) ve akımın zamanla değişimi incelenmiştir. $Q-t^{1/2}$ ve $i-1/t^{1/2}$ grafikleri çizilerek elde edilen doğruların eğimlerinden difüzyon kontrollü elektrokimyasal tepkimeler için difüzyon katsıları Eşitlik 2.10 ve Eşitlik 2.12 kullanılarak hesaplanmıştır.

3.8.4 Diferansiyel puls ve kare dalga adsorptif sıyırma voltametri

Çalışma çözeltisinin 10,0 mL'sine çalışma, referans ve karşıt elektrotlar daldırıldıktan sonra cihaz parametreleri optimum koşullara ayarlanmış ve çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için, çözeltiden başlangıçta 25–30 dakika argon veya azot gazı geçirilmiştir. İnerit gaz geçişi kesildikten sonra (ancak çözelti üzerinden gaz geçirilerek), biriktirme süresi 0–300 s; biriktirme potansiyeli ADCE ve CKE'nin kullanımına bağlı olarak adsorptif biriktirmeye uygun bir potansiyel aralığında (her hangi bir elektrokimyasal dönüşümün gerçekleşmediği) değiştirilip DP ve KD voltamogramları kaydedilmiş; pik akımının en yüksek ve pik şeklinin de en uygun olduğu süre ve potansiyel belirlenmiştir.

3.8.5 Bulk elektroliz

Cıva elektrot kullanılarak yapılan BE çalışmalarında, belirli derişimde etken madde içeren 50,0 mL'lik çözeltiler yüzey alanı yaklaşık 56 cm² olan cıva havuzundan oluşan çalışma elektroduna, CKE kullanılarak yapılan BE çalışmalarında ise grafit kafes tel elektrodun bulunduğu hücreye eklenmiştir. Bu çözeltiye, içinde sadece destek elektrolit çözeltisi konulmuş ve gözenekli bir disk ile deney çözeltisinden ayrılmış bir karşıt elektrot ile referans elektrot daldırılıp 30–35 dakika inert gaz geçirilmiştir. Elektroliz

devresine, anodik pikler için pik potansiyelinden daha anodik, katodik pikler için ise pik potansiyelinden daha katodik olacak şekilde bir potansiyel uygulanmıştır. Sistemden geçen akım, başlangıç akımının % 0,1'ine ininceye kadar elektrolize devam edilmiştir. Elektroliz için gerekli coulomb cinsinden yük miktarından yararlanarak Eşitlik 2.11'den indirgenme veya yükseltgenme tepkimesinde aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır.

3.8.6 Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması

KDV, DPV, KDA_{AdSV} ve DPAd_{AdSV} yöntemlerinde, çeşitli ilaç etken madde derişimindeki çözeltilerin belirlenen optimum koşullarda voltamogramları alınmış ve pik akımları belirlenmiştir. Ölçülen pik akımları, etken madde derişimine karşı grafiğe geçirilip kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir.

3.8.7 İlaçlarda, serumda ve idrarda ilaç etken madde analizleri

Destek elektrolit ortamına belirtilen bölümlerdeki gibi hazırlanan ilaç tabletleri (Bölüm 3.4), serum (Bölüm 3.5) veya idrar (Bölüm 3.6) numunelerinden belirli miktarda ilave edilerek KDV, DPV, KDA_{AdSV} ve DPAd_{AdSV} voltamogramları kaydedilip pik akımları ölçülmüştür. Bölüm 3.7.6'daki gibi hazırlanan kalibrasyon eğrilerinden, etken madde miktarları doğrudan hesaplanmıştır. Ayrıca, aynı numunelerde etken madde miktarı standart katma yöntemi ile de tayin edilmiştir. Bu amaçla, destek elektrolit ortamına ilgili numunelerden belirli miktarda konmuş ve ilgili voltamogramlar kaydedilerek pik akımları ölçülmüştür. Sonra bu çözeltilere artan derişimlerde standart etken madde katılmış ve her bir ilave sonrası voltamogramlar alınmış ve pik akımları kaydedilmiştir. Katılan standart etken madde derişimlerine karşı pik akımları grafiğe geçirilerek oluşturulan standart katma grafiklerinin *x*-ksenini kestiği noktadan yararlanarak etken madde derişimleri hesaplanmıştır.

3.9 Validasyon Parametrelerinin Belirlenmesi

3.9.1 Doğrusal çalışma aralığı

Bölüm 3.7.6'da belirtildiği şekilde elde edilen kalibrasyon grafiklerinin regresyon katsayısının (R^2) 0,98 ve daha büyük olduğu derişim aralığı doğrusal çalışma aralığı olarak belirlenmiştir.

3.9.2 Doğruluk

İlaçlar için, üretici firma tarafından verilen nominal değerin (ND); serum ve idrar numunelerinde ise, katılan ilaç etken madde miktarlarının (ND) ile voltametrik yöntemler kullanılarak bulunan miktarlardan (DD) yararlanarak yüzde geri kazanma aşağıda verilen förmül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% GK = \frac{DD}{ND} \times 100 \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte; *GK*, geri kazanım; *DD*, deneysel değer ve *ND*, nominal değerdir.

3.9.3 Tekrarlanabilirlik

Pik akımı, pik potansiyeli ve pik alanının tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi için aynı çözelti kullanılarak aynı gün içerisinde; aynı şekilde hazırlanmış farklı çözeltiler kullanılarak farklı günlerde optimum şartlarda voltamogramlar kaydedilmiş ve belirtilen parametreler için bağıl standart sapma değerleri en az 5 ölçüm için hesaplanmıştır.

3.9.4 Duyarlık

Bölüm 3.7.6'da belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafiklerinin eğimi (birim derişim başına sinyal) yöntemin duyarlılığı olarak değerlendirilmiştir.

3.9.5 Gözlenebilme sınırı (*LOD*) ve alt tayin sınırı (*LOQ*)

Bölüm 3.7.6'da belirtildiği şekilde hazırlanan kalibrasyon grafikleri en küçük kareler yöntemiyle değerlendirilmiş ve aşağıdaki formüller kullanılarak gözlenebilme sınırı (*LOD*) ve alt tayin sınırı (*LOQ*) hesaplanmıştır:

$$LOD = \frac{3 \times s_b}{m} \quad (3.2)$$

$$LOQ = \frac{10 \times s_b}{m} \quad (3.3)$$

Burada s_b , kalibrasyon doğrusunda başlangıç ordinatının standart sapması ve m , kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

3.10 Elektron Sayısının (n) Hesaplanması

Sabit potansiyelde yapılan BE verilerinden Eşitlik 2.11'de kullanılarak aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. BE çalışmalarından olumlu sonuç alınmadığı durumlarda ise, dönüşümlü voltametri verilerinden aktarılan elektron sayısının hesaplanması için, Eşitlik 2.8, Eşitlik 2.19 ve Eşitlik 2.20 kullanılmıştır.

3.11 Yük Aktarım Katsayısının (β , α) Hesaplanması

Yükseltgenme tepkimesi için anodik (β), indirgenme tepkimesi için katodik yük aktarım katsıyı (α) dönüşümlü voltametri çalışmalarındaki pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki farkın ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişiminin, kare dalga voltametri çalışmalarında ise pik potansiyelinin uyarma sinyalinin logaritması ile değişiminin Eşitlik 2.20 ve literatürde verilen eşitlikler (Hilali *vd.* 2005, Wang *vd.* 2006) ile birlikte kullanılması sonucu hesaplanmıştır.

3.12 Difüzyon Katsayısının (D) Hesaplanması

Difüzyon katsayısı, adsorpsiyon kontrollü mekanizmaya sahip maddeler için dönüşümlü voltametrde tarama hızı verileri ile Eşitlik 2.18 ve Eşitlik 4.3 kullanılarak, difüzyon kontrollü mekanizmaya sahip maddeler için ise kronoamperometri ve kronokulometri verilerinin Eşitlik 2.10 ve Eşitlik 2.12 ile birlikte kullanılmasıyla hesaplanmıştır.

3.13 Yüzey Kaplama Katsayısının (Γ) Hesaplanması

Yüzey kaplama katsayısı dönüşümlü voltametrde yapılan tarama hızı çalışmalarında elde edilen sonuçların Eşitlik 2.17 ve Eşitlik 2.18 ile birlikte değerlendirilmesi sonucu hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, hidrokloratiazit (HKA), indapamit (İNDA), perindopril (PER), moeksipril (MOE) ve zofenopril (ZOF) moleküllerinin asılı damla cıva elektrot (ADCE) ve camsı karbon elektrot (CKE) yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve olası elektrot tepkime mekanizmaları önerilmiştir. Ayrıca, söz konusu ilaç etken maddeleri ile bunların ilaç formunda bulunan ikili karışımlarının nicel analizi için voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Elde edilen bulgular ve ilgili yorumlar aşağıda ayrıntılarıyla verilmiştir.

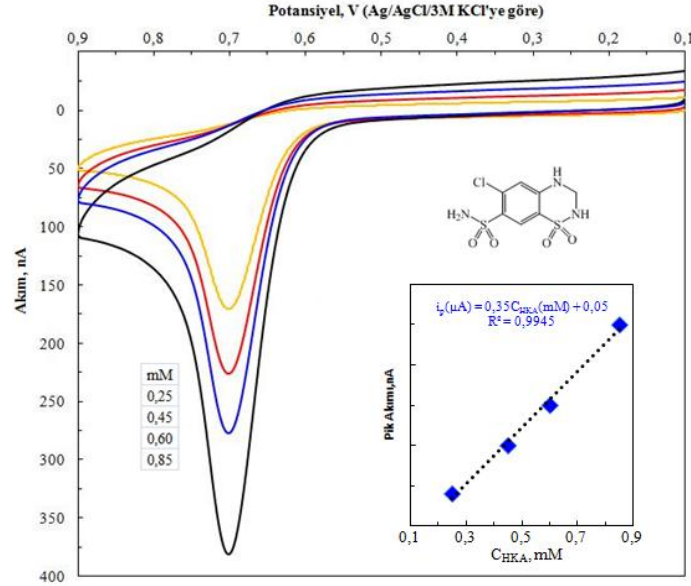
4.1 İlaç Etken Maddelerinin Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi

Tez çalışmasının bu kısmında bazı kimyasal, fiziksel ve farmakolojik özellikleri daha önce Bölüm 2.1’de verilen ilaç etken maddelerinin her birinin ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve yapılan elektrokimyasal deneylerin sonuçları, teorik hesaplamalarda elde edilen veriler ile birlikte değerlendirilerek olası elektrot tepkime mekanizmaları önerilmiştir. Her bir ilaç etken maddesi ile ilgili bulgular aşağıda ayrı ayrı açıklanmıştır.

4.1.1 HKA’nın elektrokimyasal davranışı

HKA’nın ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri (DV), normal puls voltametri (NPV), kare-dalga voltametri (KDV), kronokulometri (KK), kronoamperometri (KA) ve bulk elektroliz (BE) yöntemleriyle incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda HKA’nın ADCE yüzeyinde elektroaktif olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle, HKA’nın elektrokimyasal davranışı sadece CKE kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla, öncelikle HKA’nın pH 5,0’da BR tamponunda farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin 0,10–0,90 V aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.1’de verilmiştir. Şekil 4.1’den de görüldüğü gibi, yaklaşık 0,70 V’ta bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Farklı derişimlerdeki HKA çözeltileri kullanılarak alınan voltamogramlarda elde edilen pik

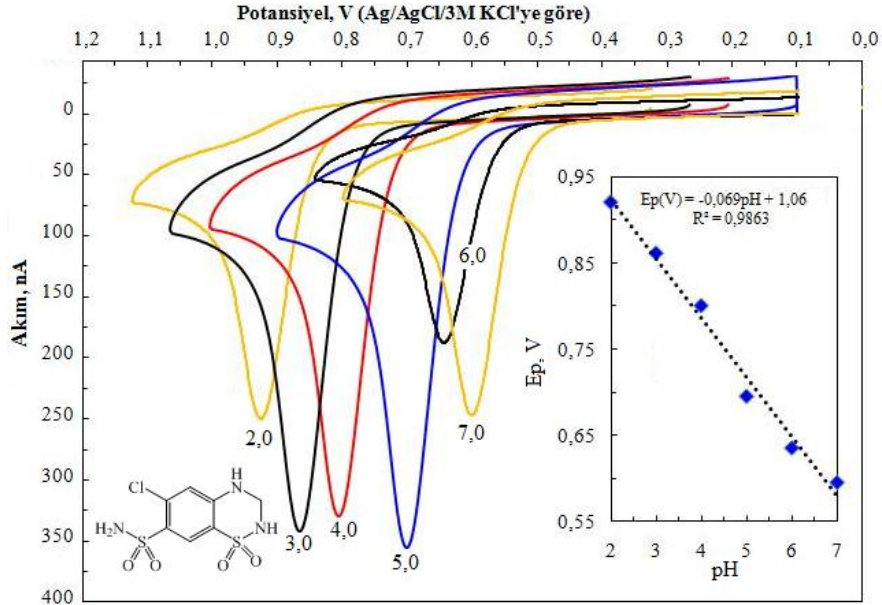
akımının HKA derişimi ile artması (Şekil 4.1, iç grafik) söz konusu pikin HKA'nın yükseltgenmesine ait olduğu sonucunu doğurmuştur. Şekil 4.1'deki verilen voltamogramlarda her hangi bir indirgenme pikinin olmaması, HKA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğini düşündürmüştür.



Şekil 4.1 Farklı derişimlerde HKA içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: anodik pik akımının HKA derişimi ile değişimi) (ÇE: CKE, v: 0,100 Vs⁻¹, pH: 5,0, E_b: 0,10 V, E_d: 0,90V, E_s: 0,10 V)

CKE yüzeyinde elektroaktif olduğu belirlenen HKA moleküllerinin bu elektrottaki elektrokimyasal davranışının ayrıntılı olarak incelenmesinde, ilk olarak pik potansiyeli ve pik akımına pH'nın etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla HKA derişimi 0,85 mM olan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 2,0 – 12,0 arasında değiştirilmiş ve dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Bu molekülün yükseltgenme piki pH 2,0 – 7,0 aralığında gözlenmiş, pH'nın 7,0'den yüksek olduğu çözeltilerde her hangi bir pik gözlenmemiştir. Bu da, elektrot tepkime mekanizmasında elektron transferinden önce bir protonlanma mekanizmasının olduğunu akla getirmiştir. Ancak, hem yükseltgenme davranışının inceleniyor olması, hem de yükseltgenme pik potansiyelinin artan pH ile daha düşük potansiyellere kayması (Şekil 4.2) bu olasılığı zayıflatmıştır. Yükseltgenme potansiyelinin artan pH ile daha düşük değerlere kayması, protonlanmış türün protonlanmamış türe göre daha zor yükseltgendiğini şeklinde değerlendirilmiştir.

Buradan HKA'nın yükseltgenmesinde hidronyum iyonunun önemli bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.2 Sabit derişimde HKA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: pik potansiyelinin pH ile değışimi, $C_{HKA} = 0,85$ mM, ÇE: CKE, $v: 0,100$ Vs⁻¹)

Yapılan çalışmalarda pik potansiyelinin pH ile değışim denklemi $E_p(V) = -0,069$ pH + 1,06 ($R^2 = 0,9863$) şeklinde bulunmuştur (Şekil 4.2, iç grafik). Literatürde, pik potansiyelinin pH ile değışimine ait denklem aşağıdaki gibi verilmektedir (Hilali vd. 2005, El-Desoky vd. 2005, Wang vd. 2006, Öztürk vd. 2010, Taşdemir vd. 2011, Erdoğan vd. 2011):

$$E_p = E^o - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[O]}{[R]} \pm \frac{2,303\theta RT}{nF} \text{pH} \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte;

- E_p : Pik potansiyeli, V
- E^o : Standart pik potansiyeli, V
- R : İdeal gaz sabiti, J/(mol K)
- T : Mutlak sıcaklık, K
- n : Aktarılan elektron sayısı, mol elektron/mol molekül
- F : Faraday sabiti, C/mol elektron

- [O]: Yükseltgenmiş türün analitik derişimi, mol/cm³
[R]: İndirgenmiş türün analitik derişimi, mol/cm³
 δ : Mekanizmadaki proton sayısı, mol proton/mol molekül

Deneysel olarak elde edilen doğrunun eğiminden ve Eşitlik 4.1'den yararlanılarak, bu maddenin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinde yer alan proton sayısının mekanizmada aktarılan elektron sayısına oranı hesaplanmış ve 1,14 olarak bulunmuştur. Buda molekülün yükseltgenmesinde 1 mol protona karşı 1 mol elektronun aktarıldığını göstermektedir.

Şekil 4.2'den de görüldüğü gibi, bütün pH değerlerindeki elde edilen pikin şekli düzgündür; ancak, en yüksek pik akımı pH 5,0'da elde edilmiştir. Bu nedenle, mekanizma ile ilgili diğer bütün çalışmalar, pH'sı 5,0 olan çözeltilerde gerçekleştirilmiştir.

HKA'nın elektrokimyasal davranışının incelenmesinde, pH değişkeninden sonra pik potansiyeli ve pik akımına tarama hızının etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, pH'sı 5,0'a ayarlanmış 2,0 mM HKA çözeltisinin 0,010 Vs⁻¹ – 0,750 Vs⁻¹ arasındaki çeşitli tarama hızlarında voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.3'te verilmiştir. Tarama hızı arttıkça yükseltgenme pik potansiyelinin daha yüksek potansiyellere (daha anodik değerlere) kaydığı görülmüştür. Pik potansiyelinin artan tarama hızı ile daha anodik değerlere kayması, herhangi bir indirgenme pikinin gözlenmemesi ile birlikte değerlendirildiğinde, HKA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olduğu sonucu çıkarılabilir.

Pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimine ait denklem şöyledir (Wang *vd.* 2006, Öztürk *vd.* 2010, Taşdemir *vd.* 2011, Erdoğan *vd.* 2011):

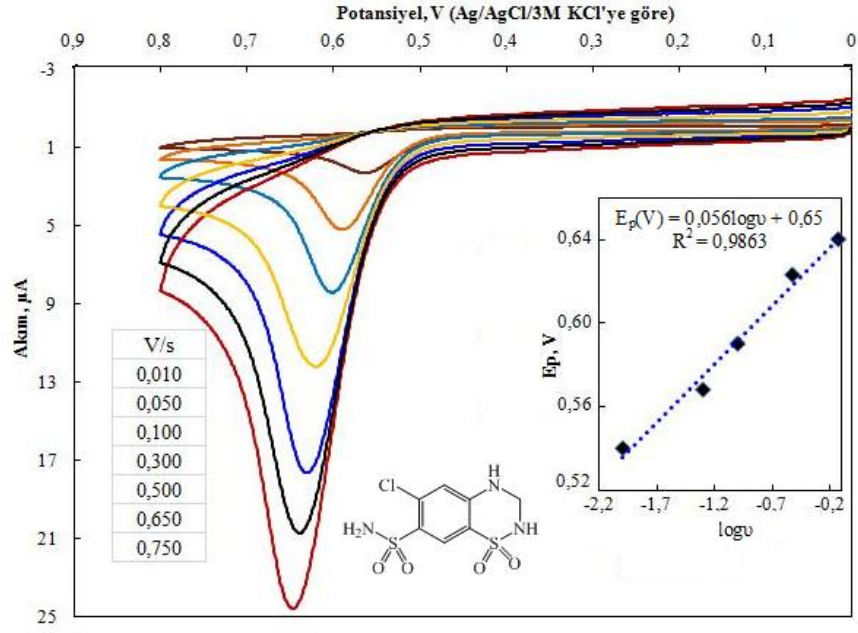
$$E_p = k + \frac{RT}{(n\beta)F} \log v \quad (4.2)$$

Bu eşitlikte;

- E_p : Pik potansiyeli, V
 R : İdeal gaz sabiti, J/(mol K)

T :	Mutlak sıcaklık, K
n :	Hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı, mol elektron/mol molekül
F :	Faraday sabiti, C/mol elektron
β :	Anodik yük aktarım katsayısı
v :	Tarama hızı, Vs^{-1}
k :	Sabit

Yapılan tarama hızı çalışmasında, tarama hızının pik potansiyeline etkisini değerlendirmek için, tarama hızının logaritmasına karşı pik potansiyeli grafiğe geçirilmiş ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile: $E_p(V) = 0,056 \log V + 0,65$ ($R^2 = 0,9863$) eşitliğini sağlayacak şekilde değiştiği görülmüştür (Şekil 4.3, iç grafik). Çizilen bu grafikte elde edilen eğim değeri, Eşitlik 4.2’de kullanıldığında, anodik yük aktarım katsayısı olan β ile elektrot tepkimesinin hız belirleyen basamağında aktarılan elektron sayısının çarpımı ($n\beta$) 0,45 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, $n\beta$ değeri, dönüşümlü voltametri de yapılan tarama hızı çalışmasında elde edilen voltamogramlardaki pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki farkın Eşitlik 2.20’de kullanılmasıyla da, 0,52 olarak hesaplanmıştır (Radi *vd.* 2003, Hilali *vd.* 2005, Atta *vd.* 2007). Aynı parametre, kare dalga voltametri de yapılan frekans çalışmasından ise, 0,49 olarak bulunmuştur (Radi *vd.* 2003, Jain *vd.* 2007). Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği (Brett ve Brett, 1992) ve birçok çalışma elektrodu için bu parametrenin 0,50 olduğu düşünüldüğünde, HKA’nın yükseltgenme mekanizmasındaki hız belirleyen basamakta 1 elektronun aktarıldığı söylenebilir. Hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı 1 olarak kabul edilirse, yük aktarım katsayısının değeri 0,45 – 0,50 civarında bulunur ki; bu, CKE yüzeyinde meydana gelen yükseltgenme olayında HKA yükseltgenmiş forma dönüşürken oluşan ara geçiş türünün (aktifleşmiş kompleks) HKA ile yükseltgenmiş türün tam merkezinde olduğu anlamına gelmektedir. Yani, elektrot tepkimesinde olduğu varsayılan aktifleşmiş kompleksin, tepkime koordinatına göre simetri merkezinde yer aldığı söylenebilir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001). Ölçümlerde alınan voltamogramların hemen hemen simetrik olmaları da bu varsayımı destekler niteliktedir.

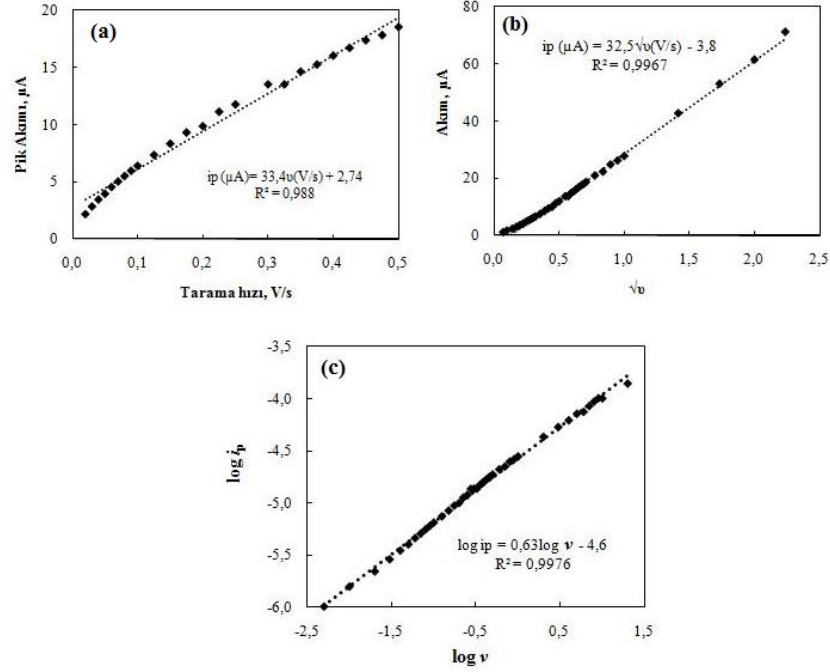


Şekil 4.3 Sabit derişimde HKA içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafik: anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, ÇE: CKE, $C_{HKA} = 2,0$ mM, pH: 5,0, E_b : 0,0V, E_d : 0,8 V, E_s : 0,0 V)

Tarama hızının, pik potansiyeline etkisinin yanında, pik akımına etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla $i_p - v$, $i_p - \sqrt{v}$, $\log i_p - \log v$ (Şekil 4.4) grafikleri çizilmiştir. Buna göre, pik akımının tarama hızı ile doğrusal değişmediği, tarama hızının karekökü ile ise doğrusal olarak değiştiiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, HKA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü olduğu söylenebilir; dolayısıyla, çalışma elektrodu ile HKA arasında gerçekleşen elektron aktarımının elektrot/çözelti ara yüzeyinde gerçekleştiği düşünülebilir. Pik akımının logaritması, tarama hızının logaritmasına karşı grafiğe geçirildiğinde, elde edilen doğrusal grafiğin eğimi 0,63 olarak hesaplanmıştır. Bu değer difüzyon kontrollü mekanizmalar için önerilen 0,50 değerine yakın bir değerdir. HKA'nın yükseltgenmesi, elektrot-çözelti ara yüzeyi yerine elektrot yüzeyinde gerçekleşseydi, eğimin 0,50 değil 1,0 değerine çok daha yakın olması beklenirdi (Brett ve Brett 1992, Scholz *vd.* 2010).

HKA'nın yükseltgenmesinde aktarılan elektron sayısını hesaplamak için, sabit potansiyelde bulk elektroliz çalışması yapılmıştır. Bu çalışma, pH 5,0' de 0,85 V sabit potansiyel uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Bölüm 3.10) ve elektron sayısı $1,87 \pm 0,17$

(N=3) olarak hesaplanmıştır. Buna göre, HKA'nın yükseltgenmesinin, her mol HKA için 2 mol elektronun aktarılması ile gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.4 Tarama hızının HKA'nın pik akımına etkisi ($C_{HKA} = 2,0mM$) (a) pik akımının tarama hızı ile değişimi, (b) pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi ve (c) pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi

Bu noktaya kadarr elde edilen bulgular birleştirildiğinde, CKE yüzeyinde HKA'nın;

- yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna,
- yükseltgenmesinin e^-/H^+ (EC) mekanizması üzerinden yürüdüğüne,
- yükseltgenme tepkimesine katılan elektron ve proton sayısının eşit olduğuna,
- yükseltgenmesinde hız belirleyici basamakta 1, toplamda 2 elektron aktarımının söz konusu olduğuna,
- yükseltgenme tepkimesinin çözelti-elektrot ara yüzeyinde difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiğine,

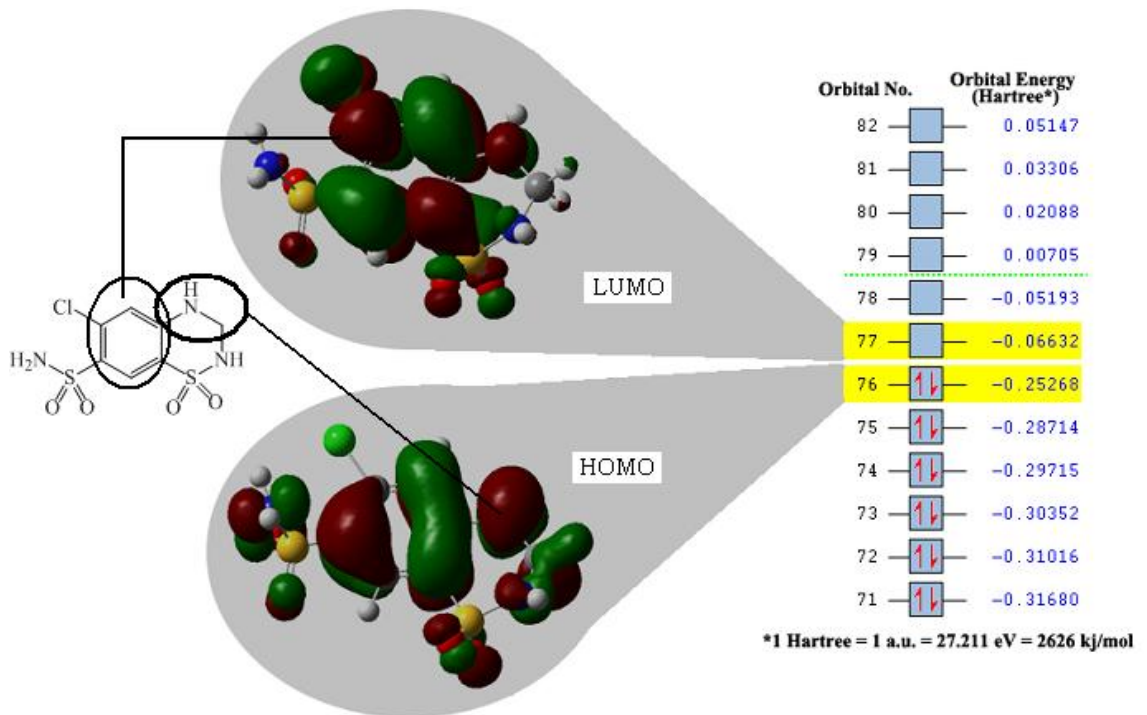
karar verilmiştir.

HKA'nın molekül yapısı (Şekil 2.2) incelendiğinde, yapıda birden fazla yükseltgenebilecek fonksiyonel grubun bulunduğu görülmektedir. Ancak

yükseltgenmenin bu grupların hangisi üzerinden gerçekleştiğine karar vermek oldukça güçtür. Yükseltgenmenin hangi fonksiyonel merkez üzerinden gerçekleştiğine ışık tutmak amacıyla, Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak, HKA molekülü için;

- geometri optimizasyonu,
- teorik olarak tek nokta molekül enerjisi hesabı (single point molecular energy),
- teorik olarak elektrostatik yük dağılımı,
- HOMO-LUMO orbitallerinin ve bağıl enerjilerinin belirlenmesi,

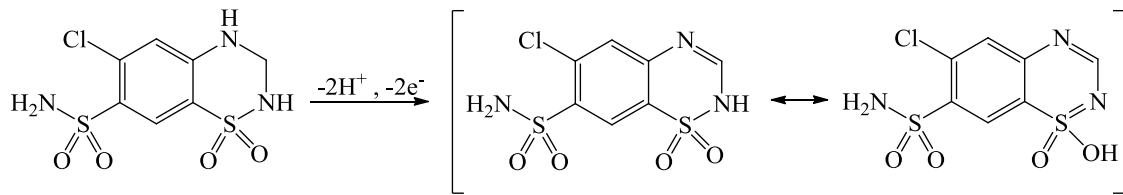
gibi çalışmalar yapılmış ve çalışmaların sonucu kısaca Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak HKA molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri

Şekil 4.5'ten de görüldüğü gibi, HKA molekülünün en yüksek enerjili dolu orbitalleri (HOMO) yapıdaki diazin ve sülfonamid kısmındaki amid grubu üzerindedir. Ancak, söz konusu şekil dikkatle incelendiğinde, HOMO orbital grubuna en büyük katkının diazin grubu tarafından verildiği görülmektedir. Yani, HKA molekülünün olası bir yükseltgenme durumunda yapıdaki diazin grubunun yükseltgenmesi en olası yükseltgenme olarak değerlendirilmektedir. Buna göre, elektrokimyasal yükseltgenmede, diazin grubundaki proton yapıdan ayrılırken deprotonasyona uğrayan

yapının elektron aktararak aktifleşmiş kompleks oluşturduğu; sonra daha hızlı bir şekilde 1 proton ve 1 elektronun daha aktarılması ile yükseltgenmenin tamamlandığı söylenebilir. Bu sonucu Şekil 4.2’de pH’nın artması ile yükseltgenme pik potansiyelinin daha küçük değerlere kayması da desteklemektedir. Çünkü yüksek hidronyum derişimlerinde yapıdaki H’nin ayrılmasının düşük hidronyum derişimlerine göre daha zor olabileceği açıktır. pH’nın 7,0’dan yüksek olduğu durumlarda ise, HKA molekülünün olası bir kimyasal tepkime ile elektrokimyasal olarak aktif olmayan bir türe dönüşmesi, pH’nın 7,0’dan yüksek olduğu durumlarda yükseltgenme pikinin gözlenmemesinin sebebi olarak düşünülmektedir. Bütün bu değerlendirmelerden sonra HKA’nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesi için aşağıdaki olası tepkime mekanizması önerilmiştir. Önerilen mekanizma sonucunda oluşan ürün için olası rezonans yapılarının bulunması, söz konusu ürünün karalılığını ve önerilen mekanizmanın gerçekleşme olasılığını arttırmaktadır.



Şekil 4.6 HKA moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektroyükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma

Literatürde HKA molekülünün yükseltgenmesi ile ilgili iki çalışma mevcuttur (Razak 2004, Rezaei ve Damiri 2008). Bu çalışmalarda, HKA molekülünün $2e^-/2H^+$ ile yükseltgendiği belirtilmekle birlikte, bu yükseltgenmenin molekülün hangi fonksiyonel grubu üzerinden gerçekleştiğine dair ayrıntılı çalışma yapılmamış, sadece yükseltgenebilir grup olan diazin grubunun yükseltgenmesi önerilmiştir. Bu çalışmada ise, dönüşümlü voltametri, kare dalga voltametri ve bulk elektroliz gibi elektrokimyasal çalışmaların sonuçları teorik hesaplama sonuçları ile desteklenerek olası elektrot tepkime mekanizması için önerilerin daha kolay yapılabileceği gösterilmiştir.

Bu çalışmada, ayrıca, kronokulometri ve kronoamperometri yöntemlerinden elde edilen veriler de kullanılarak HKA için difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısı hesaplanmıştır.

Dönüşümlü voltametri verileri ve Eşitlik 2.21 kullanılarak HKA için difüzyon katsayısı $(4,3 \pm 0,2) \times 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Aynı parametre, kronokulometri verileri Eşitlik 2.12 ile kullanıldığında ise, $(4,1 \pm 0,3) \times 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan difüzyon katsayısının değeri, difüzyon kontrollü elektrokimyasal dönüşümler için literatürde verilen değerlerle uyumludur. Zira birçok kaynak kitapta ve yayımlanmış araştırma makalesinde, difüzyon kontrollü dönüşümler için, difüzyon katsayısının 10^{-5} – 10^{-6} mertebesinde olduğu belirtilmektedir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000, Bard and Faulkner 2001).

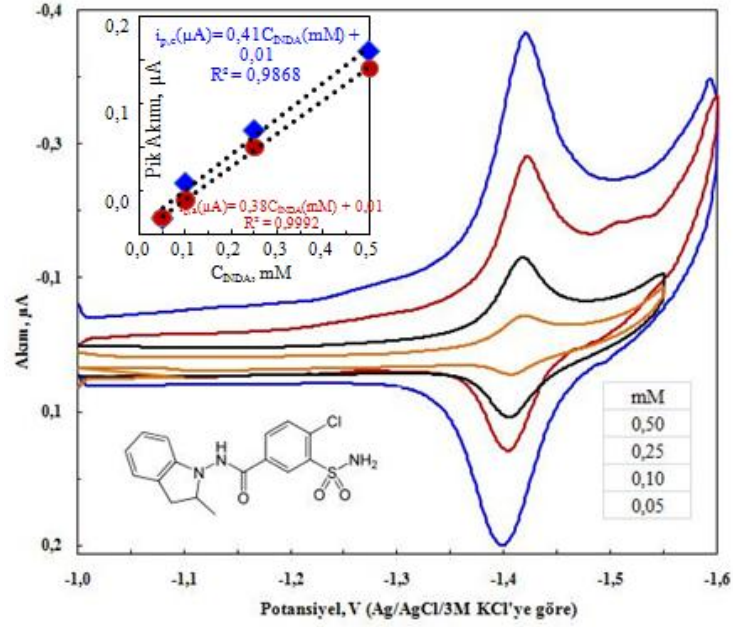
Yüzey kaplama katsayısının hesaplanması için kronokulometri çalışmasında elde edilen parametreler ve Eşitlik 2.13 kullanılmış ve yüzey kaplama katsayısı $10^{-14} \text{ molcm}^{-2}$ mertebesinde hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değer, HKA'nın CKE yüzeyinde difüzyon kontrollü olarak yükseltgendiği varsayımını destekler niteliktedir. Çünkü pek çok kaynakta adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için yüzey kaplama katsayısının 10^{-8} – $10^{-10} \text{ molcm}^{-2}$ aralığında olduğu, yani difüzyon kontrollü elektrot tepkimeleri için bulunan değerlerden çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000, Bard and Faulkner 2001).

NPV çalışmalarında alınan voltamogramların, pik şekli yerine dalga formunda olması da incelenen mekanizmanın difüzyon kontrollü olduğu varsayımını desteklemektedir (Scholz *vd.* 2010).

4.1.2 İNDA'nın elektrokimyasal davranışı

İNDA'nın ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları DV, NPV, KDV, KK, KA ve BE yöntemleri ile incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda pH'sı 5,0'e ayarlanan BR tamponunda farklı derişimlerde İNDA çözeltilerinin 0,0 – (–1,60) V arasındaki potansiyellerde voltamogramları alınmış ancak; 0,0 – (–1,0) V arasındaki potansiyel penceresinde her hangi bir sinyal gözlenmediği için yapılan tüm çalışmalar (–1,00 V) – (–1,60) V arasında gerçekleştirilmiştir. İNDA'ya ait voltamogramlar Şekil 4.7'de verilmiştir. Bu şekilde (–1,42) V'de bir indirgenme piki, –1,40 V'de ise bir yükseltgenme piki gözlenmektedir. Söz Hem indirgenme hemde yükseltgenme pikine ait akımların artan İNDA derişimi ile doğrusal olarak arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.7, iç

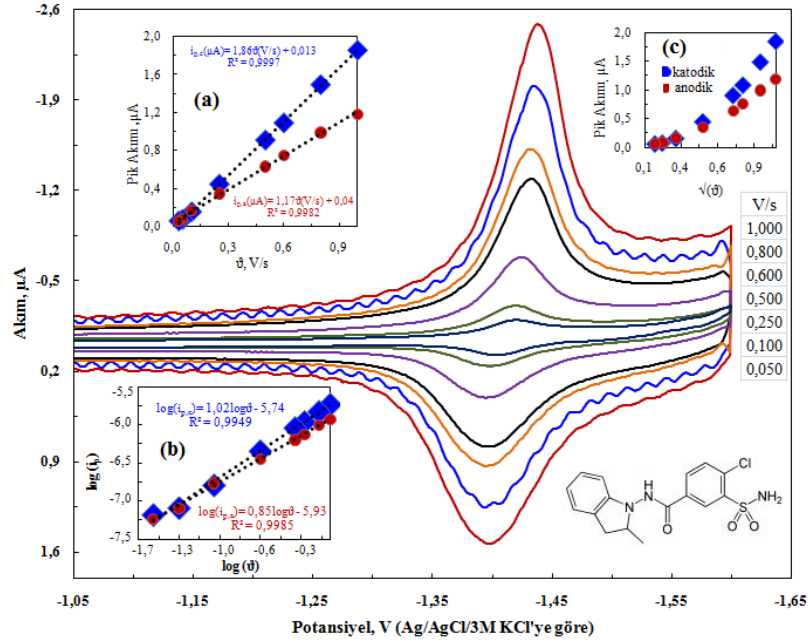
grafik). Buna göre, gözlenen bu piklerin İNDA'nın elektrokimyasal dönüşümünden kaynaklanan pikler olduğu düşünülebilir.



Şekil 4.7 Farklı derişimlerde İNDA içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının İNDA derişimi ile değişimi, ÇE: ADCE, v : 0,100Vs⁻¹, pH: 5,0, E_b : -1,00V, E_d : -1,60V, E_s : -1,00V).

İNDA'nın ADCE yüzeyinde elektrokimyasal aktifliğe sahip olduğu belirlendikten sonra farklı elektrokimyasal yöntemler kullanılarak bu aktiflik ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu incelemede, ilk olarak DV yönteminde tarama hızı çalışması yapılmıştır. Bu amaçla pH'sı 5,0'e ayarlanmış olan BR tamponunda İNDA derişimi 0,50 mM olacak şekilde hazırlanan çözeltinin 0,050 Vs⁻¹ ile 1,000 Vs⁻¹ arasındaki farklı tarama hızlarında voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.8'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi tarama hızı ile pik potansiyelinin değişmemesi ve bir yükseltgenme pikinin gözlenmesi elektrokimyasal dönüşümün tersinir olabileceğini düşündürmüştür. Anodik pik akımının katodik pik akımına oranının da, tersinir mekanizmalar için önerilen 1,0 teorik değerine (Wang 2000) oldukça yakın bulunması söz konusu dönüşümün tersinir olduğu düşüncesini kuvvetle desteklemektedir. Şekil 4.8'den, anodik pik akımının katodik pik akımından küçük olduğu tarama hızı değerlerinde anodik pikin biraz genişlediği ve akımının beklenen değerden küçük olsa bile, pik alanının katodik pik alanına yaklaşık eşit olduğu görülmektedir. Bu sonuç indirgenmiş tür ile yükseltgenmiş türün elektrot yüzeyine farklı kuvvetlerle tutunabileceğini

düşündürmüştür. Tarama hızının, pik akımına etkisi de incelenmiş olup pik akımının tarama hızı ile doğrusal değiştiği (Şekil 4.8, a) ve pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile doğrusal değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.8, b). Bu doğruların eğimleri katodik pik için 1,02; anodik pik için ise, 0,85 olarak bulunmuştur. Bu bulgulara göre, incelenen elektrokimyasal dönüşümler adsorpsiyon kontrollü olmalıdır. Yani çözeltideki İNDA molekülleri kullanılan çalışma elektrodunun (ADCE) yüzeyine adsorbe olduktan sonra elektrot-molekül arasında elektron aktarımı gerçekleşmelidir. İncelenen elektrokimyasal dönüşümün adsorpsiyon kontrollü olduğunun diğer bir göstergesi ise anodik pik potansiyeli ile katodik pik potansiyeli arasındaki farkın oldukça küçük (≈ 2 mV) olmasıdır. Anodik ve katodik pik alanları oranının 1'e çok yakın olması, anodik ve katodik tepkimelerde eşit sayıda elektronun aktarıldığını bir göstergesi olarak alınmıştır. Çünkü pik alanı, pik oluşumuna sebep olan elektrokimyasal olayda sistemden geçen yük ile doğrudan ilişkilidir. Anodik ve katodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimine ait olan grafiklerin eğimlerinin farklı olması indirgenmiş tür ile yükseltgenmiş türün elektrot yüzeyine farklı adsorpsiyon kuvveti ile adsorbe oldukları şeklinde yorumlanmıştır. Çünkü pik simetrisi ve pik akımı, aktarılan elektron sayısının yanında elektron aktarım hızına, elektroaktif türün elektrot yüzeyine hangi pozisyonda yaklaştığına ve elektrot–elektroaktif tür arasındaki etkileşime bağlı olarak değişebilmektedir (Bard ve Faulkner, 2001). Pik akımının ve pik akımı logaritmasının sırası ile tarama hızı ve tarama hızı logaritması ile değişimin yanında, pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi incelendiğinde ise (Şekil 4.8, c), doğrusal olmayan bir bağıntı elde edilmektedir. Bu değişimin doğrusal olmaması söz konusu elektrokimyasal dönüşümde difüzyonun adsorpsiyona göre etkisinin göz ardı edilebileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bütün bunlara ek olarak, NPV yönteminde yapılan çalışmalarda alınan voltamogramların dalga formu yerine pik şeklinde gözlenmesi mekanizmaya adsorpsiyonun etkisini destekler niteliktedir (Scholz *vd.* 2010).

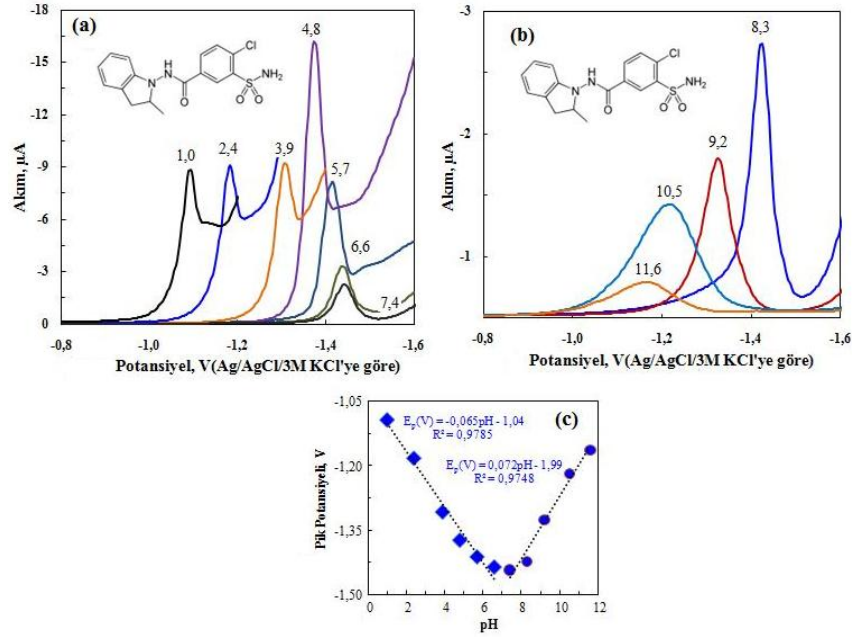


Şekil 4.8 Sabit derişimde İNDA içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi, ÇE: ADCE, $C_{INDA} = 0,50$ mM, pH: 5,0, E_b : -1,05V, E_d : -1,60V, E_s : -1,05V).

Pik parametrelerine, tarama hızının yanında pH'nın etkisi de incelenmiştir. Hem indirgenme hem de yükseltgenme pikinin pH ile değişimi araştırıldığı halde kolay anlaşılması bakımından burada sadece katodik pikler için olan irdeleme verilmiştir (Şekil 4.9). Çünkü DV verilerindeki pikler pH değiştikçe örtüşmekte ve şekilden bir yoruma gidilebilmesi güçleştirmektedir. Şekil 4.9 (a)'da görüldüğü asidik bölgede (pH < 7,0) katodik pik potansiyeli artan pH ile daha katodik değerlere kaymaktadır. Pik potansiyelinin pH ile değişimi elektrokimyasal tepkimeye hidrojen iyonlarının katıldığını, pik potansiyelinin artan pH değeri ile daha da katodik değerlere kayması ise, elektron aktarımından önce bir protonlanma basamağının gerçekleştiğini düşündürmüştür. Asidik ortamda, pH değeri arttıkça yani hidrojen iyonu derişimi azaldıkça, İNDA'nın indirgenme potansiyeli katodik yönde kaymakta; yani, indirgenme zorlaşmaktadır. Sonuç olarak İNDA molekülünde asidik bölgedeki indirgenmenin protonlanmış moleküle elektron aktarımı şeklinde olduğu düşünölmektedir. Bu durumda moleküle elektron aktarımından önce protonun bağlanabilmesi için uygun bir

fonksiyonel grubun bulunması gerekir. Yani İNDA molekülündeki en fazla negatif yükü barındıran fonksiyonel grup elektron aktarımından önce protonlanmalıdır.

Bazık bölgede ($\text{pH} > 7,0$) ise asidik bölgedeki indirgenmenin pH ile değişiminin tersi yönünde bir eğilim gözlenmiştir (Şekil 4.9, b).



Şekil 4.9 İNDA'nın KDV ile alınan voltamogramlarının pH'nın etkisi (a) pH 1,0 – 7,4, (b) pH 8,3 – 11,6 ve (c) Pik potansiyelinin pH ile değişimi, ($C_{INDA} = 5,0\mu\text{M}$, ÇE: ADCE)

Şekil 4.9 (b)'den de görülebileceği gibi, bazık ortamda pH arttıkça katodik pik potansiyeli daha az negatif değerlere kaymaktadır. Buna göre yüksek pH değerlerinde elektron aktarımı İNDA moleküllerine proton bağlanma basamağından önce olmalıdır. P,k potansiyelinin pH ile değişimi grafiğe geçirildiğinde (Şekil 4.9, c) grafiğin yaklaşık olarak pH 7'de bir minimumdan geçtiği ve bu pH'nın her iki tarafında da değişimin doğrusal olduğu görülmüştür. Söz konusu mekanizmalarda mekanizmaya katılan proton sayısının elektron sayısına oranı Eşitlik 4,1 ve Şekil 4.9 (c)'de oluşturulan doğruların eğimleri kullanılarak hesaplandığında her iki bölgede de, aktarılan elektron sayısına eşit sayıda protonun mekanizmaya katıldığı hesaplanmıştır.

Pik potansiyelinin pH ile değişiminin yanında pik akımının değişimi de incelendiğinde, asidik bölgede pH 4,8'e kadar pik akımının pH ile yaklaşık olarak değişmediği, by

değerde maksimuma ulaştığı ve sonra ani bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bazik ortamlarda da pH ile pik akımındaki azalma devam etmektedir.

İNDA molekülüne aktarılan elektron sayısını bulmak amacıyla pH 4,8'de -1,50V'ta sabit potansiyelde bulk elektroliz yapılmıştır. Ancak bulk elektroliz süresi beklenenden uzun tutulsa bile, alınan voltamogramlardan pik akımı ve pik potansiyelinde kayda değer bir değişikliğin gözlenmediği belirlenmiştir. Bulk elektroliz işlemi devam ederken elektroliz sisteminden yük geçişi ve birkaç miliamper mertebesinde akım geçişi gözlenmiş ve akımın düzenli bir şekilde azalarak başlangıç akımının %35'i civarına indiğinde sabit kaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgular;

- gözlenen elektrokimyasal dönüşümün tersinir olduğu
- elektroliz süresince yaklaşık aynı potansiyelde indirgenme-yükseltgenme döngüsünün kurulduğu

şeklinde değerlendirilmiştir. Bu gözlemlere göre bulk elektroliz yöntemi ile mekanizmada aktarılan elektron sayısının bulunması mümkün olmamıştır. Zira, bulk elektroliz, gözlenen pik akımında herhangi bir değişikliğe sebep olmamış, bundan dolayı da bulk elektroliz süresince sistemden geçen yükün ne kadarlık kısmının elektroliz için kullanıldığı hesaplanamamıştır. Elektrot mekanizmasında aktarılan elektron sayısı için DV yönteminde elde edilen tarama hızı çalışmaları verilerinden yararlanılarak $0,050 \text{Vs}^{-1}$ – $1,000 \text{Vs}^{-1}$ tarama hızı aralığında Eşitlik 2.19'dan $1,95 \pm 0,1$ (N=20) olarak hesaplanmıştır.

Bütün bu bulgular değerlendirildiğinde, ADCE yüzeyinde İNDA'nın;

- indirgenmesinin tersinir olduğu,
- indirgenmesinin asidik ortamda H^+/e^- (CE), bazik ortamda ise e^-/H^+ (EC) mekanizması üzerinden yürüdüğü,
- indirgenme tepkimesine eşit sayıda proton ve elektronun katıldığı,
- indirgenmesinde toplamda 2 elektronun aktarıldığı,
- indirgenmesinin ADCE yüzeyinde, adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiği,
- indirgenme ve indirgenmenin karşılığında gerçekleşen yükseltgenmenin yaklaşık aynı potansiyelde gerçekleştiği

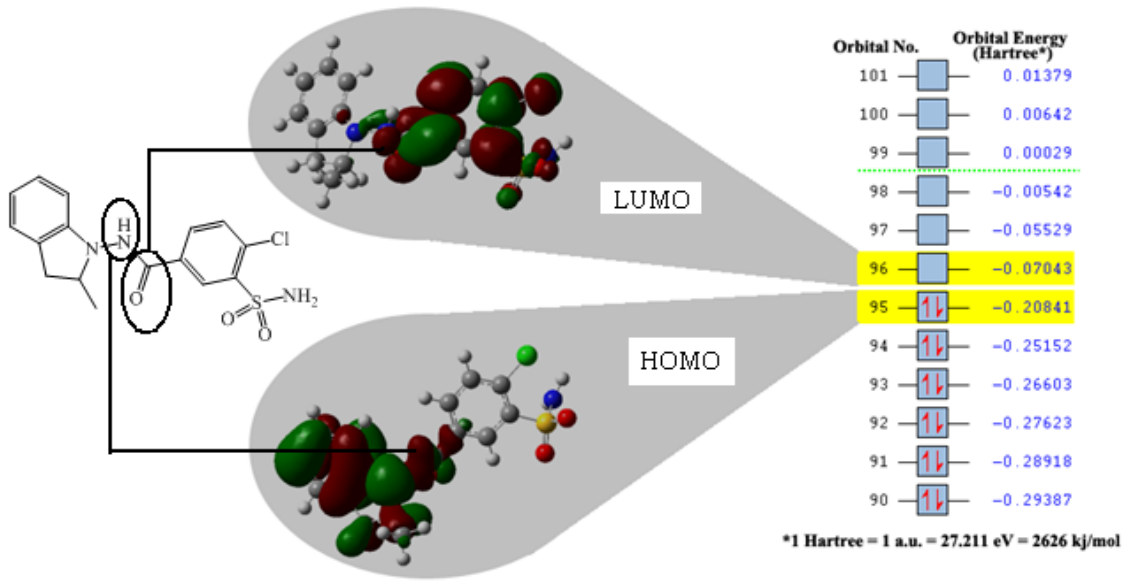
sonuçları elde edilmiştir.

İNDA'nın molekül yapısı (Şekil 2.3), HKA'nın molekül yapısı (Şekil 2.2) ile karşılaştırıldığında her iki molekülde de ortak fonksiyonel grupların bulunduğu, İNDA'nın yapısında HKA molekülünde bulunmayan ve elektrokimyasal olarak indirgenmediği bilinen karbonil grubunun bulunduğu görülmektedir. Bilindiği gibi, HKA molekülü ADCE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif değildir (Bölüm 4.1.1) Bu nedenle İNDA'nın elektrokimyasal indirgenmesinin karbonil grubu üzerinden olabileceği değerlendirilmiştir. Bu öngörünün desteklenmesi için için Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak, İNDA molekülü için;

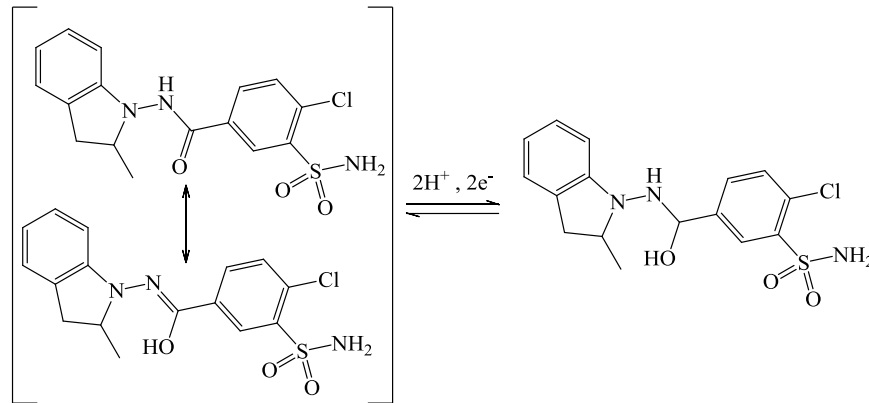
- geometri optimizasyonuna,
- teorik olarak tek nokta molekül enerjisi hesabına,
- teorik elektrostatik yük dağılım haritasının belirlenmesine,
- HOMO-LUMO orbitallerinin ve bu orbitallerin bağlı enerjilerinin belirlenmesine

yönelik çalışmalar yapılmış ve bu çalışmaların sonuçları kısaca Şekil 4.10'da verilmiştir.

Yapılan teorik hesaplamalarda İNDA molekülünde en yüksek negatif elektrostatik yüke sahip olan grubun karbonil grubu ve LUMO orbitallerinin de yine bu karbonil grubundaki orbitaller olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, İNDA molekülünün olası indirgenmesinde aktarılan elektronların ilk yerleşeceği orbital karbonil orbitalleri olmalıdır. Ayrıca, elektrostatik olarak en negatif fonksiyonel grubun da, yine aynı grup olduğu düşünülürse, olası protonlanma mekanizmasında molekülde, proton bağlama olasılığı en yüksek olan grubun yine bu karbonil grubu olduğu açıktır. Bu sonuçlara göre, asidik çözeltilerde gerçekleşen indirgenmede, ilk olarak karbonil oksijenin protonlandığı, protonlanmayı takip eden süreçte karbonil oksijeni ile karbon arasındaki çift bağın oksijen üzerine açıldığı, aynı anda yeterli negatif potansiyele sahip olan çalışma elektrodundan söz konusu karbon atomuna elektron aktarıldığı, sonra daha hızlı bir şekilde bir proton ve bir elektron daha aktarılarak indirgenmenin tamamlandığı, en olası mekanizma olarak düşünülmektedir. Bazı ortamlarda ise ortamdaki hidrojen iyonu derişimi düşük olduğun karbonil grubuna önce elektronun aktarıldığı ve sonra molekülün protonlandığı varsayılmıştır. Literatürdeki karbonil grubunun tersinir olarak indirgenmesi ile ilgili verilenler de önerilen elektrot tepkime mekanizmasını desteklemektedir.



Şekil 4.10 Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak İNDA molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağlı enerji değerleri



Şekil 4.11 İNDA moleküllerinin ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektroindirgenme tepkimesi için önerilen mekanizma

İNDA molekülleri için difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısı da hesaplanmıştır. Difüzyon katsayısının hesaplanmasında elektrokimyasal veriler üç farklı yaklaşım kullanılarak değerlendirilmiştir: (i) adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için Garrido ve arkadaşları tarafından geliştirilip valide edilen Eşitlik 4.3 (Garrido *vd.* 1992), (ii) KA ve KK verileri için Eşitlik 2.10 ve (iii) DV verileri içindaha önce verilen Eşitlik 2.16 – Eşitlik 2.19.

$$i_p = 1,06 \times 10^6 n^2 ACvD^{1/2} t_p^{1/2} \quad (4.3)$$

Bütün bu hesaplamalar sonucu ortalama difüzyon katsayısı $(1,2 \pm 0,1) \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Aynı yaklaşımla, yüzey kaplama katsayısının, derişime bağlı olarak $(3,6 \pm 0,4) \times 10^{-11} \text{ molcm}^{-2} - (8,6 \pm 0,4) \times 10^{-10} \text{ molcm}^{-2}$ aralığında değiştiği belirlenmiştir. Ancak, bu parametrenin, derişim ne kadar arttırılsa da $9 \times 10^{-10} \text{ molcm}^{-2}$ değerinden daha yüksek değeri almadığı belirlenmiştir. Bundan dolayı, ADCE'ta İNDA için $0,0142 \text{ cm}^2$ 'lik bir elektrot yüzeyinde, yüzey doygunluğunun bir ölçüsü olarak bu değerin alınabileceği düşünölmektedir. Bu sonuca göre, İNDA moleküllerinin ADCE yüzeyine yüzeyin doygunluğa ulaştığı durumda tek tabaka halinde ve ideal küresel şekilde adsorbe olduğu düşünölrse, yüzeydeki her İNDA molekülünün ortalama $5,4 \text{ nm}^2$ yüzey kapladığı sonucuna varılmıştır.

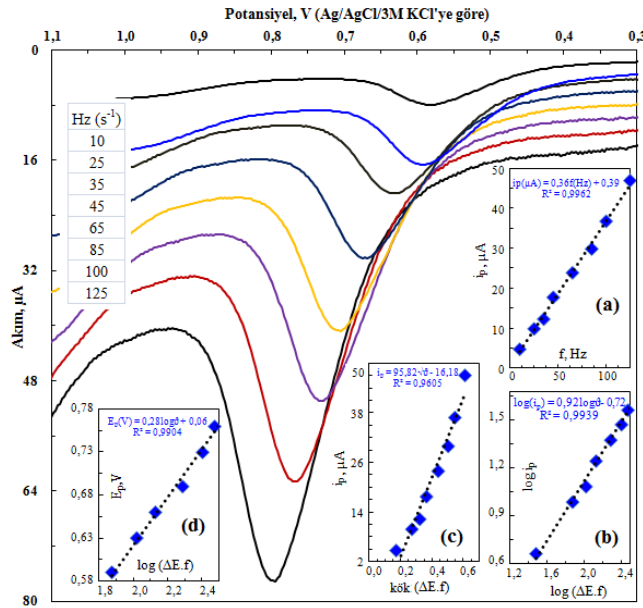
İNDA molekülünün CKE yüzeyindeki elektrokimyasal yükseltgenme davranışı da incelenmiştir. Bu alışmada ADCE kullanılarak yapılan elektrokimyasal çalışmalardaki yöntemler aynı sıra ile uygulanmıştır. İNDA için pH 8,5'te, tarama hızı veya uyarma frekansı arttırıldığıca daha anodik potansiyellere kayan bir yükseltgenme piki gözlenmiş ve KD voltamogramları şekil 4.12'de verilmiştir. Ancak bu molekül için CKE'de bir indirgenme piki gözlenmemiştir. Dolayısıyla CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğini düşöndürmüştür. İNDA molekülleri için CKE yüzeyinde DV ve KDV yöntemleriyle elde edilen bulgular değerlendirildiğinde;

- frekans attıkça pik potansiyelinin daha anodik potansiyellere kaydığı,
- pik akımının frekans ile doğrusal değiştiği,
- pik akımının logaritmasının, tarama hızının logaritması ile doğrusal değiştiği ve doğrunun eğiminin 0,92 olduğu,
- pik akımının, tarama hızının karekökü ile yüksek tarama hızlarında doğrusal olarak değiştiği, düşük tarama hızlarında ise doğrusal değişmediği,
- pik potansiyelinin, tarama hızının logaritması ile doğrusal değiştiği

sonuçları elde edilmiştir.

KDV yönteminde frekans, tarama hızı ile ilgili bir parametre olduğundan, KDV'de artan frekans ile pik potansiyelinin anodik değerlere kayması, DV yöntemindeki artan

tarama hızı ile pik potansiyelinin daha anodik değerlere kayması eşdeğerdir. Buna göre, tarama hızının düşük olduğu durumlarda, taramanın başladığı andan yükseltgenmenin başlamasına kadar geçen süre, İNDA'nın yüzeye adsorbe olması için yeterli olur ve bu tarama hızlarında incelenen yükseltgenme olayının elektrot yüzeyinde gerçekleştiği düşünülebilir. Tarama hızının yüksek olduğu durumlarda ise İNDA elektrot yüzeyine adsorbe olmadan yükseltgenebilir. Yani elektron aktarımının ne zaman ve nerede gerçekleşeceğini etkileyen ana faktör, İNDA türlerinin elektrot-çözelti ara yüzeyine difüzyonla taşınması ve elektrot yüzeyine adsorplanma olarak değerlendirilmektedir. Ara değerlerdeki tarama hızlarında ise mekanizmaya hem adsorpsiyonun hem de difüzyonun etkisi söz konusudur. Sonuç olarak, yüksek tarama hızlarında elektrot tepkime mekanizmasının difüzyon kontrollü; düşük tarama hızlarında adsorpsiyon kontrollü, orta tarama hızlarında ise her iki durumun etkisinin de söz konusu olduğu söylenebilir.

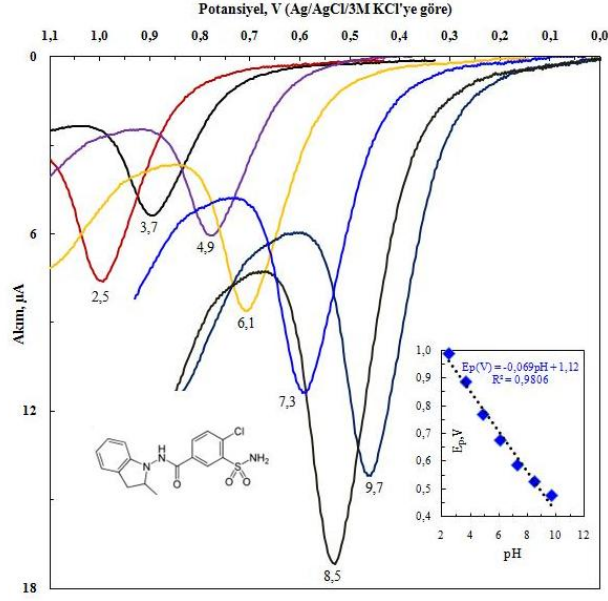


Şekil 4.12 İNDA'nın çeşitli frekanslardaki KD voltamogramları için grafikler: (a) anodik pik akımının frekans ile değişimi, (b) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi, (c) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi ve (d) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi ($C_{INDA} = 22,5 \mu\text{M}$, pH: 8,5, E_b : 0,30V, E_s : 1,10 V, ÇE: CKE)

KDV yöntemi kullanılarak yapılan frekans çalışmasında, uyarma frekansının pik potansiyeline etkisini değerlendirmek için, pik potansiyelinin uygulanan sinyalin adım yüksekliği ile frekansının çarpımı ile oluşturulan tarama hızı değerinin logaritmasına

karşı grafiği çizildiğinde, Şekil 4,12 (d)' de verilen grafik elde edilmiştir. Gerekli birim dönüşümlerinden sonra bu grafiğin eğimi, Eşitlik 4.2 ile birlikte değerlendirildiğinde, anodik yük aktarım katsayısı olan β ile hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısının(n) çarpımı (βn) 1,12 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, βn değeri, DV yönteminde yapılan tarama hızı çalışmasında elde edilen voltamogramlardaki pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki farkın Eşitlik 2.20'de kullanılmasıyla da 1,26 olarak bulunmuştur. Aynı parametre için, DV'de yapılan tarama hızı çalışmasındaki veriler ve Eşitlik 4.2'nin kullanılması ile bulunan değer 1,20'dir. Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği ve birçok çalışma elektrodu için 0,50 olduğu düşünüldüğünde, İNDA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinde hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayının, mekanizmada aktarılan toplam elektron sayısına eşit olduğu ve bu sayının 2 olduğu düşünülebilir. Bu varsayımın doğru kabul edilmesi durumunda anodik yük aktarım katsayısı yaklaşık olarak 0,60 bulunur. Bu sonuç, elektrot tepkimesinde olduğu varsayılan aktifleşmiş kompleksin, tepkime koordinatına göre simetri merkezinde değil, simetri merkezine göre bir miktar ürünlere doğru kaydığı bölgede bulunduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

İNDA'nın CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışına hidrojen iyonlarının etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla İNDA derişimi 22,5 μM olarak hazırlanan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 2,5–10,0 arasında değiştirilmiş ve kare dalga voltamogramları alınmıştır. Bu pH aralığında İNDA'ya ait yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şekil 4.13). Söz konusu şekilden de görüldüğü gibi, yükseltgenme pik potansiyeli artan pH ile daha düşük anodik potansiyellere kaymaktadır. Artan pH ile pik potansiyelinde gözlenen bu kayma yükseltgenme mekanizmasında hidronyum iyonlarının önemli bir rol oynadığı şeklinde değerlendirilmiştir. Buna göre ortamda bulunan hidronyum iyonlarının derişimi azaldıkça yükseltgenme olayı kolaylaşmaktadır. Bu sonuç yükseltgenme mekanizmasında İNDA'dan protonun ayrıldığı ve ayrılan protonun ortamdan uzaklaştırılmasının devam eden yükseltgenme olayını katalizlediği, bunun sonucu olarak ta yüksek pH değerlerinde yükseltgenmenin düşük potansiyellere kaydığı şeklinde değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda pik potansiyelinin pH ile değişim bağıntısı: $E_p(\text{V}) = -0,069 \text{ pH} + 1,12$ ($R^2=0,9806$) şeklinde bulunmuştur (Şekil 4.13, iç grafik).



Şekil 4.13 İNDA'nın farklı pH'lardaki KD voltamogramları. İç grafik: anodik pik potansiyelinin pH ile değişimi ($C_{İNDA} = 22,5 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)

Söz konusu bu bağıntının eğimi (69 mV/pH) Eşitlik 4.1 le birlikte kullanıldığında, yükseltgenme mekanizmasına katılan proton sayısının, yine mekanizmaya katılan elektron sayısına oranı hesaplanmış ve 1,17 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak elektrot mekanizmasına toplamda eşit sayıda elektron ve protonun katıldığı söylenebilir.

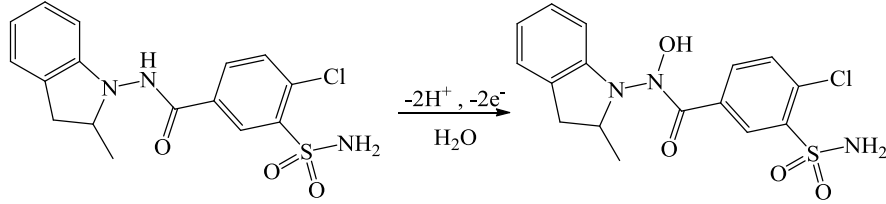
İNDA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinde aktarılan elektron sayısını hesaplamak için pH 8,5'te, 0,70 V sabit potansiyelde bulk elektroliz çalışması yapılmış ve elektron sayısı $1,95 \pm 0,15$ ($N=3$) olarak hesaplanmıştır. Buna göre, İNDA'nın CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin, her mol İNDA için 2 mol elektronun aktarılması ile gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Elektrokimyasal davranışla ilgili bulgular birleştirildiğinde, CKE yüzeyinde İNDA'nın;

- yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna,
- yükseltgenmesinin e^-/H^+ (EC) mekanizması üzerinden yürüdüğüne,
- yükseltgenme tepkimesine katılan elektron ve proton sayısının eşit olduğuna,
- yükseltgenmenin toplam $2e^-/2H^+$ aktarımı ile gerçekleştiğine,
- yükseltgenmesine seçilen tarama hızı değerine göre adsorpsiyonun ve difüzyonun katkıda bulunduğuna

karar verilmiştir.

İNDA'nın molekül yapısı incelendiğinde, komşu karbonil grubu ve azot atomu tarafından etkinleştirilen NH grubunun yükseltgenebileceği öngörülebilir. Bu öngörünün yapılan teorik hesaplama ve geometri optimizasyonu çalışmasıyla da desteklenmesi (Şekil 4.10) sonucunda, Şekil 4.14'te verilen elektro-yükseltgenme mekanizmasının önerilmesi uygun görülmüştür.



Şekil 4.14 İNDA moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektro-yükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma

İNDA için elektrokimyasal verilerden difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısı hesaplandı. Bu molekülün yükseltgenmesinin difüzyon mu yoksa adsorpsiyon kontrollü mü olmasının tarama hızına bağlı olduğu belirtilmişti. CKE yüzeyinde düşük tarama hızı çalışmalarında adsorpsiyon kontrolü söz konusu olduğundan, tarama hızının 0,100 Vs⁻¹'e kadar olduğu düşük tarama hızlarında (I. bölge) difüzyon katsayısı hesaplaması Eşitlik 4.8; 0,100–0,350 tarama hızlarında (II bölge) Eşitlik 4.3 ve Eşitlik 2.19; daha yüksek tarama hızlarında ise Eşitlik 2.21 kullanılarak difüzyon katsayısı hesaplanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda DV yönteminde, I. bölgede ortalama difüzyon katsayısı $(7,2 \pm 0,1) \times 10^{-9} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, II. bölgede $(8,8 \pm 0,1) \times 10^{-8} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$; III. Bölgede ise $(1,2 \pm 0,1) \times 10^{-6} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. KA yönteminde Cottrell eşitliği olarak da adlandırılan Eşitlik 2.10 kullanılarak hesaplanan ortalama difüzyon katsayısı $(4,8 \pm 0,2) \times 10^{-7} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ dir.

İNDA moleküllerinin CKE yüzeyine adsorbe olma kuvvetinin bir ölçüsü olan yüzey kaplama katsayısı da, difüzyon katsayısında olduğu gibi 3 farklı tarama hızı bölgesinde hesaplanmıştır. I. bölgede $(3,2 \pm 0,3) \times 10^{-8} \text{molcm}^{-2}$; II. Bölgede $(6,9 \pm 0,5) \times 10^{-9} \text{molcm}^{-2}$; III. Bölgede ise $(7,6 \pm 0,3) \times 10^{-12} \text{molcm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, bu üç bölgede hesaplanan difüzyon ve yüzey kaplama katsayılarının sayısal değerleri, düşük tarama hızlarında elektrot tepkimesinin adsorpsiyon kontrollü, yüksek tarama hızlarında difüzyon kontrollü; ara değerlerde ise her iki olayın da birlikte etkin olduğunu göstermektedir.

Tarama hızına bağılı olarak elektrot tepkime mekanizmasının difüzyon kontrollü yada adsorpsiyon kontrollü olarak değişmesi, DV çalışmalarında yapılan başka bir deneysel gözlem ile de doğrulanmıştır. Bu çalışmada, yukarıda sınırları verilen her üç tarama hızı bölgesinde de 25 döngülük dönüşümlü voltamogramlar alınmış ve şu sonuçlar bulunmuştur:

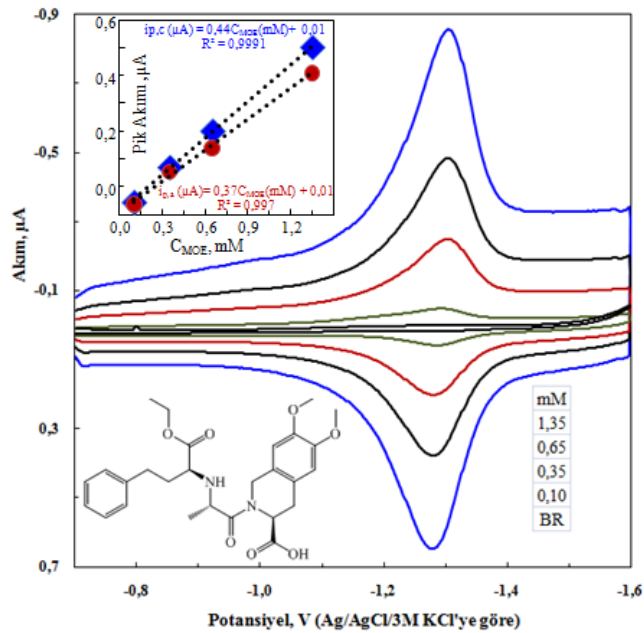
- I. bölgede ilk döngüdeki akımın ardışık döngülerde ciddi şekilde azaldığı ve üçüncü döngüden sonra ilk döngüdeki akımın % 5 i seviyesinde sabit kaldığı gözlenmiştir. Yani tarama hızının göreceli olarak düşük tutulduğu durumlarda elektrot yüzeyi daha ilk döngülerde molekül tarafından bloke edilmekte ve sonraki döngülerde İNDA moleküllerinin yüzeye erişimi ve elektron aktarımına katılması engellenmektedir.
- II. Bölgede ardışık döngülerde akım azalmakta ancak yüzeyin tamamen bloke olup akımın ilk döngüdeki akımın % 5 i gibi seviyelere düşmesi için düşük tarama hızı çalışmalarındakine göre çok daha fazla döngüye ihtiyaç duyulmaktadır.
- III. bölgede ardışık döngülerde neredeyse aynı akım üretilmektedir. Yani tarama hızı arttıkça kütle aktarımı ve yüzeyin kaplanması için gereken süre tamamlanmadan yani adsorpsiyon olmadan elektrokimyasal dönüşüm gerçekleşmektedir.

4.1.3 MOE'nin elektrokimyasal davranışı

MOE'nin ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları DV, NPV, KDV, KK, KA ve BE yöntemleriyle incelenmiştir.

MOE'nin ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik çalışmalarda, öncelikle pH 5,5'te, BR tamponunda, farklı derişimlerde MOE içeren çözeltilerin -0,70 V ile (-1,60) V aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.15'te verilmiştir. Söz konusu şekilden de görüldüğü gibi, yaklaşık -1,28 V civarında bir indirgenme/yükseltgenme pik çifti gözlenmiştir. Farklı derişimlerde MOE içeren çözeltilerin kullanılmasıyla alınan voltamogramlarda, pik

akımının artan MOE derişimi ile doğrusal olarak artması (Şekil 4.15, iç grafik) gözlenen bu indirgenme/yükseltgenme pik çiftinin, MOE'nin ADCE yüzeyindeki indirgenme/yükseltgenmesine ait olduğu ve bu tepkimenin tersinir olabileceği sonucunu doğurmuştur. Şekil 4.15'te verilen voltamogramların hemen hemen simetrik ve indirgenme/yükseltgenme potansiyelleri arasındaki farkın (ΔE) yaklaşık sıfır olması MOE'nin ADCE yüzeyindeki indirgenme-yükseltgenme olayının elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini göstermektedir. Çünkü akım değerinin 0 olduğu eksene göre simetrik indirgenme-yükseltgenme pik çiftinin gözlenmesi ($\Delta E \approx 0$) adsorpsiyon kontrollü mekanizmaların, yani elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarımının en önemli göstergelerinden birisidir (Brett ve Brett 1992, Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001, Scholz *vd.* 2010). Bu durum ile indirgenmiş ve yükseltgenmiş türlerin yüzeye yaklaşık aynı tutunma kuvveti ile adsorbe olmaları sonucunda ve yüzey ile adsorbe olan türlerin Gibbs serbestlik enerjilerinin aynı olduğu durumlarda karşılaşılabacağı rapor edilmiştir (Gosser 1994) (Şekil 2.18, A).



Şekil 4.15 MOE'nin dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının MOE derişimi ile değişimi (ÇE: ADCE, ν : 0,100 Vs⁻¹, pH: 5,5, E_b : -0,7 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,7 V).

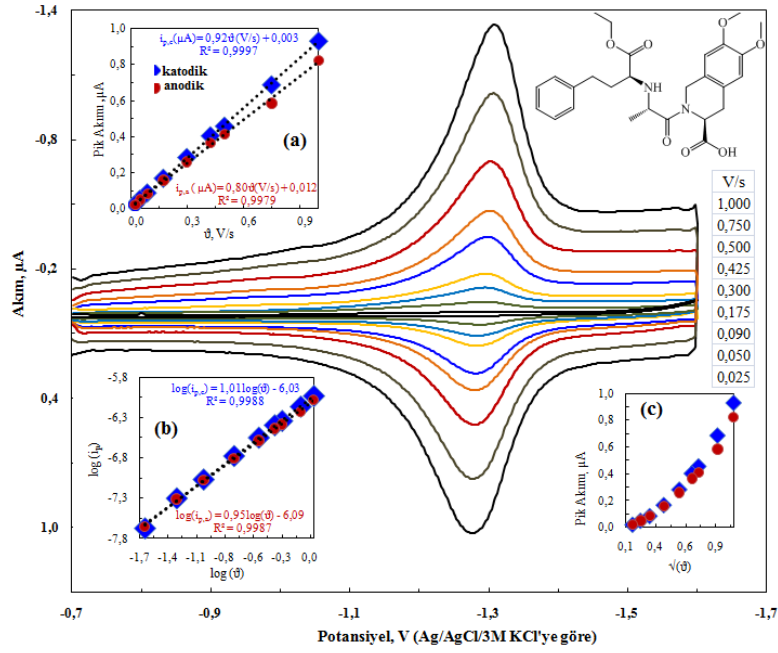
Elektrokimyasal davranışın ayrıntılı olarak irdelenmesi için ilk olarak DV yönteminde pik potansiyeli ve pik akımına tarama hızının etkisi incelenmiştir. Bunun için pH'sı 5,5'e ayarlanmış 0,50 mM MOE çözeltisinin 0,025 Vs⁻¹-1,00 Vs⁻¹ arasındaki çeşitli

tarama hızlarında voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.16'da verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi, pik çiftinin potansiyeli tarama hızı ile değişmemektedir. Pik potansiyelinin tarama hızı ile değişmemesinden, indirgenme pikine karşılık yükseltgenme pikinin de gözlenmesinden ve anodik pik akımının katodik pik akımına oranının yaklaşık olarak 1,0 olmasından (Şekil 4.16, iç grafik a), MOE'nin ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin tersinir olduğu sonucu çıkarılabilir. Tarama hızının pik akımına etkisi incelendiğinde ise;

- indirgenme ve yükseltgenme pik akımının tarama hızı ile doğrusal değiştiği,
- pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile her iki pik için doğrusal olarak değiştiği ve elde edilen doğrunun eğiminin indirgenme piki için 1,01; yükseltgenme piki için ise 0,95 olduğu
- indirgenme ve yükseltgenme piklerinin akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmediği

görülmüştür. Bu sonuçlardan, MOE'nin ADCE yüzeyindeki indirgenme ve yükseltgenmesinin adsorpsiyon kontrollü olduğu, yani elektron aktarımının elektrot yüzeyinde gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Bunun yanında NPV yönteminde alınan voltamogramların pik şeklinde gözlenmesi (Scholz vd. 2010) de mekanizmanın adsorpsiyon kontrollü olduğunu gösteren bir diğer sonuçtur.

MOE'nin ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesinde pH'nın pik potansiyeline etkisi de incelenmiştir. MOE derişimi 2,0 μM olarak hazırlanan çözeltilerin pH'ları BR tamponu kullanılarak 2,0 – 10,0 aralığında değiştirilmiş ve kare dalga voltamogramları kaydedilerek elde edilen voltamogramlar Şekil 4.17'de verilmiştir. MOE'ye ait indirgenme pikinin şekli pH'nın 3,5'ten küçük, 8,5'ten büyük olduğu durumlarda bozulmuştur. Şekil 4.17'den de görüldüğü gibi, indirgenme pik potansiyeli artan pH ile (azalan hidronyum iyonu derişimi ile) daha katodik potansiyellere kaymaktadır. MOE'nin düşük pH değerlerinde, yüksek pH değerlerine göre daha kolay protonlanacağı düşünüldüğünde, protonlanmış türün protonlanmamış türe göre daha kolay indirgendiği söylenebilir. Bu gözlemden MOE'nin ADCE yüzeyindeki elektro-indirgenmesine hidronyum iyonlarının önemli bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır.

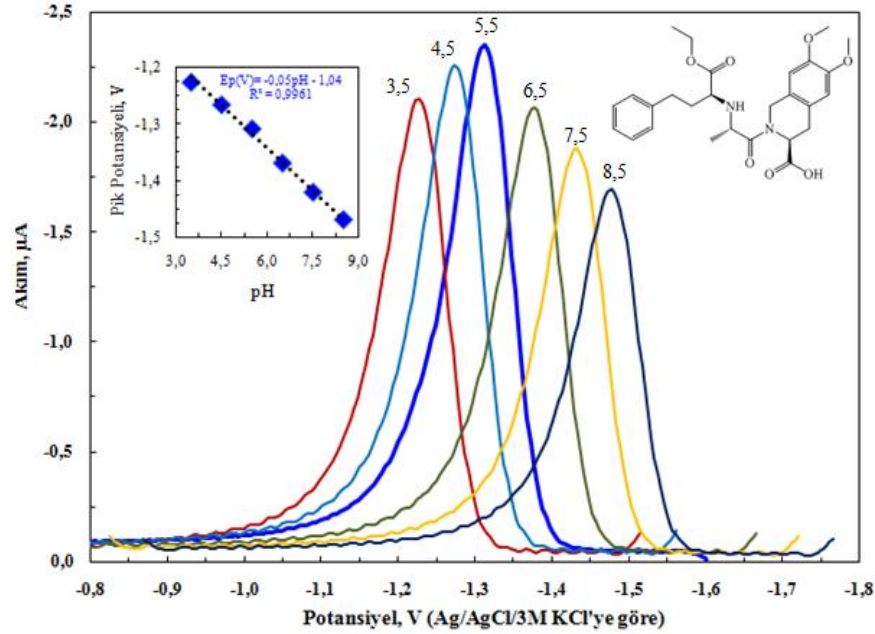


Şekil 4.16 MOE'nin voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi (ÇE: ADCE, $C_{MOE} = 0,50$ mM, pH: 5,5, $E_b: -0,70$ V, $E_d: -1,60$ V, $E_s: -0,7$ V).

Yapılan çalışmalarda indirgenme pik potansiyelinin pH ile değişim eşitliği, $E_p(V) = -0,059 \text{ pH} - 1,04$, ($R^2=0,9961$) (Şekil 4.17, iç grafik) şeklinde bulunmuştur. Elde edilen bu bağıntının eğimi, Eşitlik 4.1 ile birlikte değerlendirilerek, indirgenme mekanizmasına katılan proton sayısının mekanizmada aktarılan elektron sayısına oranı hesaplanmış ve 0,997 olarak bulunmuştur. Bu da MOE'nin indirgenmesinde mekanizmaya eşit sayıda elektron ile protonun katıldığını göstermektedir. Pik akımlarının pH ile değişimine bakıldığında, pH arttıkça pik akımlarında önemli bir değişim gözlenmemiştir. Ancak en yüksek akım pH 5,5'te elde edildiğinden, diğer mekanizma çalışmaları bu pH'da yapılmıştır.

Mekanizmaya katılan elektron sayısının belirlenmesi için, pH 5,5'te ve potansiyelin -1,50V'ta bulk elektroliz yapılmıştır. Yapılan bulk elektroliz sonucunda, elektrolizin pik akımında ve pik potansiyelinde anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Bu sonuç; elektroliz boyunca sistemden geçen yükün indirgenmeye sebep olsa bile, indirgenen tür tekrar yükseltgenerek başlangıç molekülüne dönüştüğü şeklinde değerlendirilmiştir. İndirgenme ve yükseltgenme potansiyelleri arasındaki farkın (ΔE) 0 olması bu olasılığı

kuvvetlendirmektedir. Buna göre, bulk elektroliz süresince sistemden geçen yükün ne kadarlık miktarının indirgenme için harcandığının tespit edilmesi mümkün olmamıştır. Bundan dolayı, indirgenme olayında aktarılan elektron sayısının hesaplanması için adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için önerilen Eşitlik 2.19 kullanılmış ve geniş bir tarama hızı aralığında ortalama elektron sayısı $2,03 \pm 0,12$ ($N=15$) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.17 MOE'nin KD voltamogramlarına pH'nın etkisi. İç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi ($C_{MOE} = 2,0 \mu\text{M}$, ÇE: ADCE)

Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilen voltamogramlarda indirgenme ve yükseltgenme piklerinin akım ve alan değerleri birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç indirgenme ve yükseltgenme mekanizmalarına eşit sayıda elektronun aktarıldığını yani tersinirliğin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Bütün bu sonuçlardan, ADCE yüzeyinde MOE'nin;

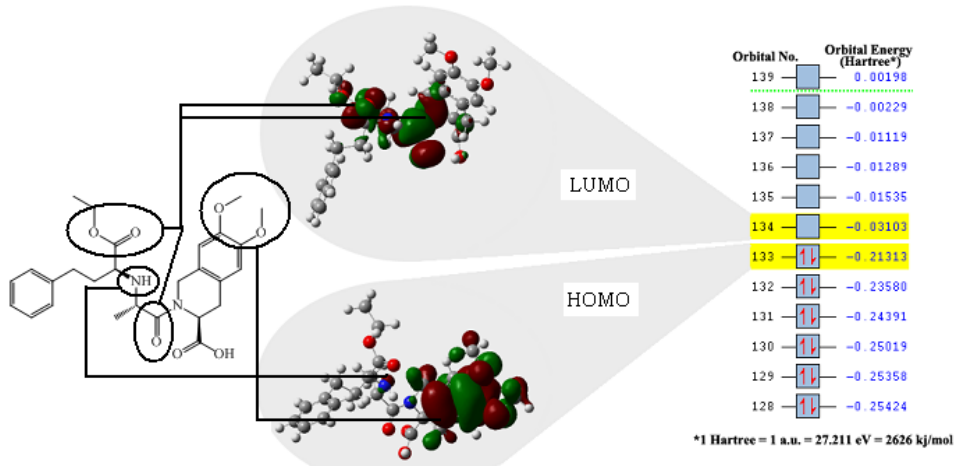
- indirgenmesinin tersinir olduğu,
- indirgenmesinin H^+/e^- (CE) mekanizması üzerinden yürüdüğü,
- indirgenme tepkimesine eşit sayıda proton ve elektronun katıldığı,
- indirgenmesinde toplam 2 elektronun aktarıldığı,
- indirgenmesinin ADCE yüzeyinde, adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiği,

- indirgenme ve indirgenmenin karşılığında gerçekleşen yükseltgenmesinin yaklaşık aynı potansiyelde gerçekleştiği

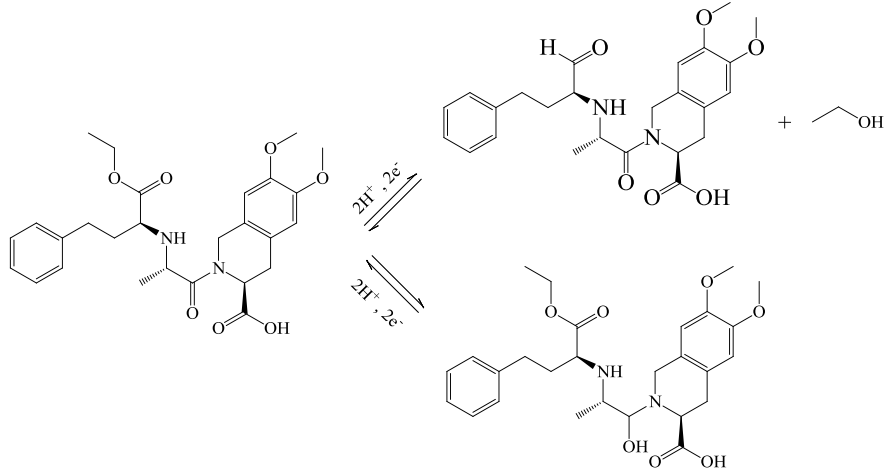
sonuçlarına ulaşılmıştır. MOE'nin kimyasal formülü incelendiğinde, yapıda birden fazla indirgenebilecek fonksiyonel grubun bulunduğu görülmektedir. Ancak, ADCE yüzeyinde hangi fonksiyonel grubun indirgenliğinin belirlenmesi oldukça güçtür. İndirgenmenin hangi fonksiyonel grup üzerinden gerçekleştiğine ışık tutmak amacı ile, tez kapsamındaki diğer maddeler için olduğu gibi, MOE için de aynı teorik hesaplamalar yapılmış ve;

- yapıdaki en büyük elektrostatik negatif yükün ester oksijeni üzerinde bulunduğu,
- ester oksijeninden sonra en büyük negatif elektrostatik yük merkezinin azot atomuna bağlı karbonil oksijeni üzerinde bulunduğu,
- LUMO grubu orbitallerinin bu iki gruptaki oksijen bölgesinde bulunduğu,
- HOMO grubu orbitallerinin komşu karbonil grupları tarafından aktifleştirilen NH grubu ile halka yapısında bulunan N atomu üzerinde olduğu

belirlenmiştir. Yapılan teorik çalışmaların sonuçları Şekil 4.18'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, elektron aktarımından önce gerçekleştiği düşünülen proton bağlanmasının, ya yapıdaki en yüksek negatif elektrostatik yüke sahip olan ester ya da karbonil oksijenleri üzerinden gerçekleşebileceği söylenebilir. Bu merkezlerin proton bağlayabilme yetenekleri, taşıdıkları negatif elektrostatik potansiyel değerlerine bakıldığında, yaklaşık olarak eşit görülmektedir. Protonlanma olayının ester oksijeni üzerinden yürümesi durumunda, elektrot tepkimesinin MOE molekülünün aldehit ve alkole dönüşmesine sebep olacak şekilde parçalanmasına yol açtığı düşünülmektedir. Protonlanma olayının diğer alternatif üzerinden gerçekleşmesi durumunda ise karbonil grubunun ilgili OH grubuna indirgenliği mekanizmanın geçerli olacağı düşünülmektedir (Şekil 4.18). Ancak, bu mekanizmalardan ilkinin tersinir olma olasılığı düşük olduğundan, olası tepkime mekanizmasının ikinci mekanizma olabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan deneysel çalışmalar ve teorik hesaplamaların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde Şekil 4.19'da verilen mekanizmaların önerilmesi uygun bulunmuştur.



Şekil 4.18 Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak MOE için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağlı enerji değerleri



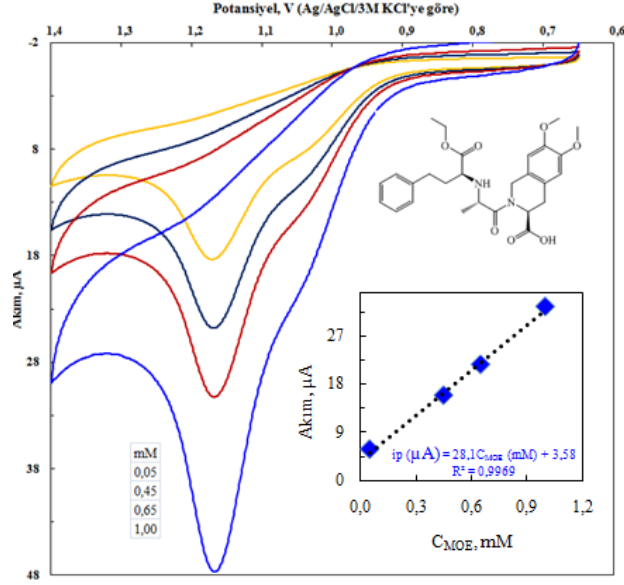
Şekil 4.19 MOE için ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektro-indirgenme tepkimesi için önerilen olası mekanizmalar

Yapılan mekanizma aydınlatma çalışmalarından sonra MOE'nin difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısının hesaplanması için çalışmalar yapılmıştır. İncelenen mekanizmanın geniş bir tarama hızı aralığında adsorpsiyon kontrollü olmasından dolayı difüzyon katsayısının hesaplanmasında adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için geliştirilen ve valide edilen Eşitlik 4.3 kullanılmış ve ortalama difüzyon katsayısı $(3,5\pm 0,4)\times 10^{-8}\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yüzey kaplama katsayısının hesaplanmasında ise, Eşitlik 2.13 kullanılmış ve ortalama yüzey kaplama katsayısı $(7,2\pm 0,6)\times 10^{-10}\text{molcm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Hem difüzyon katsayısı hem de yüzey kaplama katsayı değerleri MOE'nin ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin adsorpsiyon

kontrollü olarak, yani elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini destekler niteliktedir (Wang, 2000).

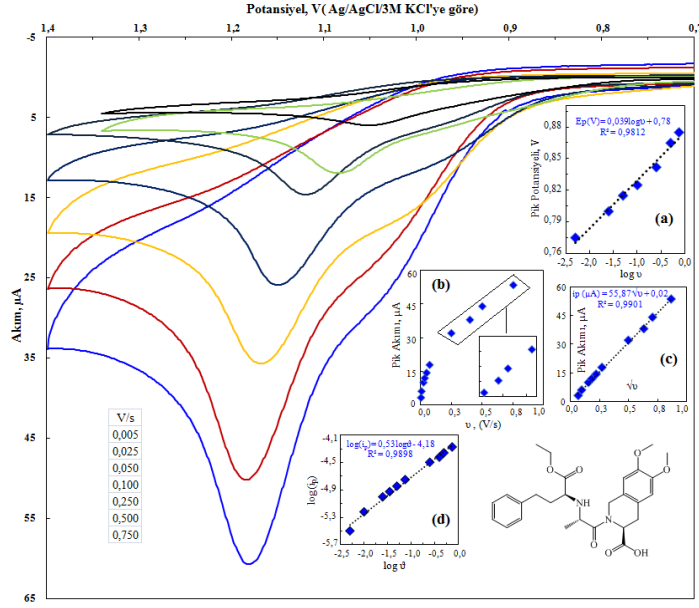
Bu çalışmada, MOE'nin CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışlarına yönelik çalışmalar da yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle MOE'nin pH 5,0'da, BR tamponunda farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin 0,65 V – 1,40 V arasında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.20'de verilmiştir. Söz konusu şekilden de görüldüğü gibi, yaklaşık 1,18 V civarında bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Farklı derişimlerdeki MOE çözeltileri kullanılarak alınan voltamogramların pik akımının MOE derişimi ile doğrusal olarak artması (Şekil 4.20, iç grafik) belirtilen potansiyelde gözlenen yükseltgenme pikinin MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine ait olduğu sonucunu doğurmuştur. Bu voltamogramlarda herhangi bir indirgenme pikinin gözlenmemesi, MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğini düşündürmüştür.

CKE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif olduğu belirlenen MOE'nin söz konusu yüzeydeki elektrokimyasal davranışı öncelikle DV yönteminde tarama hızı çalışması yapılarak ve tarama hızının pik potansiyeli ve pik akımına etkisi incelenerek araştırılmıştır. Bu amaçla, pH'sı 5,0'a ayarlanmış 0,45 mM MOE çözeltisinin $0,005 \text{ Vs}^{-1}$ – $0,750 \text{ Vs}^{-1}$ aralığındaki farklı tarama hızlarında voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.21'de verilmiştir. MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine ait olduğu düşünülen pik potansiyeli artan tarama hızı ile daha anodik değerlere (daha yüksek potansiyellere) kayması ve her hangi bir indirgenme pikinin gözlenmemesi MOE'nin CKE yüzeyinde tersinmez olarak yükseltgendiği şeklinde değerlendirilebilir.



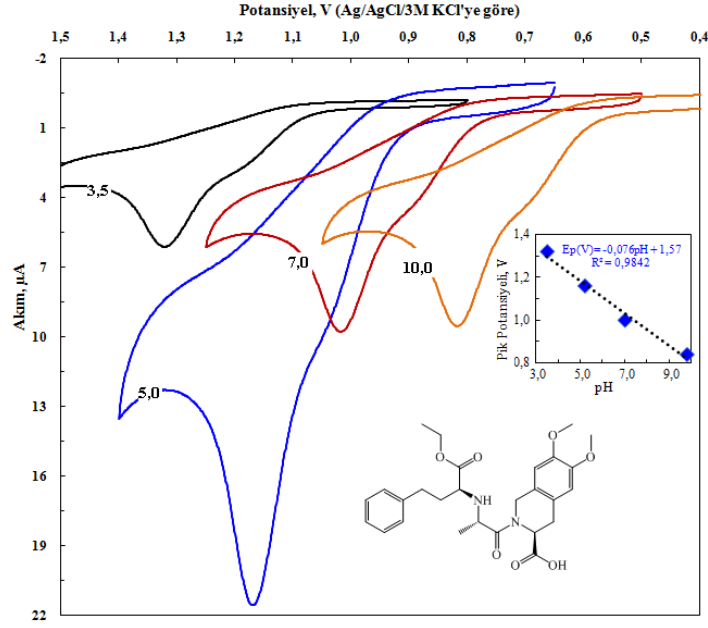
Şekil 4.20 MOE'nin dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: pik akımının MOE derişimi ile değişimi (ÇE: CKE, v : $0,100\text{Vs}^{-1}$, pH: 5,0, E_b : 0,65 V, E_d : 1,40V, E_s : 0,65 V)

Yapılan tarama hızı çalışmalarında pik potansiyelinin, tarama hızının logaritması ile $E_p(\text{V}) = 0,039 \log v + 0,78$ ($R^2 = 0,9812$) bağıntısına uyacak şekilde değiştii belirlenmiştir. Elde edilen bu bağlantının eğiminden βn 1,52 (Eşitlik 4.2) olarak hesaplanmıştır. Aynı çarpım, çeşitli tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlardaki pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki farktan (Eşitlik 2.20) yararlanılarak 1,25 olarak bulunmuştur. KDV verilerinden hesaplanan değer ise 1,42 dir. Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği ve bu parametrenin değerinin birçok elektrot için 0,5 olduğu düşünöldüğünde, MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine 2 elektronun katıldığı söylenebilir. Mekanizmada aktarılan elektron sayısı 2 olarak kabul edilirse, yük aktarım katsayısının ortalama değeri 0,69 civarında bulunur ki; bu, yükseltgenme mekanizmasında olduğu varsayılan aktifleşmiş kompleksin tepkime koordinatına göre simetri merkezinde değil, simetri merkezine göre biraz daha ürünler tarafında yer aldığı anlamına gelmektedir. MOE çözeltilerinden alınan dönüşümlü voltamogramların simetrisinde artan tarama hızı ile meydana gelen bozulma bu varsayımı destekler niteliktedir.



Şekil 4.21 MOE'nin dönüşümlü voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, (b) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi, (c) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi, (d) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi (ÇE: CKE, $C_{MOE} = 0,45$ mM, pH: 5,0, E_b : 0,70 V, E_d : 1,40V, E_s : 0,70 V).

Tarama hızının pik akımına etkisi de incelenmiş ve pik akımının $0,50 \text{ Vs}^{-1}$ 'den daha küçük olduğu tarama hızlarında tarama hızı ile doğrusal değişmediği, bu tarama hızından daha yüksek tarama hızı değerlerinde ise pik akımının tarama hızı ile doğrusal değiştiği görülmüştür (Şekil 4.21, iç grafik b). Aynı çalışmada, pik akımının tarama hızının karekökü ile doğrusal değiştiği (Şekil 4,21, iç grafik (c)) ve pik akımının logaritması tarama hızının logaritmasına karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminin 0,53 olduğu (Şekil 4,21, iç grafik (d)) görülmüştür. Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü olarak, elektrot/çözelti ara yüzeyinde gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. NPV çalışmalarında elde edilen voltamogramların pik şekli yerine dalga formunda olması da bu varsayımı desteklemektedir (Scholz *vd.* 2010).



Şekil 4.22 MOE'nin dönüşümlü voltamogramlarına pH'nın etkisi (İç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi, CMOE = 0,45 mM, ÇE: CKE)

MOE'nin CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesinde, pH'nın pik parametrelerine etkileri de araştırılmıştır. Bu çalışma için, MOE derişimi 0,45 mM olan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 2,0 – 10,0 arasında değiştirilmiş ve bu çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.22). pH'nın 3,5'ten daha küçük olduğu durumda, MOE'nin yükseltgenme pikinin 1,51 V'den daha anodik potansiyellerde çözücü piki ile birleştiği yani CKE'nin çalışma potansiyelinin dışında kaldığı görülmüştür. pH'nın 3,5 ile 10,0 arasında tutulduğu çözeltilerde ise, pik potansiyelinin artan pH ile daha düşük potansiyellere doğru kaydığı görülmüştür (Şekil 4.22). Yani artan pH ile yükseltgenme için gereken potansiyel azalmaktadır. Bu durum; yüksek pH değerlerinde molekülün proton kaybetmesinin (deprotonasyonun) kolaylaşacağı ve deprotonasyon adımını elektron aktarımının izleyeceği varsayımı ile açıklanmıştır. Pik potansiyelinin pH'ya karşı grafiği oluşturulduğunda ise, pik potansiyelinin pH ile doğrusal olarak değiştiği ve pik potansiyelinin birim pH artışında 76 mV daha küçük potansiyele kaydığı görülmüştür (Şekil 4.22, iç grafik). Bu eğimden mekanizmaya katılan proton sayısının, mekanizmada aktarılan elektron sayısına oranı 1,28 olarak hesaplanmıştır (Eşitlik 4.1). Bu sonuç, MOE'nin elektroyükseltgenme mekanizmasına eşit sayıda proton ve elektronun katıldığı şeklinde değerlendirilmiştir.

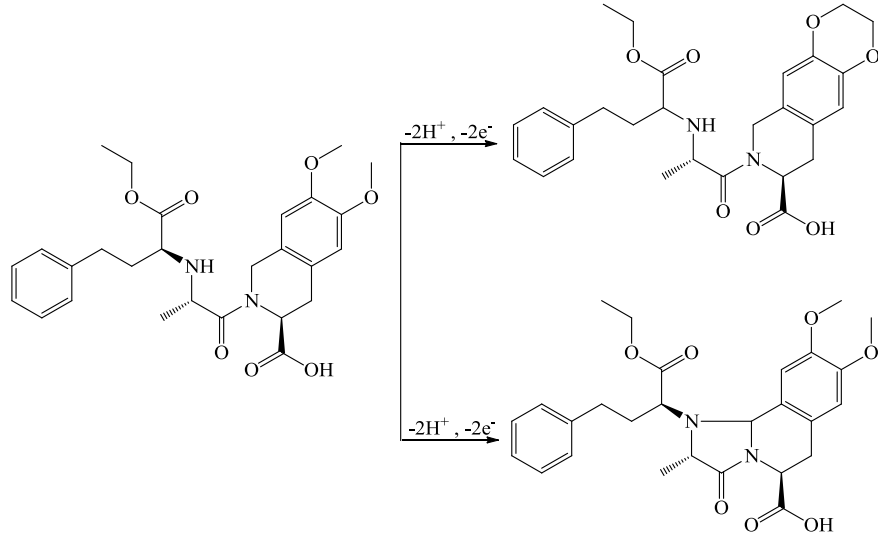
Elektrokimyasal tepkimede aktarılan elektron sayısının hesaplanması için, Bölüm 3.10'da anlatıldığı gibi, pH 5,0'da 1,30 V'ta bulk elektroliz çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada. Yapılan bulk elektroliz çalışmaları sonucunda aktarılan elektron sayısı $1,78 \pm 0,12$ (N=3) olarak hesaplanmıştır.

MOE'nin CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı ile ilgili sonuçlardan CKE yüzeyinde MOE'nin;

- yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna,
- yükseltgenmesinin H^+ / e^- (CE) mekanizması üzerinden yürüdüğüne,
- yükseltgenme tepkimesine katılan elektron ve proton sayısının eşit olduğuna,
- yükseltgenmesinin toplam $2e^-/2H^+$ aktarımı ile gerçekleştiğine,
- yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü olacak şekilde çözelti/elektrot arayüzeyinde gerçekleştiğine

karar verilmiştir.

MOE'nin molekül formülü incelendiğinde komşu iki karbonil grubu tarafından etkinleştirilen NH grubunun yükseltgenebileceği öngörülebilmektedir. Ancak, yapılan teorik çalışmalarda MOE'nin en yüksek enerjili dolu moleküler orbitallerine (HOMO) iki farklı fonksiyonel grubun katkısının olduğu gözlenmiştir. Bu gruplardan birincisi yükseltgenebileceği öngörülen NH grubu ve 6'lı halkadaki N atomunun çevresi iken, ikincisinin ise fenil grubuna bağlı eterik grupların olduğu görülmüştür (Şekil 4.18). Ancak, bu gruplardan hangisinin yükseltgenmede önceliğe sahip olduğuna dair herhangi bir deneysel veya teorik veri elimizde olmadığından her iki grubun da yükseltgenmesi durumuna göre iki farklı yükseltgenme mekanizması Şekil 4.23'te gösterildiği gibi önerilmiştir.



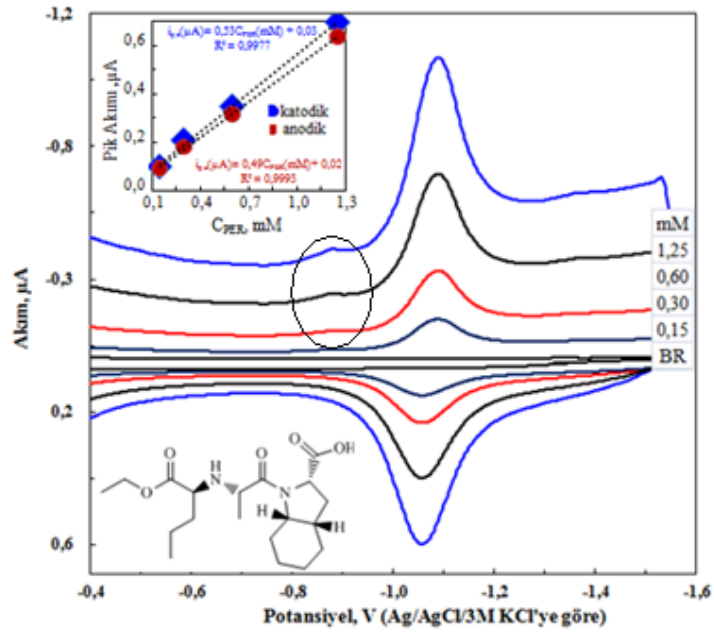
Şekil 4.23 MOE'nin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektro-yükseltgenme tepkimesi için önerilen olası mekanizmalar

Elektrokimyasal mekanizma aydınlatmaya yönelik çalışmalardan sonra MOE'nin CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine ait bazı elektrokimyasal parametrelerin belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, elektrot mekanizması difüzyon kontrollü olduğu için, difüzyon katsayısının belirlenmesinde KA yöntemi kullanılmış ve MOE'nin difüzyon katsayısı $(2,57 \pm 0,09) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan difüzyon katsayısının büyüklüğü, incelenen mekanizmanın difüzyon kontrollü olduğunu destekler niteliktedir (Brett ve Brett 1994). KK çalışmalarında elde edilen sonuçlar ise Eşitlikler 2.12 ve 2.13'te kullanılarak yüzey kaplama katsayısı hesaplanmıştır. Bu hesaplamaların sonucunda yüzey kaplama katsayısı $(1,27 \pm 0,05) \times 10^{-13} \text{ mol cm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Hesaplanan yüzey kaplama katsayısının oldukça küçük olması da mekanizmanın difüzyon kontrollü olduğunun bir başka göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

4.1.4 PER'in elektrokimyasal davranışı

PER'in ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları dönüşümlü DV, KDV, KK, KA ve BE yöntemleriyle incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda PER'in CKE yüzeyinde elektroaktif olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle, PER'in elektrokimyasal davranışı sadece ADCE kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla, öncelikle PER'in pH 10,0'da BR tamponunda farklı derişimde çözeltileri hazırlanıp DV yönteminde voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.24'te verilmiştir. Söz

konusu şekilden de görüldüğü gibi, yaklaşık -1,05 V civarında indirgenme/yükseltgenme pik çifti gözlenmiştir. Farklı derişimlerdeki PER çözeltileri kullanılarak kaydedilen voltamogramlarda elde edilen yükseltgenme ve indirgenme pik akımlarının PER derişimi ile doğrusal olarak artması (Şekil 4.24, iç grafik) ve aynı koşullarda sadece BR çözeltileri kullanılarak alınan ölçümlerde her hangi bir pikin gözlenmemesi bu piklerin PER'in ADCE yüzeyindeki indirgenmesine ait olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.



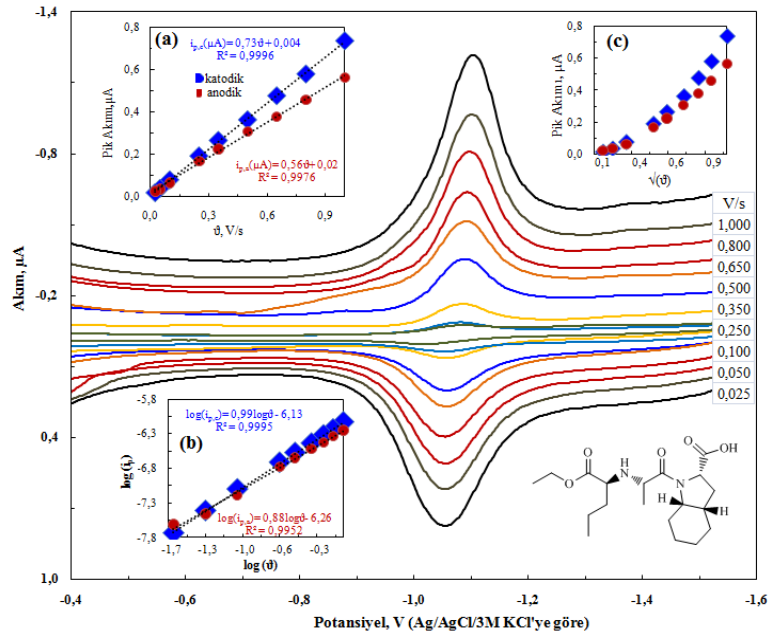
Şekil 4.24 PER'in dönüşümlü voltamogramları. İç grafik: katodik ve anodik pik akımlarının PER derişimi ile değişimi (ÇE: ADCE, v : 0,100Vs⁻¹, pH: 10,0, E_b : -0,40 V, E_d : -1,60V, E_s : -0,40 V).

DV yönteminde yapılan ölçümlerde hem indirgenme, hem de yükseltgenme yönünde pik gözlenmesi ve anodik pik akımının katodik pik akımına oranının 1,0 değerine oldukça yakın bulunması PER'in ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin tersinir olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

PER'in ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının ayrıntılı olarak incelenmesine yönelik çalışmalarda öncelikle DV yönteminde tarama hızının pik potansiyeli ve pik akımına etkisi incelenmiştir. Bunun için, pH'sı 10,0'a ayarlanmış 0,2 mM PER çözeltilerinin 0,025 Vs⁻¹ – 1,000 Vs⁻¹ arasındaki farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.25). Tarama hızının artması ile indirgenme ve

yükseltgenme piklerinin potansiyelinin değişmediği görülmüştür. Pik potansiyelinin tarama hızı ile değişmemesi, her iki tarama yönünde de pik gözlenmesi PER'in ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin tersinir olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

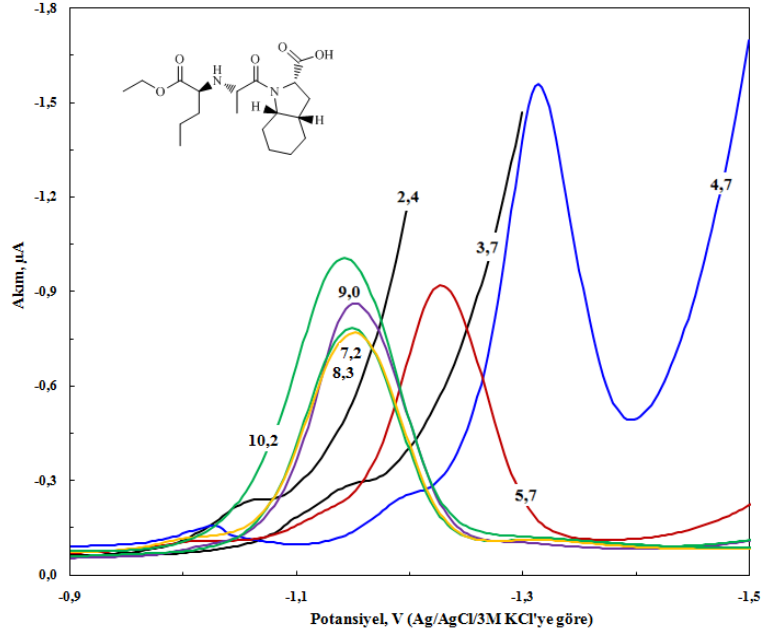
Tarama hızı ile pik akımının değişimi i_p-v , $i_p-\sqrt{v}$, $\log i_p-\log v$ grafikleri çizilerek incelenmiştir (Şekil 4.25). Katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile doğrusal değiştiği, pik akımlarının tarama hızının karekökü ile ise değişiminin ise doğrusal olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, PER'in ADCE yüzeyindeki indirgenme/yükseltgenmesinin adsorpsiyon kontrollü olduğu ve çalışma elektrodu ile PER arasında gerçekleşen elektron aktarımının elektrot yüzeyinde gerçekleştiği söylenebilir. Pik akımının logaritması, tarama hızının logaritmasına karşı grafiğe geçirildiğinde, elde edilen doğrusal grafiğin eğiminin katodik pik için 0,99, anodik pik için ise 0,88 olması elektrot tepkime mekanizmasının adsorpsiyon kontrollü olduğunu desteklemektedir.



Şekil 4.25 PER'in dönüşümlü voltamogramlarına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızı ile değişimi, (b) katodik ve anodik pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (c) katodik ve anodik pik akımlarının tarama hızının karekökü ile değişimi (ÇE: ADCE, $C_{PER} = 0,30$ mM, pH: 10,0, $E_b: -0,40$ V, $E_d: -1,60$ V, $E_s: -0,40$ V).

PER'in ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesinde pH'nın pik akımı ve pik potansiyeline etkisi de incelenmiştir. Bunun için, PER derişimi $5,0 \mu\text{M}$

olarak ayarlanan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 2,4 – 10,2 arasında değiştirilmiş ve KD voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26 Sabit PER'in KD voltamogramlarına pH'nın etkisi ($C_{PER} = 5,0\mu\text{M}$, ÇE: ADCE)

Şekilden de görüldüğü gibi, ilk iki pH değerinde yapılan ölçümlerde sırası ile -1,0 V ve -1,15 V civarlarında ön pike benzer bir indirgenme dalgası gözlenirken ana pik gözlenmemektedir. pH'nın 4,7 olduğu ölçümde ise söz konusu ön pikin potansiyeli yaklaşık 1,20 V değerine kaymakta, bununla birlikte bu ölçümde yaklaşık -1,30 V'ta ana pik gözlenmektedir. Aynı ölçümler DV'de yapıldığında KDV'de gözlenen ön pik tersinmez bir indirgenme olarak gözlenmiştir. DV'de gözlenen bu pikin potansiyelinin artan pH ile daha katodik değerlere doğru kaydığı ve ana pikin gözlendiği pH değerlerinde bu pikin kaybolduğu görülmüştür. Şekil 4.24 ve 4.25'te de görüldüğü gibi ana pik olarak değerlendirilen pik indirgenme/yükseltgenme pik çiftinden oluşmaktadır. Gözlendiği pH değerlerinde söz konusu ön pik ise tersinmez bir davranış sergilemiştir. Ön pikin parametrelerinin incelenmesine yönelik çalışmalarda pik akımının çok küçük olması, adsorpsiyondan kaynaklanan bir ön pik olarak mı, yoksa gerçek pik olarak mı değerlendirileceğinin kestirilememiş olması ve gözlendiği koşullarda pik potansiyelinin hidrojen aşırı gerilimine oldukça yakın bir potansiyelde gözlenmesi gibi sebeplerden dolayı bu pikin parametreleri ile ilgili ayrıntılı çalışma yapılmamıştır. Ana pik olarak

belirlenen, DV'de derişim ve tarama hızı voltamogramları Şekil 4.24 ve 4.25'te verilen pik 4,7'ye kadarki pH değerlerinde gözlenmemekte, bu pH'dan sonra ise artan pH ile daha düşük katodik potansiyellere kaymakta, pH'nın 7'den büyük olması durumunda ise söz konusu pikin potansiyeli pH ile değişmemektedir. Düşük pH'larda ana pikin gözlenmemesine gerekçe olarak ana pik potansiyelinin hidrojen aşırı gerilimi ile çakışması olarak kabul edilirse indirgenmenin düşük pH'larda protonlanmayı takip eden elektron aktarımı, yüksek pH'larda ise elektron aktarımını takip eden protonlanma şeklinde gerçekleşeceği önerilebilir.

Mekanizmaya katılan elektron sayısının belirlenmesi için pH 10,0'dave potansiyelin $-1,35$ V'ta sabit tutulduğu koşullarda bulk elektroliz yapılmıştır. Yapılan bulk elektroliz sonucunda elektrolizin pik akımında ve pik potansiyelinde anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Bu sonuç; elektroliz süresince sistemden geçen yük indirgenmeye sebep olsa bile, indirgenen türün tekrar yükseltgenerek başlangıç molekülüne dönüştüğü şeklinde değerlendirilmiştir. ΔE olarak da isimlendirilen, indirgenme ve yükseltgenme pik potansiyelleri arasındaki farkın 0 değerine oldukça yakın olması varsayımı desteklemektedir. Buna göre bulk elektroliz süresince sistemden geçen yükün ne kadarlık miktarının indirgenme için harcadığının tespit edilmesi mümkün olmamıştır. Bundan dolayı, indirgenme olayında aktarılan elektron sayısının hesaplanması için adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için önerilen Eşitlik 2.19 kullanılmış ve geniş bir tarama hızı aralığında ortalama elektron sayısı $1,89 \pm 0,05$ ($N=20$) olarak hesaplanmıştır. Verilen dönüşümlü voltamogramlardaindirgenme ve yükseltgenme piklerinin akım ve alan değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç, indirgenme ve yükseltgenmemekanizmalarına eşit sayıda elektronun aktarıldığını, yani elektrot tepkimesinin tersinir mekanizmaya sahip olduğu varsayımını desteklemektedir.

Buraya kadar yapılan çalışmaların sonuçları toparlanacak olursa, ADCE yüzeyinde PER'in;

- yüksek pH'larda gözlenen indirgenmesinin tersinir olduğu,
- düşük pH'larda ön pik olarak da tanımlanabilecek, pH ile düzenli şekilde değişen ve tersinmez olan başka bir pike sahip olduğu ve bu sinyalin pik olarak

kabul edilmesi durumunda H^+/e^- (CE) mekanizması üzerinden yürüten bir mekanizmaya sahip olduğu,

- yüksek pH'lardaki indirgenmesinde toplam 2 elektronun aktarıldığı,
- yüksek pH'lardaki indirgenmesinin ADCE yüzeyinde, adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiği,
- yüksek pH'lardaki indirgenme ve indirgenmenin karşılığında gerçekleşen yükseltgenmesinin yaklaşık aynı potansiyelde gerçekleştiği

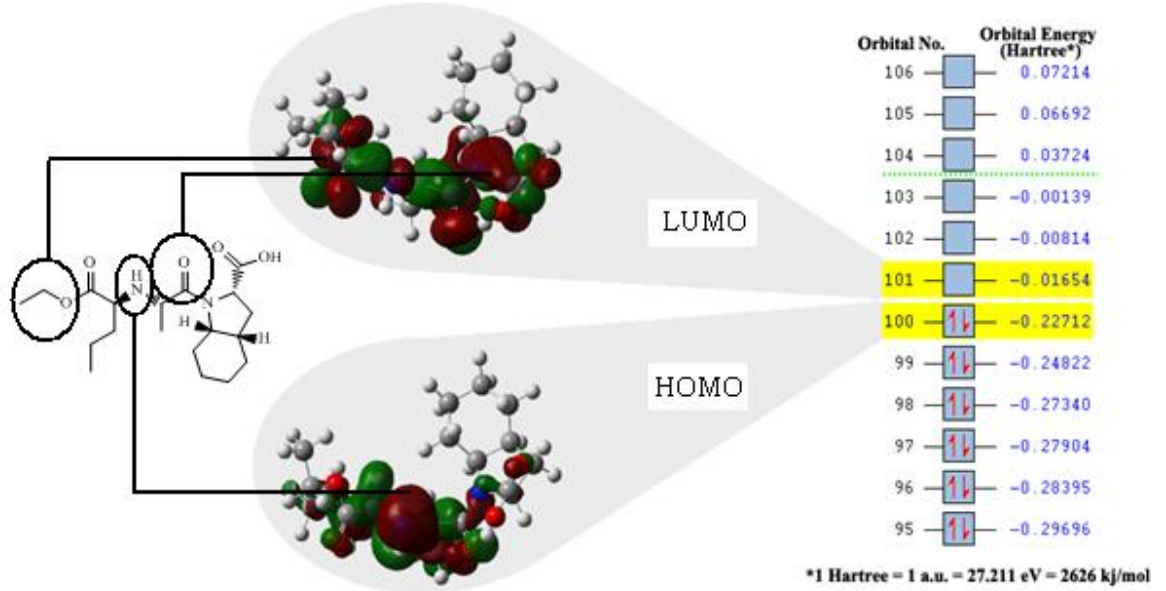
sonuçlarına ulaşılmıştır. PER'in kimyasal yapısı incelendiğinde, yapıda birden fazla indirgenebilecek fonksiyonel grubun bulunduğu görülmektedir. Sadece bu veriler ile ADCE yüzeyinde hangi fonksiyonel grubun indirgenmesinin belirlenmesi oldukça güçtür. İndirgenmenin hangi fonksiyonel grup üzerinden gerçekleştiğine ışık tutmak amacı ile, tez kapsamındaki diğer maddeler için olduğu gibi PER için de, aynı teorik hesaplamalar yapılmış ve;

- yapıdaki en büyük elektrostatik negatif yükün ester oksijeni üzerinde bulunduğu,
- ester oksijeninden sonra en büyük negatif elektrostatik yük merkezinin komşu azot atomu tarafından aktifleştirilen karbonil oksijeni üzerinde bulunduğu,
- LUMO grubu orbitallerinin bu iki gruptaki oksijen bölgesinde bulunduğu,
- HOMO grubu orbitallerinin komşu karbonil grupları tarafından aktifleştirilen NH grubu ile halka yapısında bulunan N atomu üzerinde olduğu

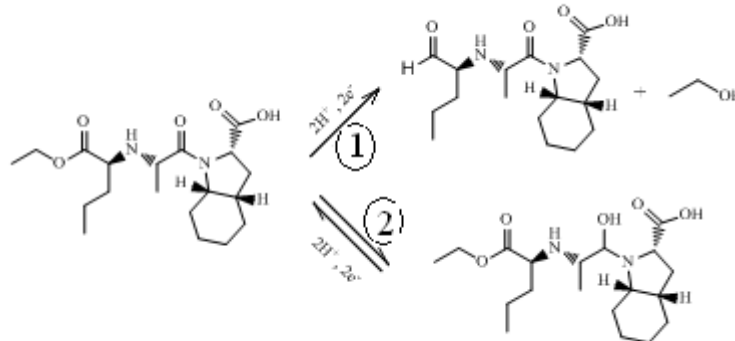
belirlenmiştir. Yapılan teorik çalışmaların sonuçları kısaca Şekil 4.27'de verilmiştir.

Bu sonuçlara göre, PER molekülünde proton bağlama olasılığı en büyük olan iki alternatif grubun, yapıdaki en yüksek negatif elektrostatik yüke sahip olan bu ester ve karbonil oksijenleri olmalıdır. Protonlanma olayının esterik oksijen üzerinden yürümesi durumunda, elektrot tepkimesinin PER molekülünün aldehit ve alkole dönüşmesine sebep olacak şekilde parçalanmasına yol açtığı düşünülmüştür. Bu parçalanmanın çalışmaların yapıldığı koşullarda tersinir olamayacağı düşünülmektedir. Ester oksijeninin düşük pH'ya sahip çözeltilerde daha kolay ve etkin bir şekilde protonlanabileceği düşünüldüğünde ön pik olarak değerlendirilen ve DV çalışmalarında tersinmez ve pH'ya bağımlı olarak gözlenen pikin bu parçalanmaya neden olan elektro-indirgenmeye ait olduğu düşünülebilir (Şekil 4.28, 1 numaralı mekanizma). Bunun

yanında çalışmalarda ana pik olarak incelenen pikin ise diğere olası indirgenme tepkimesi sonucunda oluştuğu dűřünülmektedir (şekil 4.28, 2 numaralı mekanizma).



řekil 4.27 Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak PER molekűlü için yapılan molekűler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bűlgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji deęerleri



řekil 4.28 PER molekűllerinin ADCE yűzeyinde gerčekleřen elektro indirgenme tepkimesi için ۆnerilen mekanizmalar

Yapılan mekanizma çalıřmalarından sonra PER'in ana pik olarak isimlendirilen ve yűksek pH deęerlerinde gۆzlen pike ait difűzyon katsayısı ve yűzey kaplama katsayısının hesaplanması için çalıřmalar yapılmıřtır. İncelenen mekanizmanın adsorpsiyon kontrollű olmasından dolayı difűzyon katsayısının hesaplanmasında

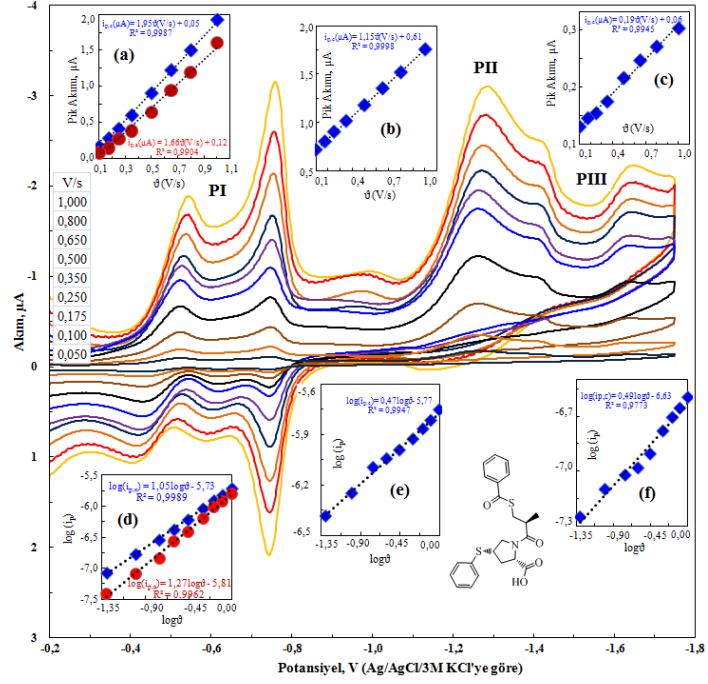
adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için geliştirilen ve valide edilen Eşitlik 4.3 kullanılmış ve Şekil 4.25'te voltamogramları verilen tarama hızı aralığında ortalama difüzyon katsayısı $(8,7\pm 0,5)\times 10^{-8}\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yüzey kaplama katsayısının hesaplanmasında ise Eşitlik 2.13 kullanılmış ve Şekil 4.25'te voltamogramları verilen tarama hızı aralığında ortalama yüzey kaplama katsayısı $(9,3\pm 0,7)\times 10^{-10}\text{molcm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır. Hem difüzyon katsayısının hem de yüzey kaplama katsayısının değerleri PER'in ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin adsorpsiyon kontrollü olarak, yani elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini destekler niteliktedir.

4.1.5 ZOF'un elektrokimyasal davranışı

ZOF'un ADCE ve CKE yüzeylerindeki elektrokimyasal davranışları DV, KDV, KK, KA ve BE yöntemleriyle incelenmiştir.

ZOF'un ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik çalışmalarda öncelikle pH 5,7'de, BR tamponunda, farklı derişimlerde ZOF içeren çözeltilerin $(-0,20)\text{V}$ – $(-1,75)\text{V}$ aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Bu voltamogramlarda $-0,75\text{V}$ 'de (PI), $-1,25\text{V}$ 'de (PII) ve $-1,65\text{V}$ 'de (PIII) pikleri gözlenmiştir. Şekil 4.29'dan da görüldüğü gibi PI bölgesinde gözlenen indirgenme pikine karşılık gelen bir yükseltgenme piki varken PII ve PIII bölgeleindeki indirgenmelere karşılık gelen bir yükseltgenme piki yoktur. Buna göre PI bölgesinde tersinir indirgenme/yükseltgenme davranışı gözlenirken, PII ve PIII bölgelerinde tersinmez indirgenme gözlendiği söylenebilir. Ayrıca, PI bölgesindeki indirgenmede bir ön pik, bu indirgenmeye karşılık gelen yükseltgenmede ise bir arka pik belirlenmiştir.

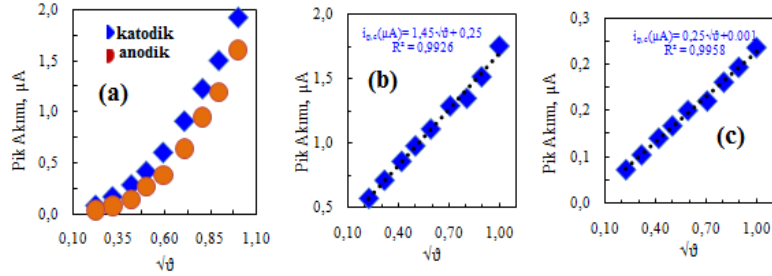
Tarama hızının pik akımı ve pik potansiyeline etkisini belirlemek amacıyla pH 5,7'de 0,15 mM ZOF çözeltisinin $0,050\text{Vs}^{-1}$ – $1,000\text{Vs}^{-1}$ arasındaki çeşitli tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiş ve bu voltamogramlar Şekil 4.29'da verilmiştir.



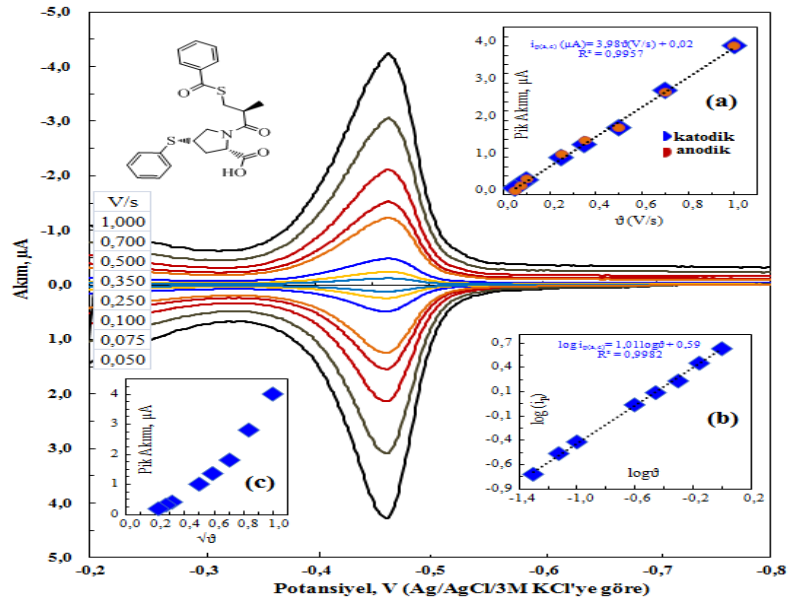
Şekil 4.29 ZOF'un dönüşümlü voltamogramına tarama hızının etkisi. Tarama hızı ile pik akımlarının değişimi (a) PI (b) PII (c) PIII; tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritmasının değişimi (d) PI (e) PII (f) PIII (ÇE: ADCE, C_{ZOF} = 0,15 mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -1,70V, E_s : -0,20V)

Şekil 4.29'da verilen iç grafikler (a, b ve c) incelendiğinde gözlenen bütün piklerin akımının tarama hızı ile doğrusal değiştiği görülmektedir. Pik akımının tarama hızı ile doğrusal değişmesi adsorpsiyon kontrollü mekanizmaların karakteristik özelliği olduğundan (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001) ilk bakışta gözlenen bütün piklerin adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar sonucu oluştuğu varsayımı öne çıkmaktadır. Ancak aynı tarama hızı çalışmasında her pik için tarama hızının logaritmasına karşın, pik akımının logaritması grafiğe geçirildiğinde, aynı şeklin içinde verilen (d,e ve f) grafikleri elde edilmiştir. Söz konusu iç grafiklerde verilen doğruların eğimleri incelendiğinde, PI'deki indirgenme piki için 1,05; buna karşılık gelen yükseltgenme piki için ise 1,27; PII'deki indirgenme için 0,47 ve PIII'teki indirgenme piki için ise 0,49 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre, PI'deki hem indirgenme hemde yükseltgenmenin adsorpsiyon kontrollü, PII ve PIII bölgesindeki piklerin ise difüzyon kontrollü elektrokimyasal mekanizmalar ile oluştuğu sonucuna varılabilir. Aynı tarama hızı çalışmasının verilerinden oluşturulan Şekil 4.30'daki grafikler incelendiğinde de PI bölgesindeki piklerin adsorpsiyon kontrollü, PII ve PIII bölgesindeki piklerin ise difüzyon kontrollü tepkimeler sonucunda oluştuğu varsayımını desteklemiştir. Çünkü PI

piklerinin akımı tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmezken, diğer iki pik için, pik akımı, tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmektedir.



Şekil 4.30 ZOF'un pik akımının tarama hızının karekökü ile dğişimi (a) PI, (b) PII ve (c) PIII; (ÇE: ADCE, $C_{ZOF} = 0,15$ mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -1,70V, E_s : -0,20V)



Şekil 4.31 ZOF'un dönüşümlü voltamogramına tarama hızının etkisi. İç grafikler: (a) i_p-v , log, (b) $i_p- \log v$, (c) $i_p-\sqrt{v}$ ($C_{ZOF} = 0,05$ mM, pH: 5,7, E_b : -0,20V, E_d : -0,80V, E_s : -0,20 V)

ZOF derişimi Şekil 4.29'daki derişimin 1/3'üne düşürölüp sade PI bölgesini kapsayacak şekilde potansiyel taraması ve tarama hızı çalışması yapıldığında bu bölgede yüksek ZOF derişiminde gözlenen ön ve arka pikler kaybolmaktadır (Şekil 4.31). Buna göre yüksek ZOF derişiminde gözlenen ön ve arka piklerin madde derişiminden kaynaklanan adsorpsiyon pikleri olduğu söylenebilir. Ayrıca yüksek ZOF derişiminde PI bölgesindeki indirgenme/yükseltgenme piki için belirtilen adsorpsiyon kontrollü varsayımı bu çalışma ile desteklenmiştir. Çünkü yapılan bu tarama hızı çalışmasında

elde edilen grafikler (Şekil 4.31, iç grafikler) incelendiğinde hem katodik, hem de anodik pik için adsorpsiyon kontrollü elektrokimyasal dönüşümlerin pikleri olduğu söylenebilir.

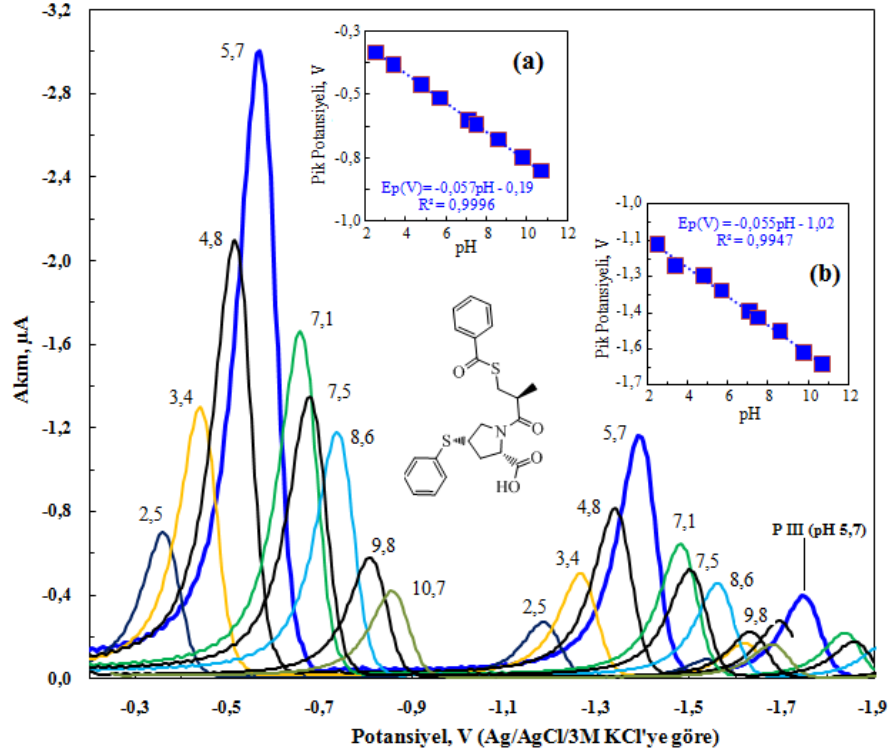
Düşük ZOF derişiminde bütün pikleri kapsayacak potansiyel aralığında tarama hızı çalışması yapıp sonucu yüksek derişimde yapılan tarama hızı sonuçları ile karşılaştırıldığında;

- Yüksek ZOF derişiminde yapılan taramalarda PI indirgenmesinin akımının PII indirgenmesinin akımına oranı 1 değerinden büyük bulunmakta,
- Düşük ZOF derişiminde yapılan taramalarda ise birinci sonucun aksine PI indirgenmesinin akımının, PII indirgenmesinin akımına oranı 1 değerinden küçük bulunmaktadır.

Bu sonuca göre yüksek ZOF derişiminde, ADCE yüzeyinin büyük bir kısmı yüzeye adsorbe olan ZOF molekülleri tarafından bloke edilmekte ve difüzyon tabakasında bulunan moleküllerin az bir kısmı elektrot yüzeyine etkin bir şekilde ulaşp elektron aktarımına katılabilmektedir. Bu durumda yüksek adsorpsiyondan dolayı adsorpsiyon kontrollü indirgenmenin akımı, difüzyon kontrollü indirgenmenin akımından yüksek çıkmaktadır. Çözeltideki ZOF derişimi azaltıldığında, yüzeye adsorbe olan ZOF miktarıyla birlikte adsorpsiyon sonucu bloke olan yüzey de azalacağından, difüzyon tabakasındaki ZOF moleküllerinin daha fazlası elektrot yüzeyine ulaşp elektron aktarımına katılabileceklerdir. Böylece adsorbe olarak yüzeyde elektron aktaran maddeden daha yüksek akım oluşturabilecektir.

PI, PII ve PIII bölgelerinde gözlenen piklerin potansiyeli tarama hızı ile değişmemektedir. Bu davranış ters taramada yükseltgenme piki veren PI bölgesi için beklenen ancak ters taramada yükseltgenme piki vermediği için tersinmez mekanizma olarak tahmin edilen PII ve PIII pikleri için beklenenin dışında bir davranıştır. Yüzeye adsorbe olan madde ile difüzyon tabakasında bulunan ZOF moleküllerinin etkileşiminin böyle bir sonuca sebep olduğu düşünülmektedir.

ZOF'un ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesinde pH'nın da pik parametrelerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla ZOF derişimi 10,0 μM olan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 2,50 – 10,7 arasında değiştirilmiş ve kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir (şekil 4.32)



şekil 4.32 ZOF'un KD voltamogramlarına pH'nın etkisi. İ garfikler pik potansiyeli–pH grafiği (a) PI, (b) PII ($C_{ZOF} = 10\mu\text{M}$)

şekil 4.32'den de görüldüğü gibi, PI ve PII pikleri çalışmaların yapıldığı bütün pH değerlerinde gözlenmektedir. Bunun yanında PI ve PII indirgenme pik potansiyellerinin birim pH artışına karşılık 56 mV daha katodik değere kaydığı belirlenmiştir. Buna göre PI ve PII indirgenmelerinde elektron aktarımından önce protonlanma basamağının olması gerektiği söylenebilir. şekil 4.32'de PI ve PII için verilen i grafiklerin eğimlerinden ve Eşitlik 4.1'den her iki indirgenmede aktarılan elektron sayısı kadar protonun mekanizmada yer aldığı belirlenmiştir. Yapılan pH çalışmasında pH'nın 5,7'den daha küçük olması durumunda PIII indirgenme piki gözlenmemektedir. Bunun sebebi ile ilgili iki olası açıklamanın yapılabileceği düşünölmüştür:

- PIII indirgenmesinin gerçekleştiği elektroaktif merkez pH'nın 5,7'den küçük olması durumunda elektroaktifliğini yitirmektedir

- İndirgenme potansiyelinin hidrojen aşırı geriliminden dolayı çalışma elektrodunun potansiyel sınırları dışında kalmaktadır

Bu durumlardan hangisinin geçerli olduğu kolaylıkla açıklanamamakla birlikte, ikinci durum daha olası görülmektedir. Çünkü cıva yüzeyinde ortamdaki hidronyum iyonlarının indirgenip hidrojen gazına dönüşmesine eşlik eden ‘‘hidrojen aşırı gerilim’’ pH’ya göre oldukça fazla değişmekte ve düşük pH’larda -1,15 V’a kadar inebilmektedir (Bard ve Faulkner 2001). Böyle bir durumda hidrojen aşırı gerilimi gözlenen piklerin akımını örtmekte ve gözlenmesini engellemektedir.

Her bir indirgenme bölgesinde aktarılan elektron sayısının belirlenmesi için, pH 5,7’de - 0,85 V, - 1,55 V ve - 1,75 V potansiyellerde üç ayrı bulk elektroliz yapılmıştır. Yapılan elektrolizler sonucunda sadece PII indirgenme piki kaybolurken diğer piklerin akım ve potansiyel değerlerinde elektroliz ile bir değişme gözlenmemiştir. Bu sonuç PI bölgesindeki piklerin anodik ve katodik potansiyelleri aynı olduğundan, indirgenme-yükseltgenme döngüsü oluşturdukları şeklinde değerlendirilmiştir. İkinci ve üçüncü hücrelerde yapılan elektroliz çalışmalarının PII bölgesindeki pikte değişiklikler meydana getirmesi bu pikin oluşumunda aktarılan elektron sayısının hesaplanması için yeterli değildir. Çünkü bu elektroliz çalışmalarında sistemden geçen yük sadece PII bölgesindeki indirgenme için değil ikincisinde PI ve PII bölgesindeki indirgenmeler için, üçüncüsünde ise PI, PII ve PIII bölgelerindeki indirgenmeler için harcanmıştır. Yapılan elektroliz çalışmalarında her üç elektroliz süresince de sistemden geçen yük miktarları izlenmiş, - 1,55 V’deki hücreden,- 0,85 V’deki hücreden geçen yükün yaklaşık 2 katının geçtiği, - 1,75 V’deki hücreden ise - 0,85 V’deki hücreden geçen yükün yaklaşık 2,5 katı kadar yükün geçtiği belirlenmiştir. Buna göre ilk iki hücredeki PI ve PII indirgenmesinde eşit sayıda, PIII indirgenmesinde ise PI ve PII’dekinin yarısı kadar elektron aktarılmış olmalıdır şeklinde bir değerlendirme yapılmıştır. PI için, elektrokimyasal dönüşüm adsorpsiyon kontrollü olduğundan, aktarılan elektron sayısı Eşitlik 2.19 kullanılarak hesaplanmış ($2,13 \pm 0,15$) olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama sonucunda PI bölgesindeki elektrokimyasal dönüşüm için 2 elektronun aktarıldığı, bulk elektroliz sonucunda bulunan yük oranları bu sonuç ile birlikte değerlendirildiğinde PII için 2, PIII için 1 elektronun aktarılması gerektiği hesaplanmıştır.

Yukarıdaki sonuçlara göre ADCE yüzeyinde ZOF'un;

- bir tersinir, iki tersinmez indirgenme pikine sahip olduğu,
- tersinir indirgenmesinin adsorpsiyon kontrollü, tersinmez indirgenmelerinin ise difüzyon kontrollü olduğu,
- tersinir indirgenmesinde, pik potansiyelleri arasındaki farkın yaklaşık 0 olduğu ($\Delta E \approx 0$),
- her üç indirgenmesinde de protonun yer aldığı ve indirgenmelerinin H^+/e^- (CE) mekanizması üzerinden yürüdüğü,
- ilk iki indirgenmesinde toplam 2'şer, son indirgenmesinde ise 1 elektronun aktarıldığı,

belirlenmiştir.

ZOF'un molekül yapısı incelendiğinde, yapıda birden fazla olsa da indirgenebilecek karbonil gruplarının var olduğu görülmektedir. Yapılacak mekanizma önerisinde olası indirgenmelerin desteklenmesi amacıyla ZOF için teorik hesaplamalar yapılmış ve;

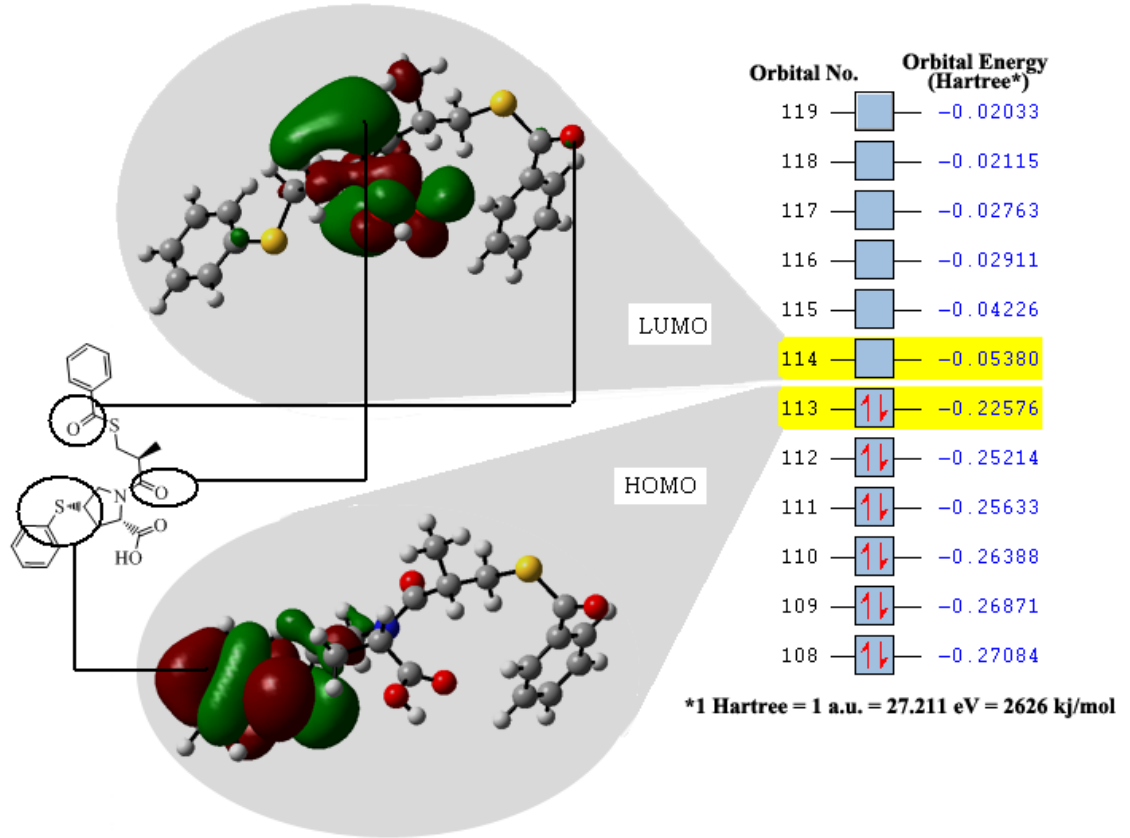
- yapıdaki en büyük elektrostatik negatif yükün, komşu azot atomu tarafından aktifleştirilen karbonil oksijeni üzerinde toplandığı,
- bu karbonil oksijeninden sonra en büyük negatif elektrostatik yük merkezinin komşu kükürt atomu ve fenil grubu tarafından aktifleştirilen karbonil oksijeni üzerinde bulunduğu,
- LUMO grubu orbitallerinin bu iki karbonil gruplarında toplandığı,
- HOMO grubu orbitallerinin komşu fenil grubu tarafından aktifleştirilen kükürt atomu üzerinde kümелendiği

belirlenmiştir (Şekil 4.33).

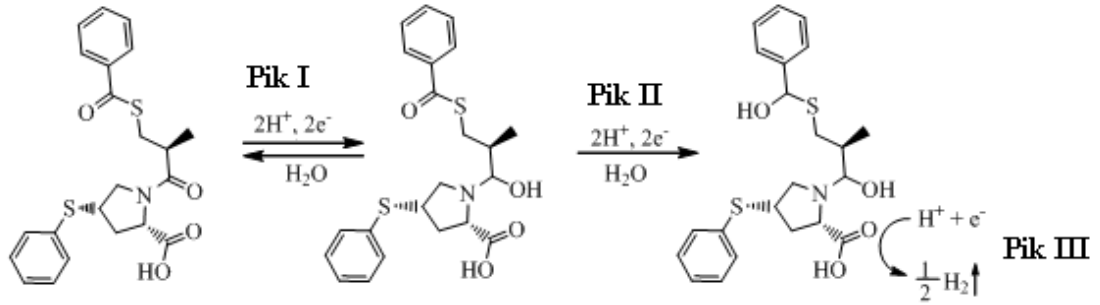
PI ve PII indirgenmelerinde elektron aktarımından önce protonlanma basamağının gerçekleşmesi gerektiği belirtilmişti. Buna göre, molekülün elektrostatik potansiyelinin en fazla negatif potansiyele sahip olduğu merkezin protonlanacağı, protonlanma basamağını, yeterli negatif potansiyele sahip olan elektrottan elektronların aktarılmasının takip edeceği bir mekanizmanın önerilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür. Buna göre PI'in en negatif elektrostatik potansiyele sahip karbonil grubunun, PII'nin ise, diğer karbonil grubunun indirgenmesi sonucu oluşacağı

düşünülmektedir. PIII'ün ise ZOF moleküllerinin kendi indirgenmesinden değil, yüzeye adsorbe olan ZOF moleküllerinin katalizörlüğünde gerçekleşen hidrojen indirgenmesinin (katalitik hidrojen) ürünü olması gerektiği düşünülmektedir. Bütün bu verilerin ışığında Şekil 4.34'te verilen indirgenme mekanizmalarının önerilmesi uygun bulunmuştur.

Yapılan mekanizma aydınlatma çalışmalarından sonra gözlenen piklere ait difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısının belirlenmesi için hesaplamalar yapılmış ve Eşitlik 4.3 kullanılarak PI bölgesindeki pik için ortalama difüzyon katsayısı $(4,3\pm 0,2)\times 10^{-9} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Aynı parametre PII bölgesindeki indirgenme piki için ise, Eşitlik 2.10 ve 2.21'in kullanılmasıyla $(2,1\pm 0,1)\times 10^{-7} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ değeri elde edilmiştir. PIII için Eşitlik 4.3'ten hesaplanan ortalama difüzyon katsayısı $(1,5\pm 0,2)\times 10^{-8} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ dir. PI için KK ve DV yöntemleriyle hesaplanan yüzey kaplama katsayısı $(7,8\pm 0,2)\times 10^{-10} \text{ molcm}^{-2}$, PII ve PIII için KK verileriyle hesaplanan yüzey kaplama katsayıları ve sırasıyla $(4,8\pm 0,3)\times 10^{-13} \text{ molcm}^{-2}$ ve $(1,1\pm 0,1)\times 10^{-13} \text{ molcm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Pik bölgeleri için hesaplanan difüzyon katsayıları ve yüzey kaplama katsayılarının değerleri, PI bölgesindeki elektrokimyasal dönüşümün adsorpsiyon, PII ve PIII bölgelerindeki dönüşümlerin ise difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiklerini destekler niteliktedir.



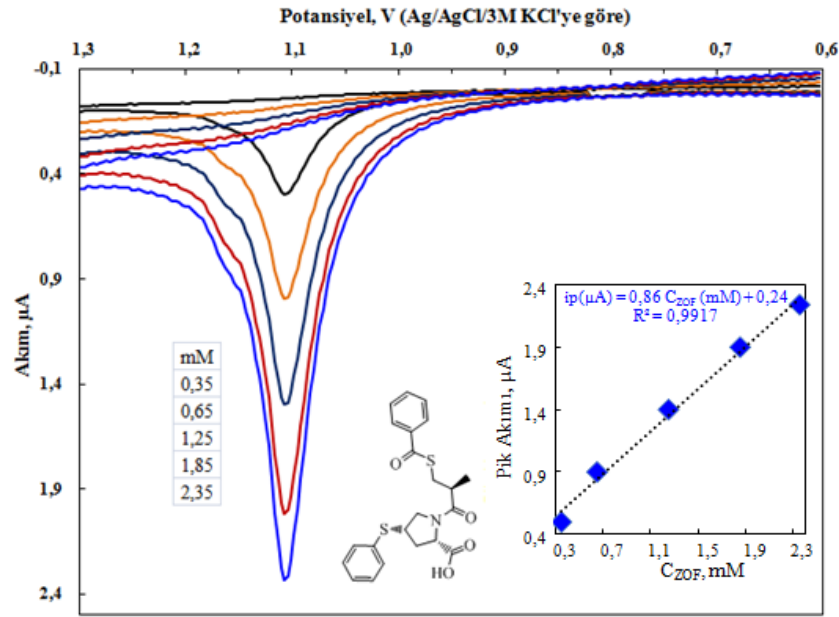
Şekil 4.33 Gaussian 3.0 yazılım programı kullanılarak ZOF molekülü için yapılan moleküler orbital analizi, bu analiz ile belirlenen HOMO-LUMO bölgeleri ve bu orbitallerin bağıl enerji değerleri



Şekil 4.34 ZOF moleküllerinin ADCE yüzeyinde gerçekleşen elektro-indirgenme tepkimeleri için önerilen mekanizma

ZOF'un ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik yapılan çalışmalardan sonra, söz konusu molekölün CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, ZOF'un pH 5,0'da BR tamponunda, farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin 0,60 V– 1,30V aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.35'te

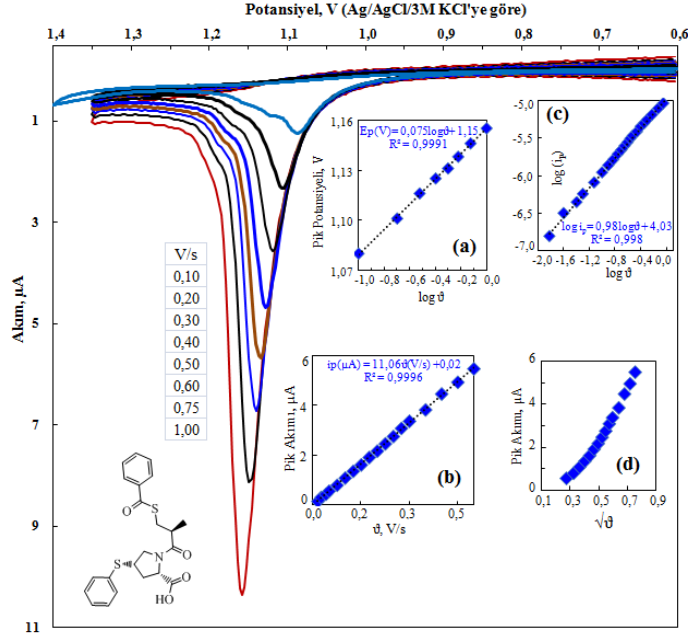
verilmiştir. Şekil 4.35'ten de görüldüğü gibi, yaklaşık 1,10 V civarında bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Farklı derişimlerdeki ZOF çözeltileri kullanılarak alınan voltamogramlardaki pik akımının ZOF derişimi ile doğrusal olarak artması (Şekil 4.35, iç grafik) söz konusu pikin ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine ait olduğu sonucunu doğurmuştur. Bu voltamogramlarda her hangi bir indirgenme pikinin gözlenmemesi, ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğini düşündürmüştür.



Şekil 4.35 Farklı derişimlerde ZOF içeren çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları (iç grafik: anodik pik akımının ZOF derişimi ile değişimi, ÇE: CKE, V: 0,100Vs⁻¹, pH: 5,0, E_b: 0,60 V, E_d: 1,30V, E_s: 0,60V).

CKE yüzeyindeelektrokimyasal olarak aktif olduğu belirlenen ZOF'un bu çalışma elektrodu yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının ayrıntılı olarak incelenmesinde, ilk olarak DV yönteminde tarama hızı çalışması yapılmış ve tarama hızının pik parametrelerine etkisi incelenmiştir. Tarama hızı çalışması için, pH'sı 5,0'a ayarlanmış, 0,56 mM ZOF çözeltisinin 0,100 Vs⁻¹– 1,000 Vs⁻¹ aralığndaki çeşitli tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.36). Bu çalışmada tarama hızı arttıkça yükseltgenme pik potansiyelinin daha anodik değerlere (daha yüksek potansiyellere) kaydığı belirlenmiştir. Pik potansiyelinin artan tarama hızı ile daha anodik değerlere kayması, herhangi bir indirgenme pikinin gözlenmemesi ile birlikte

değerlendirildiğinde, ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinmez olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan tarama hızı çalışmasında, tarama hızının pik potansiyeline etkisini değerlendirmek için, tarama hızının logaritmasına karşı pik potansiyelinin grafiği çizilmiş ve bu grafikte pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile $E_p(V) = 0,075 \log V + 1,15$ ($R^2 = 0,9991$) eşitliğine uyacak şekilde değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.36, iç grafik a). Oluşturulan bu grafikte elde edilen eğim değeri, Eşitlik 4.2'de kullanıldığında, anodik yük aktarım katsayısı olan β ile mekanizmada aktarılan elektron sayısının (n) çarpımı (βn) 1,26 olarak hesaplanmıştır. Aynı çarpım değeri, dönüşümlü voltametri yönteminde yapılan tarama hızı çalışmasında elde edilen voltamogramlardaki pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki farkın Eşitlik 2.20'de kullanılması ile 1,08 olarak hesaplanmıştır. Bu parametre ayrıca, kare dalga voltametri yönteminde yapılan frekans çalışmasından ise 1,18 olarak hesaplanmıştır. Yük aktarım katsayısının 0 ile 1 arasında değer alabileceği ve bu parametrenin değerinin birçok elektrot için 0,5 olduğu düşünüldüğünde, ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesine 2 elektronun katıldığı söylenebilir. Mekanizmada aktarılan elektron sayısı 2 olarak kabul edilirse, yük aktarım katsayısının ortalama değeri 0,58 civarında bulunur ki; bu, yükseltgenme mekanizmasında olduğu varsayılan aktifleşmiş kompleksin tepkime koordinatına göre simetri merkezinde değil, simetri merkezine göre biraz daha ürünler tarafında yer aldığı anlamına gelmektedir.



Şekil 4.36 Sabit derişimde ZOF içeren çözelti kullanılarak farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar (iç grafikler: (a) anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi, (b) anodik pik akımının tarama hızı ile değişimi, (c) anodik pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile değişimi ve (d) anodik pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi, ÇE: CKE, $C_{ZOF} = 0,56$ mM, pH: 5,0).

Tarama hızının pik potansiyeline etkinin yanında pik akımına da etkisi incelenmiştir. Bu incelemede, pik akımının tarama hızı ile doğrusal değiştiği (Şekil 4.36, iç grafik b) ve pik akımının logaritmasının tarama hızının logaritması ile doğrusal değiştiğini gösteren doğrunun eğiminin 0,98 olduğu (Şekil 4.36, iç grafik c) belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada ise, pik akımının tarama hızının karekökü ile doğrusal değişmediği (Şekil 4.36, iç grafik d) saptanmıştır. Tarama hızının pik akımına etkisini ifade eden bütün incelemeler birlikte değerlendirildiğinde, ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin, adsorpsiyon kontrollü olarak elektrot yüzeyinde gerçekleştirildiği sonucu çıkarılmıştır.

ZOF moleküllerinin CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışına pH'nın etkisi de incelenmiştir. Bunun için, ZOF derişimi 4,0 mM olan çözeltilerin pH'sı BR tamponu kullanılarak 1,0 ile 12,0 arasında değiştirilmiş ve bu çözeltilerin dönüşümlü voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.37). Yapılan bu çalışmada ZOF'un yükseltgenme piki pH'nın 1,0 ile 7,0 arasında olduğu durumlarda gözlenmiş, daha yüksek pH'ya sahip çözeltiler kullanılarak yapılan çalışmalarda yükseltgenme piki gözlenmemiştir.

İncelenmekte olan pikin pH'nın 7,0'ın altında olması durumunda gözlenmesi ilk bakışta mekanizmada elektron aktarımından önce bir protonlanma basamağının olması gerektiğini akla getirmiştir. Ancak; bu gözlem, hem yükseltgenme davranışının inceleniyor olması, hem de artan pH ile yükseltgenme pik potansiyelinin daha küçük potansiyellere kayması (Şekil 4.37) ile birleştirildiğinde, proton kaybederek deprotonasyona uğrayan türün protonlanan türe göre daha kolay elektron vererek yükseltgendiği şeklinde değerlendirilmiştir.

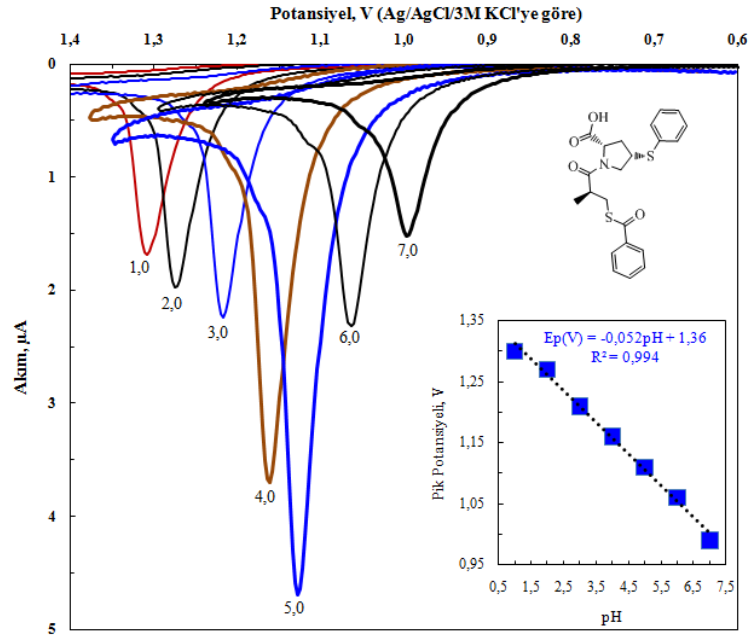
Pik potansiyelinde pH ile gözlenen kaymanın, pH'nın 1,0 ile 7,0 arasındaki değerlerinde doğrusal olduğu ve pik potansiyelinin pH ile $E_p(V) = -0,052pH + 1,36$ eşitliğine uyacak şekilde değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.37, iç grafik). Elde edilen bu doğrunun eğim değeri Eşitlik 4.1'de kullanıldığında elektrokimyasal mekanizmaya eşit sayıda elektron ve protonun katıldığı belirlenmiştir.

Elektrokimyasal basamakta aktarılan elektron sayısının hesaplanması için pH değerinin 5,0'da sabit tutulduğu ZOF çözeltisi 1,30 V'de, Bölüm 3.10'da anlatıldığı gibi sabit potansiyel altında elektroliz edilmiş ve bu elektroliz işlemi sisteminde geçen net yük değeri Eşitlik 2.11'de kullanılarak elektroyükseltgenme basamağında ortalama 2 elektronun transfer edildiği hesaplanmıştır.

ZOF'un CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı ile ilgili bu noktaya kadar elde edilen sonuçlar birleştirildiğinde, CKE yüzeyinde ZOF'un;

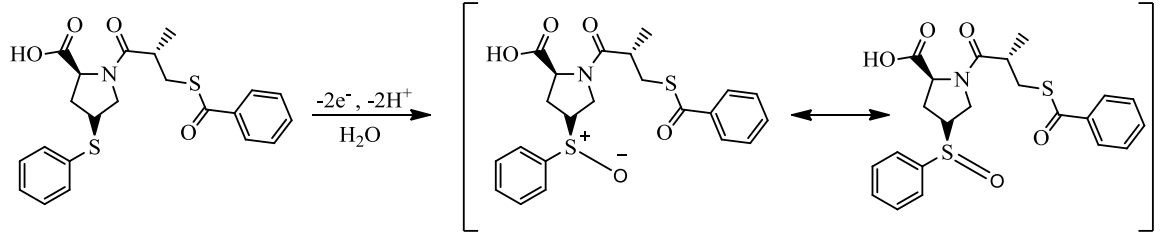
- yükseltgenmesinin tersinmez olduğuna,
- yükseltgenmesinin H^+ / e^- (CE) mekanizması üzerinden yürüdüğüne,
- yükseltgenme tepkimesine katılan elektron ve proton sayısının eşit olduğuna,
- yükseltgenmesinin toplam $2e^-/2H^+$ aktarımı ile gerçekleştiğine,
- yükseltgenmesinin adsorpsiyon kontrollü olacak şekilde elektrot yüzeyinde gerçekleştiğine

karar verilmiştir.



Şekil 4.37 Sabit derişimde ZOF içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltamogramları, (iç grafik: pik potansiyelinin pH ile değişimi, $C_{ZOF} = 4$ mM, ÇE: CKE)

ZOF'un moleköl formölü incelendiğinde, yükseltgenebilecek grup olarak, kükört atomlarının bulunduğu merkezler ve fenil halkalarından başka fonksiyonel grubun olmadığı görölmektedir. Bu gruplardan hangisinin yükseltgeneceğine, kükört gruplarının yükseltgenmesi durumunda hangi kükört grubunun yükseltgendiğine ışık tutacağı düşünölen teorik hesaplamalar yapılmıştır. Yapılan bu hesaplamaların özeti ZOF'un ADCE yüzeyindeki indirgenme mekanizmasının anlatıldığı kısımda verilmiştir (Şekil 4.33). Buna göre ZOF'un HOMO olarak isimlendirilen en yüksek enerjili dolu moleköl orbitalinin komşu fenil grubu tarafından aktifleştirilen kükört atomu üzerinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.33). Yapılan elektrokimyasal çalışmaların sonuçları, teorik hesaplamaların sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, ZOF'un CKE yüzeyindeki yükseltgenme mekanizmasının Şekil 4.38 verildiği şekilde önerilmesi uygun bulunmuştur.



Şekil 4.38 ZOF moleküllerinin CKE yüzeyinde gerçekleşen elektro yükseltgenme tepkimesi için önerilen mekanizma

Yapılan mekanizma aydınlatma çalışmalarından sonra ZOF için CKE yüzeyinde, difüzyon katsayısı ve yüzey kaplama katsayısı belirleme çalışmaları yapılmıştır. İncelenen mekanizmanın adsorpsiyon kontrollü olmasından dolayı difüzyon katsayısının hesaplanmasında adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için geliştirilen ve valide edilen Eşitlik 4.3 kullanılmış ve Şekil 4.36’da voltamogramları verilen tarama hızı aralığında ortalama difüzyon katsayısı $(1,2\pm 0,06)\times 10^{-8}$ cm²s⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Yüzey kaplama katsayısının hesaplanmasında ise Eşitlik 2.13 kullanılmış ve Şekil 4.36’da voltamogramları verilen tarama hızı aralığında ortalama yüzey kaplama katsayısı $(7,3\pm 0,5)\times 10^{-10}$ molcm⁻² olarak hesaplanmıştır. Hem difüzyon katsayısının hem de yüzey kaplama katsayısının değerleri ZOF’un CKE yüzeyindeki yükseltgenmesinin adsorpsiyon kontrollü olarak, yani elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini destekler niteliktedir.

4.2 Voltametrik Tayin Yöntemi Geliştirme

Bu tez kapsamında incelenen ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal davranışlarıyla ilgili veriler, söz konusu HKA, İNDA, MOE, PER ve ZOF olarak sembolize edilen ilaç etken maddelerinin nicel tayini için voltametrik yöntem geliştirilebileceğini göstermiştir. Voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında, bu maddelere ait iyi tanımlanmış piklerden ve Bölüm 4.1’de belirlenen optimum deneysel koşullardan yararlanılmıştır. Bu nedenle, bu bölümde sadece cihaz parametrelerinin ve seçilen voltametrik yönteme özgü parametrelerin optimizasyonu yapılmış ve her etken madde için, tek başına ve/veya uygun karışımları için voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen her bir yöntemin ilaçların kalite kontrolüne uygulanabilirliği ile söz konusu

maddelerin serum ve/veya idrarda tayinine uygunluğu test edilmiştir. Son olarak, geliştirilen yontemler, Bolum 3.12'de belirtilen validasyon parametreleri incelenerek valide edilmiş ve bunların hem kendi aralarında hem de mevcut yontemlerle istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmıştır.

Aşağıda her bir ilaç etken maddesi için geliştirilen yontemler ve sonuçları ayrıntılı olarak irdelenmiştir.

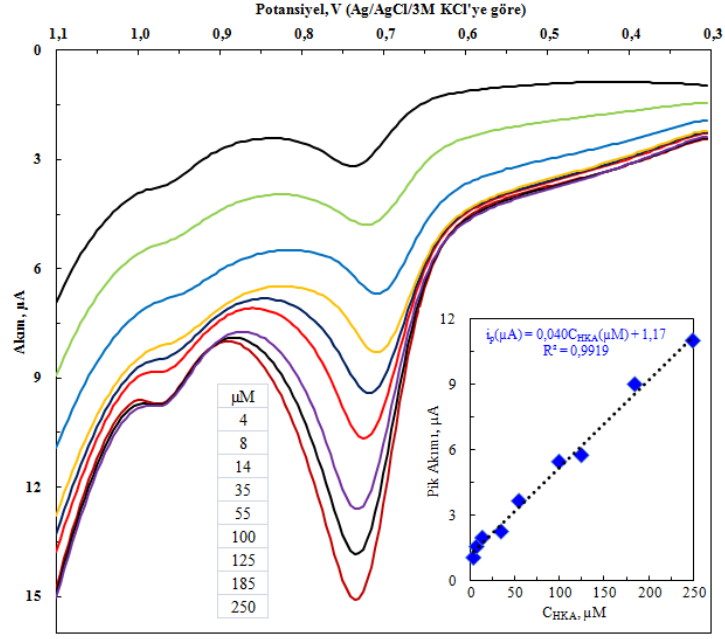
4.2.1 HKA tayini için voltametrik yontemler

Bolum 4.1.1'de elektrokimyasal davranışı incelenen HKA'nın pH 5,0'da en yusek pik akımı oluşturacak şekilde yuseltgenme piki verdiği ve bu pikin akımının HKA derişimi ile doğrusal olarak değiştiği (şekil 4.1) belirlenmişti. Bundan yararlanarak, HKA'nın nicel tayini için diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) yontemlerinin geliştirilmesinin uygun olabileceği duişunulmuştur. Yontem geliştirme çalışmalarında, söz konusu voltametrik yontemlerin doğrudan ve adsorptif sıyırma modlarında kullanılması ile dört ayrı yontem geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, uygun derişimde HKA ozelteleri kullanılarak yontem ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu yapılmış ve belirlenen optimum parametreler izelge 4.1'de verilmiştir.

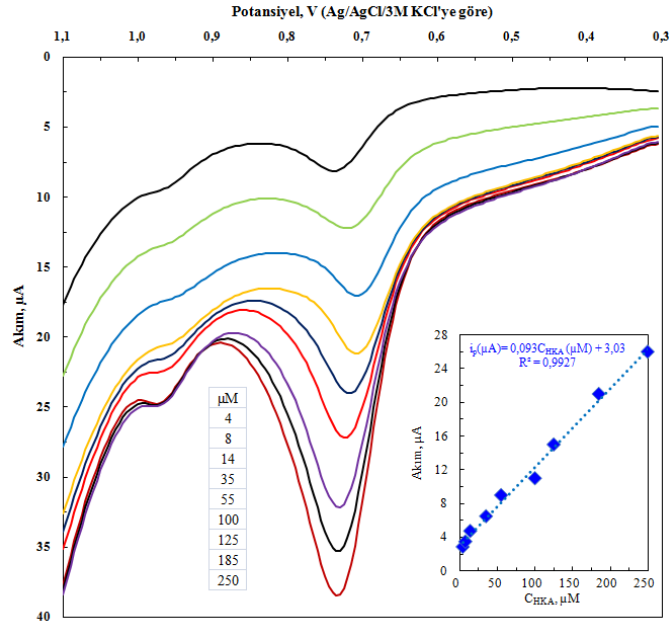
Çizelge 4.1'de verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yontem için çeşitli derişimlerde HKA içeren ozeltelerin belirtilen voltametrik yontemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar şekil 4.39 – 4.42'de verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yontem için oluşturulan bu doğrular, şekillerde i grafik olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1 CKE yüzeyinde HKA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

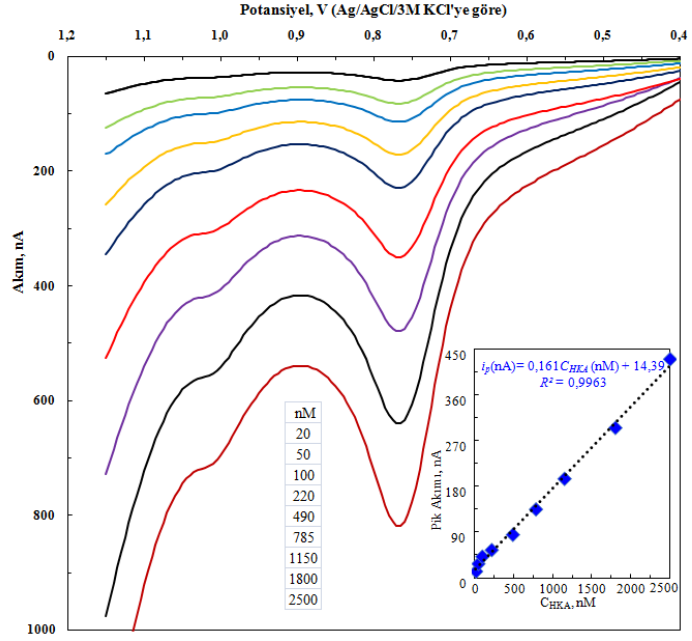
Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	0,300	0,300	0,300	0,300
Bitiş potansiyeli, V	1,100	1,100	1,100	1,100
Pik Potansiyeli, V	0,720	0,725	0,780	0,770
Tarama hızı, V/s	0,005	0,050	0,005	0,050
Genlik, V	0,065	0,050	0,065	0,050
Frekans, 1/s	–	25	–	25
Basamak potansiyeli, V	0,005	0,002	0,005	0,002
Örnekleme genişliği, ms	65	–	65	–
Puls genişliği, ms	25	–	25	–
Puls periyodu, ms	200	–	200	–
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,0	5,0	5,0	5,0
Biriktirme potansiyeli, V	–	–	0,40	0,40
Biriktirme süresi, s	–	–	120	120



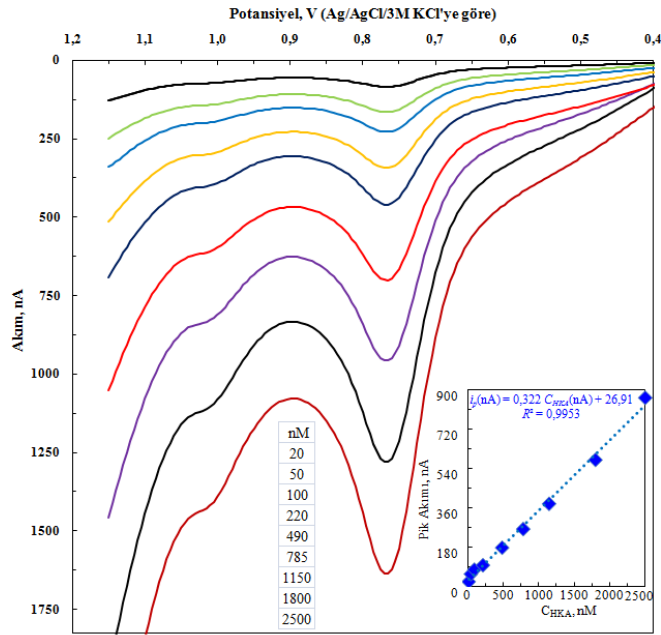
Şekil 4.39 HKA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.40 HKA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.41 HKA'nın farklı derişimlerdeki DPAAdSV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}$: 0,4 V, $t_{\text{bir.}}$: 120 s)



Şekil 4.42 HKA'nın farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}$: 0,4 V, $t_{\text{bir.}}$: 120 s)

HKA tayini için CKE kullanılarak yapılan yöntem geliştirme çalışmalarında elde edilen kalibrasyon verilerinin en küçük kareler yöntemiyle değerlendirilmesi ile bazı validasyon parametreleri belirlenmiş ve bu parametreler Çizelge 4.2'de tablanmıştır.

Çizelge 4.2 CKE kullanılarak HKA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Validasyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	4,0×10 ⁻⁶ 2,5×10 ⁻⁴	4,0×10 ⁻⁶ 2,5×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁸ 2,5×10 ⁻⁶	2,0×10 ⁻⁸ 2,5×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi(m), ALmol ⁻¹	0,040	0,093	0,161	0,322
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (b), A	1,17×10 ⁻⁶	3,03×10 ⁻⁶	1,44×10 ⁻⁸	2,69×10 ⁻⁹
Regresyon standart sapması (s _r), A	3,35×10 ⁻⁷	7,1×10 ⁻⁷	9,17×10 ⁻⁹	2,07×10 ⁻⁹
Eğimin standart sapması (s _m), ALmol ⁻¹	0,0014	0,0029	0,0037	0,0084
Kesim noktasının standart sapması (s _b), A	2,01×10 ⁻⁸	4,26×10 ⁻⁸	5,29×10 ⁻⁹	1,19×10 ⁻⁹
Gözlenebilirlik sınırı (LOD), molL ⁻¹	1,52×10 ⁻⁶	1,37×10 ⁻⁶	9,84×10 ⁻⁹	1,11×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (LOQ) molL ⁻¹	5,05×10 ⁻⁶	4,57×10 ⁻⁶	3,28×10 ⁻⁸	3,72×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (R ²)	0,9919	0,9927	0,9963	0,9953
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	6,42	7,02	6,48	8,02
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	8,56	9,17	8,75	9,65
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	1,23	1,85	2,01	2,78
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	2,13	2,84	3,05	3,12

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

HKA için, voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının HKA derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (R²) 0,99'dan büyük olduğu,
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de HKA tayini için uygun olduğu ve;

- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 4,0×10⁻⁶ M (1,19µg mL⁻¹) –2,5×10⁻⁴ M (74,38 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal ve doğrusal çalışma aralığının 2,0×10⁻⁸ M (5,95 ng mL⁻¹) – 2,5×10⁻⁶ M (743,8 ng mL⁻¹) olduğu,
- hem doğrudan voltametrik yöntemlerde hem de adsorptif sıyırma voltametri yöntemlerinde, kara dalga voltametri yönteminin diferansiyel pulsa göre yaklaşık 2 kat daha duyarlı olduğu,

- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi, göreceli olarak daha yüksek derişimlerde HKA içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda HKA içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- HKA için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozun $0,04\text{--}2,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($1,34 \times 10^{-7} \text{ M} - 6,68 \times 10^{-6} \text{ M}$) olduğu (Schulz ve Schmoldt 2003) göz önüne alındığında geliştirilen voltametrik yöntemlerin serumda HKA tayinine uygulanabileceği düşünülmüştür.

Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda HKA tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.43 – 4.46’da verilmiştir.

Analitik uygulamaların tamamı toplam hacmi 10,0 mL’ye tamamlanan elektrokimyasal hücrelerde gerçekleştirilmiştir ve uygulamalarla ilgili tüm voltamogramlarda bazı kısaltmalar bulunmaktadır. Bu kısaltmaların açıklamaları aşağıda yapılmış olup diğer ilaç etken maddelerin tayin yöntemleri için de geçerlidir:

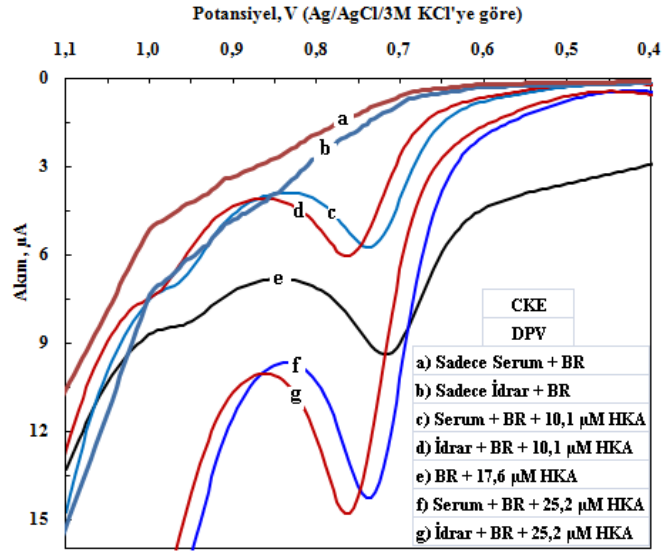
Sadece serum + BR: 1,0 mL serum toplam hacmi 10,0 mL olacak şekilde optimum pH koşullarındaki BR ile karıştırılmıştır.

Sadece idrar + BR: 1,0 mL idrar toplam hacmi 10,0 mL olacak şekilde optimum pH koşullarındaki BR ile karıştırılmıştır.

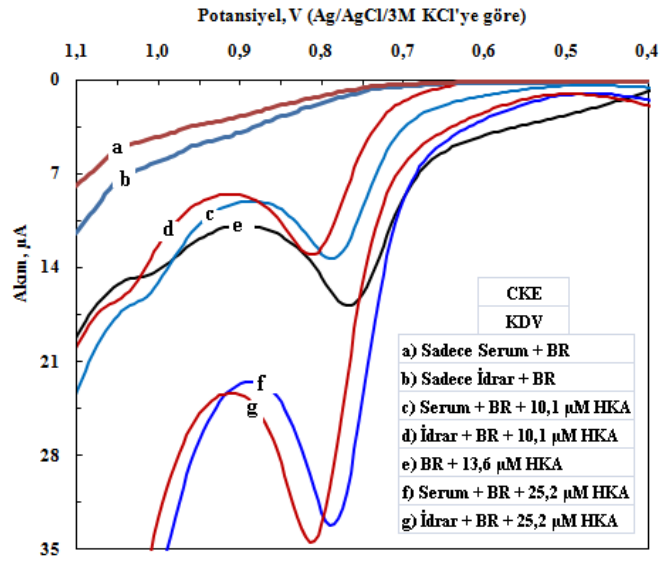
Serum + BR + 10,1 μM HKA: Optimum koşullardaki BR üzerine HKA derişimi 10,1 μM olacak şekilde serum-tablet çözeltisi karışımından eklenmiştir.

İdrar + BR + 10,1 μM HKA: Optimum koşullardaki BR üzerine HKA derişimi 10,1 μM olacak şekilde idrar-tablet çözeltisi karışımından eklenmiştir.

BR + 17,6 μM HKA: Optimum koşullardaki BR üzerine HKA derişimi 17,6 μM olacak şekilde daha standart HKA çözeltisinden eklenmiştir.



Şekil 4.43 HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.44 HKA tayini için yapılan uygulamalarda Çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları

İlaçlarda, serumda ve idrarda HKA tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

HKA tayini için öncelikle Şekil 4.38 – 4.41’de verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle HKA derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.3 – 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Tabletlerde HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	12,5	10,71; 11,11; 11,75; 12,19; 12,63	93,4 ±7,7	6,7
KDV	12,5	10,88; 11,38; 12,25; 13,13; 13,50	97,8 ±11,1	9,1
DPAADSV	12,5	10,63; 12,13; 12,50; 13,06; 13,44	98,8 ±10,8	8,8
KDAAdSV	12,5	11,00; 12,25; 12,50; 12,88; 13,25	99,0 ±8,5	6,9

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.4 İdrarda HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV I	30,0	28,88; 29,33; 30,07; 31,26; 32,75	101,5 ±6,5	5,1
DPV II	75,0	72,75; 73,88; 75,75; 78,80; 82,13	102,2 ±6,3	4,9
KDV I	30,0	27,44; 27,87; 29,15; 30,58; 31,16	97,5 ±6,8	5,6
KDV II	75,0	72,06; 73,13; 76,50; 80,25; 81,75	102,3 ±7,1	5,6
DPAADSV I	0,60	0,58; 0,59; 0,60; 0,62; 0,65	101,5 ±5,1	4,0
DPAADSV II	1,50	1,47; 1,49; 1,52; 1,58; 1,63	102,5 ±5,3	4,2
KDAAdSV I	0,60	0,57; 0,58; 0,61; 0,62; 0,66	101,5 ±6,7	5,3
KDAAdSV II	1,50	1,41; 1,47; 1,53; 1,57; 1,65	101,6 ±7,7	6,1

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.5 Serumda HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem ^a	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	30,0	27,75; 28,15; 30,05; 31,02; 33,35	100,2 ±9,4	7,6
DPV II	75,0	67,88; 68,38; 74,38; 80,01; 82,50	99,5 ±10,9	8,9
KDV I	30,0	26,58; 26,70; 27,61; 28,98; 31,50	94,2 ±8,5	7,2
KDV II	75,0	66,75; 70,05; 76,93; 78,48; 81,00	99,5 ±9,9	8,0
DPAADSV I	0,60	0,52; 0,54; 0,60; 0,63; 0,65	98,2 ±11,7	9,6
DPAADSV II	1,50	1,30; 1,45; 1,56; 1,59; 1,66	100,7 ±11,5	9,2
KDAAdSV I	0,60	0,52; 0,58; 0,62; 0,62; 0,66	100,2 ±10,9	8,8
KDAAdSV II	1,50	1,30; 1,40; 1,50; 1,57; 1,60	98,2 ±10,2	8,4

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.3'te verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 93,4–% 99 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda HKA tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.4'teki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda HKA tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda HKA tayini ile ilgili Çizelge 4.5'te elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile HKA'nın tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

4.2.2 İNDA tayini için voltametrik yöntemler

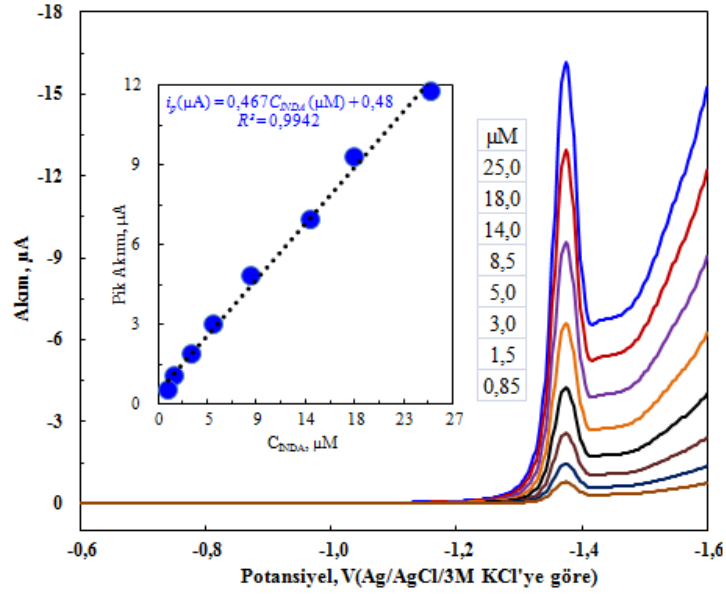
Bölüm 4.1.2’de ADCE ve CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı incelenen İNDA’nın ADCE yüzeyinde pH 4,8’de en yüksek pik akımı oluşturacak şekilde indirgenme piki verdiği ve bu pikin akımının İNDA derişimi ile doğrusal olarak değiştiği (Şekil 4.7) belirlenmişti. Bundan yararlanarak, ADCE’de İNDA’nın nicel tayini için DPV ve KDVyöntemlerinin geliştirilmesinin uygun olabileceği düşünülmüştür. Yöntem geliştirme çalışmalarında, söz konusu voltametrik yöntemlerin doğrudan ve adsorptif sıyırma modlarında kullanılması ile dört ayrı yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, uygun derişimde İNDA çözeltileri kullanılarak yöntem ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 ADCE yüzeyinde İNDA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

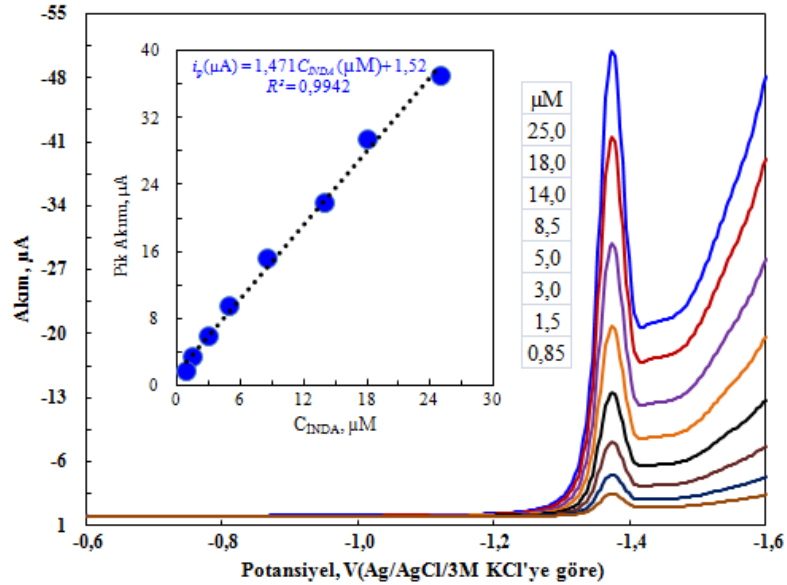
Parametre	DPV	KDV	DPKAdSV	KDKAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	-0,600	-0,600	-0,600	-0,600
Bitiş potansiyeli, V	-1,600	-1,600	-1,600	-1,600
Pik Potansiyeli, V	-1,360	-1,360	-1,360	-1,375
Tarama hızı, V/s	0,004	0,075	0,004	0,075
Genlik, V	0,050	0,050	0,050	0,050
Frekans, 1/s	–	25	–	25
Basamak potansiyeli, V	0,004	0,003	0,004	0,003
Örnekleme genişliği, ms	65	–	65	–
Puls genişliği, ms	25	–	25	–
Puls periyodu, ms	200	–	200	–
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	4,8	4,8	4,8	4,8
Biriktirme potansiyeli, V	–	–	-0,45	-0,45
Biriktirme süresi, s	–	–	90	90

Çizelge 4.6’da verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde İNDA içeren çözeltilerin farklı voltametrik yöntemlerde voltamogramları

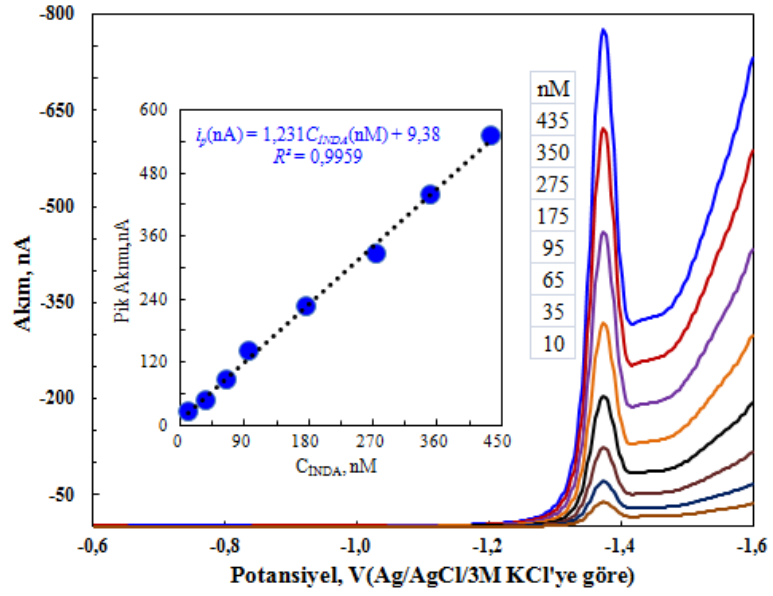
alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.47 – 4.50’de verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.



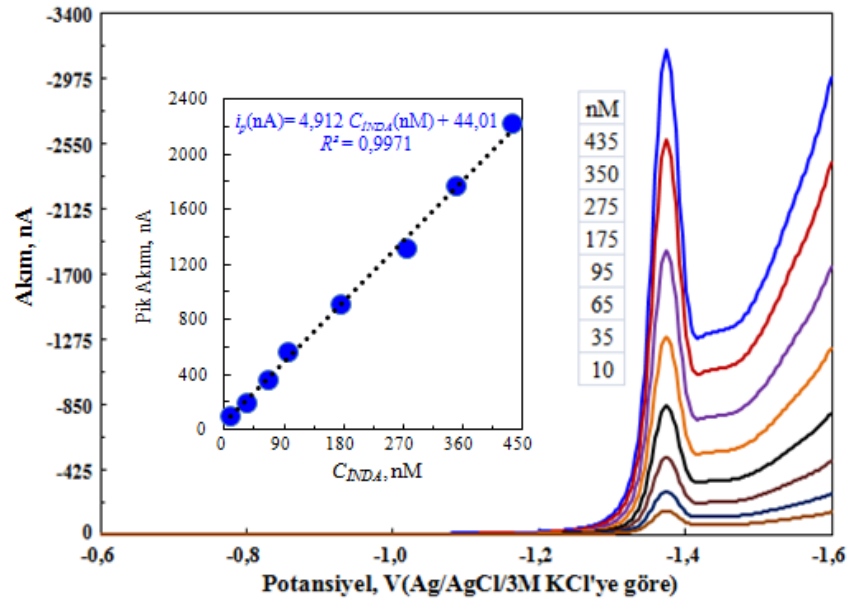
Şekil 4.47 İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değışimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.48 İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değışimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.49 İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{\text{bir.}}$: -0,45 V, $t_{\text{bir.}}$: 90 s)



Şekil 4.50 İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDKAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{\text{bir.}}$: -0,45 V, $t_{\text{bir.}}$: 90 s)

ADCE kullanılarak İNDA tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.7’de tablanmıştır.

Çizelge 4.7 ADCE kullanılarak İNDA tayinine yönelik geliştirilen yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	8,5×10 ⁻⁷ 2,5×10 ⁻⁵	8,5×10 ⁻⁷ 2,5×10 ⁻⁵	1,0×10 ⁻⁸ 4,4×10 ⁻⁷	1,0×10 ⁻⁸ 4,4×10 ⁻⁷
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,467	1,471	1,231	4,912
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	4,82×10 ⁻⁷	1,52×10 ⁻⁶	9,22×10 ⁻⁹	4,40×10 ⁻⁹
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	3,12×10 ⁻⁷	9,81×10 ⁻⁷	1,09×10 ⁻⁸	4,15×10 ⁻⁸
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,013	0,042	0,024	0,100
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	9,80×10 ⁻⁸	2,40×10 ⁻⁷	4,66×10 ⁻⁹	1,07×10 ⁻⁸
Gözlenebilirlik sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	6,27×10 ⁻⁷	4,88×10 ⁻⁷	1,14×10 ⁻⁸	6,55×10 ⁻⁹
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	2,09×10 ⁻⁶	1,63×10 ⁻⁶	3,80×10 ⁻⁸	2,18×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9942	0,9942	0,9976	0,9971
Gün içi akım tekrarlanabilirliği(% BSS) *	5,41	7,25	5,84	7,95
Günler arası akım tekrarlanabilirliği(% BSS) **	7,65	8,37	7,85	9,75
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği(% BSS) *	1,05	1,65	2,05	2,13
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği(% BSS) **	2,25	2,15	2,95	3,05

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

İNDA için, ADCE kullanılarak voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının İNDA derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,99’dan büyük olduğu,
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de İNDA tayini için uygun olduğu ve;

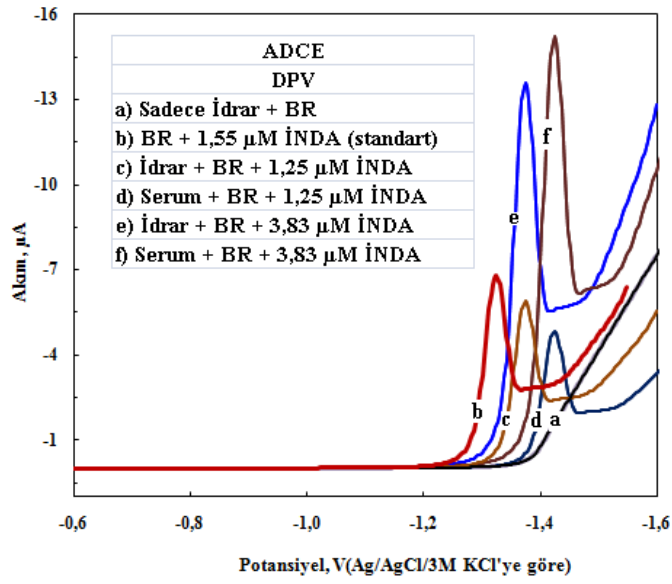
- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı 8,5×10⁻⁷ M (0,31 µg mL⁻¹) – 2,5×10⁻⁵ M (9,15 µg mL⁻¹) şeklinde aynı olduğu,

- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal ve doğrusal çalışma aralığının $1,0 \times 10^{-8}$ M ($3,65 \text{ ng mL}^{-1}$) – $4,4 \times 10^{-7}$ M ($160,6 \text{ ng mL}^{-1}$) şeklinde olduğu,
- kare dalga voltametrimin diferansiyel puls voltametriye göre doğrudan voltametrik yöntemlerde üç kat, adsorptif sıyırma voltametri yöntemlerinde ise dört kat daha duyarlı olduğu,
- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde İNDA içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda İNDA içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olabileceği

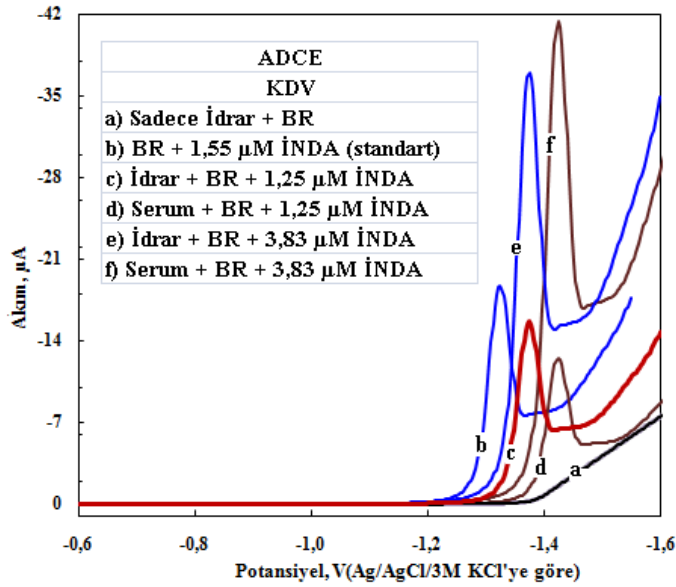
sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- İNDA için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozun $15,0\text{--}45,0 \text{ ng mL}^{-1}$ ($4,1 \times 10^{-8}$ M – $1,2 \times 10^{-7}$ M) olduğu (Chen *vd.* 2006) göz önüne alındığında, geliştirilen voltametrik yöntemlerden adsorptif sıyırma voltametrisine dayalı yöntemlerin serumdaki tedavi edici İNDA miktarının, doğrudan voltametrik yöntemlerin ise ilaç örneklerindeki İNDA tayinine uygulanabileceğini düşündürmüştür.

Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda İNDA tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.51 – 4.54’te verilmiştir.



Şekil 4.51 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.52 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları

için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda İNDA tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda İNDA tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

İNDA tayini için öncelikle Şekil 4.46 – 4.49’da verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle İNDA derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.8 – 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.8 Tabletlerde İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	2,5	2,36; 2,44; 2,50; 2,58; 2,70	100,6 ±6,5	5,2
KDV	2,5	2,34; 2,48; 2,56; 2,60; 2,66	101,1 ±6,2	4,9
DPAADSV	2,5	2,20; 2,30; 2,40; 2,50; 2,70	96,8 ±9,6	7,9
KDAAdSV	2,5	2,24; 2,42; 2,52; 2,58; 2,64	99,2 ±7,8	6,3

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.9 İdrarda İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV I	3,50	3,00; 3,10; 3,45; 3,60; 3,75	96,6 ±11,4	9,5
DPV II	14,0	13,05; 13,25; 13,85; 14,25; 14,95	99,1 ±6,8	5,6
KDV I	3,50	3,05; 3,15; 3,50; 3,65; 3,75	97,7 ±10,9	8,9
KDV II	14,0	12,10; 13,25; 14,12; 14,65; 15,12	98,9 ±10,7	8,7
DPAADSV I	0,20	0,18; 0,18; 0,20; 0,21; 0,22	99,0 ±11,1	9,0
DPAADSV II	0,40	0,34; 0,38; 0,40; 0,42; 0,42	98,0 ±10,4	8,5
KDAAdSV I	0,20	0,18; 0,19; 0,20; 0,21; 0,22	99,0 ± 9,9	8,1
KDAAdSV II	0,40	0,34; 0,37; 0,40; 0,42; 0,43	98,0 ±11,5	8,4

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.10 Serumda İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklene, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV I	3,50	3,05; 3,12; 3,42; 3,60; 3,70	96,5 ±10,2	8,5
DP II	14,0	13,15; 13,20; 14,00; 14,25; 15,05	99,5 ±7,0	5,7
KDV I	3,50	3,05; 3,10; 3,50; 3,58; 3,75	97,0 ±10,9	9,0
KDV II	14,0	13,08; 13,24; 14,12; 14,75; 15,40	100,8 ±8,8	7,0
DPAADSV I	0,20	0,17; 0,18; 0,20; 0,20; 0,21	96,0 ±10,2	8,6
DPAADSV II	0,40	0,32; 0,38; 0,39; 0,40; 0,42	95,5 ±11,7	8,9
KDAAdSV I	0,20	0,19; 0,19; 0,21; 0,21; 0,22	101,5 ±7,5	5,9
KDAAdSV II	0,40	0,35; 0,37; 0,39; 0,42; 0,43	98,0 ±10,4	8,5

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.8’de tablet analizi için verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10’dan daha küçük BSS ile % 96,8 – % 101,1 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda İNDA tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.9’daki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda İNDA tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda İNDA tayini ile ilgili Çizelge 4.10’da elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu ve girişim etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile İNDA’nın tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

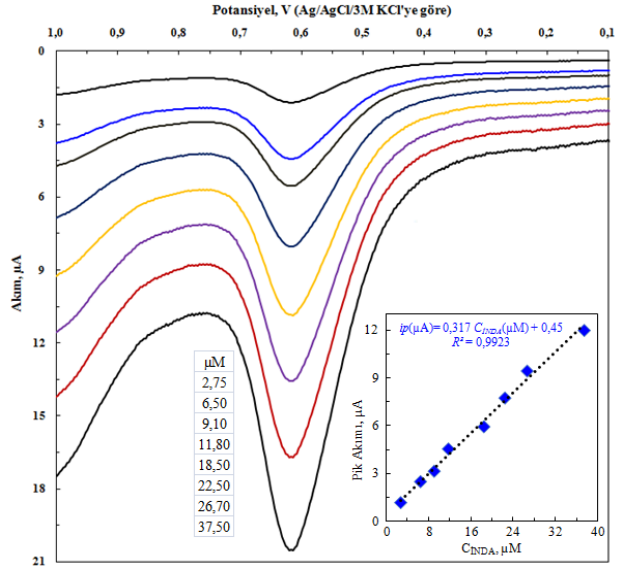
güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

İNDA için yapılan elektrokimyasal davranış inceleme çalışmalarında, İNDA'nın ADCE yanında CKE yüzeyinde de elektrokimyasal aktifliğe sahip olduğu belirlenmişti. Bundan hareketle, İNDA tayini için CKE kullanılarak voltametrik yöntem geliştirme çalışmaları da yapılmıştır. Bu çalışmalarda da, aynen ADCE kullanılarak yapılan tayin yöntemi çalışmalarında olduğu gibi, ilk olarak optimizasyon çalışması yapılmış ve bulunan optimum değerler Çizelge 4.11'de verilmiştir.

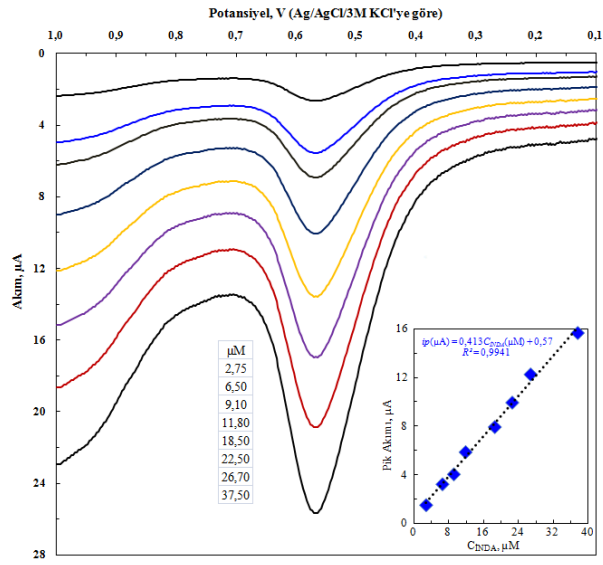
Çizelge 4.11 CKE yüzeyinde İNDA analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	0,100	0,100	0,100	0,100
Bitiş potansiyeli, V	1,000	1,000	1,100	1,100
Pik Potansiyeli, V	0,600	0,550	0,660	0,660
Tarama hızı, V/s	0,005	0,050	0,005	0,050
Genlik, V	0,065	0,065	0,065	0,065
Frekans, 1/s	–	25	–	25
Basamak potansiyeli, V	0,005	0,002	0,005	0,002
Örnekleme genişliği, ms	65	–	65	–
Puls genişliği, ms	25	–	25	–
Puls periyodu, ms	200	–	200	–
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	8,5	8,5	8,5	8,5
Biriktirme potansiyeli, V	–	–	0,00	0,00
Biriktirme süresi, s	–	–	120	120

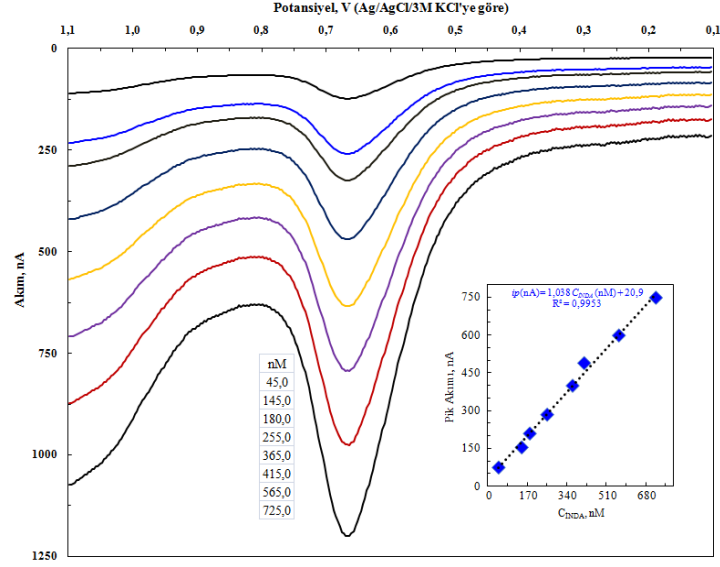
Çizelge 4.11'de verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için, çeşitli derişimlerde İNDA içeren çözeltilerin voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.55 – 4.58'de verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.



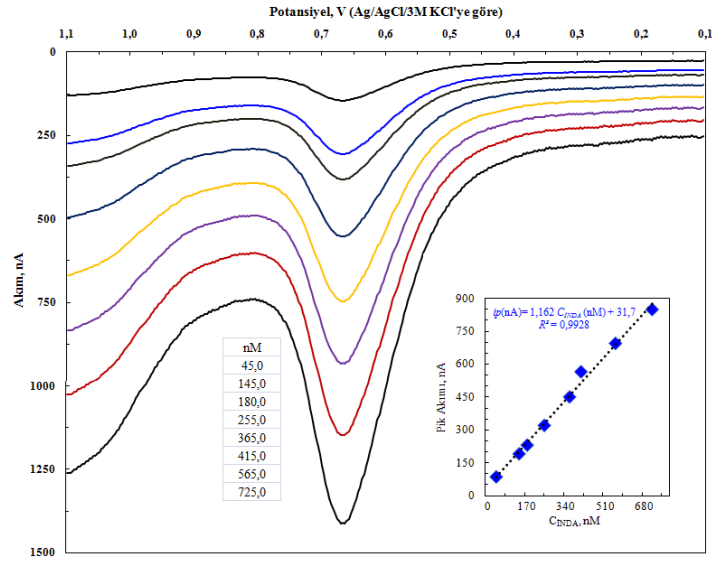
Şekil 4.55 İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.56 İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.57 İNDA'nın farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)



Şekil 4.58 İNDA'nın farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: İNDA derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$: 0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)

CKE kullanılarak İNDA tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 CKE kullanılarak İNDA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	2,75×10 ⁻⁶ 3,75×10 ⁻⁵	2,75×10 ⁻⁶ 3,75×10 ⁻⁵	4,5×10 ⁻⁸ 7,25×10 ⁻⁶	4,5×10 ⁻⁸ 7,25×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,317	0,413	1,038	1,162
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	4,46×10 ⁻⁷	5,72×10 ⁻⁷	2,09×10 ⁻⁸	3,17×10 ⁻⁸
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	3,26×10 ⁻⁷	3,71×10 ⁻⁷	2,02×10 ⁻⁸	2,26×10 ⁻⁸
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,011	0,012	0,029	0,037
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	1,78×10 ⁻⁷	2,03×10 ⁻⁷	6,01×10 ⁻⁹	5,65×10 ⁻⁹
Gözlenebilme sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	1,69×10 ⁻⁶	1,47×10 ⁻⁶	1,74×10 ⁻⁸	1,46×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	5,62×10 ⁻⁶	4,90×10 ⁻⁶	5,79×10 ⁻⁸	4,87×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9923	0,9941	0,9953	0,9928
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	8,75	9,56	9,45	8,95
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	10,21	10,75	11,05	11,52
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	2,35	2,56	2,07	2,24
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	3,25	3,42	3,78	3,98

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

İNDA için, CKE kullanılarak voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında geliştirilen yöntemlerin hepsinde;

- ortalama pik akımının İNDA derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,99'dan büyük olduğu,
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de İNDA tayini için uygun olduğu ve;

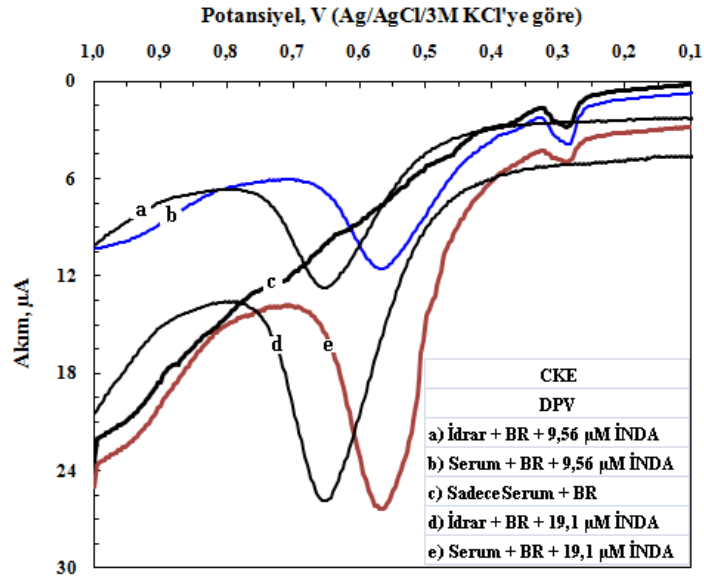
- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 2,75×10⁻⁶ M (1,00 µg mL⁻¹) – 3,75×10⁻⁵ M (13,72 µg mL⁻¹) şeklinde olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal olduğu ve bu yöntemlerde doğrusal çalışma aralığının 4,5×10⁻⁸ M (16,46 ng mL⁻¹) – 7,25×10⁻⁶ M (2652,3 ng mL⁻¹) olduğu,

- kare dalga voltametri ile diferansiyel puls voltametri yöntemlerinin doğrudan uygulamalarda ve adsorptif sıyırma uygulamalarında yaklaşık olarak aynı duyarlılığa sahip olduğu,
- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde İNDA içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda İNDA içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

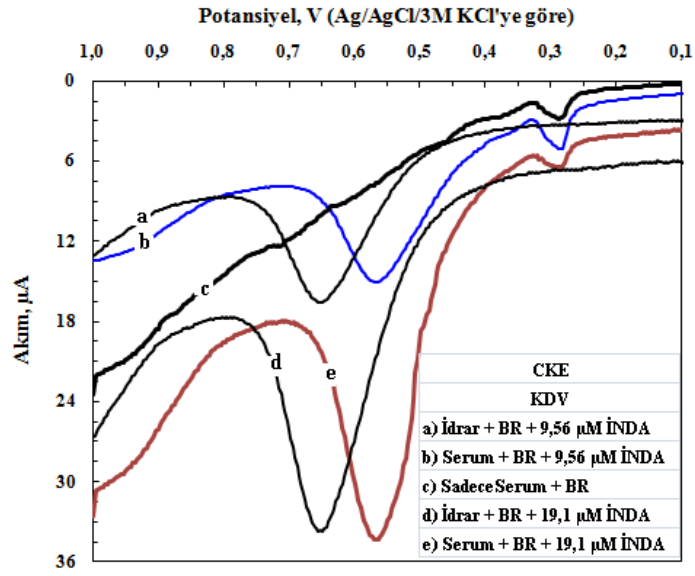
sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- İNDA için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozun $15,0 - 45,0 \text{ ng mL}^{-1}$ ($4,1 \times 10^{-8} \text{ M} - 1,2 \times 10^{-7} \text{ M}$) olduğu (Chen *vd.* 2006) göz önüne alındığında, geliştirilen voltametrik yöntemlerden adsorptif sıyırma voltametrisine dayalı yöntemlerin serumdaki tedavi edici İNDA miktarının, doğrudan voltametrik yöntemlerin ise ilaç örneklerindeki İNDA tayinine uygulanabileceğini düşündürmüştür.

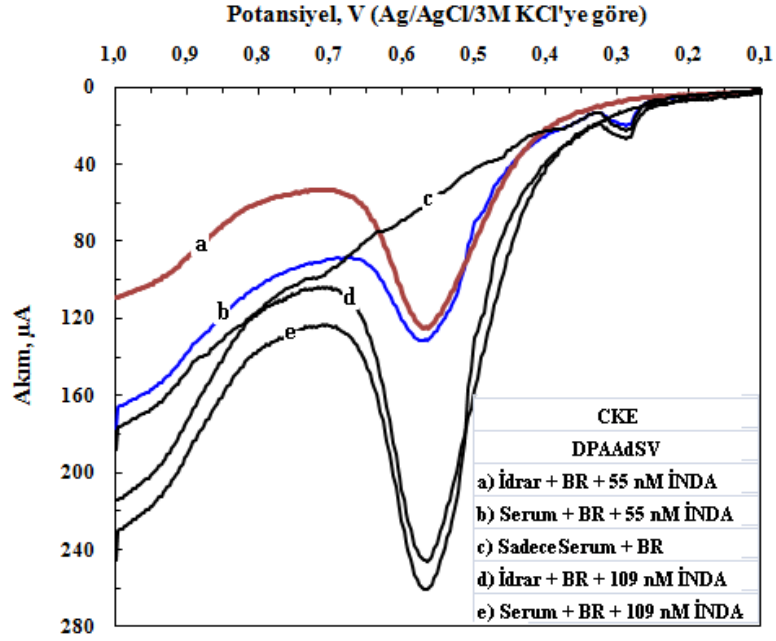
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda İNDA tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.59 – 4.62’de verilmiştir.



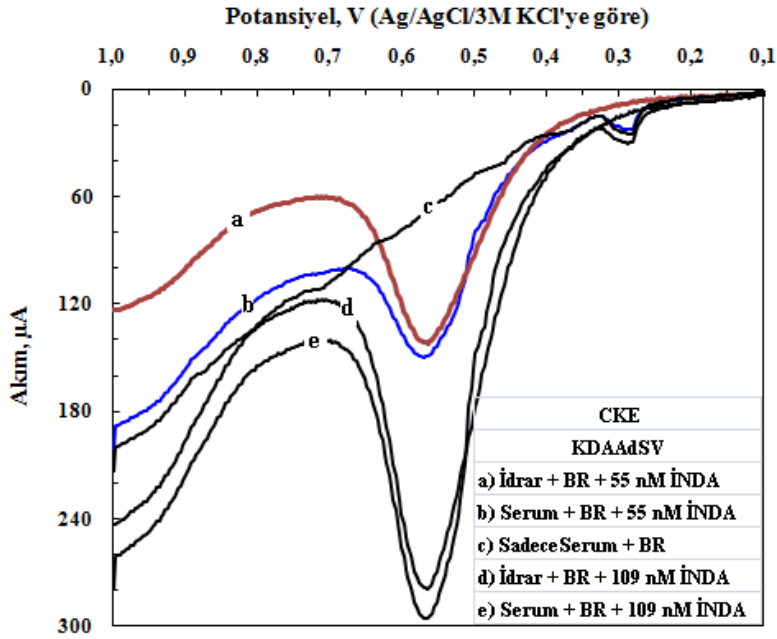
Şekil 4.59 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları.



Şekil 4.60 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.61 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAdSV voltamogramları



Şekil 4.62 İNDA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde İNDA'nın yükseltgenmesine ait pikin belirgin olduğu ve pik akımının İNDA derişimi ile değiştiği, ilaçlarda, idrarda ve serumda İNDA tayini için voltametrik yöntemlerin

geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Bu voltamogramlardan İNDA'nın yükseltgenme pikinin yanında ayrıca 0,30 V civarında serumda bulunan ürik asite ait olduğu düşünülen bir pik gözlenmektedir. Bu pikin akımı eklenen İNDA ile değişmediği gibi İNDA'nın yükseltgenme pikinin potansiyel ve akımına her hangi bir girişim etkisinin olmadığı düşünülmüştür. Çizelge 4.12'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda İNDA tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda İNDA tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda İNDA tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

İNDA tayini için öncelikle Şekil 4.55 – 4.58'de verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle İNDA derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.13 – 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.13 Tabletlerde İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	2,5	2,38; 2,46; 2,50; 2,56; 2,76	101,3 ±7,1	5,7
KDV	2,5	2,32; 2,44; 2,60; 2,64; 2,74	101,9 ±8,3	6,6
DPAADSV	2,5	2,20; 2,34; 2,40; 2,50; 2,64	96,6 ±8,2	6,9
KDAAdSV	2,5	2,28; 2,46; 2,58; 2,64; 2,70	101,3 ±8,3	6,6

* ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.14 İdrarda İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım ^a , %	BSS ^b , %
DPV I	35,0	29,51; 31,04; 34,53; 36,54; 37,14	96,3 ±11,9	9,9
DPV II	70,0	63,75; 65,50; 69,25; 71,25; 77,50	99,2 ±9,6	7,8
KDV I	35,0	29,17; 31,82; 35,04; 36,03; 37,24	96,6 ±11,9	9,9
KDV II	70,0	62,60; 70,00; 72,60; 74,75; 77,50	102,1 ±10,1	7,9
DPAADSV I	0,20	0,17; 0,18; 0,20; 0,20; 0,21	96,0 ±10,1	8,6
DPAADSV II	0,40	0,36; 0,38; 0,39; 0,40; 0,42	97,5 ±6,9	5,7
KDAAdSV I	0,20	0,18; 0,19; 0,21; 0,22; 0,22	101,0 ±11,8	9,4
KDAAdSV II	0,40	0,36; 0,37; 0,40; 0,41; 0,42	98,0 ±8,1	6,6

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.15 Serumda İNDA analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım ^a , %	BSS ^b , %
DPV I	35,0	30,82; 31,24; 34,63; 35,52; 38,53	97,5 ±11,4	9,4
DPV II	70,0	65,90; 69,80; 70,01; 74,91; 77,52	102,3 ±8,1	6,4
KDV I	35,0	30,41; 31,23; 35,04; 36,23; 37,84	97,5 ±11,4	9,4
KDV II	70,0	64,25; 66,21; 70,63; 73,69; 77,65	100,7 ±9,8	7,8
DPAADSV I	0,20	0,18; 0,19; 0,20; 0,20; 0,22	99,0 ±9,2	7,5
DPAADSV II	0,40	0,36; 0,39; 0,39; 0,41; 0,44	99,5 ±9,2	7,4
KDAAdSV I	0,20	0,17; 0,19; 0,20; 0,21; 0,22	99,0 ±11,9	9,7
KDAAdSV II	0,40	0,36; 0,38; 0,39; 0,41; 0,42	98,0 ±7,4	6,1

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.13'te verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 96,6 – % 101,9 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda İNDA tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.14'teki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda HKA tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda İNDA tayini ile ilgili Çizelge 4.15'te elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile İNDA'nın tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

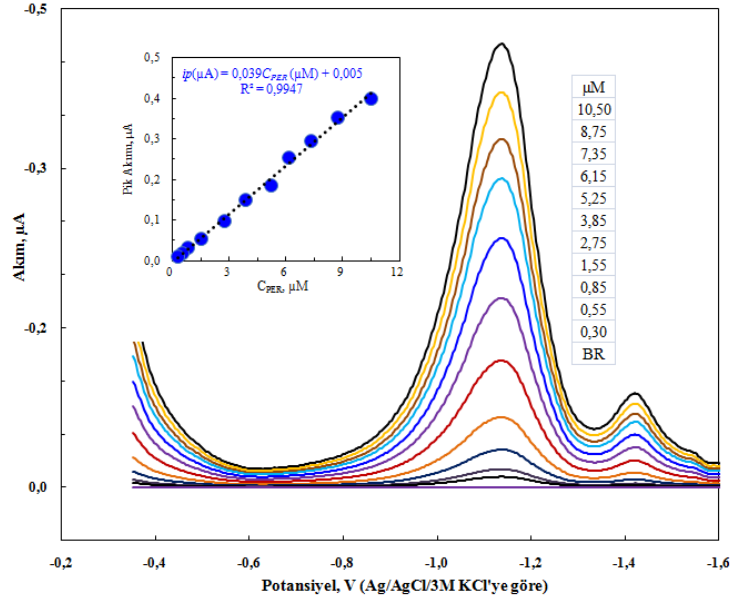
4.2.3 PER tayini için voltametrik yöntemler

Bölüm 4.1.4'te ADCE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı incelenen PER'in ADCE yüzeyinde pH 10,0'da en yüksek pik akımı oluşturacak şekilde indirgenme piki verdiği ve bu pikin akımının PER derişimi ile doğrusal olarak değıştiği (Şekil 4.24) belirlenmişti. Bundan yararlanarak, ADCE'de PER'in nicel tayini için diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametri (KDV) yöntemlerinin geliştirilmesinin uygun olabileceği düşünölmüştür. Yöntem geliştirme çalışmalarında, söz konusu voltametrik yöntemlerin doğrudan ve adsorptif sıyırma modlarında kullanılması ile dört ayrı yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, uygun derişimde PER çözeltileri kullanılarak yöntem ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.16).

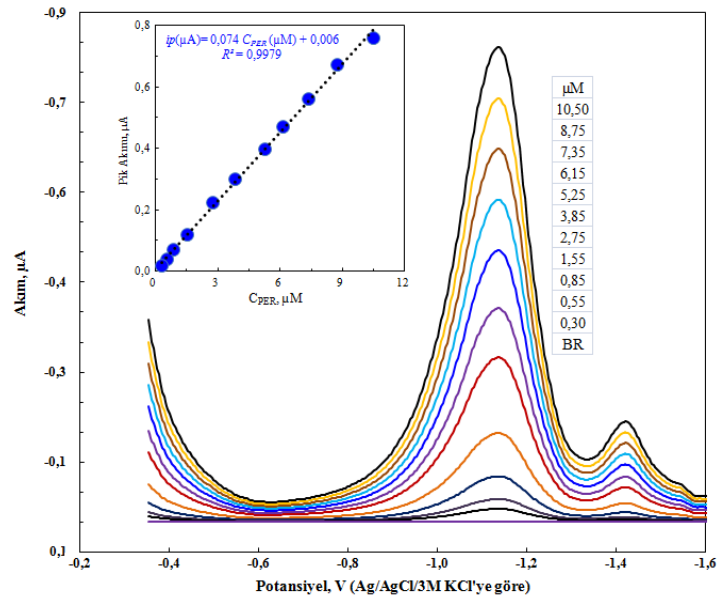
Çizelge 4.16 CKE yüzeyinde PER analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	-0,350	-0,350	-0,600	-0,450
Bitiş potansiyeli, V	-1,600	-1,600	-1,700	-1,600
Pik Potansiyeli, V	-1,180	-1,180	-1,400	-1,300
Tarama hızı, V/s	0,004	0,075	0,004	0,075
Genlik, V	0,050	0,050	0,050	0,050
Frekans, 1/s	-	25	-	25
Basamak potansiyeli, V	0,004	0,003	0,004	0,003
Örnekleme genişliği, ms	65	-	65	-
Puls genişliği, ms	25	-	25	-
Puls periyodu, ms	200	-	200	-
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,7	5,7	5,7	5,7
Biriktirme potansiyeli, V	-	-	-0,500	-0,500
Biriktirme süresi, s	-	-	180	180

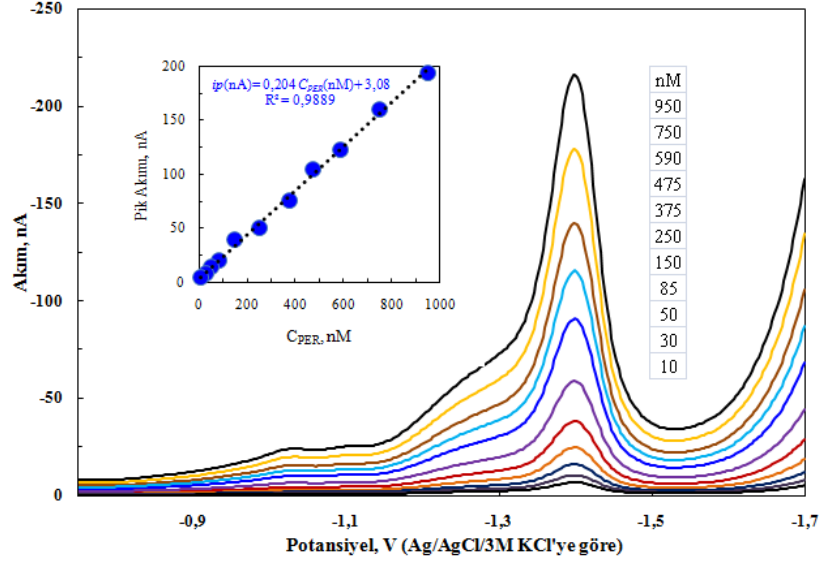
Çizelge 4.16’da verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde PER içeren çözeltilerin farklı voltametrik yöntemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.63 – 4.66’da verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.



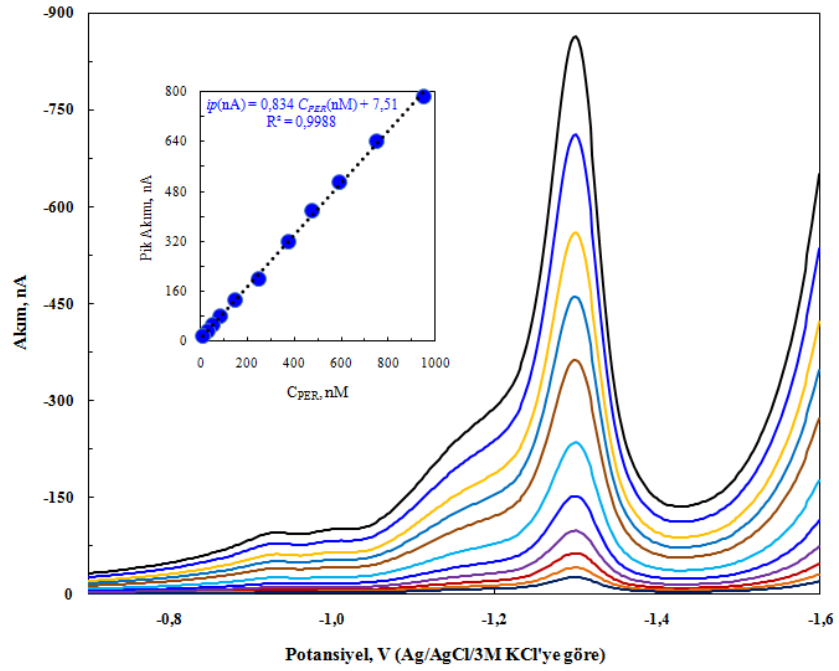
Şekil 4.63 PER'in farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.64 PER'in farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.65 PER'in farklı derişimlerdeki DPCAdSV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,50 V, $t_{bir.}$: 180 s)



Şekil 4.66 PER'in farklı derişimlerdeki KDCAdSV voltamogramları (iç grafik: PER derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,50 V, $t_{bir.}$: 180 s)

PER tayini için ADCE kullanılarak yapılan yöntem geliştirme çalışmalarında elde edilen kalibrasyon verilerinin en küçük kareler yöntemiyle değerlendirilmesi ile bazı validasyon parametreleri belirlenmiş ve bu parametreler Çizelge 4.17'de tablanmıştır.

Çizelge 4.17 ADCE kullanılarak PER analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	3,0×10 ⁻⁷ 1,05×10 ⁻⁵	3,0×10 ⁻⁷ 1,05×10 ⁻⁵	1,0×10 ⁻⁸ 9,5×10 ⁻⁷	1,0×10 ⁻⁸ 9,5×10 ⁻⁷
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,039	0,074	0,204	0,834
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	5,0×10 ⁻⁹	7,0×10 ⁻⁹	3,08×10 ⁻⁹	7,50×10 ⁻⁹
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	1,0×10 ⁻⁸	1,3×10 ⁻⁸	3,59×10 ⁻⁹	9,79×10 ⁻⁹
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,0013	0,0011	0,004	0,010
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	1,8×10 ⁻⁹	3,1×10 ⁻⁹	4,05×10 ⁻¹⁰	2,20×10 ⁻⁹
Gözlenebilme sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	1,31×10 ⁻⁷	1,25×10 ⁻⁷	5,96×10 ⁻⁹	7,93×10 ⁻⁹
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	4,42×10 ⁻⁷	4,17×10 ⁻⁷	1,99×10 ⁻⁸	2,64×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9947	0,9979	0,9973	0,9988
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	4,41	5,25	6,48	5,95
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	8,65	7,47	7,78	7,62
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	2,03	2,15	2,05	1,98
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	3,39	3,45	3,15	2,35

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

PER için, voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının PER derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,99'dan büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de PER tayini için uygun olduğu ve;

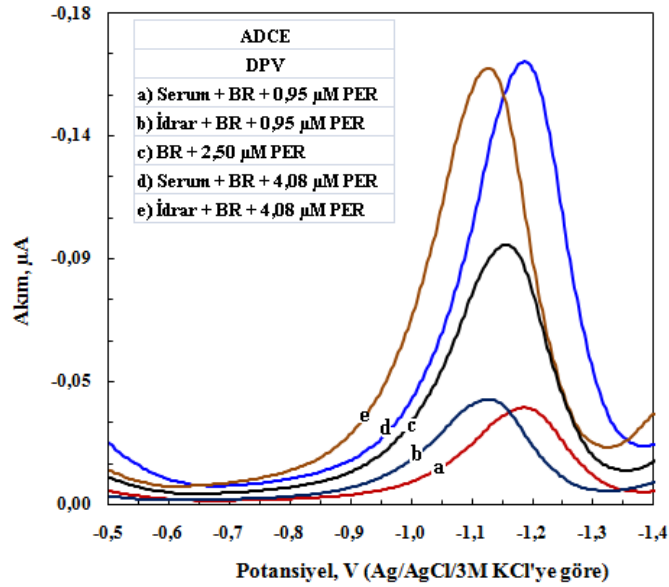
- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 3,0×10⁻⁷ M (0,11 µg mL⁻¹) – 1,05×10⁻⁵ M (3,87 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal olduğu ve doğrusal çalışma aralığının 1,0×10⁻⁸ M (3,68 ng mL⁻¹) – 9,5×10⁻⁷ M (350,0 ng mL⁻¹) olduğu,
- doğrudan voltametrik yöntemlerde kara dalga voltametri yönteminin diferansiyel pulsa göre yaklaşık iki kat; adsorptif sıyırma voltametri yöntemlerinde ise yaklaşık dört kat daha duyarlı olduğu,

- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi, göreceli olarak daha yüksek derişimlerde PER içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda PER içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

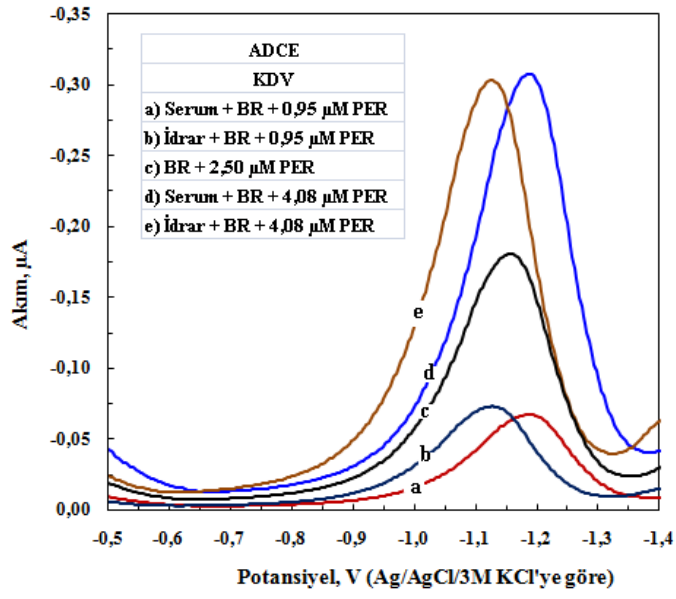
sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- PER için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozun $0,08 - 0,15 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($2,17 \times 10^{-7} \text{ M} - 4,07 \times 10^{-7} \text{ M}$) olduğu (Gonzalez *vd.* 2010) göz önüne alındığında geliştirilen voltametrik yöntemlerin serumda PER tayinine uygulanabileceğini düşündürmüştür.

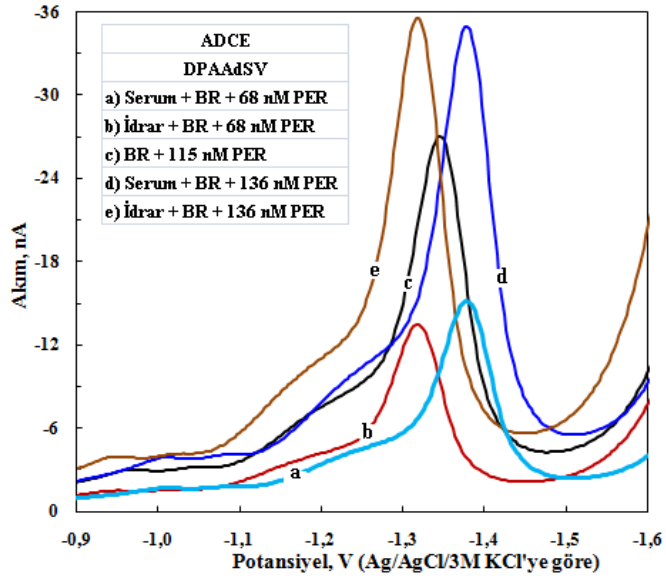
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda PER tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.67 – 4.70’de verilmiştir.



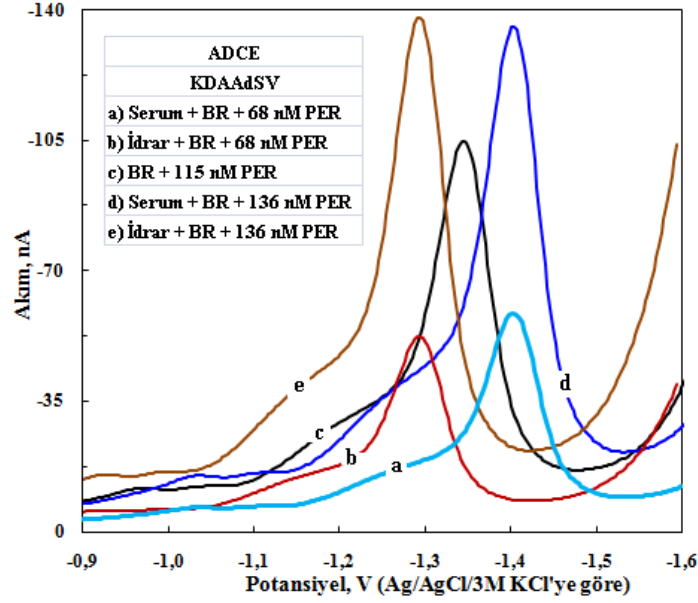
Şekil 4.67 PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.68 PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.69 PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPKAdSV voltamogramları



Şekil 4.70 PER tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDKAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde PER'in indirgenmesine ait pikin belirgin olduğu ve pik akımının PER derişimi ile değiştiği, ilaçlarda, idrarda ve serumda PER tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.17'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda PER tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda PER tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda PER tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

PER tayini için öncelikle Şekil 4.63 – 4.66'da verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle PER derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.18 – 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.18 Tabletlerde PER analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV	5,00	4,31; 4,45; 4,70; 4,95; 5,15	94,2 ±8,6	7,4
KDV	5,00	4,35; 4,55; 4,92; 5,25; 5,32	97,6 ±10,6	8,7
DPAADSV	5,00	4,31; 4,91; 5,05; 5,23; 5,35	99,4 ±10,1	8,2
KDAAdSV	5,00	4,40; 4,90; 5,05; 5,15; 5,30	99,0 ±8,5	6,9

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.19 İdrarda PER analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım ^a , %	BSS ^b , %
DPV I	3,50	3,37; 3,41; 3,50; 3,67; 3,81	101,5 ±6,6	5,2
DPV II	15,00	14,50; 14,80; 15,00; 15,75; 16,25	101,7 ±5,9	4,7
KDV I	3,50	3,42; 3,48; 3,65; 3,75; 3,85	103,7 ±6,4	4,9
KDV II	15,00	13,75; 14,75; 15,25; 15,35; 16,00	100,1 ±6,9	5,6
DPAADSV I	0,25	0,23; 0,24; 0,25; 0,27; 0,28	101,6 ±10,3	8,2
DPAADSV II	0,50	0,46; 0,49; 0,51; 0,51; 0,54	100,4 ±7,3	5,9
KDAAdSV I	0,25	0,22; 0,25; 0,25; 0,27; 0,27	100,8 ±10,2	8,1
KDAAdSV II	0,50	0,49; 0,50; 0,51; 0,53; 0,55	103,2 ±6,0	4,7

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.20 Serumda PER analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	3,50	3,24; 3,27; 3,52; 3,61; 3,79	99,6 ±8,3	6,7
DPV II	15,00	13,62; 13,75; 14,92; 15,00; 16,75	98,7 ±10,4	8,5
KDV I	3,50	3,10; 3,15; 3,38; 3,65; 3,82	97,7 ±11,1	9,1
KDV II	15,00	13,35; 14,12; 15,00; 15,82; 16,25	99,4 ±9,9	8,0
DPAADSV I	0,25	0,22; 0,23; 0,25; 0,26; 0,27	98,4 ±10,3	8,4
DPAADSV II	0,50	0,44; 0,48; 0,50; 0,51; 0,53	98,4 ±8,5	6,9
KDAAdSV I	0,25	0,22; 0,24; 0,25; 0,26; 0,28	99,6 ±10,3	8,3
KDAAdSV II	0,50	0,43; 0,46; 0,51; 0,53; 0,54	98,8 ±11,7	9,6

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.18’de verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10’dan daha küçük BSS ile % 94,2 –% 99,4 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda PER tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.19’daki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda PER tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda PER tayini ile ilgili Çizelge 4.20’de elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile PER’in tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

4.2.4 MOE tayini için voltametrik yöntemler

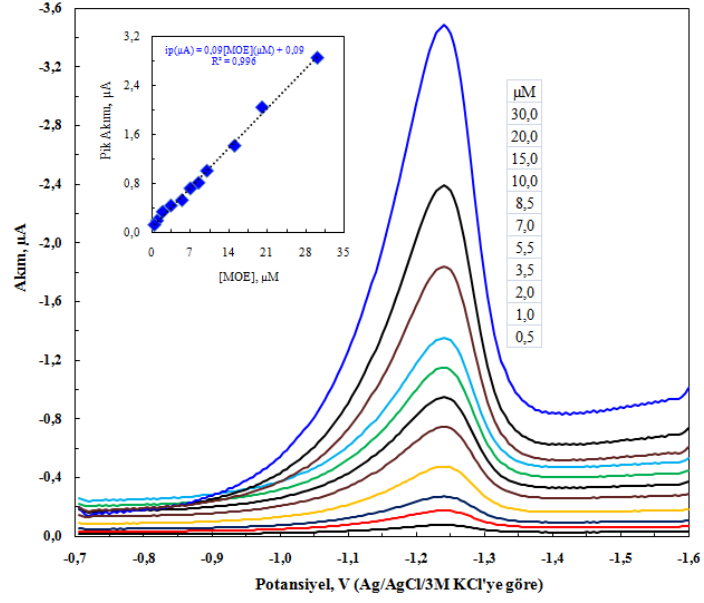
Bölüm 4.1.3’te ADCE ve CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı incelenen MOE’nin ADCE yüzeyinde pH 5,5’te en yüksek pik akımı oluşturacak şekilde indirgenme piki verdiği ve bu pikin akımının MOE derişimi ile doğrusal olarak değiştiği belirlenmişti (Şekil 4.15). Bundan yararlanarak, ADCE’de MOE’nin nicel tayini için DPV ve KDV yöntemlerinin geliştirilmesinin uygun olabileceği düşünülmüştür. Yöntem geliştirme çalışmalarında, söz konusu voltametrik yöntemlerin doğrudan ve adsorptif sıyırma modlarında kullanılması ile dört ayrı yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda,

uygun derişimde MOE çözeltileri kullanılarak yöntem ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.21).

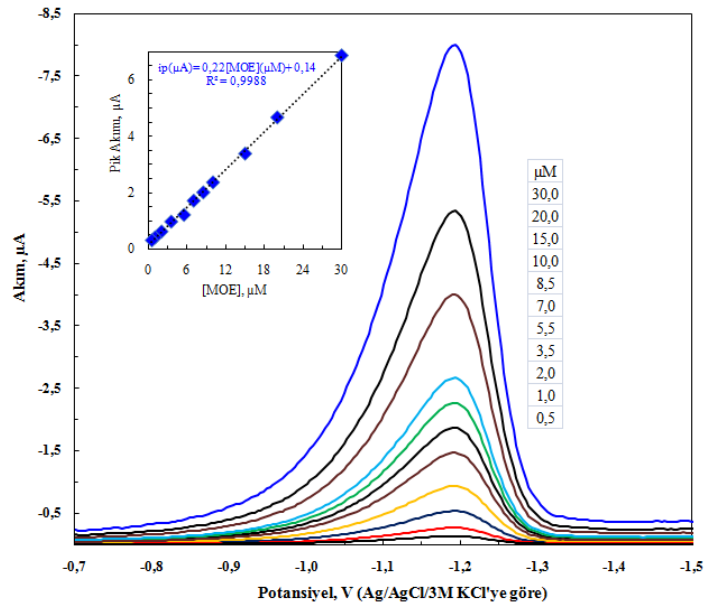
Çizelge 4.21 ADCE yüzeyinde MOE analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	-0,700	-0,700	-0,800	-0,900
Bitiş potansiyeli, V	-1,600	-1,500	-1,700	-1,800
Pik Potansiyeli, V	-1,235	-1,205	-1,390	-1,400
Tarama hızı, V/s	0,005	0,050	0,005	0,075
Genlik, V	0,065	0,050	0,065	0,050
Frekans, 1/s	-	25	-	25
Basamak potansiyeli, V	0,005	0,002	0,005	0,002
Örnekleme genişliği, ms	65	-	65	-
Puls genişliği, ms	25	-	25	-
Puls periyodu, ms	200	-	200	-
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,5	5,5	5,5	5,5
Biriktirme potansiyeli, V	-	-	-0,500	-0,500
Biriktirme süresi, s	-	-	210	210

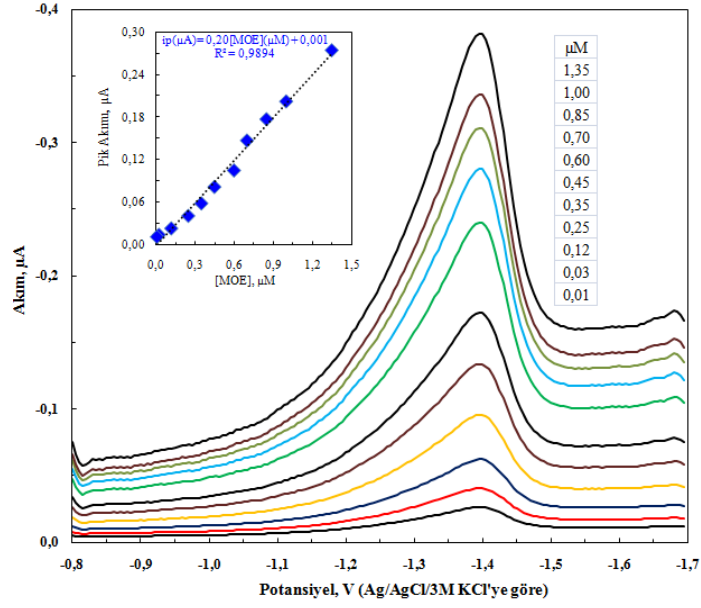
Çizelge 4.21’de verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde MOE içeren çözeltilerin farklı voltametrik yöntemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.71 – 4.74’te verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.



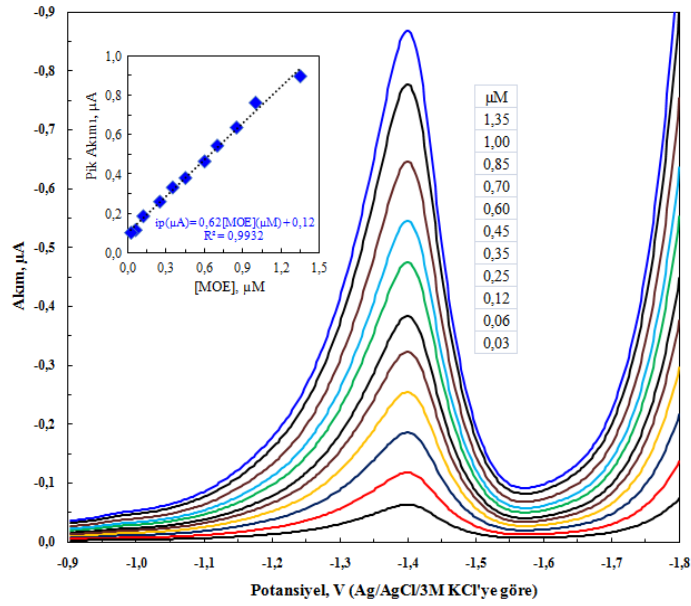
Şekil 4.71 MOE'nin farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.72 MOE'nin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.73 MOE'nin farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,5 V, $t_{bir.}$: 210 s)



Şekil 4.74 MOE'nin farklı derişimlerdeki KDKAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}$: - 0,5 V, $t_{bir.}$: 210 s)

ADCE kullanılarak MOE tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.22'de tablanmıştır.

Çizelge 4.22 ADCE kullanılarak MOE analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	5,0×10 ⁻⁷ 3,0×10 ⁻⁵	5,0×10 ⁻⁷ 3,0×10 ⁻⁵	1,0×10 ⁻⁸ 1,35×10 ⁻⁶	1,0×10 ⁻⁸ 1,35×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,092	0,224	0,201	0,619
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	8,8×10 ⁻⁸	1,38×10 ⁻⁷	1,0×10 ⁻⁹	1,01×10 ⁻⁷
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	5,6×10 ⁻⁸	7,5×10 ⁻⁸	9,0×10 ⁻⁹	2,3×10 ⁻⁸
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,002	0,003	0,007	0,017
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	8,0×10 ⁻⁹	1,7×10 ⁻⁸	1,0×10 ⁻⁹	2,0×10 ⁻⁹
Gözlenebilme sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	2,71×10 ⁻⁷	2,23×10 ⁻⁷	1,0×10 ⁻⁸	1,1×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	9,01×10 ⁻⁷	7,42×10 ⁻⁷	3,3×10 ⁻⁸	3,6×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9960	0,9988	0,9894	0,9932
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	3,78	2,99	5,48	4,86
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	6,45	4,78	6,87	8,32
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	2,05	1,85	2,35	2,31
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	4,26	3,05	3,98	3,45

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

MOE için, ADCE kullanılarak voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının MOE derişimi ile doğrusal değiştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,98'den büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de MOE tayini için uygun olduğu ve;

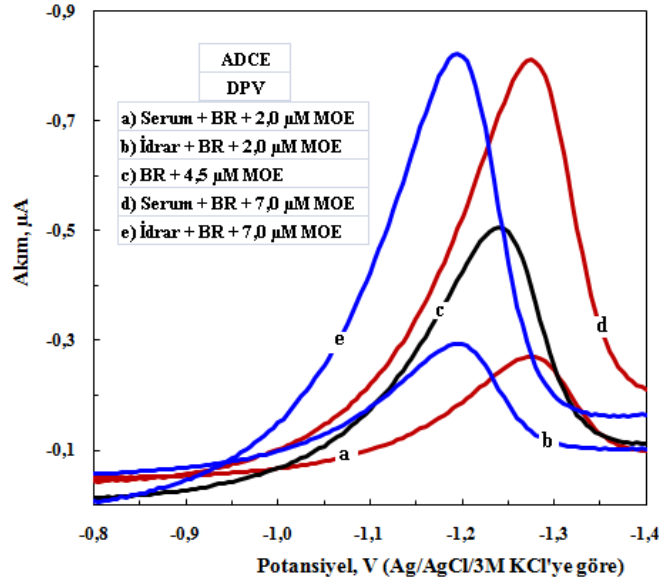
- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 5,0×10⁻⁷ M (0,25 µg mL⁻¹) – 3,0×10⁻⁵ M (15,0 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal olduğu ve bu yöntemlerde doğrusal çalışma aralığının 1,0×10⁻⁸ M (4,98 ng mL⁻¹) – 1,35×10⁻⁶ M (673,2 ng mL⁻¹) olduğu,
- kare dalga voltametrimin diferansiyel puls voltametriye göre doğrudan voltametrik yöntemlerde yaklaşık 2,5 kat, adsorptif sıyırma voltametri yöntemlerinde ise yaklaşık üç kat daha duyarlı olduğu,

- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde MOE içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda MOE içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

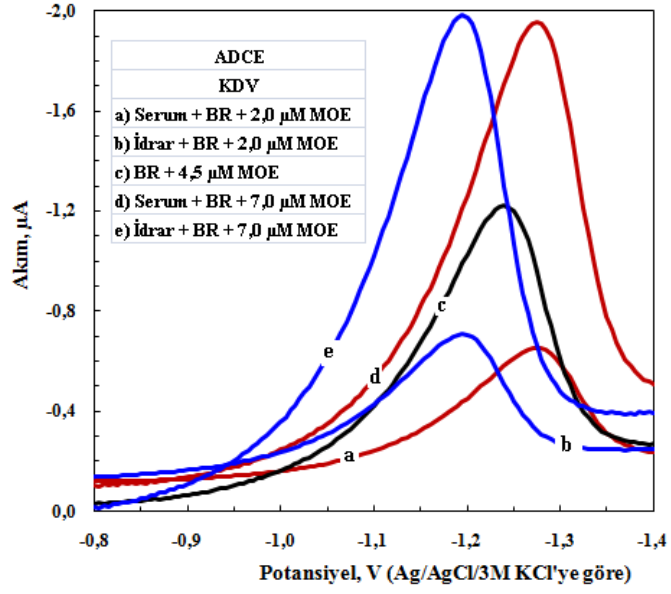
sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- MOE için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozu belirlenememiştir, ancak geliştirilen voltametrik yöntemlerin yeterli alt tayin sınırına sahip olduğu düşünülmektedir.

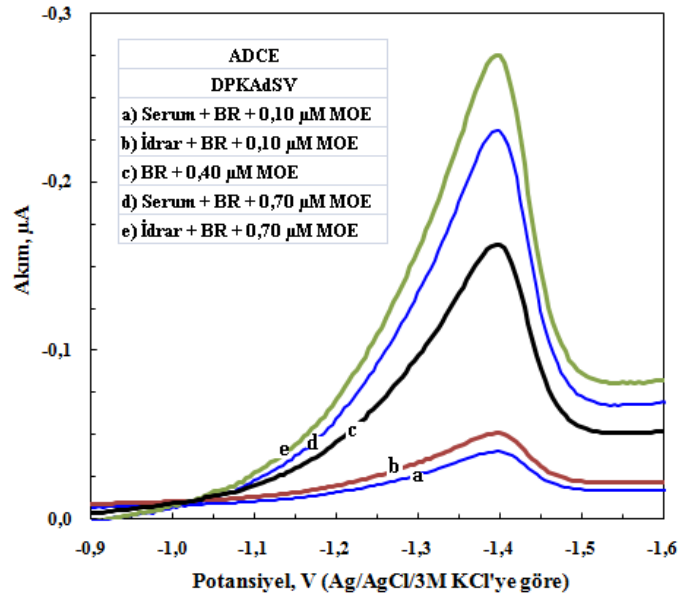
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda MOE tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.75 – 4.78’de verilmiştir.



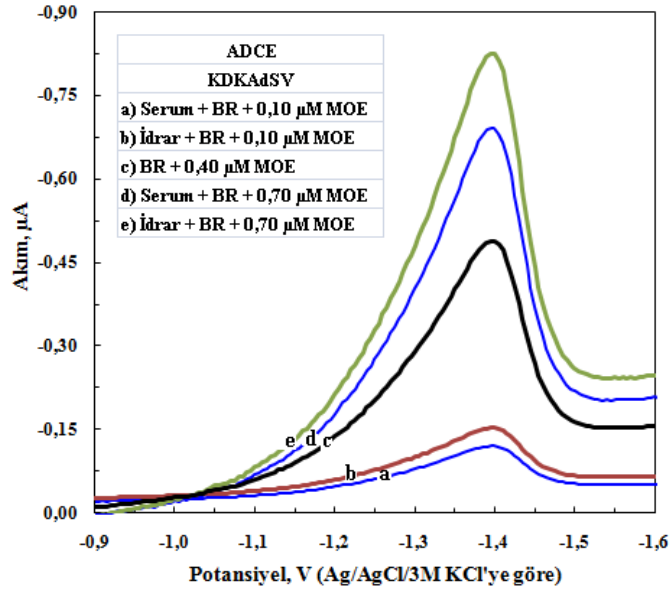
Şekil 4.75 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.76 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.77 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPKAdSV voltamogramları



Şekil 4.78 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDKAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde MOE'nin indirgenmesine ait pikin belirgin olduğu ve pik akımının MOE derişimi ile değiştiği, ilaçlarda, idrarda ve serumda MOE tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.22'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda MOE tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda MOE tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda MOE tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

MOE tayini için öncelikle Şekil 4.71 – 4.74'te verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle MOE derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.23 – 4.25'te verilmiştir.

Çizelge 4.23 Tabletlerde MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV	7,5	7,01; 7,25; 7,51; 7,75; 8,20	100,6 ±7,6	6,1
KDV	7,5	6,99; 7,12; 7,48; 7,65; 8,25	99,9 ±8,3	6,6
DPAADSV	7,5	7,00; 7,25; 7,56; 7,85; 8,15	100,8 ±7,6	6,1
KDAAdSV	7,5	7,02; 7,35; 7,50; 7,50; 8,12	99,9 ±6,6	5,3

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.24 İdrarda MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım ^a , %	BSS ^b , %
DPV I	10,0	9,36; 9,52; 9,86; 10,00; 10,50	98,5 ±5,5	4,5
DPV II	35,0	32,15; 34,75; 35,00; 36,00; 37,00	99,9 ±6,5	5,2
KDV I	10,0	9,12; 9,52; 9,96; 10,50; 10,70	99,6 ±8,2	6,6
KDV II	35,0	32,00; 33,25; 34,65; 35,15; 36,75	98,2 ±6,5	5,3
DPAADSV I	0,50	0,46; 0,48; 0,51; 0,51; 0,52	99,2 ±6,2	5,1
DPAADSV II	3,50	3,25; 3,47; 3,55; 3,65; 3,72	100,8 ±6,5	5,2
KDAAdSV I	0,50	0,45; 0,47; 0,51; 0,52; 0,53	99,2 ±8,5	6,9
KDAAdSV II	3,50	3,15; 3,37; 3,58; 3,65; 3,72	99,8 ±8,3	6,7

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.25 Serumda MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem ^a	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım ^b , %	BSS ^c , %
DPV I	10,0	9,47; 9,62; 9,86; 10,26; 10,74	99,9 ±6,4	5,1
DPV II	35,0	33,85; 34,58; 35,45; 36,75; 38,75	102,5 ±6,9	5,4
KDV I	10,0	9,34; 9,48; 9,92; 10,40; 10,60	99,5 ±6,9	5,6
KDV II	35,0	31,85; 32,15; 34,05; 35,00; 36,25	96,7 ±6,7	5,5
DPAADSV I	0,50	0,48; 0,49; 0,50; 0,51; 0,51	99,6 ±3,2	2,6
DPAADSV II	3,50	3,19; 3,22; 3,45; 3,50; 3,61	96,9 ±6,5	5,4
KDAAdSV I	0,50	0,48; 0,49; 0,50; 0,53; 0,55	101,6 ±7,8	6,2
KDAAdSV II	3,50	3,22; 3,42; 3,50; 3,58; 3,65	99,3 ±5,9	4,8

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.23'te verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 99,9 – % 100,8 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da

geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda MOE tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.24'teki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda MOE tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda MOE tayini ile ilgili Çizelge 4.25'te elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile MOE'nin tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

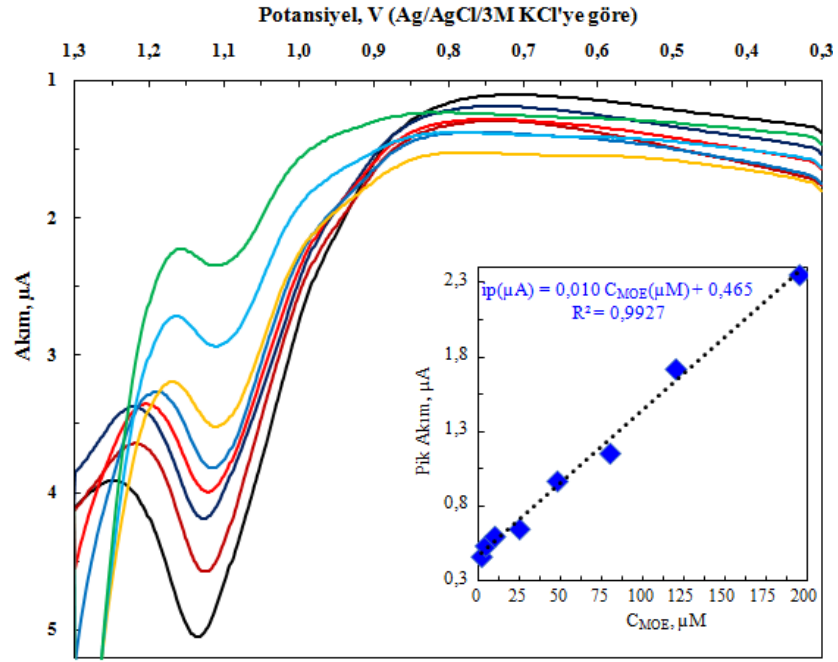
MOE için yapılan elektrokimyasal davranış inceleme çalışmalarında, MOE'nin ADCE yanında CKE yüzeyinde de elektrokimyasal aktifliğe sahip olduğu belirlenmişti. Bundan hareketle, MOE tayini için CKE kullanılarak ta voltametrik yöntem geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda da, aynen ADCE kullanılarak yapılan tayin yöntemi çalışmalarında olduğu gibi, ilk olarak optimizasyon çalışması yapılmış ve belirlenen optimum değerler Çizelge 4.26'da verilmiştir.

Çizelge 4.26'da verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde MOE içeren çözeltilerin belirtilen voltametrik yöntemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.79 – 4.82'de verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe

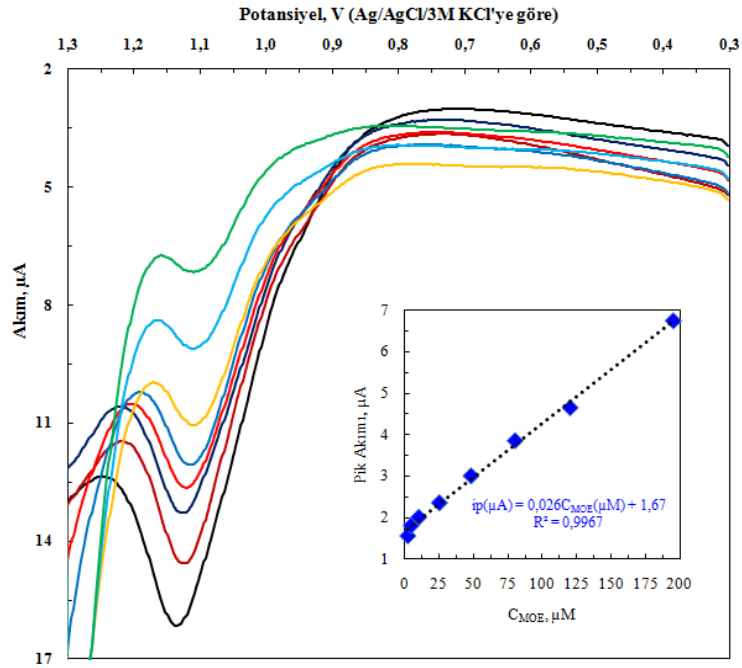
geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular, şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.

Çizelge 4.26 CKE yüzeyinde MOE analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

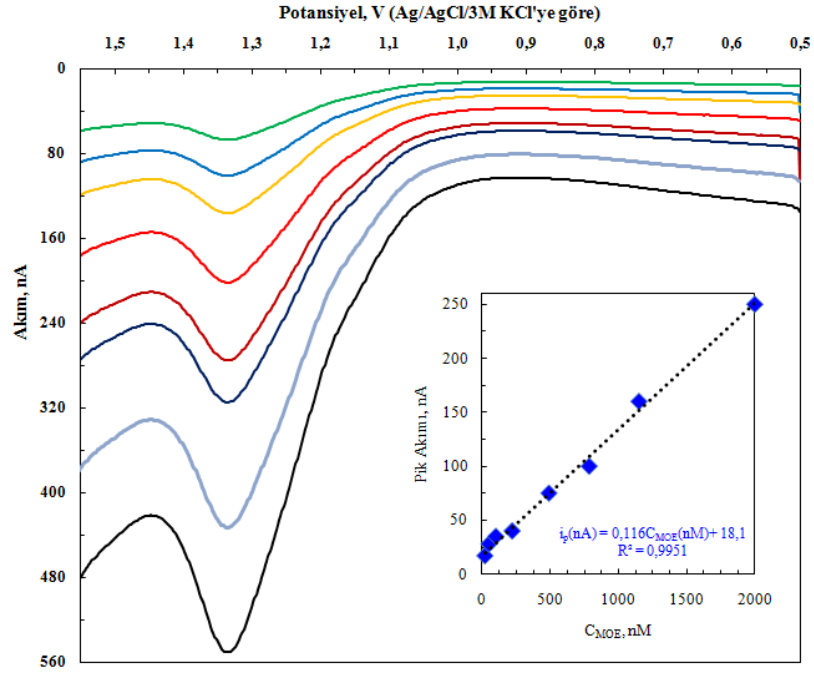
Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	0,300	0,300	0,500	0,500
Bitiş potansiyeli, V	1,300	1,300	1,550	1,500
Pik Potansiyeli, V	1,105	1,120	1,340	1,250
Tarama hızı, V/s	0,004	0,050	0,004	0,050
Genlik, V	0,065	0,065	0,065	0,065
Frekans, 1/s	–	25	–	25
Basamak potansiyeli, V	0,004	0,002	0,004	0,002
Örnekleme genişliği, ms	65	–	65	–
Puls genişliği, ms	25	–	25	–
Puls periyodu, ms	200	–	200	–
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,0	5,0	5,0	5,0
Biriktirme potansiyeli, V	–	–	0,500	0,500
Biriktirme süresi, s	–	–	180	180



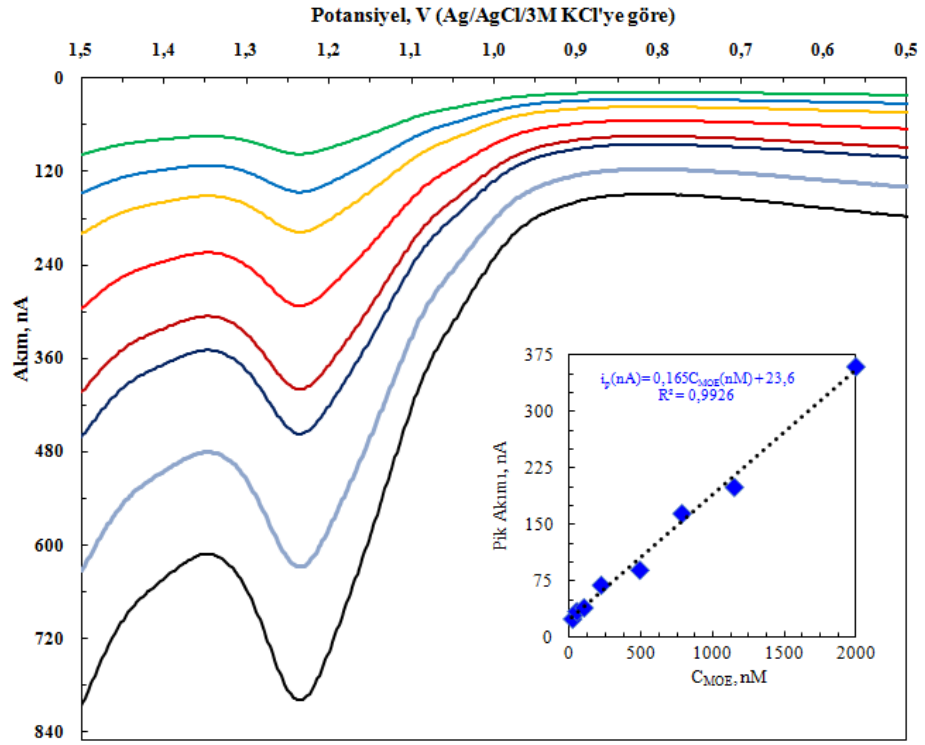
Şekil 4.79 MOE'nin farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.80 MOE'nin farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.81 MOE'nin farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi, C_{MOE} , ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)



Şekil 4.82 MOE'nin farklı derişimlerdeki DPAAAdSV voltamogramları (iç grafik: MOE derişimi, C_{MOE} , ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,0 V, $t_{bir.}$: 120 s)

CKE kullanılarak MOE tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.27’de tablolanmıştır.

Çizelge 4.27 CKE kullanılarak MOE analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	2,0×10 ⁻⁶ 1,95×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁶ 1,95×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁸ 2,0×10 ⁻⁶	2,0×10 ⁻⁸ 2,0×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,010	0,026	0,116	0,165
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	4,65×10 ⁻⁷	1,67×10 ⁻⁶	1,81×10 ⁻⁸	2,36×10 ⁻⁸
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	5,0×10 ⁻⁸	8,9×10 ⁻⁸	5,0×10 ⁻⁹	8,7×10 ⁻⁹
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,0003	0,0005	0,003	0,0048
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	2,3×10 ⁻⁹	4,2×10 ⁻⁹	3,7×10 ⁻¹⁰	8,0×10 ⁻⁹
Gözlenebilme sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	7,21×10 ⁻⁷	4,81×10 ⁻⁷	9,55×10 ⁻⁹	1,47×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	2,39×10 ⁻⁶	1,60×10 ⁻⁶	3,18×10 ⁻⁸	4,88×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9927	0,9967	0,9951	0,9926
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	7,65	6,78	5,67	6,56
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	9,48	8,92	4,79	8,97
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	3,12	2,98	2,76	2,48
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	3,49	3,33	3,23	3,96

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

MOE için, CKE kullanılarak voltametrik yöntem geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının MOE derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,99’den büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

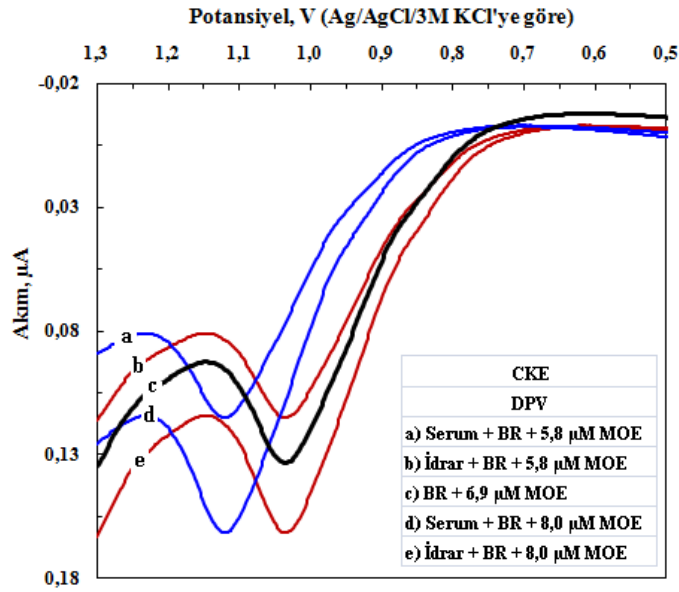
görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de MOE tayini için uygun olduğu ve;

- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisi için doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 2,0×10⁻⁶ M (0,99 µg mL⁻¹)– 1,95×10⁻⁴ M (97,22 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal ve doğrusal çalışma aralığının 2,0 ×10⁻⁸ M (9,97 ng mL⁻¹) – 2,0×10⁻⁶ M (997,0 ng mL⁻¹) olduğu,

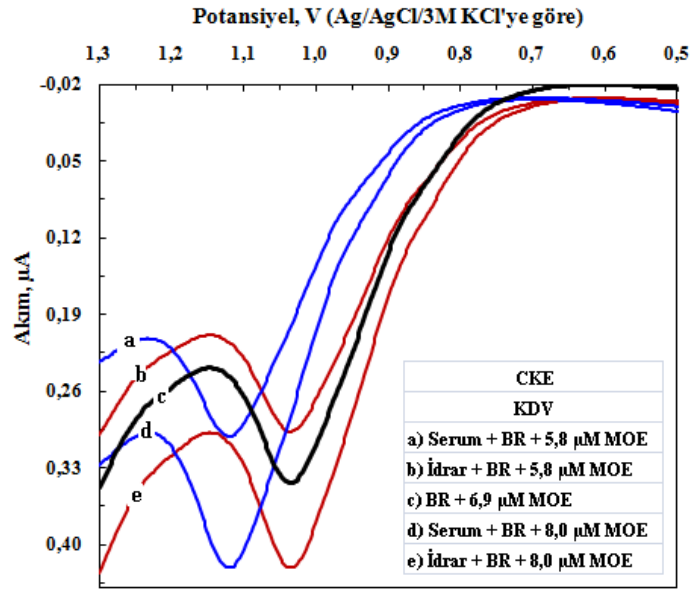
- kare dalga voltametri yönteminin diferansiyel puls voltametri yöntemine göre doğrudan voltametrik yöntemlerde 2,5; adsorptif sıyırma yöntemlerinde ise yaklaşık 1,5 kat daha duyarlı olduğu,
- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde MOE içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda MOE içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

sonucuna varılmıştır.

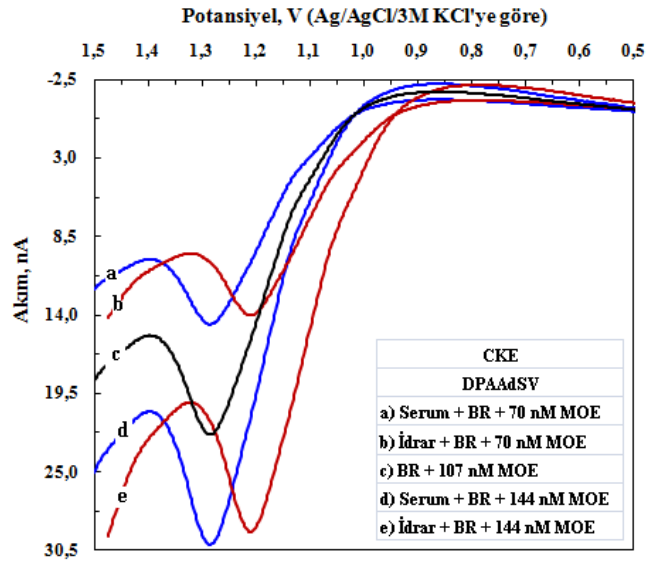
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem kullanılarak piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda MOE tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de anlatıldığı şekilde hazırlanmış, bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.83 – 4.86’da verilmiştir.



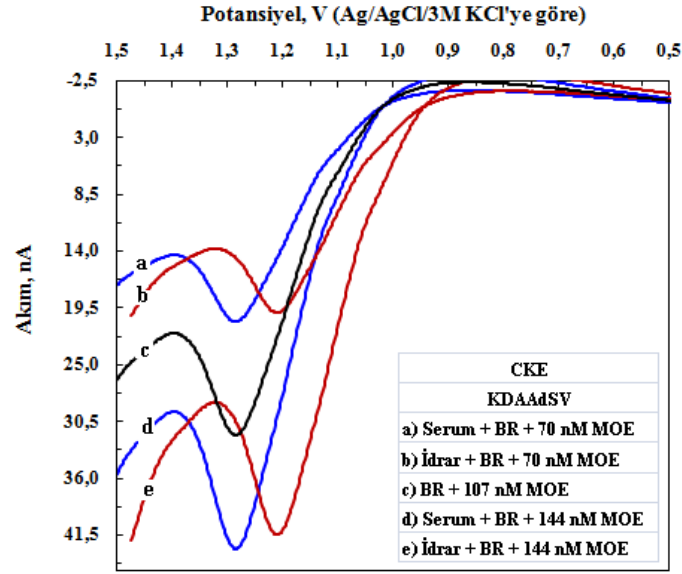
Şekil 4.83 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.84 MOE tayini için yapılan uygulamalarda Çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.85 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAdSV voltamogramları



Şekil 4.86 MOE tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde MOE'nin yükseltgenmesine ait pikin belirgin olduğu ve pik akımının MOE derişimi ile değiştigi, ilaçlarda, idrarda ve serumda MOE tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.27'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda MOE tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda MOE tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda MOE tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

MOE tayini için öncelikle Şekil 4.79 – 4.82'de verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle MOE derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.28 – 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.28 Tabletlerde MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV	7,5	7,01; 7,25; 7,51; 7,75; 8,20	100,6 ±7,6	6,1
KDV	7,5	6,99; 7,12; 7,48; 7,65; 8,25	99,9 ±8,3	6,6
DPAADSV	7,5	7,00; 7,25; 7,56; 7,85; 8,15	100,8 ±7,6	6,1
KDAAdSV	7,5	7,02; 7,35; 7,50; 7,50; 8,12	99,9 ±6,6	5,3

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.29 İdrarda MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem ^a	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	25,0	22,48; 22,80; 24,38; 25,00; 27,50	97,7 ±10,0	8,3
DPV II	40,0	36,74; 39,71; 40,00; 41,14; 42,29	99,9 ±6,5	5,2
KDV I	25,0	22,80; 23,35; 24,88; 26,38; 27,40	99,8 ±9,7	7,8
KDV II	40,0	36,57; 38,00; 39,60; 40,17; 42,00	98,2 ±6,5	5,3
DPAADSV I	3,5	3,16; 3,35; 3,52; 3,67; 3,85	100,3 ±9,6	7,7
DPAADSV II	7,0	6,51; 6,93; 7,11; 7,30; 7,45	100,9 ±6,5	5,2
KDAAdSV I	3,5	3,10; 3,45; 3,59; 3,75; 3,88	101,5 ±10,7	8,5
KDAAdSV II	7,0	6,35; 6,85; 7,25; 7,45; 7,65	101,6 ±9,2	7,3

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.30 Serumda MOE analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	25,0	24,04; 24,41; 25,03; 26,02; 27,26	101,4 ±6,5	5,1
DPV II	40,0	37,01; 37,91; 40,55; 41,00; 43,75	100,1 ±8,3	6,7
KDV I	25,0	23,51; 23,88; 24,98; 26,20; 26,69	100,2 ±6,9	5,6
KDV II	40,0	37,56; 38,12; 40,00; 40,00; 42,00	98,8 ±5,5	4,5
DPAADSV I	3,5	3,25; 3,45; 3,62; 3,79; 3,85	102,6 ±8,8	6,9
DPAADSV II	7,0	6,32; 6,75; 7,00; 7,45; 7,67	100,5 ±9,6	7,7
KDAAdSV I	3,5	3,18; 3,25; 3,50; 3,72; 3,82	99,8 ±9,9	8,0
KDAAdSV II	7,0	6,12; 6,65; 6,79; 7,01; 7,01	95,9 ±6,5	5,5

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.28'de verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 99,9 – % 100,8 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da

geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda MOE tayini için uygulanabileceği şekilde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.29'daki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda MOE tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda HKA tayini ile ilgili Çizelge 4.30'da elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile MOE'nin tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

4.2.5 ZOF tayini için voltametrik yöntemler

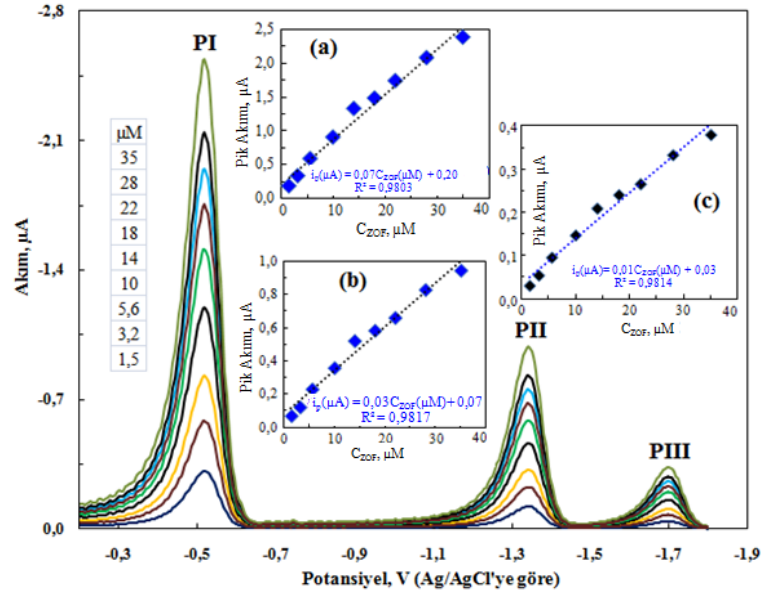
Bölüm 4.1.5'te ADCE ve CKE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı incelenen ZOF'un ADCE yüzeyinde pH 5,7'de en yüksek pik akımı oluşturacak şekilde indirgenme pikleri verdiği ve bu piklerin akımının ZOF derişimi ile doğrusal olarak değiştiği belirlenmişti. Bundan yararlanarak, ADCE'de ZOF'un nicel tayini için DPV ve KDV yöntemlerinin geliştirilmesinin uygun olabileceği düşünülmüştür. Yöntem geliştirme çalışmalarında, söz konusu voltametrik yöntemlerin doğrudan ve adsorptif sıyırma modlarında kullanılması ile dört ayrı yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, uygun derişimde ZOF çözeltileri kullanılarak yöntem ve cihaz parametrelerinin

optimizasyonu yapılmış ve elde edilen optimum parametreler Çizelge 4.31’de verilmiştir.

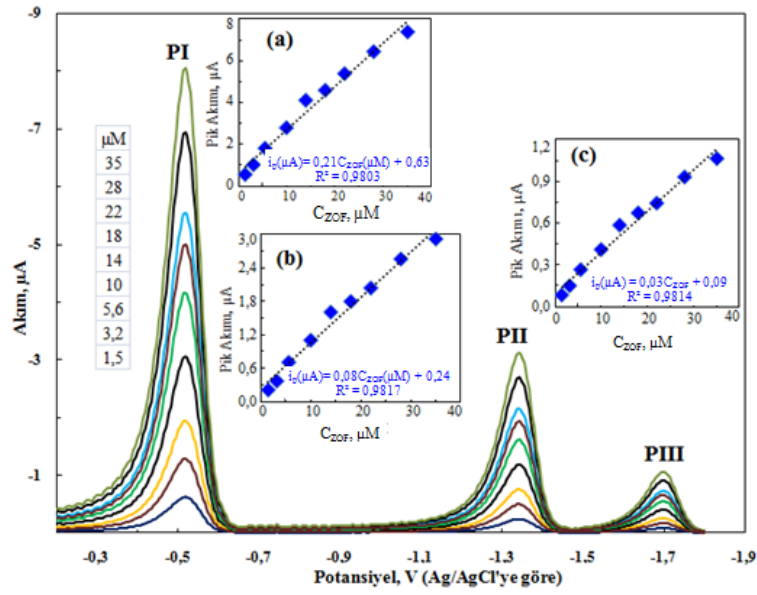
Çizelge 4.31’de verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde ZOF içeren çözeltilerin belirtilen voltametrik yöntemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.87 – 4.90’da verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular, şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.

Çizelge 4.31 ADCE yüzeyinde ZOF analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

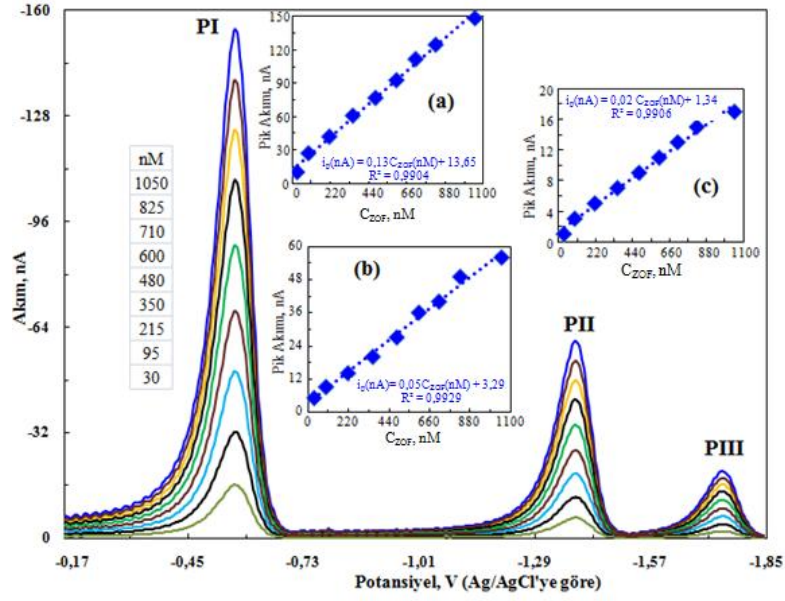
Parametre	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	-0,150	-0,150	-0,150	-0,150
Bitiş potansiyeli, V	-1,800	-1,800	-1,850	-1,850
Pik Potansiyeli, V	-0,500 -1,360 -1,700	-0,560 -1,380 -1,700	-0,550 -1,350 -1,730	-0,580 -1,400 -1,780
Tarama hızı, V/s	0,005	0,075	0,005	0,075
Genlik, V	0,050	0,050	0,050	0,050
Frekans, 1/s	-	25	-	25
Basamak potansiyeli, V	0,005	0,003	0,005	0,003
Örnekleme genişliği, ms	65	-	65	-
Puls genişliği, ms	25	-	25	-
Puls periyodu, ms	200	-	200	-
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,7	5,7	5,7	5,7
Biriktirme potansiyeli, V	-	-	0,0	0,0
Biriktirme süresi, s	-	-	180	180



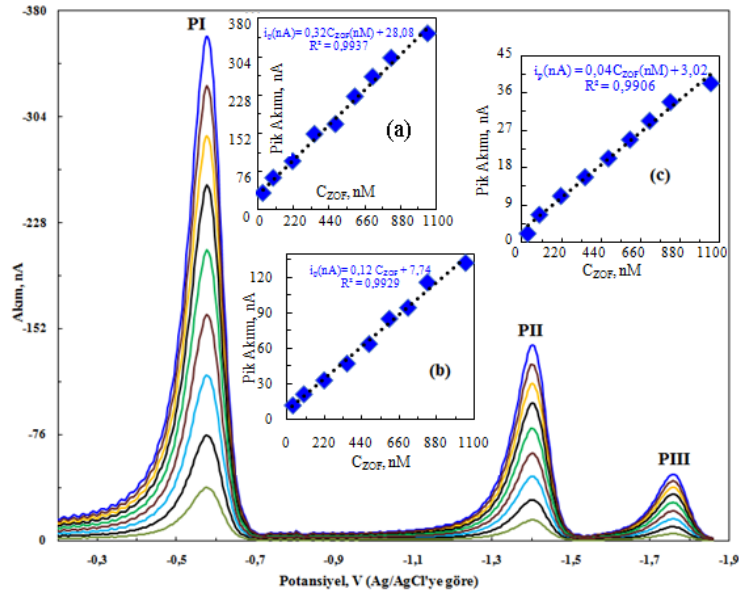
Şekil 4.87 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafikler: her üç pik için ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.88 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafikler: her üç pik için ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE)



Şekil 4.89 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafikler: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}:0,0$ V, $t_{bir.}: 180$ s)



Şekil 4.90 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPKAdSV voltamogramları (iç grafikler: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: ADCE, $E_{bir.}:0,0$ V, $t_{bir.}: 180$ s)

ADCE kullanılarak ZOF tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki en yüksek akım ve duyarlılığa sahip pike ait kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.32'de tablanmıştır.

Çizelge 4.32 ADCE kullanılarak HKA analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	1,5×10 ⁻⁶ 3,5×10 ⁻⁵	2,0×10 ⁻⁶ 1,95×10 ⁻⁴	3,0×10 ⁻⁸ 1,05×10 ⁻⁶	3,0×10 ⁻⁸ 1,05×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,067	0,208	0,136	0,316
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	2,0×10 ⁻⁷	6,2×10 ⁻⁷	1,27×10 ⁻⁸	3,09×10 ⁻⁸
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	9,3×10 ⁻⁸	2,9×10 ⁻⁷	4,46×10 ⁻⁹	9,64×10 ⁻⁹
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,003	0,009	0,005	0,010
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	3,0×10 ⁻⁸	8,9×10 ⁻⁸	1,07×10 ⁻⁹	1,15×10 ⁻⁹
Gözlenebilirlik sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	1,36×10 ⁻⁶	1,28×10 ⁻⁶	2,35×10 ⁻⁸	1,09×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	4,54×10 ⁻⁶	4,29×10 ⁻⁶	7,83×10 ⁻⁸	3,65×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9834	0,9835	0,9958	0,9949
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	7,65	7,76	6,13	6,79
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	9,67	9,89	8,29	8,96
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	2,08	2,15	2,98	2,78
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	3,89	3,75	3,78	3,98

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

ZOF için, ADCE kullanılarak voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının her üç pik için ZOF derişimi ile doğrusal değıştiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,98'den büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de ZOF tayini için uygun olduğu ve;

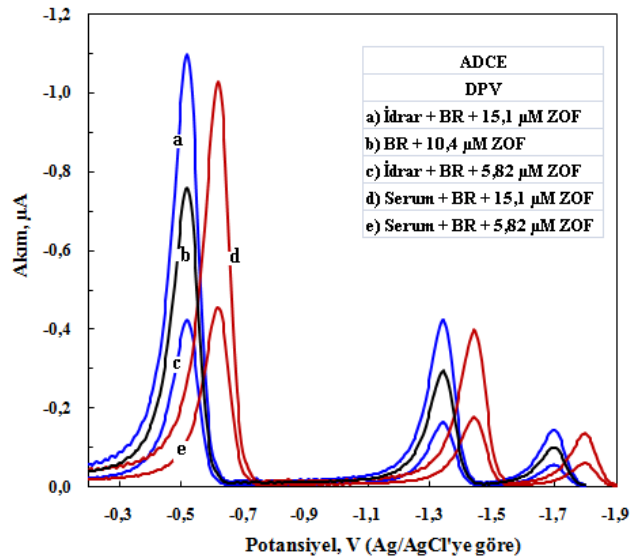
- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisinin doğrusal çalışma aralıklarının aynı ve 1,5×10⁻⁶ M (0,64 µg mL⁻¹)– 3,5×10⁻⁵ M (15,03 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal ve doğrusal çalışma aralığının 3,0×10⁻⁸ M (12,89 ng mL⁻¹) – 1,05×10⁻⁶ M (451,0 ng mL⁻¹) olduğu,
- kare dalga voltametrinin diferansiyel puls voltametriye göre doğrudan voltametrik yöntemlerde yaklaşık üç kat, adsorptif sıyırma voltametri yöntemlerinde ise yaklaşık 2,5 kat daha duyarlı olduğu,

- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde ZOF içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda ZOF içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

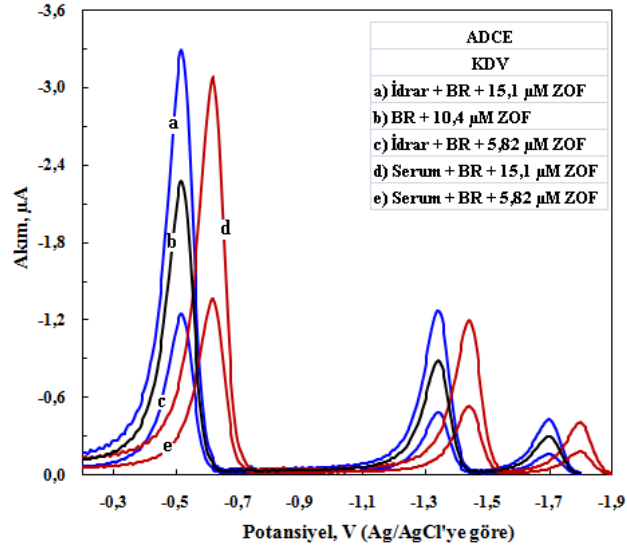
sonucuna varılmıştır. Ayrıca;

- ZOF için rapor edilen plazmadaki tedavi edici dozu belirlenememiştir, ancak geliştirilen voltametrik yöntemlerin yeterli alt tayin sınırına sahip olduğu düşünülmektedir.

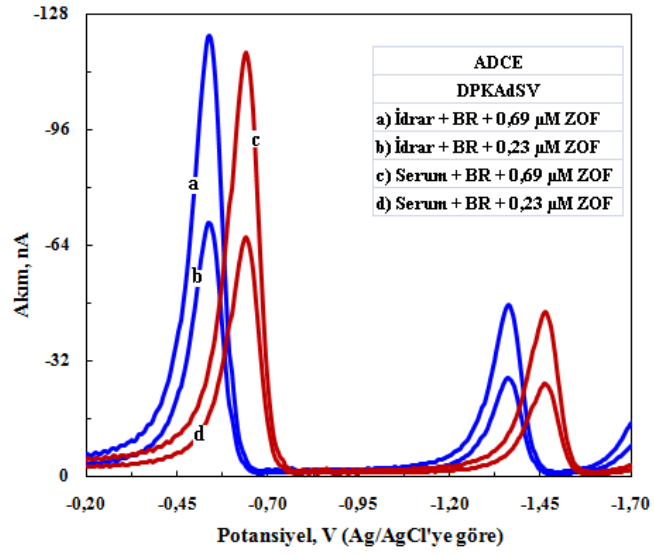
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda ZOF tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.91 – 4.94’te verilmiştir.



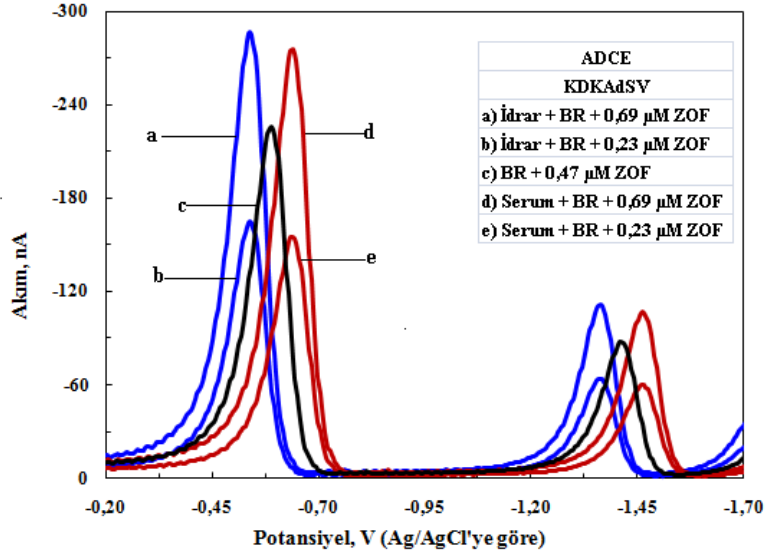
Şekil 4.91 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.92 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.93 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAdSV voltamogramları



Şekil 4.94 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde ZOF'un indirgenmesine ait piklerin belirgin olduğu ve pik akımının ZOF derişimi ile değiştiiği, ilaçlarda, idrarda ve serumda ZOF tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.32'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda ZOF tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda ZOF tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda ZOF tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

ZOF tayini için öncelikle Şekil 4.87 – 4.90'da verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle ZOF derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.33 – 4.35'te verilmiştir.

Çizelge 4.33 Tabletlerde ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	30,0	25,78; 26,89; 28,35; 30,00; 30,60	94,4 ±8,4	7,2
KDV	30,0	27,21; 28,69; 30,25; 32,15; 33,25	101,0 ±10,2	8,1
DPAADSV	30,0	26,51; 29,15; 30,25; 32,15; 33,00	100,7 ±10,6	8,5
KDAAdSV	30,0	25,85; 27,12; 28,56; 30,96; 32,85	96,9 ±11,8	9,8

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.34 İdrarda ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV I	25,0	22,93; 23,45; 23,88; 25,50; 27,40	98,5 ±9,1	7,4
DPV II	65,0	59,43; 60,82; 62,12; 65,28; 70,85	98,0 ±8,7	7,1
KDV I	25,0	23,13; 23,55; 23,95; 25,25; 27,73	98,9 ±9,2	7,5
KDV II	65,0	61,25; 62,34; 64,80; 66,26; 67,08	98,9 ±4,8	3,9
DPAADSV I	1,0	0,89; 0,93; 0,97; 1,00; 1,00	95,7 ±6,1	5,2
DPAADSV II	3,0	2,78; 2,83; 2,96; 3,05; 3,10	98,1 ±5,7	4,7
KDAAdSV I	1,0	0,90; 0,93; 1,02; 1,03; 1,09	99,2 ±9,5	7,7
KDAAdSV II	3,0	2,72; 2,89; 3,02; 3,12; 3,29	100,3 ±9,0	7,2

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.35 Serumda ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV I	25,0	22,90; 23,30; 24,05; 25,63; 27,45	98,7 ±9,3	7,6
DPV II	65,0	59,22; 60,69; 62,33; 65,00; 70,29	97,7 ±8,3	6,9
KDV I	25,0	22,38; 22,88; 25,00; 26,13; 27,45	99,1 ±10,7	8,7
KDV II	65,0	58,50; 59,71; 65,00; 68,25; 70,85	99,2 ±10,2	8,3
DPAADSV I	1,0	0,94; 1,00; 1,03; 1,06; 1,09	102,3 ±6,8	5,4
DPAADSV II	3,0	2,68; 2,76; 3,02; 3,15; 3,28	99,3 ±10,5	8,5
KDAAdSV I	1,0	0,86; 0,97; 1,00; 1,00; 1,06	97,7 ±9,2	7,6
KDAAdSV II	3,0	2,71; 2,76; 3,15; 3,29; 3,30	101,4 ±11,9	9,4

*ortalama $\pm ts/\sqrt{N}$, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.33'te verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 94,4 – % 101,0 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da

geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda ZOF tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.34'teki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda ZOF tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda ZOF tayini ile ilgili Çizelge 4.35'te elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile ZOF'un tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

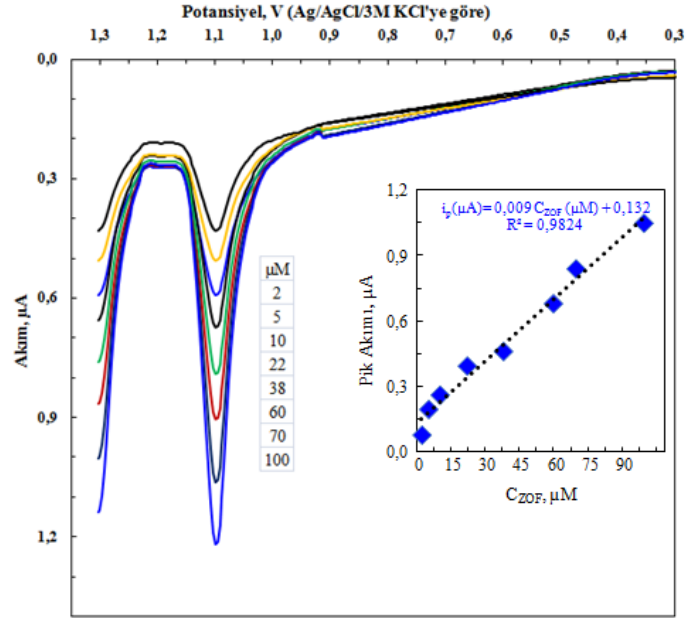
güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

ZOF için yapılan elektrokimyasal davranış inceleme çalışmalarında, ZOF'un ADCE yanında CKE yüzeyinde de elektrokimyasal aktifliğe sahip olduğu belirlenmişti. Bundan hareketle, ZOF tayini için CKE kullanılarak ta voltametrik yöntem geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda da, aynen ADCE kullanılarak yapılan tayin yöntemi çalışmalarında olduğu gibi, ilk olarak optimizasyon çalışması yapılmış ve bulunan optimum değerler Çizelge 4.36'da verilmiştir.

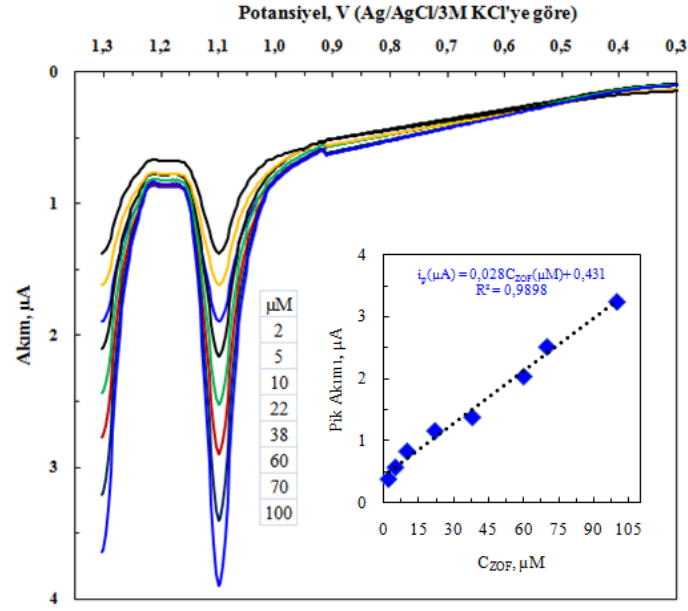
Çizelge 4.36 CKE yüzeyinde ZOF analizine yönelik yapılan voltametrik çalışmalar için belirlenen optimum cihaz ve deneysel parametreler

Parametre	DPV	KDV	DPAAAdSV	KDAAdSV
Başlangıç potansiyeli, V	0,300	0,300	0,500	0,500
Bitiş potansiyeli, V	1,300	1,300	1,350	1,350
Pik Potansiyeli, V	1,100	1,110	1,115	1,120
Tarama hızı, V/s	0,005	0,050	0,005	0,050
Genlik, V	0,065	0,065	0,065	0,065
Frekans, 1/s	–	25	–	25
Basamak potansiyeli, V	0,005	0,002	0,005	0,002
Örnekleme genişliği, ms	65	–	65	–
Puls genişliği, ms	25	–	25	–
Puls periyodu, ms	200	–	200	–
Durulma süresi, s	2	2	2	2
Destek elektrolit	BR	BR	BR	BR
Destek elektrolit derişimi	0,04	0,04	0,04	0,04
pH	5,0	5,0	5,0	5,0
Biriktirme potansiyeli, V	–	–	0,500	0,500
Biriktirme süresi, s	–	–	120	120

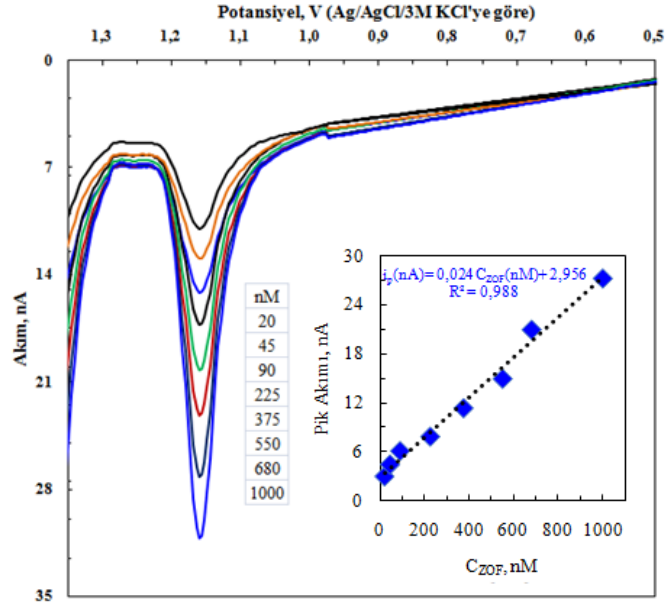
Çizelge 4.36’da verilen optimum koşullarda, söz konusu dört yöntem için çeşitli derişimlerde ZOF içeren çözeltilerin belirtilen voltametrik yöntemlerde voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.95 – 4.98’de verilmiştir. Bu voltamogramlardaki çeşitli derişimler için, ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve her bir yöntem için oluşturulan bu doğrular, şekillerde iç grafik olarak verilmiştir.



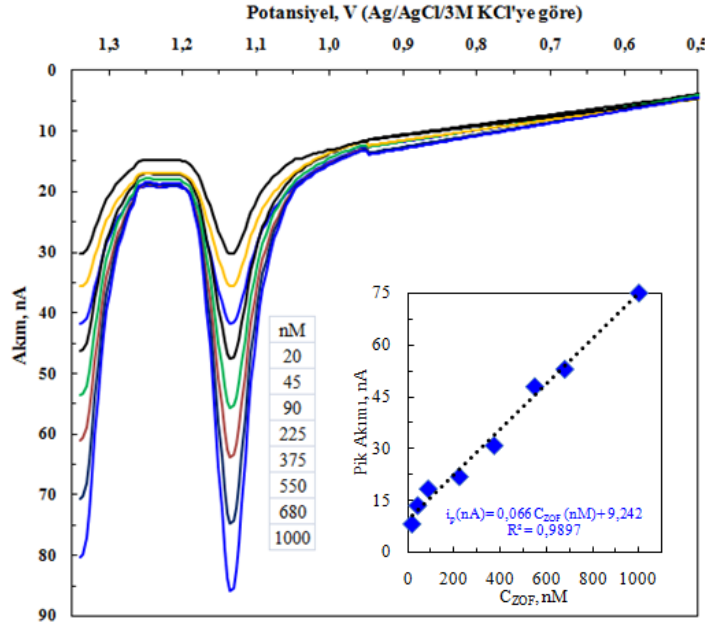
Şekil 4.95 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.96 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE)



Şekil 4.97 ZOF'un farklı derişimlerdeki DPAAdSV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 120 s)



Şekil 4.98 ZOF'un farklı derişimlerdeki KDAAdSV voltamogramları (iç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ÇE: CKE, $E_{bir.}$:0,5 V, $t_{bir.}$: 120 s)

CKE kullanılarak ZOF tayini için yapılan yöntem geliştirme çalışmalarındaki kalibrasyon verileri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilerek bazı validasyon parametreleri hesaplanmış ve bu parametreler Çizelge 4.37'de tablanmıştır.

Çizelge 4.37 CKE kullanılarak ZOF analizi için geliştirilen voltametrik yöntemlerin kalibrasyon verilerinden hesaplanan validasyon parametreleri

Regresyon Parametresi	DPV	KDV	DPAAdSV	KDAAdSV
Doğrusal çalışma aralığı, molL ⁻¹	2,0×10 ⁻⁶ 1,0×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁶ 1,0×10 ⁻⁴	2,0×10 ⁻⁸ 1,0×10 ⁻⁶	2,0×10 ⁻⁸ 1,0×10 ⁻⁶
Regresyon eşitliğinin eğimi (<i>m</i>), ALmol ⁻¹	0,0099	0,0283	0,0243	0,0690
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (<i>b</i>), A	1,1×10 ⁻⁶	4,3×10 ⁻⁶	2,9×10 ⁻⁹	7,9×10 ⁻⁹
Regresyon standart sapması (<i>s_r</i>), A	6,4×10 ⁻⁸	1,0×10 ⁻⁷	9,3×10 ⁻¹⁰	3,9×10 ⁻⁹
Eğimin standart sapması (<i>s_m</i>), ALmol ⁻¹	0,001	0,001	0,001	0,004
Kesim noktasının standart sapması (<i>s_b</i>), A	3,8×10 ⁻⁹	6,0×10 ⁻⁹	1,1×10 ⁻¹⁰	2,7×10 ⁻¹⁰
Gözlenebilirlik sınırı (<i>LOD</i>), molL ⁻¹	1,15×10 ⁻⁶	6,40×10 ⁻⁷	1,37×10 ⁻⁸	1,17×10 ⁻⁸
Alt tayin sınırı (<i>LOQ</i>) molL ⁻¹	3,84×10 ⁻⁶	2,13×10 ⁻⁶	4,57×10 ⁻⁸	3,89×10 ⁻⁸
Regresyon katsayısı (<i>R</i> ²)	0,9845	0,9898	0,9880	0,9899
Gün içi akım tekrarlanabilirliği (% BSS) *	8,85	9,16	8,32	8,45
Günler arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS) **	10,25	12,52	11,78	12,54
Gün içi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) *	3,45	3,65	3,65	4,32
Günler arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS) **	4,56	5,63	5,87	5,98

*Aynı çözelti kullanılarak aynı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

**Aynı çözelti kullanılarak 5 farklı günde yapılan 5 ölçüm değeri için

ZOF için, CKE kullanılarak voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- ortalama pik akımının ZOF derişimi ile doğrusal değiştiiği,
- regresyon katsayısının (*R*²) 0,98'den büyük olduğu,
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

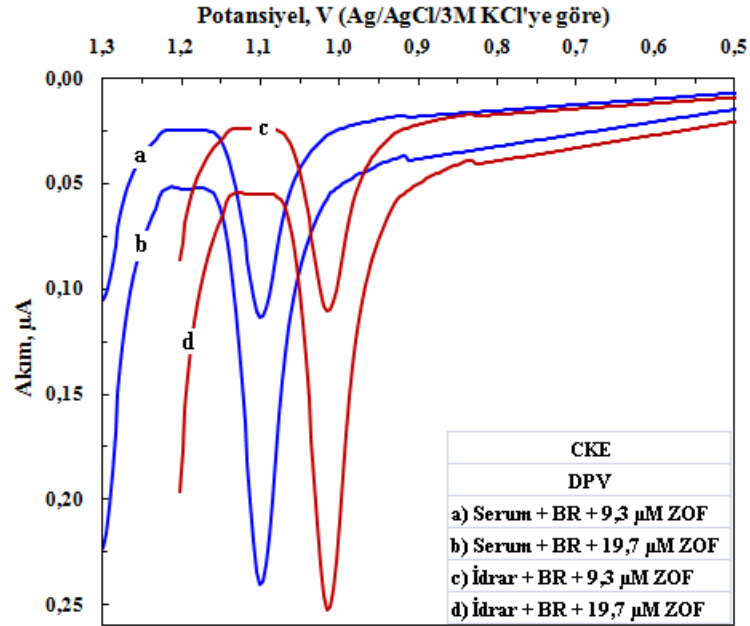
görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de ZOF tayini için uygun olduğu ve;

- doğrudan voltametrik yöntemlerin ikisinin doğrusal çalışma aralıklarının 2,0×10⁻⁶ M (0,73 µg mL⁻¹) – 1,0×10⁻⁴ M (36,5 µg mL⁻¹) olduğu,
- adsorptif sıyırma yöntemlerinin doğrudan voltametrik yöntemlere göre daha düşük derişim aralığında doğrusal ve doğrusal çalışma aralığının 2,0×10⁻⁸ M (8,59 ng mL⁻¹) – 1,0×10⁻⁶ M (429,6 ng mL⁻¹) olduğu,
- kare dalga voltametri yönteminin diferansiyel puls voltametri yöntemine göre doğrudan voltametrik yöntemlerde ve adsorptif sıyırma uygulamalarında yaklaşık 2,8 kat daha duyarlı olduğu,

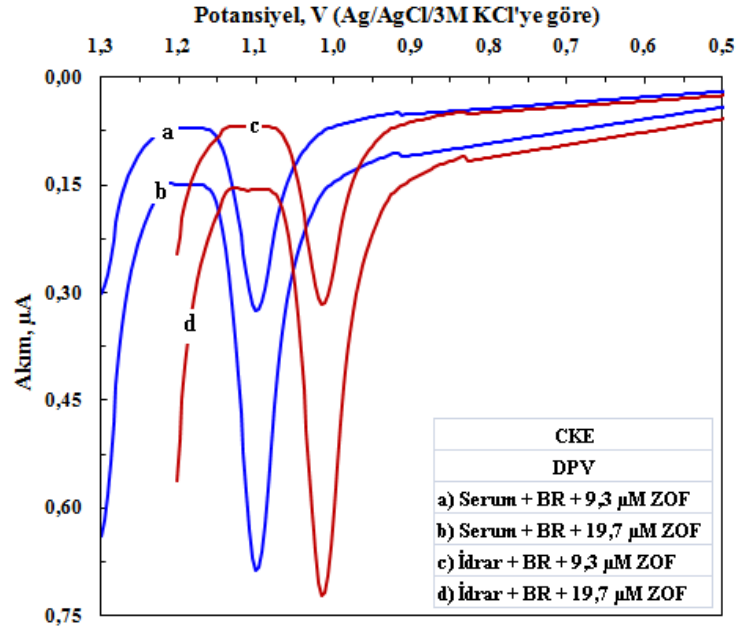
- doğrudan voltametrik yöntemlerin alt tayin sınırları μM seviyesinde iken, adsorptif sıyırma voltametrilerinde bu değerin nM seviyesine indiği,
- ilaç geliştirme ve kalite kontrolü gibi göreceli olarak daha yüksek derişimlerde ZOF içerdiği bilinen numunelerin analizi için doğrudan voltametrik yöntemlerin; idrar, serum ve kan gibi eser miktarda ZOF içeren biyolojik örneklerde ise adsorptif sıyırma yöntemlerinin uygun olduğu

sonucuna varılmıştır.

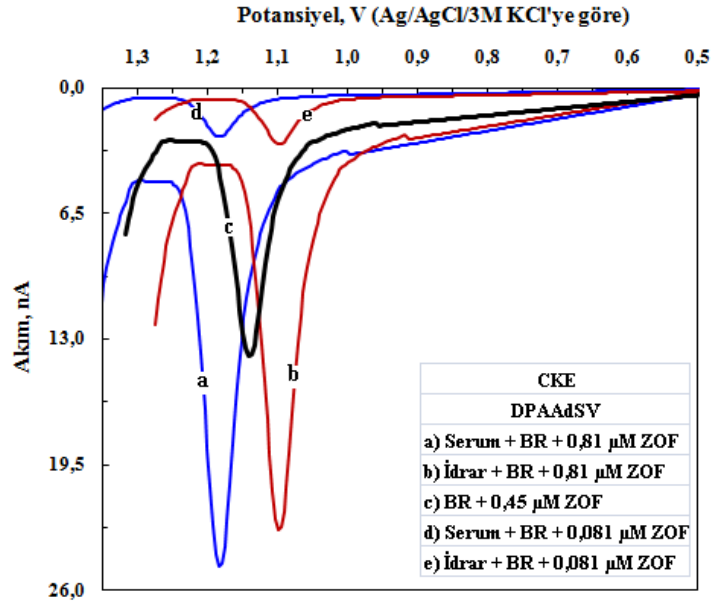
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda ZOF tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.99 – 4.102’de verilmiştir.



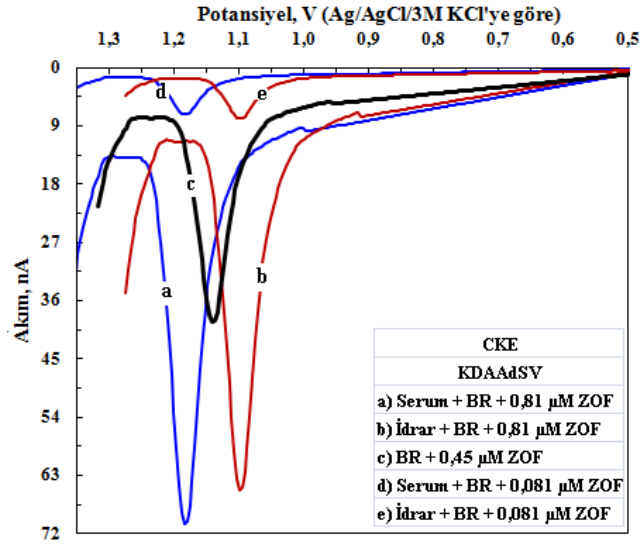
Şekil 4.99 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.100 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.101 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAdSV voltamogramları



Şekil 4.102 ZOF tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde ZOF'un yükseltgenmesine ait pikin belirgin olduğu ve pik akımının ZOF derişimi ile değiştiiği, ilaçlarda, idrarda ve serumda ZOF tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.37'de verilen doğrusal çalışma aralıkları diğer bazı parametreler ile birlikte değerlendirildiğinde, ilaçlarda ZOF tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülebilir. Ancak, bu çalışmada ilaçlarda ZOF tayini için geliştirilen dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda ZOF tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

ZOF tayini için öncelikle Şekil 4.95 – 4.98'de verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle ZOF derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.38 – 4.40'ta verilmiştir.

Çizelge 4.38 Tabletlerde ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV	30,0	28,15; 29,56; 30,85; 31,78;32,15	101,7 ±6,8	5,4
KDV	30,0	27,25; 28,96; 30,56; 31,25; 32,48	100,3 ±8,5	6,8
DPAADSV	30,0	27,46; 28,69; 30,15; 31,15; 31,25	99,1 ±6,8	5,5
KDAAdSV	30,0	28,15; 29,56; 30,25; 30,45; 32,89	100,9 ±7,1	5,7

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.39 İdrarda ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, µg	Hesaplananlar, µg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	40,0	36,60; 37,71; 38,23; 40,81; 43,12	98,2 ±8,2	6,7
DPV II	85,0	77,89; 78,56; 79,95; 82,45; 85,00	95,0 ±4,3	3,6
KDV I	40,0	37,12; 37,90; 39,30; 40,40; 43,90	99,3 ±8,3	6,7
KDV II	85,0	78,98; 79,65; 81,87; 85,12; 87,36	97,2 ±5,2	4,3
DPAADSV I	0,35	0,32; 0,33; 0,35; 0,35; 0,35;	96,9 ±5,4	4,5
DPAADSV II	3,50	3,25; 3,45; 3,62; 3,74; 3,76	101,8 ±7,6	6,0
KDAAdSV I	0,35	0,33; 0,33; 0,35; 0,36; 0,37	99,4±6,4	5,1
KDAAdSV II	3,50	3,15; 3,28; 3,39; 3,68; 3,77	98,6 ±9,4	7,6

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.40 Serumda ZOF analizine ait sonuçlar.

Yöntem	Eklenen, mg	Hesaplananlar, mg	Geri Kazanım [*] , %	BSS ^{**} , %
DPV I	40,0	35,96; 37,50; 38,72; 40,00; 42,00	97,1 ±7,2	5,9
DPV II	85,0	78,98; 79,15; 80,25; 83,15; 86,15	95,9 ±4,5	3,7
KDV I	40,0	36,46; 38,50; 40,30; 43,12; 43,96	101,2 ±9,7	7,7
KDV II	85,0	77,15; 78,56; 80,15; 87,36; 90,13	97,3 ±8,4	6,9
DPAADSV I	0,35	0,33; 0,35; 0,35; 0,37; 0,38	101,4 ±7,1	5,6
DPAADSV II	3,50	3,37; 3,56; 3,67; 3,85; 3,85	104,6 ±7,3	5,6
KDAAdSV I	0,35	0,31; 0,34; 0,36; 0,37; 0,38	100,6±9,9	7,9
KDAAdSV II	3,50	3,20; 3,32; 3,41; 3,55; 3,85	99,03 ±8,9	7,2

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.38'de verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10'dan daha küçük BSS ile % 99,1 – % 101,7 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da

geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda ZOF tayini için uygulanabileceği şekilde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.39'daki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda ZOF tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Serumda HKA tayini ile ilgili Çizelge 4.40'ta elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile ZOF'un tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

güvenle uygulanabileceği söylenebilir.

4.3 İkili Karışım Halindeki İlaç Etken Maddeleri İçin Voltametrik Tayin Yöntemleri

Bu tez kapsamında incelenen ilaç etken maddelerinin bazıları ikili karışımları halinde ilaç formunda piyasada bulunmakta ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlar; HKA–MOE, HKA–ZOF ve İNDA–PER karışımlarını içeren ilaçlardır. Karışım halinde bulunan bu ikili etken maddelerin ilaçlarda, serum ve idrarda eş zamanlı olarak tayini oldukça önemlidir. Tezin bu bölümünde yukarıda belirtilen ikili karışımların eş zamanlı tayini için çeşitli voltametrik yöntemlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, etken maddelerin tek başına bulunduğu durumlarda elde edilen optimum parametrelerin

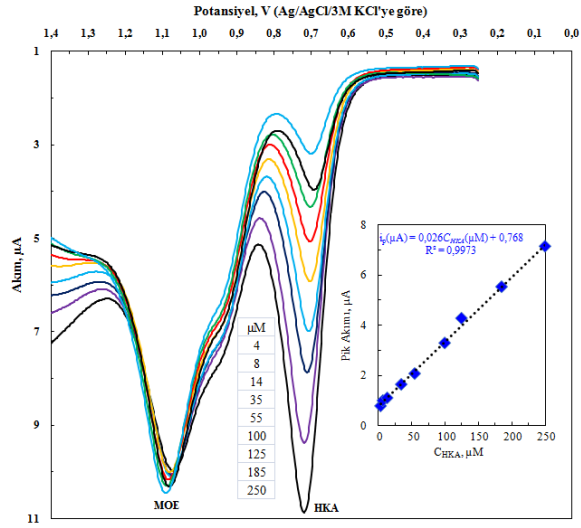
ikili karışımlar için uygun olmayabileceği düşünülmüş ve her ikili karışım için ayrıca optimizasyon çalışması yapılarak optimum koşullar belirlenmiştir.

İNDA ve PER molekülleri için ayrı ayrı yapılan çalışmalarda her iki molekülün ADCE yüzeyindeki indirgenme piklerinin potansiyelleri bir birinden yeterince farklı olmasına rağmen ikili karışımlar için yapılan çalışmalarda bu piklerin birleştiği yani karışımda İNDA ve PER için iyi ayrılmış piklerin elde edilemediği görülmüştür. Bu durumun İNDA ve PER molekülleri arasındaki olası etkileşimlerden ve/veya söz konusu moleküllerin çalışma elektrodu ile etkileşimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada İNDA-PER karışımını içeren numuneler için voltametrik tayin yöntemi geliştirilmesi mümkün olmamıştır. Aşağıda HKA-MOE ve HKA-ZOF ikili karışımlarını içeren numunelerde her bir bileşenin eş zamanlı tayini için geliştirilen yöntemlerle ilgili elde edilen sonuçlar ve ilgili yorumlar verilmiştir.

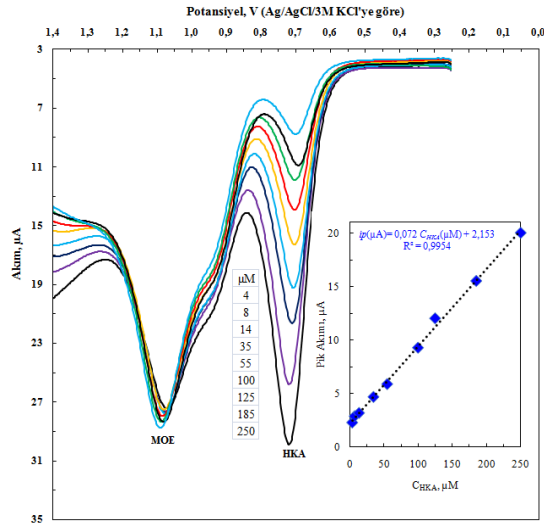
4.3.1 Eş zamanlı HKA –MOE tayini için voltametrik yöntemler

Bölüm 4.2’de hem HKA hemde MOE’nin CKE yüzeyinde elektrokimyasal aktiviteye sahip olduğu ve bunların pik potansiyellerinin bir birinden oldukça farklı olduğu görülmektedir (Şekil 4.39, Şekil 4.79). Aynı bölümde bu iki etken maddenin ayrı-ayrı bulunduğu durumlar için dört voltametrik yöntemin geliştirildiği ve ilaçlarda, idrar ve serumda söz konusu yöntemler kullanılarak bu moleküllerin tayin edilebileceği gösterilmişti. HKA –MOE ikili karışımı için yöntem geliştirme çalışmalarında ilk olarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalarda pH 5,0’da HKA ve MOE karışımından alınan DPV ve KDV voltamogramlarında karışımdaki her bir bileşen için bir birinden iyi ayrılmış birer yükseltgenme piki elde edilmiştir (Şekil 4.103, 4.104). Yapılan diğer optimizasyon çalışmalarında ikili karışım için optimum koşulların Çizelge 4.26’da MOE için verilen optimum koşullar ile aynı olması gerektiğine karar verilmiştir. Karışım için yöntem geliştirme çalışmalarında geliştirilmesi düşünülen DPV, KDV, DPAAdSV ve KDAAdSV yöntemlerinin her birinde etken maddelerden birinin derişimi sabit tutulup diğerinin derişimi değiştirilerek kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve elde edilen voltamogramlar Şekil 4.103 – 4.110’da verilmiştir. Hert iki

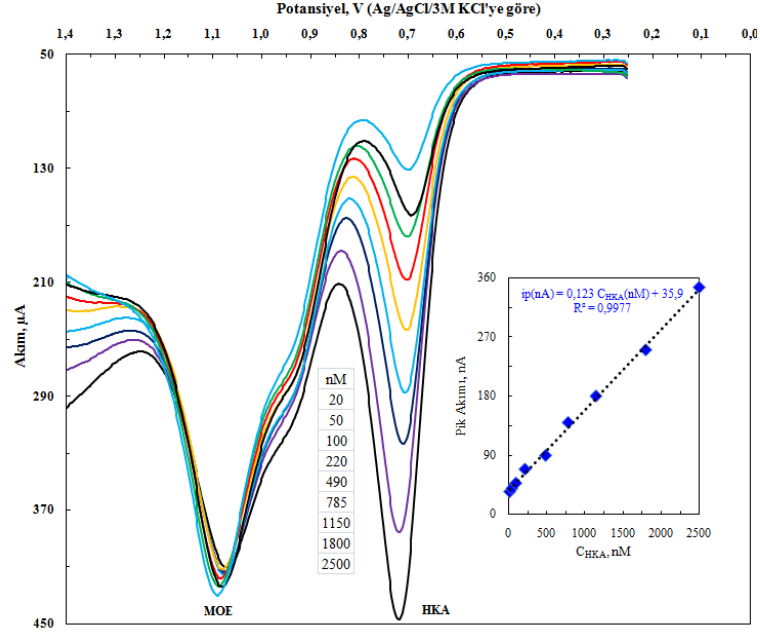
beleşenin derişimleri aynı anda arttırılarak ta her bir bileşen için ayrı-ayrı kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.111 – 4.114).



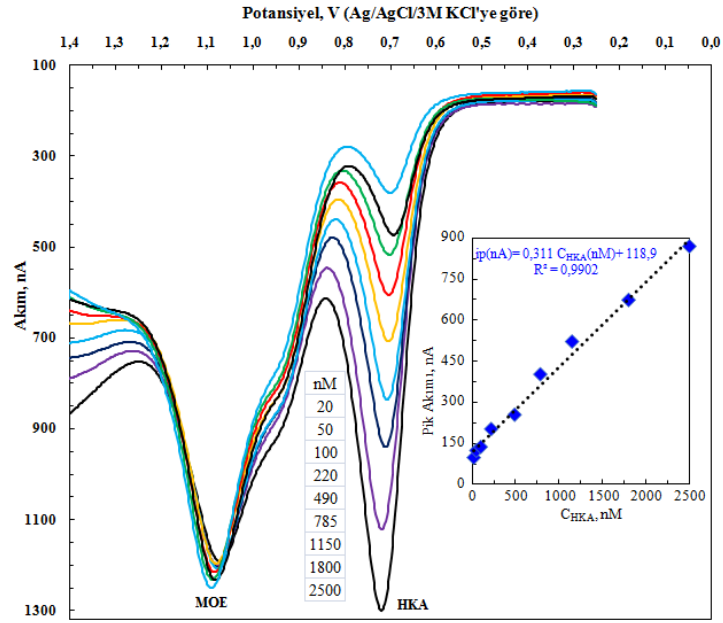
Şekil 4.103 Sabit MOE derişiminde HKA için DPV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{MOE}} = 195 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



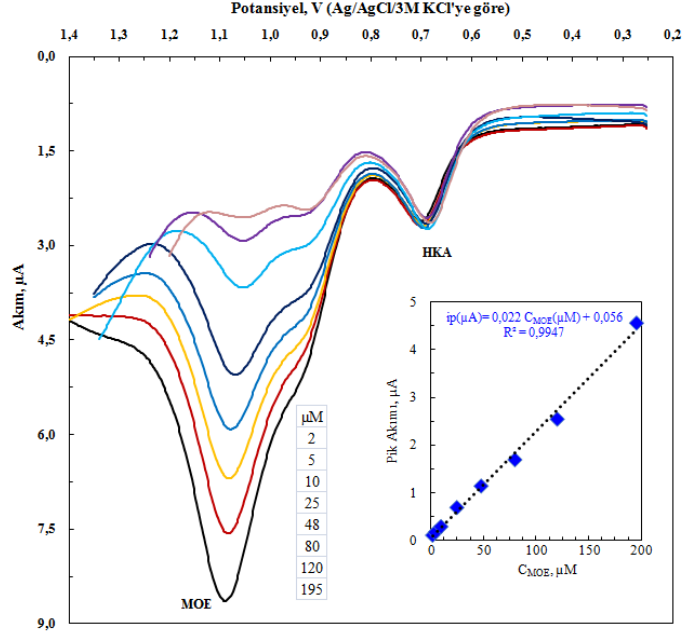
Şekil 4.104 Sabit MOE derişiminde HKA için KDV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{MOE}} = 195 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



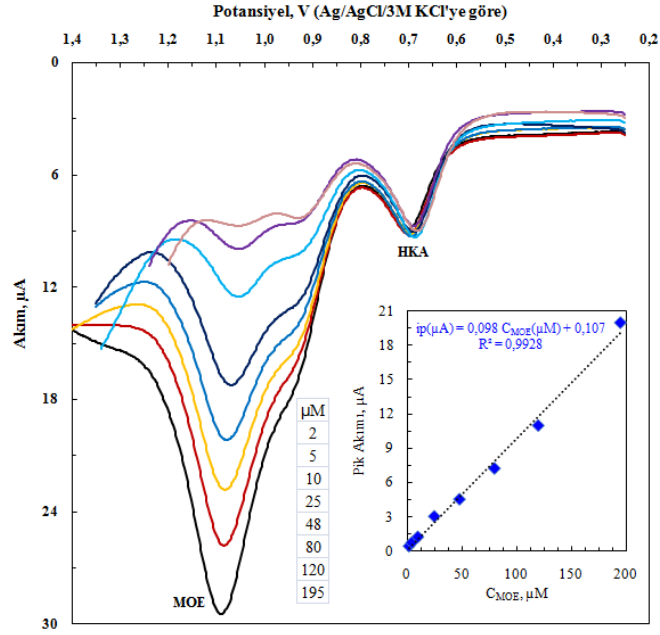
Şekil 4.105 Sabit MOE derişiminde HKA için DPAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{\text{MOE}} = 220 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}$: 0,5 V, $t_{\text{bir.}}$: 180 s)



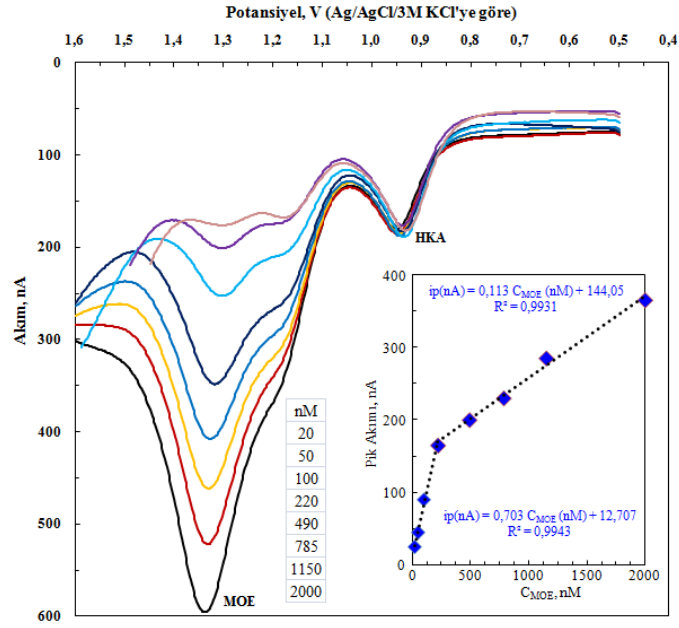
Şekil 4.106 Sabit MOE derişiminde HKA için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{\text{MOE}} = 220 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}$: 0,5 V, $t_{\text{bir.}}$: 180 s)



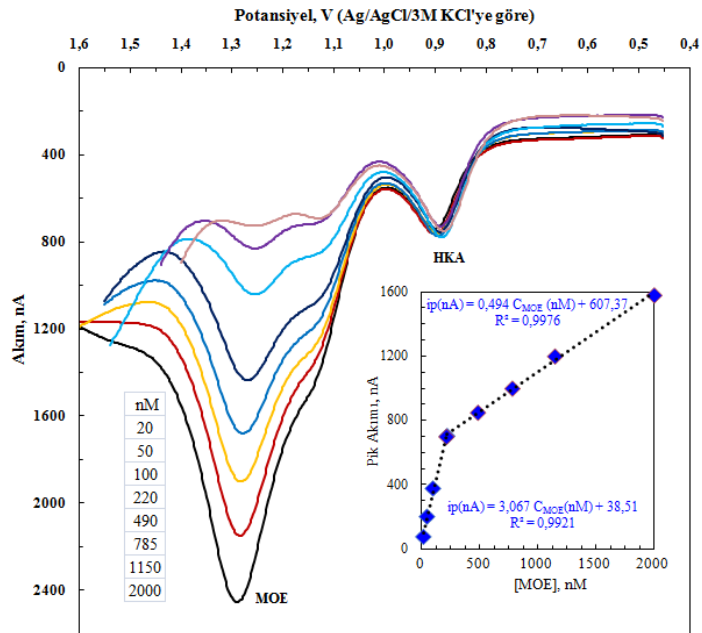
Şekil 4.107 Sabit HKA derişiminde MOE için DPV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{HKA}} = 8 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



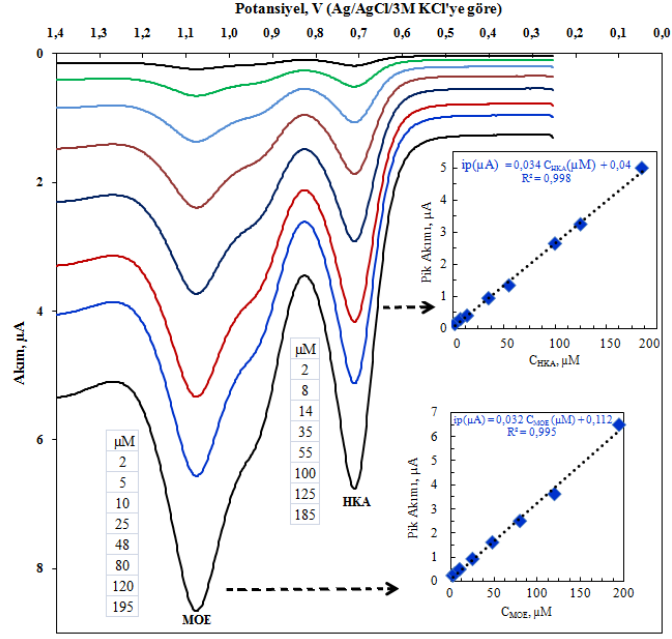
Şekil 4.108 Sabit HKA derişiminde MOE için KDV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{HKA}} = 8 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



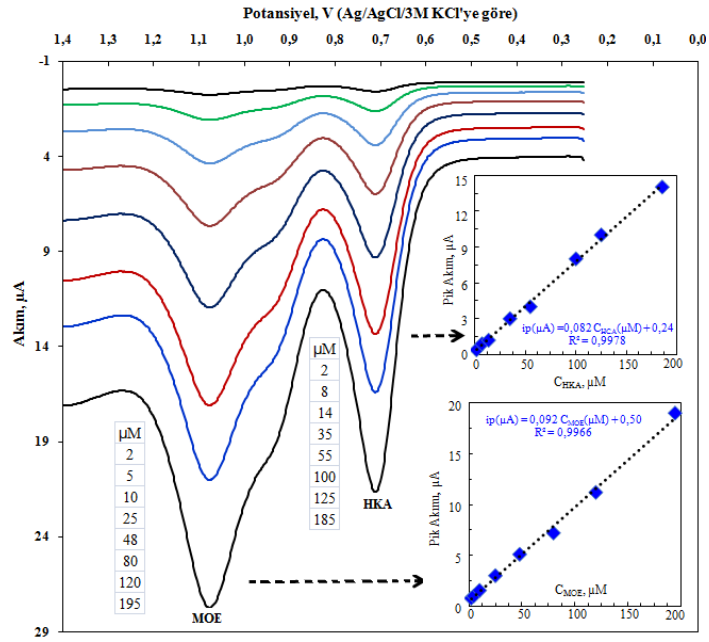
Şekil 4.109 Sabit HKA derişiminde MOE için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50$ nM, ÇE: CKE, $E_{bir.}:0,5$ V, $t_{bir.}: 180$ s)



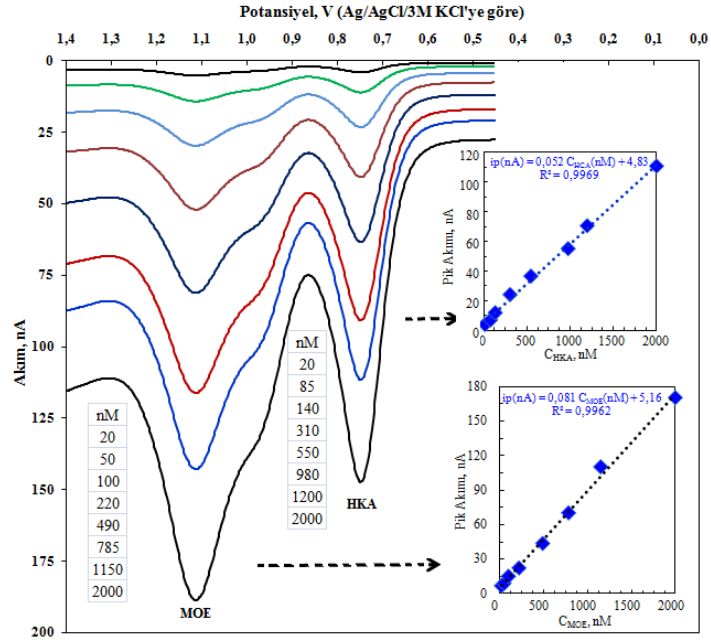
Şekil 4.110 Sabit HKA derişiminde MOE için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: MOE derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50$ nM, ÇE: CKE, $E_{bir.}:0,5$ V, $t_{bir.}: 180$ s)



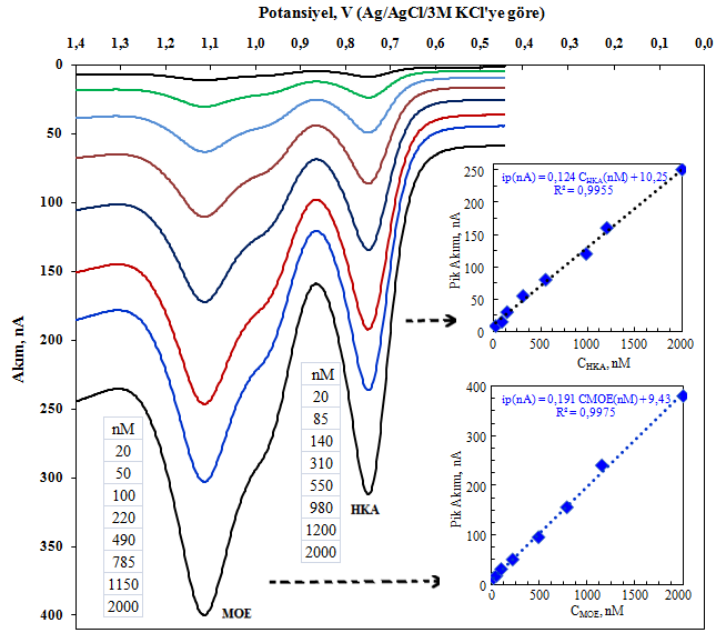
Şekil 4.111 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının DPV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE)



Şekil 4.112 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının KDV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE)



Şekil 4.113 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının DPAAdSV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, E_{bir} :0,5 V, t_{bir} : 180 s)



Şekil 4.114 Farklı derişimlerdeki MOE–HKA karışımının KDAAdSV voltamogramları. İç grafikler: HKA ve MOE derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, E_{bir} :0,5 V, t_{bir} : 180 s)

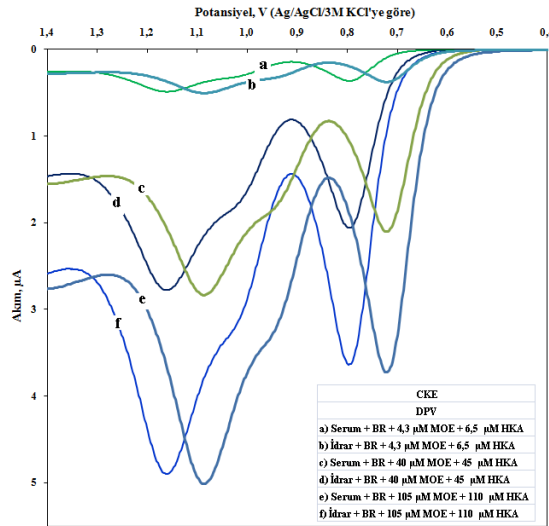
HKA – MOE karışımı için, CKE kullanılarak tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

- moleküllere ait olan piklerin ortalama akımlarının HKA ve MOE derişimi ile doğrusal değiştiği,
- kalibrasyon eşitliklerinde regresyon katsayısının (R^2) 0,99'dan büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

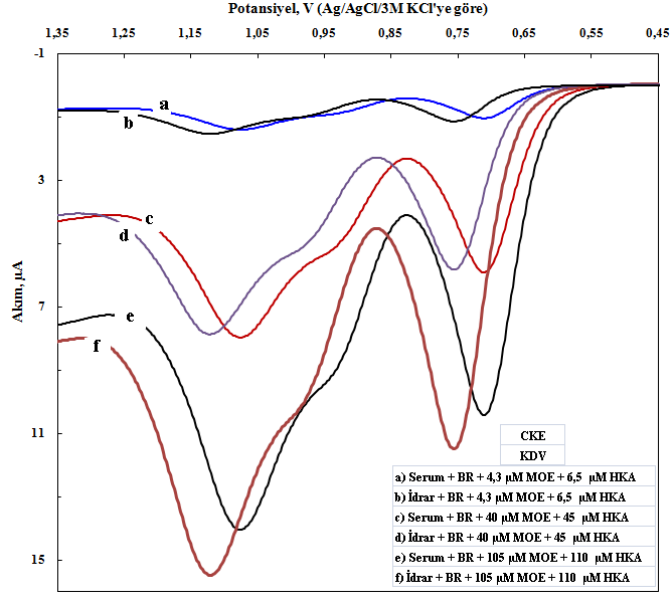
görölmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de karışım halde bulunan HKA ve MOE tayini için uygun olduğu veoluşturulan kalibrasyon grafiklerinde;

- karışım da bulunan MOE'nin HKA'nın kalibrasyon eğimini (duyarlılığını) azalttığı,
- karışım da bulunan HKA'nın MOE'nin kalibrasyon eğimini (duyarlılığını) arttırdığı veya değiştirmediği
- her iki etken madde için doğrusal çalışma aralığının yaklaşık olarak aynı kaldığı, sonucuna varılmıştır.

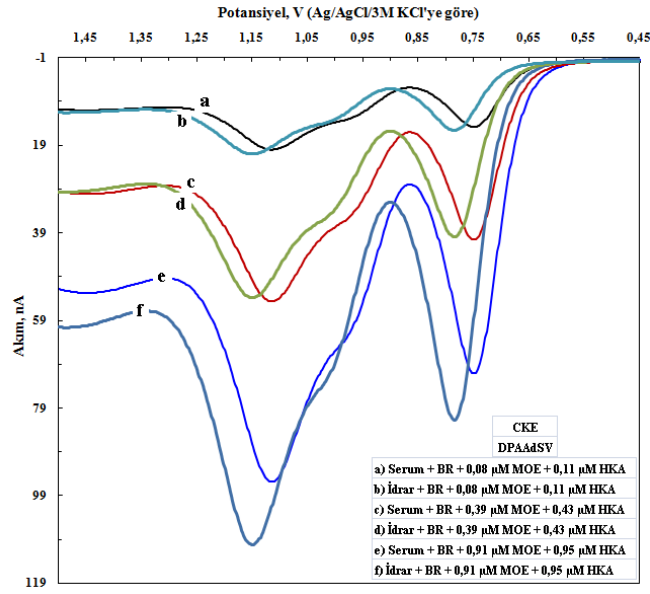
Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda MOE ve HKA tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar şekil 4.115 – 4.118'de verilmiştir.



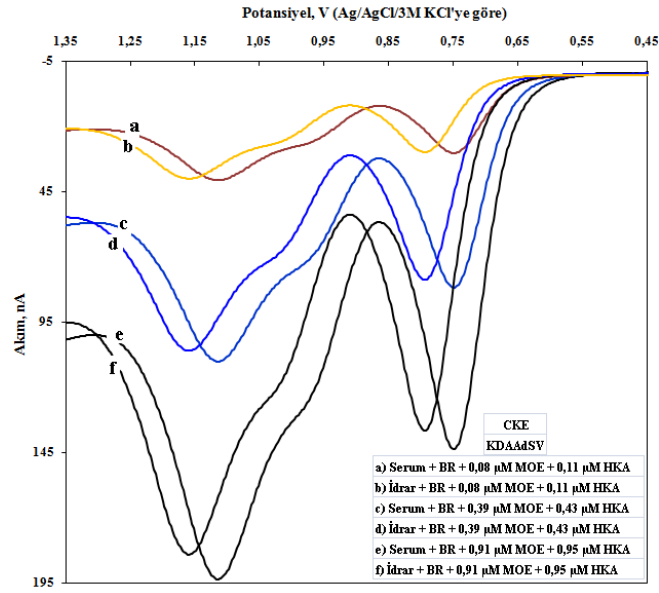
şekil 4.115 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları



Şekil 4.116 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları



Şekil 4.117 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen DPAAAdSV voltamogramları



Şekil 4.118 Eş zamanlı MOE–HKA tayini için yapılan uygulamalarda çeşitli ortamlarda kaydedilen KDAAdSV voltamogramları

Verilen dört şekildeki voltamogramlardan, idrar ve serum içeren numunelerde MOE ve HKA'nın yükseltgenmesine ait piklerin belirgin olduğu ve pik akımlarının ilgili madde derişimleri ile değiştigi, ilaçlarda, idrarda ve serumda MOE ve HKA tayini için voltametrik yöntemlerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Her ne kadar ilaçlarda MOE ve HKA tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülse de, bu çalışmada ilaçlarda tayin için dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda MOE ve HKA tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

Numunelerde MOE ve HKA tayini için öncelikle Şekil 4.103–114,'te verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8'de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle MOE ve HKA derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağlı standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.41 – 4.43'te verilmiştir.

Çizelge 4.41 Tabletlerde MOE–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	HKA	1,25	1,08; 1,12; 1,18; 1,22; 1,27	93,9 ±7,8	6,7
	MOE	7,50	6,91; 7,05; 7,31; 7,58; 7,85	97,9 ±6,4	5,3
KDV	HKA	1,25	1,10; 1,15; 1,24; 1,33; 1,37	99,3 ±11,3	9,1
	MOE	7,50	6,73; 7,04; 7,57; 8,13; 8,36	100,9 ±11,5	9,1
DPAAdSV	HKA	1,25	1,05; 1,20; 1,24; 1,29; 1,33	97,8 ±10,7	8,8
	MOE	7,50	6,58; 7,45; 7,63; 7,98; 8,05	100,5 ±9,8	7,8
KDAAdSV	HKA	1,25	1,07; 1,19; 1,22; 1,26; 1,29	96,6 ±8,3	6,9
	MOE	7,50	6,65; 7,38; 7,55; 7,62; 7,95	99,1 ±8,0	6,5

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.41’de verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10’dan daha küçük BSS ile % 93,9 – % 100,5 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda MOE ve HKA’nın eş zamanlı tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.42 İdrarda MOE–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Eklenen, µg	Bulunan değerler, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	HKA	2,50	2,25; 2,26; 2,45; 2,55; 2,75	98,1 ±10,4	8,6
	MOE	15,00	14,12; 14,27; 15,56; 16,19; 16,25	101,9 ±8,5	6,7
KDV	HKA	2,50	2,24; 2,35; 2,46; 2,67; 2,72	99,5 ±10,2	8,2
	MOE	15,00	14,15; 14,95; 15,00; 15,55; 16,23	101,2 ±6,4	5,1
DPAAdSV	HKA	2,50	2,15; 2,25; 2,36; 2,55; 2,55	94,9 ±8,9	7,5
	MOE	15,00	13,55; 13,98; 14,63; 15,81; 15,81	98,4 ±8,6	7,0
KDAAdSV	HKA	2,50	2,35; 2,48; 2,59; 2,67; 2,71	102,4 ±7,3	5,7
	MOE	15,00	13,45; 14,96; 15,21; 15,78; 15,94	100,5 ±8,2	6,6

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.42'deki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda MOE ve HKA'nın eş zamanlı tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Çizelge 4.43 Serumda MOE–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Eklenen, µg	Bulunan değerler, µg	Geri Kazanım *, %	BSS**, %
DPV	HKA	7,50	6,85; 6,93; 7,12; 7,65; 7,78	96,9 ±7,0	5,8
	MOE	45,00	43,16; 43,66; 44,86; 45,65; 47,25	99,8 ±4,5	3,6
KDV	HKA	7,50	7,05; 7,12; 7,35; 7,50; 8,02	98,8 ±6,4	5,2
	MOE	45,00	43,25; 43,79; 45,20; 45,85; 45,85	99,5 ±3,3	2,7
DPAAdSV	HKA	7,50	6,98; 7,25; 7,46; 8,05; 8,25	101,3 ±8,9	7,1
	MOE	45,00	40,12; 42,05; 44,80; 48,05; 48,25	99,2 ±9,9	8,1
KDAAdSV	HKA	7,50	7,04; 7,32; 7,49; 7,65; 7,88	99,7 ±5,3	4,3
	MOE	45,00	41,89; 43,55; 44,57; 45,52; 46,89	98,9 ±5,3	4,3

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Serumda eş zamanlı olarak MOE ve HKA tayini ile ilgili Çizelge 4.43'te elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderiştirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile MOE ve HKA'nın eş zamanlı olarak tayin edilebileceğinin göstergesidir.

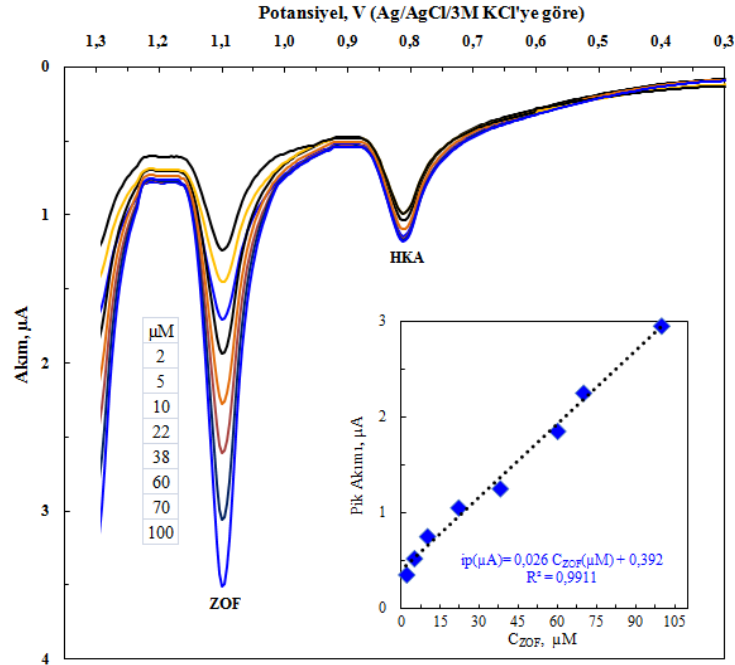
Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbi ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numuneler

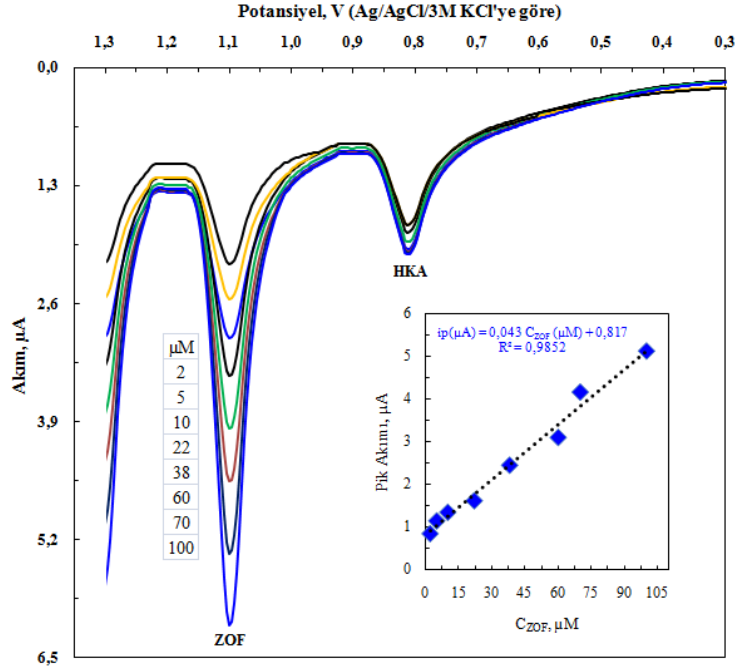
güvenle uygulanabileceği söylenebilir

4.3.2 Eş zamanlı HKA – ZOF tayini için voltametrik yöntemler

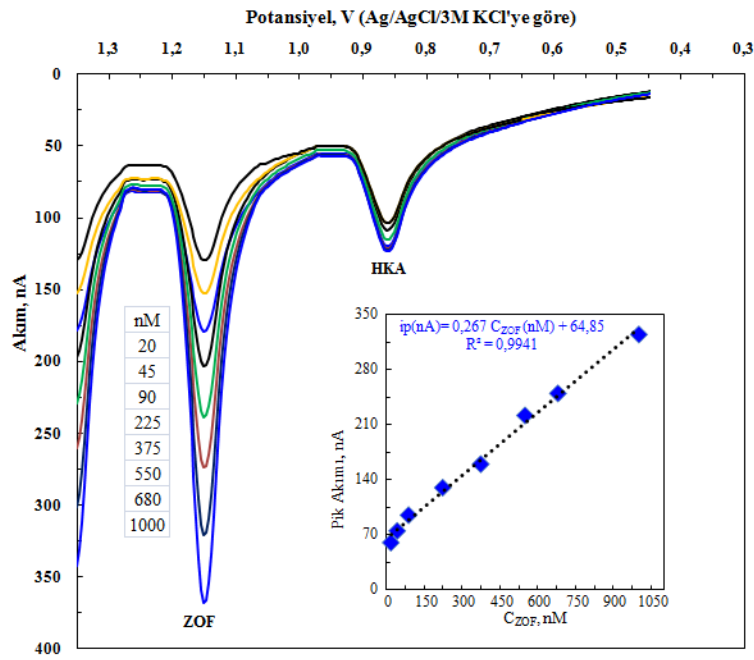
Bölüm 4.2’de hem HKA hem de ZOF’un CKE yüzeyinde elektrokimyasal aktiviteye sahip olduğu ve bunların pik potansiyellerinin bir birinden oldukça farklı olduğu görülmektedir (Şekil 4.39, Şekil 4.95). Aynı bölümde bu iki etken maddenin ayrı-ayrı bulunduğu durumlar için dört voltametrik yöntemin geliştirildiği ve ilaçlarda, idrar ve serumda söz konusu yöntemler kullanılarak bu moleküllerin tayin edilebileceği gösterilmişti. HKA –ZOF ikili karışımı için yöntem geliştirme çalışmalarında ilk olarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmalarında ikili karışım için optimum koşulların Çizelge 4.36’da ZOF için verilen optimum koşullar ile aynı olması gerektiğine karar verilmiştir. Karışım için yöntem geliştirme çalışmalarında geliştirilmesi düşünülen DPV, KDV, DPAAAdSV ve KDAAdSV yöntemlerinin her birinde etken maddelerden birinin derişimi sabit tutulup diğerinin derişimi değiştirilerek kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve elde edilen voltamogramlar Şekil 4.119 – 4.126’da verilmiştir. Hert iki beleşenin derişimleri aynı anda arttırılarak ta her bir bileşen için ayrı-ayrı kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.127 – 4.130).



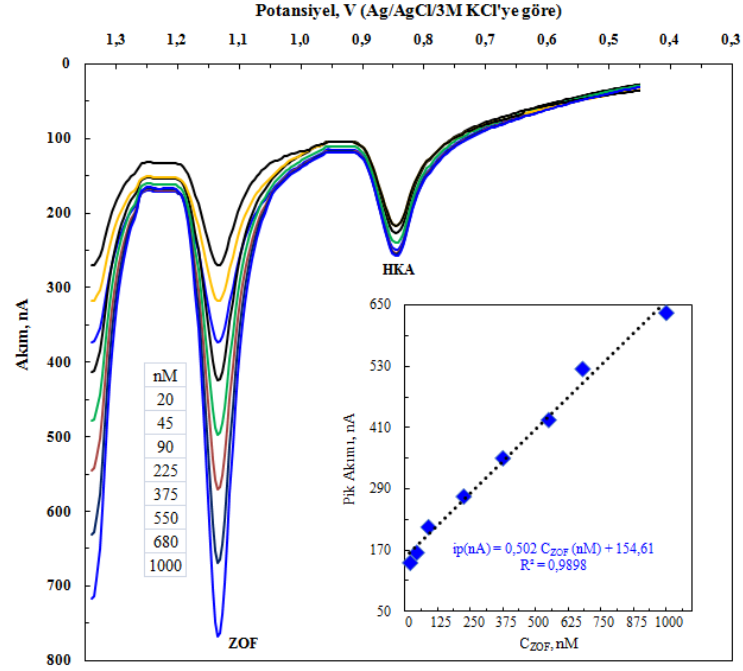
Şekil 4.119 Sabit HKA derişiminde ZOF için DPV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının derişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu M$, ÇE: CKE)



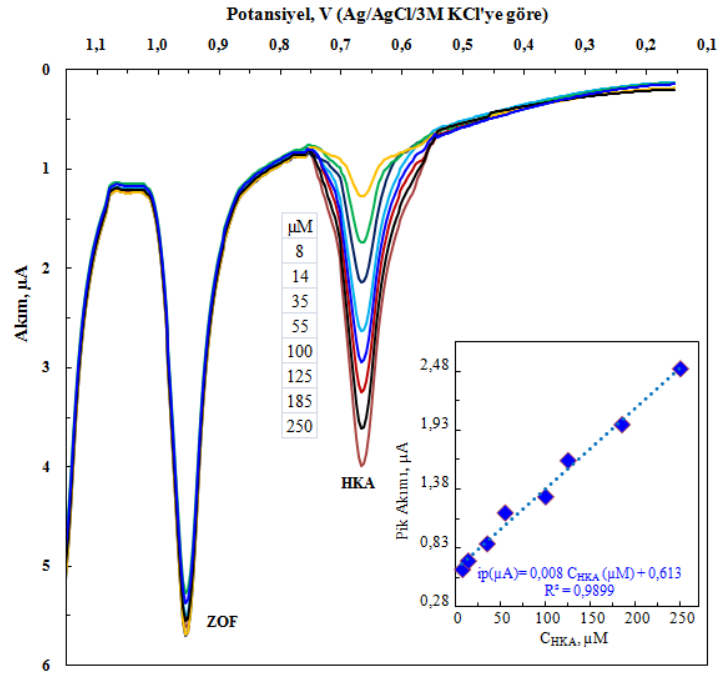
Şekil 4.120 Sabit HKA derişiminde ZOF için KDV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{HKA} = 8 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



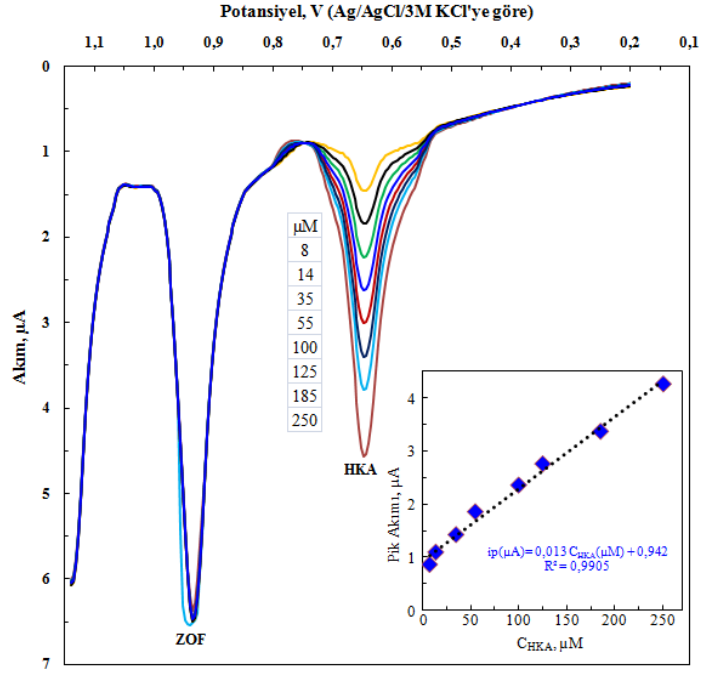
Şekil 4.121 Sabit HKA derişiminde ZOF için DPAAAdSV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{HKA} = 50 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{bir.}: 0,5 \text{ V}$, $t_{bir.}: 180 \text{ s}$)



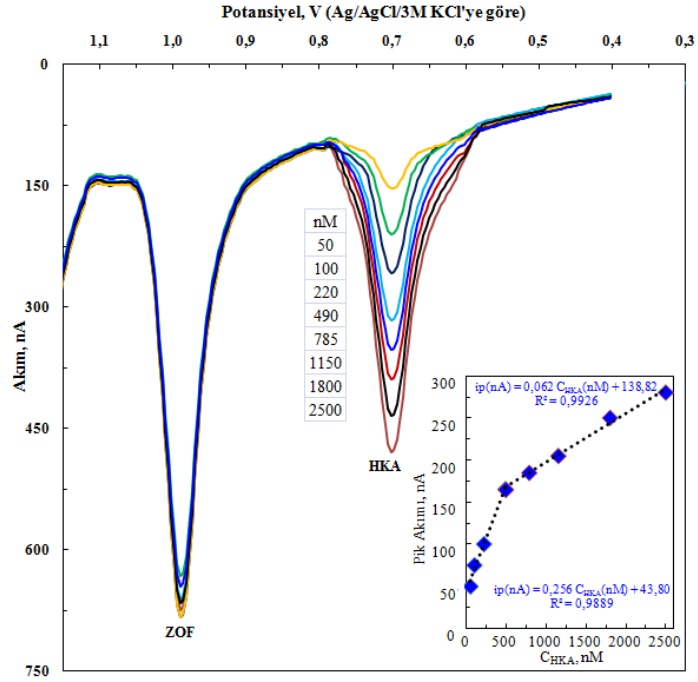
Şekil 4.122 Sabit HKA derişiminde ZOF için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: ZOF derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{\text{HKA}} = 50 \text{ nM}$, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}: 0,5 \text{ V}$, $t_{\text{bir.}}: 180 \text{ s}$)



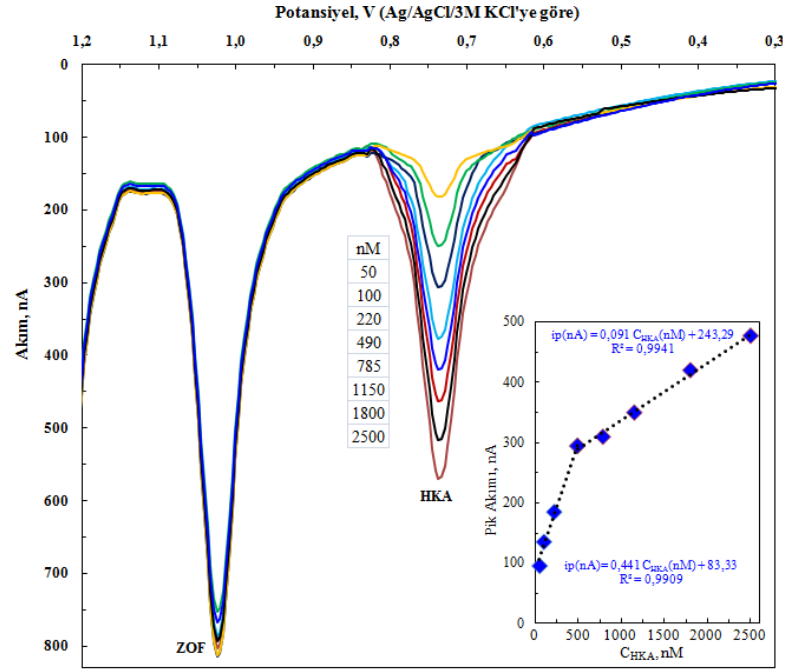
Şekil 4.123 Sabit ZOF derişiminde HKA için DPV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{ZOF}} = 100 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



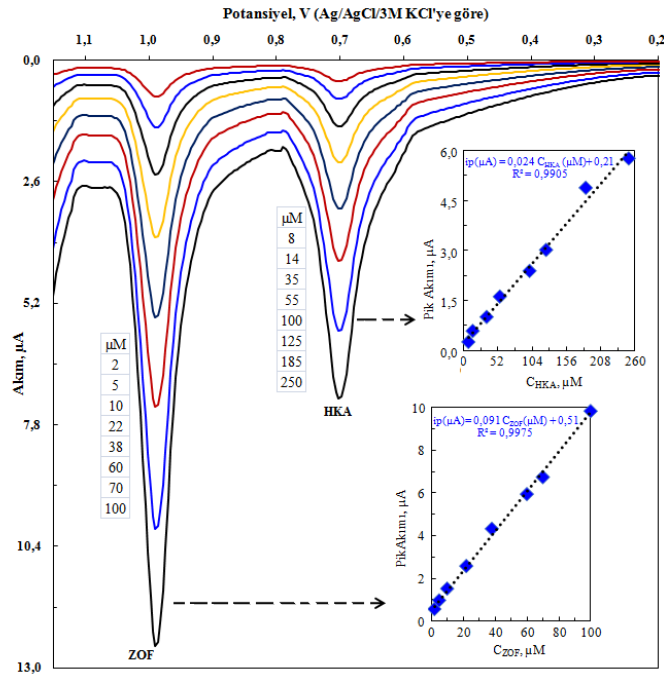
Şekil 4.124 Sabit ZOF derişiminde HKA için KDV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi, ($C_{\text{ZOF}} = 100 \mu\text{M}$, ÇE: CKE)



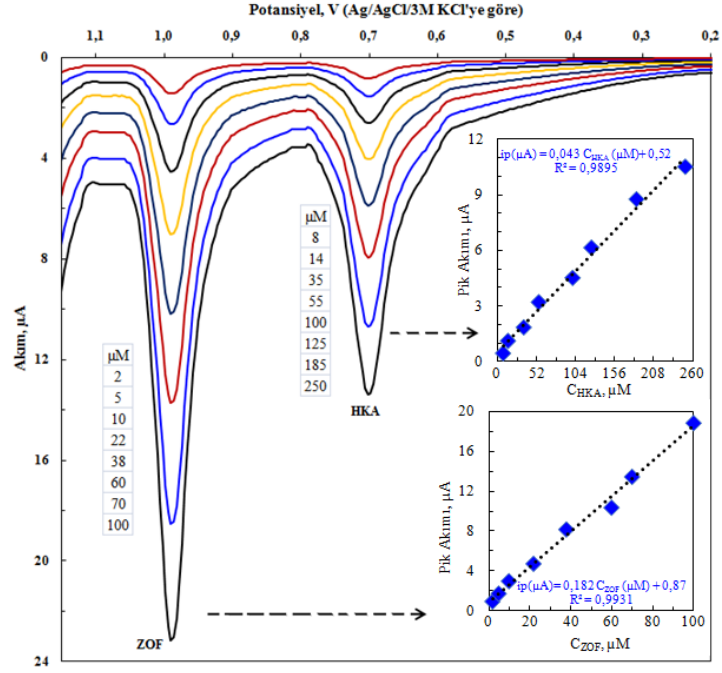
Şekil 4.125 Sabit ZOF derişiminde HKA için DPAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{\text{ZOF}} = 1 \mu\text{M}$, ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}} = 0,5 \text{ V}$, $t_{\text{bir.}} = 180 \text{ s}$)



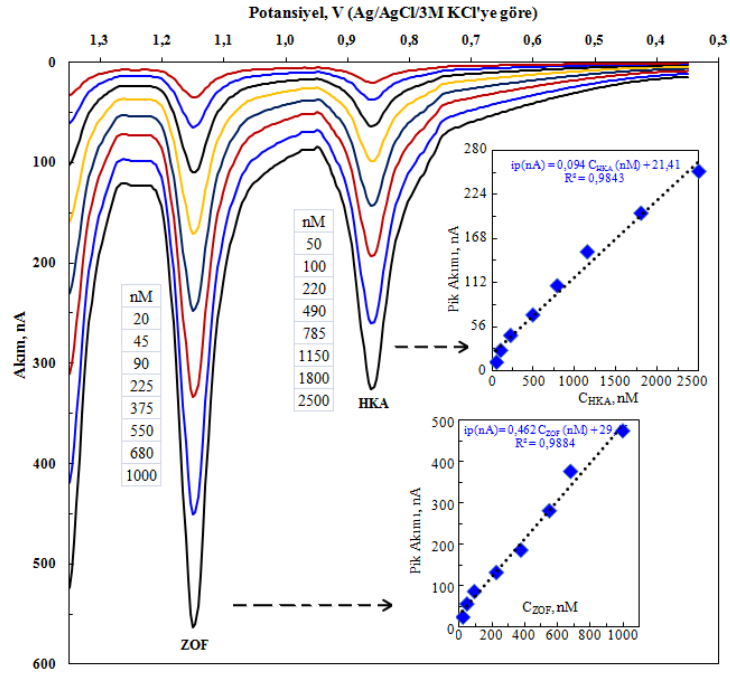
Şekil 4.126 Sabit ZOF derişiminde HKA için KDAAdSV voltamogramları. İç grafik: HKA derişimi ile pik akımının değişimi ($C_{ZOF} = 1 \mu M$, ÇE: CKE, $E_{bir.} = 0,5 V$, $t_{bir.} = 180 s$)



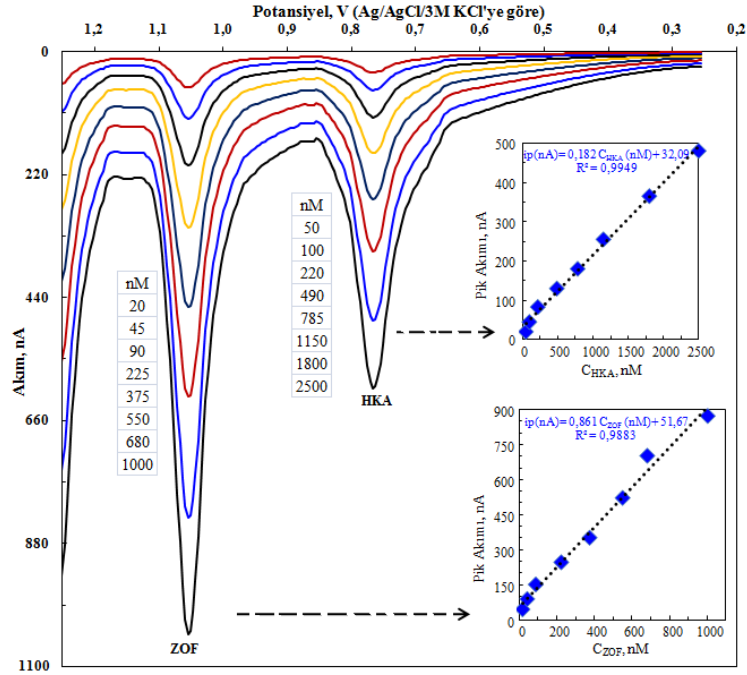
Şekil 4.127 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının DPV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE)



Şekil 4.128 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının KDV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE)



Şekil 4.129 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının DPAAdSV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{\text{bir.}}$: 0,5 V, $t_{\text{bir.}}$: 180 s)



Şekil 4.130 Farklı derişimlerdeki ZOF–HKA karışımının KDAAdSV voltamogramları. İç grafikler: ZOF ve HKA derişimleri ile pik akımlarının değişimi (ÇE: CKE, $E_{bir.}:0,5$ V, $t_{bir.}: 180$ s)

ZOF – HKA karışımı için, CKE kullanılarak tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında;

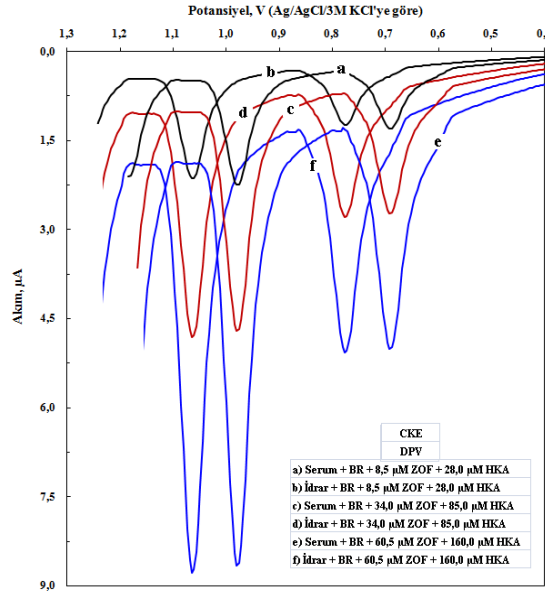
- moleküllere ait olan piklerin ortalama akımlarının ZOF ve HKA derişimi ile doğrusal değiştii,
- kalibrasyon eşitliklerinde regresyon katsayısının (R^2) 0,98'den büyük olduğu
- pik akımı ve pik potansiyelinin gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirliklerinin oldukça iyi olduğu

görülmüştür. Ayrıca, geliştirilen dört yöntemin de karışım halde bulunan HKA ve MOE tayini için uygun olduğu ve oluşturulan kalibrasyon grafiklerinde;

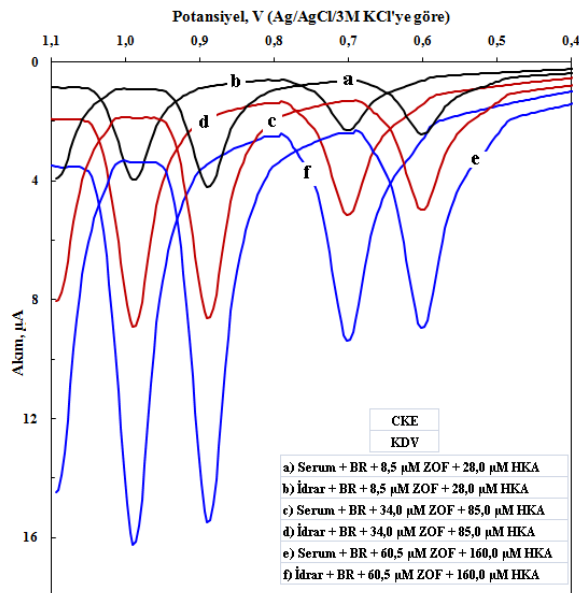
- karışımında bulunan ZOF'un HKA'nın kalibrasyon eğimini (duyarlılığını) azalttığı,
- karışımında bulunan HKA'nın ZOF'un kalibrasyon eğimini (duyarlılığını) arttırdığı veya değiştirmedii
- her iki etken madde için doğrusal çalışma aralığının yaklaşık olarak aynı kaldığı,

sonucuna varılmıştır.

Bütün bu bulgulardan yararlanılarak, geliştirilen dört yöntem ile piyasadaki mevcut ilaçlar ile idrar ve serumda ZOF ve HKA tayini yapılmıştır. Tayin çalışmasında kullanılan numune çözeltileri, Bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de belirtildiği şekilde hazırlanmış ve bu numunelerin ilgili yöntemler kullanılarak voltamogramları alınmış ve bu voltamogramlar Şekil 4.131 – 4.134’te verilmiştir.



Şekil 4.131 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayininde çeşitli ortamlarda kaydedilen DPV voltamogramları (ÇE: CKE)



Şekil 4.132 HKA'nın ve ZOF'un eş zamanlı tayininde çeşitli ortamlarda kaydedilen KDV voltamogramları (ÇE: CKE)

ZOF ve HKA tayini için DPV ve KDV yöntemlerini yeterli olduğu düşünülse de, bu çalışmada ilaçlarda tayin için dört yöntem de kullanılmıştır.

İlaçlarda, serumda ve idrarda ZOF ve HKA tayini için hem doğrudan kalibrasyon hem de standart katma yöntemleri kullanılmıştır. Ancak her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farkın olmadığı (eğim değerlerinin bir birine çok yakın olduğu) ve fazla sayıda numuneye uygulanması daha kolay ve hızlı olması nedeniyle burada sadece doğrudan kalibrasyon yönteminde elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

Numunelerde ZOF ve HKA tayini için öncelikle Şekil 4.119–130’da verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bölüm 3.6, 3.7 ve 3.8’de anlatıldığı gibi hazırlanan ilaç, idrar ve serum numuneleri kullanılarak doğrudan kalibrasyon yöntemiyle ZOF ve HKA derişimleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar % geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapma (BSS) değerleri ile birlikte Çizelge 4.44 – 4.46’da verilmiştir.

Çizelge 4.44 Tabletlerde ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Tablet değeri, mg	Bulunan değerler, mg	Geri Kazanım *, %	BSS**, %
DPV	HKA	12,5	11,00; 11,50; 12,20; 13,20; 13,80	98,7 ±11,6	9,4
	ZOF	30,0	26,00; 27,25; 28,00; 30,25; 32,00	95,7 ±9,9	8,4
KDV	HKA	12,5	11,20; 11,55; 12,44; 13,50; 13,80	99,9 ±11,4	9,2
	ZOF	30,0	26,41; 28,15; 28,75; 30,11; 30,75	96,1 ±7,2	5,9
DPAAdSV	HKA	12,5	10,52; 12,50; 12,80; 13,10; 13,30	99,6 ±11,1	8,9
	ZOF	30,0	26,60; 27,85; 30,00; 30,00; 30,55	96,6 ±7,1	5,9
KDAAdSV	HKA	12,5	11,20; 11,70; 12,40; 13,20; 13,80	99,7 ±10,6	8,5
	ZOF	30,0	27,15; 28,56; 30,25; 31,00; 33,00	99,9 ±9,3	7,5

* ortalama ± ts/√N, %95 güven seviyesinde ** Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.44’te verilen veriler incelendiğinde, bütün yöntemlerde geri kazanımın % 10’dan daha küçük BSS ile % 95,7 – % 99,9 aralığında olduğu görülmektedir. Bu da geliştirilen voltametrik yöntemlerin ilaçlarda ZOF ve HKA’nın eş zamanlı tayini için uygulanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.45 İdrarda ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Eklenen, µg	Bulunan değerler, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	HKA	25,0	21,50; 22,50; 24,30; 25,20; 27,60	96,9 ±11,9	9,9
	ZOF	60,0	54,54; 55,02; 57,45; 60,00; 62,58	96,5 ±7,0	5,9
KDV	HKA	25,0	22,31; 23,79; 25,12; 26,38; 27,12	99,8 ±9,7	7,8
	ZOF	60,0	51,08; 54,30; 57,12; 59,55; 59,87	93,9 ±7,7	6,6
DPAAdSV	HKA	2,5	2,18; 2,29; 2,40; 2,52; 2,75	97,1 ±10,9	9,1
	ZOF	6,0	5,14; 5,31; 6,00; 6,17; 6,51	97,1 ±12,0	9,9
KDAAdSV	HKA	2,5	2,38; 2,45; 2,54; 2,71; 2,80	103,0 ±8,8	6,8
	ZOF	6,0	5,31; 5,87; 5,99; 6,17; 6,51	99,3 ±9,2	7,4

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Çizelge 4.45'teki veriler ise, idrar numunelerine idrarda bulunabilecek derişimde tablet çözeltilerinden eklenerek doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen değerlerdir. Bu çizelgede verilen BSS ve geri kazanım değerleri geliştirilen voltametrik yöntemlerin idrarda ZOF ve HKA'nın eş zamanlı tayini için kullanılabileceğinin göstergesidir.

Çizelge 4.46 Serumda ZOF–HKA analizine ait sonuçlar.

Yöntem		Eklenen, µg	Bulunan değerler, µg	Geri Kazanım*, %	BSS**, %
DPV	HKA	50,0	45,69; 47,96; 53,09; 54,36; 55,16	102,5 ±10,1	8,2
	ZOF	120,0	105,1; 108,7; 116,4; 120,5; 124,1	95,8 ±8,2	6,9
KDV	HKA	50,0	42,69; 46,87; 49,87; 53,29; 54,61	98,9 ±12,0	9,8
	ZOF	120,0	116,9; 120,9; 125,1; 128,5; 131,8	103,9 ±6,2	4,8
DPAA dSV	HKA	5,0	4,48; 4,82; 5,02; 5,42; 5,48	100,9 ±10,4	8,3
	ZOF	12,0	11,15; 11,83; 12,04; 12,97; 13,10	101,8 ±8,5	6,7
KDA AdSV	HKA	5,0	4,52; 4,88; 5,04; 5,29; 5,44	100,7 ±8,9	7,2
	ZOF	12,0	10,77; 11,80; 11,90; 12,48; 13,68	101,1 ±11,0	8,8

*ortalama ± ts/√N,%95 güven seviyesinde **Hesaplanan geri kazanım değerleri için bağıl standart sapma

Serumda eş zamanlı olarak ZOF ve HKA tayini ile ilgili Çizelge 4.46'da elde edilen veriler, serumda bulunan türlerin her hangi bir bozucu etkisi olmaksızın ve bir önderişirme gerektirmeksizin geliştirilen voltametrik yöntemlerin uygulanması

durumunda yüksek doğruluk ve yeterli kesinlik ile ZOF ve HKA'nın eş zamanlı olarak tayin edilebileceğinin göstergesidir.

Bu sonuçlara göre, geliştirilen voltametrik tayin yöntemlerinin;

- kalite ve içerik kontrolü amacı ile tablet, kapsül ve şurup gibi farmasötik numunelere,
- farklı tıbbı ve kimyasal/biyokimyasal amaçlar için idrar, serum ve kan gibi biyolojik numunelere,
- farmakolojik, farmakinetik ve toksikolojik amaçlar için doku ve organlardan hazırlanan numunelere

güvenle uygulanabileceği söylenbilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında bazı ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal davranışları ilk kez incelenmiş ve elektrokimyasal indirgenme ve/veya elektrokimyasal yükseltgenme mekanizmaları önerilmiştir. Ayrıca söz konusu ilaç etken maddeleri için voltametrik tayin yöntemleri geliştirilmiş ve analitik uygulamaları yapılmıştır. Tez çalışmasının önemli sonuçları ve konu ile ilgili bazı öneriler şu şekilde sıralanabilir:

- HKA moleküllerinin ADCE yüzeyinde elektrokimyasal aktifliğe sahip olmadığı, CKE yüzeyinde tersinmez ve $2e^-/2H^+$ aktrımı sonucunda difüzyon kontrollü bir mekanizma ile yükseltgendiği belirlenmiştir.
- İNDA moleküllerinin hem ADCE hem de CKE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif olduğu, ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin tersinir, $2e^-/2H^+$ aktrımı ile gerçekleştiği, mekanizmaya hem adsorpsiyonun hemde difüzyonun katkısının olduğu belirlenmiştir. CKE yüzeyinde ise tersinmez ve difüzyon kontrollü bir mekanizma ile $2e^-/2H^+$ aktrımı sonucu yükseltgendiği anlaşılmıştır.
- PER moleküllerinin ADCE yüzeyinde $2e^-/2H^+$ aktrımı sonucu tersinir olacak şekilde indirgendiği ve CKE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif olmadığı belirlenmiştir.
- MOE moleküllerinin hem ADCE hem de CKE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif olduğu, ADCE yüzeyindeki indirgenmesinin tersinir, $2e^-/2H^+$ aktrımı ile adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiği, CKE yüzeyinde ise tersinmez ve difüzyon kontrollü bir mekanizma ile $2e^-/2H^+$ aktrımı sonucu yükseltgendiği görülmüştür.
- ZOF moleküllerinin de hem ADCE hem de CKE yüzeyinde elektrokimyasal olarak aktif olduğu, ADCE yüzeyinde biri tersinir ve adsorpsiyon kontrollü, diğerleri difüzyon kontrollü ve tersinmez olan üç indirgenme pikine sahip

olduğu belirlenmiştir. CKE yzeyinde ise tersinmez ve difzyon kontrollu bir mekanizma ile $2e^-/2H^+$ aktrımı sonucu yukseltgendiği tahmin edilmektedir.

- Elektrokimyasal davranış belirleme çalışmalarında elde edilen parametrelerle birlikte her bir yonteme ait performans parametreleri optimize edilerek tez kapsamındaki ilaç etken maddelerinin nicel tayini için voltametrik yontemler geliştirilip valide edilmiş ve bu yontemlerin analitik uygulamaları yapılmıştır.
- İlaç geliştirme, kalite ve içerik kontrolu gibi goreteli olarak daha yukssek derişimlerde ilaç içeren çalışma numunelerinin kullanımının olası olduğu durumlaradaki nicel tayinlerde, doğrudan voltametrik yontemlerin; idrar ve serum gibi eser miktarda elektroaktif madde içerdiği bilinen numunelerdeki nicel analiz çalışmalarında ise, adsorptif sıyırma yontemlerinin kullanılmasının gerekli olduğu belirlenmiştir.
- Çalışma kapsamında incelenen ilaç etken maddelerinin canlı bnyedeki rahatsızlığın tedavisinde elektron alış/verişine katıldığı belirlenirse, bu ilaçların etki mekanizmalarının anlaşılmasında, yan etkilerinin belirlenip bertaraf edilmesinde ve tedavi etkinliğinin arttırılmasında elektrokimyasal davranış ve indirgenme/yukseltgenme ozelliklerinin onemli yer tutacağı açıktır. Buna goret HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF molekullerinin etki mekanizmalarının; metabolitlerinin bazı ozelliklerinin, hedef ve etkilediği organların ve vucuttan elemine edilme yolu ve formunun belirlenmesinde elektrokimyasal çalışmaların sonuçlarının onemli olabileceği duşunılmaktadır.
- Yeni ilaç sentezi ve eldeki ilaçların modifiye edilmesinde; tedavi etkinliğinin arttırılmasına yonelik çalışmalarda, geleneksel yontemlerin yanında elektrokimyasal yontemlerin de alternatif bir yol olabileceği duşunılmaktadır. Zira elektrokimyasal yontemler kullanılarak, gerekli elektrot ve ozelti bileşiminde, bazı ara urunlerin ve radikalik turlerin oluşturulabileceği, indirgenme/yukseltgenme mekanizmalarının belirlenebileceği açıktır. Yapılan alışmalarınsonuları bu bağlamda değerlendirildiğinde; HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF molekullerinin elektrokimyasal yontemler kullanılarak modifiye

edilebileceği, bu moleküllere mevcut özelliklerinin yanında bazı özelliklerin kazandırılabilceği, böylelikle tedavi edici özelliklerinin değiştirilebileceği öngörülmektedir.

- Genetik bozukluklar sonrası görülen ve/veya genetik bozukluklara sebep olan sağlık problemlerinin erken teğhisinde ve tedavi aşamasında elektrokimyasal çalışmalar önemli bir role sahip olabilir. şöyle ki, söz konusu sağlık problemlerinin DNA ve RNA'nın yapısında bazı değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir. Olası rahatsızlıkların etkilediği DNA/RNA dizisinin ilaç etken maddeler ile etkileşimleri elektrokimyasal yöntemler ile incelendiğinde, bazı yapısal değişikliklerin şekli, mekanizması, hızı ve oluşan ara ürünlerin kararlılıkları ile ilgili bilgilerin elde edilebileceği öngörülebilir. Genetik kaynaklı bazı rahatsızlıklardan sorumlu genetik materyalin (DNA/RNA) HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF ile etkileşimleri ve bu etkileşimlerin DNA/RNA'nın elektrokimyasal davranışına etkisi incelenerek, söz konusu ilaç etken maddelerinin antihipertansif etkinliklerinin yanında diğer bazı rahatsızlıkların tedavisinde de etkinliğe sahip olup olmadığı hakkında bilgi edinilebilir.
- İlaç etken maddelerin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi sonucu elde edilen veriler ve parametrelerin; ilacın tayinine, sağlık probleminin canlı bünyede sebep olduğu bazı değişikliklerin teğhisine ve ilaç-sağlam doku, ilaç-hasarlı doku arasındaki etkileşimin belirlenmesine yönelik biyosensör tasarlanabileceği düşünölmektedir. HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF moleküllerinin etkilediği doku ve organların, söz konusu ilaç etken maddeleri ile etkileşmeden önceki ve etkileşim sonrasındaki elektrokimyasal davranışlarının farkı değerlendirilerek, bu ilaçların hedef doku ve organlardaki etkilerinin belirlenebileceği söylenebilir.
- Elektrokimyasal davranışın incelenmesinde ve deneysel verilerin değerlendirilerek olası tepkime mekanizmasının önerilmesinde, moleküle ait teorik hesaplamaların önemli bir yere sahip olduğu düşünölmektedir. Çünkü, bir maddenin elektron alış/verişine katılan orbitallerinin HOMO–LUMO orbitalleri olduğu ve radikalik ara ürünlerin oluşumunda SOMO orbitallerinin bağlıl

enerjilerinin önemli olduğu bilinmektedir. Mekanizma önerme ve ara ürün analizine yönelik çalışmalarda moleküle ait bu orbital gruplarının ve bu grupların bağıl enerjilerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu bağlamda tez çalışmasında HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF moleküllerinin elektrokimyasal davranışlarının belirlenmesinde teorik hesaplamalar ilk kez kullanılmış ve deneysel sonuçlar hesaplama sonuçları ile desteklenerek epkime mekanizmaları önerilmiştir. Bunun yanında sözkonusu mekanizmaların daha ayrıntılı ve doğru şekilde aydınlatılması için olası ara ürünlere ve aktifleşmiş komplekslere ait hesaplamaların da yapılması ve en olası mekanizmaların belirlenmesinin mümkün olduğu düşünülmektedir.

- Gerekli ön çalışmalar yapıldıktan sonra geliştirilen voltametrik yöntemlerin tayin ve teşhis için kullanılacak olması durumunda, elektrokimyasal çalışma sistemlerinin yerinde analiz ve ölçüm için taşınabileceği ve kurulumunun oldukça basit olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda; HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF tayini için geliştirilen voltametrik yöntemlerin söz konusu ilaçları kullanan hastaların buldukları yerde tayin çalışmaları yapılabilir.
- Voltametrik tayin yöntemi geliştirme çalışmalarında kullanılan geleneksel çalışma elektrotlarının potansiyel aralığında elektrokimyasal aktifliğe sahip olmayan ilaç etken maddelerinin tayini ve aynı potansiyelde indirgenme ve/veya yükseltgenme pikine sahip maddelerin eş zamanlı tayinine yönelik yapılacak çalışmalarda, modifiye elektrotların ve film elektrotların kullanılması önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Buna göre ADCE yüzeyindeki indirgenme pikleri ayrılamayan İNDA ve PER'in eş zamanlı tayini için alternatif çalışma elektrotlarının (modifiye, film veya kompozit elektrotlar gibi) geliştirilmesine yönelik çalışmaların yapılmasının olumlu sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.
- Elektrokimyasal çalışmaların gerekli modifikasyonlar ve iyileştirmeler yapıldıktan sonra tekli ve çoklu tayinlerde geleneksel olarak kullanılan ve kullanılması esnasında oldukça fazla kimyasalın harcandığı, bazı durumlarda

yeterli gözlenebilme sınırları için oldukça maliyetli bileşenlerin kullanılmasını zorunlu kılan kromatografik yöntemlere alternatif olabilir.

- Elektrokimyasal çalışmalarda pik potansiyelleri yeterince ayırlamayan maddelerin eş zamanlı tayini için elektrokimyasal yöntemlerin kromatografik sistemler ile kombine halde kullanılabileceği, böylelikle, kromatografik yöntemlerin ayırma gücü ile elektrokimyasal yöntemlerin daha düşük derişimlerde çalışabilme olanağı birleştirilmiş olacağından, daha etkin analizlerin yapılabileceği düşünülmektedir. Bunun için, kromatografik sistemlere dedektör olarak voltametrik sıyırma yöntemlerinin adapte edilmesi; HKA, İNDA, PER, MOE ve ZOF tayininin yanında diğer kromatografik ve elektrokimyasal tayinlere her iki yöntemin üstünlüklerini birleştirerek yeni yöntemlerin ortaya çıkarılmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Albu, F., Georgit, C., David, V. and Medvedovici, A. 2005. Liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry method for determination of indapamide in serum for single/multiple dose bioequivalence studies of sustained release formulations. *Journal of Chromatography B*, Vol. 816, pp. 35–40.
- Alnajjar, A.O. 2007. Simultaneous CE Determination of Captopril and Indapamide in Pharmaceuticals and Human Plasma. *Chromatographia*, Vol. 68, (No. 5/6), pp. 437–442.
- Anonim. 2010. Web sitesi: <http://www.adeka.com.tr>, Erişim Tarihi: 15 Mayıs 2011
- Anonim. 2010. Web sitesi: <http://www.biofarma.com.tr>, Erişim Tarihi: 16 Nisan 2011
- Anonim. 2010. Web sitesi: <http://www.ilacabak.com>, Erişim Tarihi: 15 Nisan 2011
- Anonim. 2010. Web sitesi: <http://www.ilacrehberi.com>, Erişim Tarihi: 15 Şubat 2011, 20 Mart 2011, 15 Nisan 2011
- Anonim. 2010. Web sitesi: <http://www.saglik.gov.tr>, Erişim Tarihi: 20 Nisan 2011
- Anonymous. 2010. <http://www.ilacpedia.com>, Erişim Tarihi: 15 Nisan 2011
- Anonymous. 2010. <http://www.menarini.com>, Erişim Tarihi: 15 Mart 2011, 20 Nisan 2011
- Anonymous. 2010. <http://www.wikipedia.org>, Erişim Tarihleri: 15, 16, 17 Nisan 2011
- Atta, N.F., Darwish, S.A., Khalil, SE. and Galal, A. 2007. Effect of surfactants on the voltammetric reponse and determination of an antihypertensive drug. *Talanta*, Vol. 72, pp. 1438–1445.
- Attia, A.K. 2010. Determination of antihypertensive drug moexipril hydrochloride based on the enhancement effect of sodium dodecyl sulfate at carbon paste electrode. *Talanta*, Vol. 81; pp. 25–29.
- Baing, M.M., Vaidya, V.V., Sane, R.T., Menon, S.N. and Dalvi, K. 2006. Simultaneous RP-LC Determination of Losartan Potassium, Ramipril, and Hydrochlorothiazide in Pharmaceutical Preparations. *Chromatographia*, Vol. 64, (No. 5/6), pp. 293–296.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R. 2001. *Electrochemical Methods, Fundamentals and Application*, 2nd edition, John Wiley and Sons inc. New York, USA.
- Barek, J., Peckova, K., and Vyskocil, V. 2008. Adsorptive stripping voltammetry of environmental carcinogens. *Current Analytical Chemistry*, Vol. 4 (3); pp. 242–249.
- Bo, L.B., Mazzucchelli, P., Maezo, A. 2000. Assay of zofenopril and its active metabolite zofenoprilat by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, Vol. 749, pp. 287–294.

- Bond, A.M. 1980. Modern polarographic methods in analytical chemistry, Marcel Dekker Inc., New York
- Bozal, B., Doğan-Topal, B., Uslu, B., Özkan, SA. and Aboul-Enein, H.Y. 2009. Quantitative Analysis of Irbesartan in Pharmaceuticals and Human Biological Fluids by Voltammetry. *Analytical Letters*, Vol. 42, pp. 2322–2338.
- Brett, C.M.A., Brett, A.M.O. 1994. *Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, New York, USA.
- Carlucci, G. Federico, L.D. and Iuliani, P. 2010. Simultaneous Determination of Zofenopril and Hydrochlorothiazide in Tablets Using Derivative UV Spectrophotometry. *Analytical Letters*, Vol. 43, pp. 2609–2617.
- Carlucci, G., Federico, LD. and Iuliani, P. 2010. HPLC-DAD method for the simultaneous determination of zofenopril and hydrochlorothiazide in oral pharmaceutical formulations. *J. Sep. Sci.*, Vol. 33, pp. 1717–1722.
- Carlucci, G., Federico, L.D. and Iuliani, P. 2010. Simultaneous Determination of Zofenopril and Hydrochlorothiazide in Tablets Using Derivative UV Spectrophotometry. *Analytical Letters*, Vol. 43, pp. 2609–2617.
- Chen, W.D., Liang, Y., Zhang, H., Li, H., Xiong, Y., Wang, GJ. and Xie, L. 2006. Simple, sensitive and rapid LC–MS method for the quantitation of indapamide in human plasma—application to pharmacokinetic studies. *Journal of Chromatography B*, Vol. 842, pp. 58–63.
- Ciborowski, M., Icardo, M.C., Mateo, JVG. and Calatayud, J.M. 2004. FI chemiluminometric study of thiazides by on-line photochemical reaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 36, pp. 693–700.
- Çakırer, O., Taşdemir, İ.H. 2010. Electrochemical and Spectrophotometric Methods to Assay of Risperidone an Antipsychotic Drug in Pharmaceutical and Biological Samples. *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 22, (8), pp. 6353–6365.
- Ding, L., Yang, L., Liu, F., Ju, W. and Xiong, N. 2006. A sensitive LC–ESI-MS method for the determination of indapamide in human plasma: Method and clinical applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 42, pp. 213–217.
- El-Dosky, H.S., Ghoneim, E.M. and Ghoneim, M.M. 2005. Voltammetric behavior and assay of the antibiotic drug cefazolin sodium in bulk form and pharmaceutical formulation at amercury electrode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 39, pp. 1051–1056.
- Elshanawane, A.A., Mostafa, S.M. and Elgawish, M.S. 2008. Development and Validation of LC Method for Simultaneous Determination of Two Binary Mixtures Containing Indapamide. *Chromatographia* Vol. 67, (No. 9/10), pp. 837–840.
- Emara, S., El-Gindy, A., El-Sharbagi, A.N. and Hadad, G. 2003. Utility of copper(II) oxide as a packed reactor in flow injection assembly for rapid analysis of

some angiotensin converting enzyme inhibitors. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 489, pp.115–123.

- Erdoğan, D.A., Taşdemir, İ.H., Erk, N. and Kılıç, E. 2011. Electrochemical Behavior of Moclobemide at Mercury and Glassy Carbon Electrodes and Voltammetric Methods for its Determination. *Collect. Czech. Chem. Commun.* Vol.76 (5), pp. 423–442.
- Erk, N. 2001. Comparison of spectrophotometric and an LC method for the determination perindopril and indapamide in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 26, pp. 43–52.
- Ertürk, S., Çetin, S.M. and Atmaca, S. 2003. Simultaneous determination of moexipril hydrochloride and hydrochlorothiazide in tablets by derivative spectrophotometric and high-performance liquid chromatographic methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 33, pp. 505- 511.
- Fei, N., Jiuru, L. and Weifen, N. 2005. Chemiluminescence determination of indapamide using indapamide-imprinted polymer as recognition material. *Analytica Chimica Acta* Vol. 545, pp.129–136.
- Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; M. A. Robb; J. R. Cheeseman; J. A. Montgomery, Jr.; T. Vreven; K. N. Kudin; J. C. Burant; J. M. Millam; S. S. Iyengar; J. Tomasi; V. Barone; B. Mennucci; M. Cossi; G. Scalmani; N. Rega; G. A. Petersson; H. Nakatsuji; M. Hada; M. Ehara; K. Toyota; R. Fukuda; J. Hasegawa; M. Ishida; T. Nakajima; Y. Honda; O. Kitao; H. Nakai; M. Klene; X. Li; J. E. Knox; H. P. Hratchian; J. B. Cross; C. Adamo; J. Jaramillo; R. Gomperts; R. E. Stratmann; O. Yazyev; A. J. Austin; R. Cammi; C. Pomelli; J. W. Ochterski; P. Y. Ayala; K. Morokuma; G. A. Voth; P. Salvador; J. J. Dannenberg; V. G. Zakrzewski; S. Dapprich; A. D. Daniels; M. C. Strain; O. Farkas; D. K. Malick; A. D. Rabuck; K. Raghavachari; J. B. Foresman; J. V. Ortiz; Q. Cui; A. G. Baboul; S. Clifford; J. Cioslowski; B. B. Stefanov; G. Liu; A. Liashenko; P. Piskorz; I. Komaromi; R. L. Martin; D. J. Fox; T. Keith; M. A. Al-Laham; C. Y. Peng; A. Nanayakkara; M. Challacombe; P. M. W. Gill; B. Johnson; W. Chen; M. W. Wong; C. Gonzalez; and J. A. Pople, Gaussian 03, Revision B.03, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.
- Gao, F., Ding, L., Ma, P. and Wu, F. 2010. Simultaneous Analysis of Zofenopril and Its Active Metabolite Zofenoprilat in Human Plasma by LC–ESI-MS Using Pre-Column Derivatization with p-Bromophenacyl Bromide. *Chromatographia* Vol.71, (No. 11/12), pp. 1007–1014.
- Gao, X., Chen, J., Mei, N., Tao, W., Jiang, W. and Jiang, X. 2005. HPLC Determination and Pharmacokinetic Study of Indapamide in Human Whole Blood. *Chromatographia* Vol. 61,(No. 11/12), pp. 581–585.
- Garrido, J.A., Rodriguez, R.M., Bastida, R.M. and Brillas, E. 1992. Study by cyclic voltammetry of a reversible surface charge transfer reaction when the reactant diffuses to the electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* Vol. 324, pp.19–32.

- Georgakakou, S., Kazanis, M. and Panderi, I. 2010. Hydrophilic interaction liquid chromatography/positive ion electrospray ionization mass spectrometry method for the quantification of perindopril and its main metabolite in human plasma. *Anal Bioanal Chem*, Vol. 397, pp. 2161–2170.
- Gonzalez, O., Iriarte, G., Rico, E., Ferreiros, N., Maguregui, M.I., Alonso, R.M. and Jimenez, R.M. 2010. LC–MS/MS method for the determination of several drugs used in combined cardiovascular therapy in human plasma. *Journal of Chromatography B*, Vol. 878; pp. 2685–2692.
- Gosser, Jr D.K. 1994. *Cyclic Voltammetry, Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH Publishers, Inc, New York, USA.
- Gupta, V.K., Jain, R., Lukram, O., Agarwal, S. and Dwivedi, A. 2011. Simultaneous determination of ramipril, ramiprilat and telmisartan in human plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta* Vol. 83, pp. 709–716.
- Hammerich, O., Lund, H. (Editörler), 2001. *Organic Electrochemistry*, 4th edition, Marcel Dekker Inc. New York, USA.
- Hang, T.J., Zhao, W., Liu, J., Song, M., Xie, Y., Zhang, Z., Shen, J. and Zhang, Y. 2006. A selective HPLC method for the determination of indapamide in human whole blood: Application to a bioequivalence study in Chinese volunteers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 40, pp. 202–205.
- Hilali, A., Jimenez, J.C., Callejon, M., Bello, M.A. and Guiraum, A. 2005. Electrochemical study of imipenem's primary metabolite at mercury electrode voltammetric determination in urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 38, pp. 768–775
- Huang, T., He, Z., Yang, B., Shao, L., Zheng, X. and Duan, G. 2006. Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide in human plasma by reverse-phase HPLC from linear gradient elution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, pp. 644–648.
- Ivanović, D., Malenović, A., Jančić, B., Medenica, M. and Mašković, M. 2007. Monitoring of Impurity Level of Valsartan and Hydrochlorothiazide Employing an RP-HPLC Gradient Mode. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, Vol. 30; pp. 2879–2890.
- Jain, R., Jadon, N. and Radhapyari, K. 2007. Cathodic adsorptive stripping voltammetric studies on lamivudine: An antiretroviral drug. *Journal of Colloids and Interface Science*, Vol. 313, pp. 254–260.
- Jain, R., Radhapyari, K. and Jadon, N. 2007. Adsorptive stripping voltammetric behavior and determination of anticholinergic agent oxybutynin chloride on a mercury electrode. *Journal of Colloids and Interface Science*, Vol. 314, pp. 572–577.
- Kayaalp, S.O. 1998. *Rasyonel ve Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe Taş Kitapçılık, Ankara, Türkiye.
- Kolocouri, F., Dotsikas, Y., Apostolou C., Kousoulos C. and Loukas Y.L. 2007. Simultaneous determination of losartan, EXP-3174 and hydrochlorothiazide

in plasma via fully automated 96-well format-based solid-phase extraction and liquid chromatography–negative electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, Vol. 387, pp. 593–601.

- Li, H. He, J., Liu, Q., Huo, Z., Liang, S. and Liang, Y. 2011. Simultaneous analysis of hydrochlorothiazide, triamterene and reserpine in rat plasma by high performance liquid chromatography and tandem solidphase extraction. *J. Sep. Sci.*, Vol. 34, pp. 542–547.
- Li, H., He, J., Liu, Q., Huo, Z., Liang, S., Liang, Y., Ito, Y. 2011. Simultaneous Determination of Hydrochlorothiazide and Reserpine in Human Urine by LC with a Simple Pre-Treatment. *Chromatographia*, Vol. 73, pp. 171–175.
- Li, L., Sun, J., Yang, P. and He, Z. 2006. Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Mass Spectrometric Method for the Determination of Hydrochlorothiazide in Human Plasma: Application to a Pharmacokinetic Study. *Analytical Letters*, Vol. 39, pp. 2797–2807.
- Liang, Y., Li, H., Chen, W.D., Liu, X.D., Wang, G.J. and Xie, L. 2006. Simple, Sensitive, and Rapid LC–MS Method for the Quantitation of Indapamide in Human Plasma—Application to Pharmacokinetic Studies. *Analytical Letters*, Vol. 39, pp. 1365–1379.
- Liu, F., Xu, Y, Gao, S., Zhang J. and Guo, Q. 2007. Determination of hydrochlorothiazide in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 44, pp. 1187–1191
- Liu, F., Zhang, J., Xu, Yu., Gao, S. and Guo, Q. 2008. Simultaneous Determination of Hydrochlorothiazide and Valsartan in Human Plasma by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Letters*, Vol. 41, pp. 1348–1365.
- Lu, M., Tong, P., Xiao, H., Xia, S., Zheng, X., Liu, W., Zhang, L. and Chen, G. 2007. A new method for screening and determination of diuretics by on-line CE-ESI-MS. *Electrophoresis*, Vol. 28, pp. 1461–1471.
- Maggio, R.M., Castellano, P.M. and Kaufman, T.S. 2008. A multivariate approach for the simultaneous determination of losartan potassium and hydrochlorothiazide in a combined pharmaceutical tablet formulation. *Anal Bioanal Chem*. Vol. 391, pp. 2949–2955.
- Maya, F., Estela, J.M. and Cerdà, V. 2010. Interfacing on-line solid phase extraction with monolithic column multisyringe chromatography and chemiluminescence detection: An effective tool for fast, sensitive and selective determination of thiazide diuretics. *Talanta*, Vol. 80, pp. 1333–1340.
- Medenica, M., Ivanovic, D., Maskovic, M., Jancic, B., Malenovic, A. 2007. Evaluation of impurities level of perindopril *tert*-butylamine in tablets, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 44, pp. 1087–1094.
- Obando, M.A., Estela, J.M. and Cerdà, V. 2008. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in tablets by high-performance

low-pressure chromatography using a multi-syringe burette coupled to a monolithic column. *Anal Bioanal Chem*, Vol.391, pp. 2349–2356.

- Obando, M.A., Estela, J.M. and Cerda, V. 2008. Multi-syringe chromatography (MSC) system for the on-line solid-phase extraction and determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in superficial water, groundwater and wastewater outlet samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 48, pp.212–217
- Omar, M.A. 2010. Spectrophotometric and Spectrofluorimetric Determination of Certain Diuretics Through Ternary Complex Formation with Eosin and Lead (II). *J Fluoresc*. Vol. 20, pp. 275–281.
- Ozoemena, K.I., Stefan, R.I., Van Staden, J.K.F. and Aboul-Enein, H.Y. 2004. Utilization of maltodextrin based enantioselective, potentiometric membrane electrodes for the enantioselective assay of *S* perindopril. *Talanta*, Vol. 62, pp. 681–685.
- Öztürk, F., Taşdemir, İ.H., Durmuş Z. and Kılıç, E. 2010. Electrochemical Behavior of Disopyramide and its Adsorptive Stripping Determination in Pharmaceutical Dosage Forms And Biological Fluids. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, Vol. 75, (6), pp. 685–702.
- Parekh, S.A., Pudage, A., Joshi, S.S., Vaidya, V.V., Gomes, N.A. and Kamat, S.S. 2008. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide, quinapril and quinaprilat in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, Vol. 873, pp. 59–69.
- Radi, A. 2001. Stripping voltammetric determination of indapamide in serum at castor oil-based carbon paste electrodes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 24, pp. 413–419.
- Radi, A. 2003. Square-wave adsorptive cathodic stripping voltammetry of pantoprazole. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 33, pp. 687–692.
- Razak, O.A. 2004. Electrochemical Study of Hydrochlorothiazide and its determination in urine and tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 34, pp. 433–440.
- Rezaei, B., Damiri, S. 2008. Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Electrode as a Sensor for Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Hydrochlorothiazide. *IEEE Sensors Journal*, Vol.8, (9), pp.1523–1529.
- Ribeiro, D.S.M., Prior, J.A.V., Santos, J.L.M., Lopes, J.A. and Lima, J.L.F.C. 2009. Exploiting the oxidative coupling reaction of MBTH for indapamide determination. *Talanta*, Vol. 79, pp. 1161–1168.
- Sagirli, O., Önal, A., Toker, S.E. and Şensoy, D. 2007. Simultaneous HPLC Analysis of Olmesartan and Hydrochlorothiazide in Combined Tablets and in vitro Dissolution Studies. *Chromatographia*, Vol. 66, (No. 3/4), pp. 213-218.
- Salehi, H.M., Amin, A.S. and El-Mammlı, M. 2001. New Colorimetric Methods for the Determination of Indapamide and its Formulations. *Mikrochim. Acta* Vol. 137, pp. 185–189.
- Scholz, F. (Editor). 2010. *Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany.

- Shaikh, S., Thusleem, O.A., Muneera, M.S., Akmal, J., Kondaguli, A.V. and Ruckmani, K. 2008. A simple and rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of bisoprolol fumarate and hydrochlorothiazide in a tablet dosage form. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 48, pp.1055–1057
- Song, M., Hang, T., Zhao, H., Wang, L., Ge, P. and Ma, P. 2007. Simultaneous determination of amiloride and hydrochlorothiazide in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry with positive/negative ion-switching electrospray ionisation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Vol. 21, pp. 3427-3434.
- Sousa, M.A., Gonçalves, C., Cunha, E., Hajšlová, J. and Alpendurada, M.F. 2011. Cleanup strategies and advantages in the determination of several therapeutic classes of pharmaceuticals in wastewater samples by SPE–LC–MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* Vol. 399, pp. 807–822.
- Stefan, R.I., Van Staden, J.K.F. and Aboul-Enein, H.Y. 1999. S-Perindopril Assay Using a Potentiometric, Enantioselective Membrane Electrode. *Chirality*, Vol.11, pp. 631–634.
- Stefan, R.I., Van Staden, J.K.F., Bala, C. and Aboul-Enein, H.Y. 2004. On-line assay of the S-enantiomers of enalapril, ramipril and pentopril using a sequential injection analysis/amperometric biosensor system. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 36, pp. 889–892.
- Stefan, R.I., Van Staden, J.K.F., Mulaudzi, L.V. and Aboul-Enein, H.Y. 2002. On-line simultaneous determination of S- and R-perindopril using amperometric biosensors as detectors in flow systems. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 467, pp. 189–195.
- Stolarczyk, M., Anna, M. and Krzek, J. 2008. Chromatographic and Densitometric Analysis of Hydrochlorothiazide, Valsartan, Kandesartan, and Enalapril in Selected Complex Hypotensive Drugs. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, Vol. 31, pp. 1892–1902.
- Suo, X., Deng, Y., Hao, A. 2005. Determination of lauroyl-indapamide in rat whole blood by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, Vol. 819, pp. 191–196.
- Süslü, İ., Altınöz, S. 2002. Two derivative spectrophotometric determinations of indapamide in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 30, pp. 357–364.
- Tagliari, M.P., Stulzer, H.K., Murakami, F.S., Kuminek, G., Valente, B., Oliveira, P.R. and Silva, M.A.S. 2008. Development and Validation of a Stability-Indicating LC Method to Quantify Hydrochlorothiazide in Oral Suspension for Pediatric Use. *Chromatographia*, Vol. 67, (No. 7/8), pp. 647–652.
- Taşdemir, İ.H., Akay, M.A., Erk, N. and Kılıç, E. 2010. Voltammetric Behavior of Telmisartan and Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetric Method for Its Assay in Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Fluids. *Electroanalysis*, Vol. 22,(17–18), pp. 2101 – 2109.

- Taşdemir, İ.H., Çakırer, O., Erk, N. and Kılıç, E. 2011. Square-Wave Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetry Of Risperidone. *Collect. Czech. Chem. Commun.* Vol.76, (3), pp. 159–176.
- Tutunji, L.F., Tutunji, M.F., Alzoubi, M.I., Khabbas, M.H. and Arida, A.I. 2010. Simultaneous determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in human plasma using HPLC coupled with tandem mass spectrometry: Application to bioequivalence studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Vol. 51, pp. 985–990.
- Tutunji, M.F., Ibrahim, H.M., Khabbas, M.H. and Tutunji, L.F. 2009. Simultaneous determination of bisoprolol and hydrochlorothiazide in human plasma by HPLC coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, Vol. 877, pp. 1689–1697.
- Van Staden, J.K.F., Stefan, R.I. and Aboul-Enein, H.Y. 2000. Amperometric biosensor based on D-aminoacid oxidase for the R-perindopril assay. *Fresenius J Anal Chem*, Vol.367, pp. 178–180.
- Van Staden, R.I.S., Lal, B. and Holo, L. 2007. Enantioselective potentiometric membrane electrodes based on C60 fullerene and its derivatives for the assay of l-Histidine. *Talanta*, Vol. 71, pp. 1434–1437.
- Van Staden, R.I.S., Lal, B., 2006. Enantioselective, Potentiometric Carbon Paste Electrodes Based on C60 Derivatives as Chiral Selectors for the Enantioanalysis of S-Clenbuterol. *Analytical Letters*, Vol. 39, pp. 1311–1319.
- Vignaduzzo, S., Maggio, R.M., Castellano, P.M. and Kaufman, T.S. 2006. PLS and first derivative of ratio spectra methods for determination of hydrochlorothiazide and propranolol hydrochloride in tablets. *Anal Bioanal Chem.* Vol.386, pp. 2239–2244.
- Vujic, Z., Crevar, M., Obradovic, V., Kuntic', V. and Markovic, S.U. 2009. Simultaneous Determination of Hydrochlorothiazide, Cilazapril and Its Active Metabolite Cilazaprilat in Urine by Gradient RP-LC. *Chromatographia*, Vol. 70, (No. 7/8), pp.1221–12225.
- Wang, J. 2000. *Analytical Electrochemistry*, John Wiley and Sons Inc. New York, USA.
- Wang, L., Zhang, Z. and Ye, B. 2006. Study on electrochemical behaviour of the anticancer herbal drug emodin. *Electrochimica Acta*, Vol. 51, pp. 5961–5965.
- Wang, Z., Zhang, Z., Zhang, X. and Fu, Z. 2004. Flow-injection inhibition chemiluminescence determination of indapamide based on luminol–ferricyanide reaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 35, pp. 1–7.
- Wopschall, R.H., Shain, I. 1967. Adsorption Effects in Stationary Electrode Polarography with a Chemical Reaction Following Charge Transfer, *Analytical Chemistry*, Vol. 39, (13), pp. 1535–1542

- Yan, T., Li, H., Deng, L., Guo, Y., Yu W., J. Fawcett, P., Zhang, D., Cui, Y. and Gu, J. 2008. Liquid chromatographic–tandem mass spectrometric method for the simultaneous quantitation of telmisartan and hydrochlorothiazide in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 48, pp. 1225–1229
- Zaho, L., Gu, S., Xu, R., Ciu, X., Gan, F. and Chen, H. 2010. Comparison of liquid chromatography-ultraviolet and chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of indapamide in human whole blood and their applications in bioequivalence studies. *Arzneimittelforschung*, Vol. 60, (7), pp. 432–439.
- Zendelovska, D., Stafilov, T. and Stefova, M. 2003. Optimization of a solid-phase extraction method for determination of indapamide in biological fluids using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, Vol. 788, pp.199–206.
- Zheng, X., Lu, M., Zhang, L., Chi, Y., Zheng, L. and Chen, G. 2008. An online field-amplification sample stacking method for the determination of diuretics in urine by capillary electrophoresis-amperometric detection. *Talanta*, Vol. 76, pp. 15–20.
- Zheng, L., Zhang, L., Tong, P., Zheng, X., Chi, Y. and Chen, G. 2010. Highly sensitive transient isotachopheresis sample stacking coupling with capillary electrophoresis-amperometric detection for analysis of doping substances. *Talanta*, Vol. 81, pp. 1288–1294.
- Zheng, X., Lu, M., Zhang, L., Chi, Y., Zheng, L. and Chen, G. 2008. An online field-amplification sample stacking method for the determination of diuretics in urine by capillary electrophoresis-amperometric detection. *Talanta*, Vol.76, pp. 15–20.
- Ziyatdinova, G.K., Budnikov, G.K. and Pogoreltsev, V.I. 2006. Determination of Captopril in Pharmaceutical Forms by Stripping Voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 61, (No. 8), pp. 798–800.
- Zoski, CG. (Editor). 2007. *Handbook of Electrochemistry*. Amsterdam, The Netherlands.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İbrahim HÜDAİ TAŞDEMİR

Doğum yeri : Ermenek/Karaman

Doğum Tarihi : 01.12.1978

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Gazipaşa Lisesi/ANTALYA (1997)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü (2005)

Yüksek Lisans :Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı (2008)

Çalıştığı kurumlar ve Yıl

Ahi Evran Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Araştırma Görevlisi,
2007/devam ediyor

SCI ve Diğer Yayınları

1. Electrochemical and Spectrophotometric Methods to Assay of Risperidone an Antipsychotic Drug in Pharmaceutical and Biological Samples
Orhan Cakırcı and **İbrahim Hüdai Taşdemir**
Asian Journal of Chemistry (2010) Vol. 22, No. 8, pp. 6353–6365
2. Electrochemical Behavior of Disopyramide and its Adsorptive Stripping Determination in Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Fluids
Funda ÖZTÜRK, **İbrahim Hüdai TAŞDEMİR**, Zehra DURMUŞ and Esmâ KILIÇ
Collect. Czech. Chem. Commun.(2010), Vol. 75, No. 6, pp. 685–702

3. Voltammetric Behavior of Telmisartan and Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetric Method for Its Assay in Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Fluids
İbrahim Hüdai Taşdemir, Mehmet Abdulkadir Akay, Nevin Erk, Esmâ Kılıç
Electroanalysis (2010), Vol. 22, No. 17–18, pp. 2101 – 2109
4. Development of a New Enrichment Method for Simultaneous Determination of Copper and Zinc in Water Samples
Harun Ciftci, Turgay Tunc, **İbrahim Hüdai Taşdemir**, Esen Ciftci
Environmental Toxicology and Chemistry (2011), Vol. 30, No.3, pp. 616–621
5. Square-wave Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetry of Risperidone
İbrahim Hüdai Taşdemir, Orhan Çakırer, Nevin Erk and Esmâ Kılıç
Collect. Czech. Chem. Commun.(2011), Vol. 76, No.3, pp. 159–176
6. Electrochemical Behavior of Moclobemide at Mercury and Glassy Carbon Electrodes and Voltammetric Methods for its Determination
Deniz Altınöz Erdoğan, **İbrahim Hüdai Taşdemir**, Nevin Erk and Esmâ Kılıç
Collect. Czech. Chem. Commun. (2011), Vol. 76, No.5, pp. 423–442