

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

284531

VOLTAMETRİK ANALİZ YÖNTEMİ İLE
BARBİTÜRATLARIN ÇEŞİTLİ ORTAMLARDA
TAYİNLERİ

Analitik Kimya Programı
Doktora Tezi

ALİ OSMAN SOLAK

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

VOLTAMETRİK ANALİZ YÖNTEMİ İLE
BARBİTÜRATLARIN ÇEŞİTLİ ORTAMLARDA
TAYİNLERİ

Analitik Kimya Programı
Doktora Tezi

ALİ OSMAN SOLAK

Rehber Öğretim Görevlisi
Dr. AYTEKİN TEMİZER

Ankara — 1981

TEŞEKKÜR

Bu ilginç araştırmayı bana doktora tezi olarak veren ve her konuda büyük yardımlarını gördüğüm Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Bilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Dr. Aytekin Temizer'e teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Polarografi	3
2.1.1. Tarihçe ve Uygulama Alanları	3
2.1.2. Teori	4
2.1.3. Çeşitli Polarografik Teknikler	10
2.2. Barbitüratlar	19
2.2.1. Barbitüratların Kimyasal Yapıları ve Sulu Çözeltilerdeki İyonlaşmaları	19
2.2.2. Barbitüratların Sentezi	22
2.2.3. Barbitüratların Çözünürlük ve Kararlılıkları	24
2.2.4. Barbitüratların Spektroskopik Özellikleri	25
2.2.5. Barbitüratların Farmakolojik Özellikleri	29
2.3. Barbitüratların Analiz Yöntemleri	33
3. Materyal ve Yöntem	41
3.1. Maddelerin Temini ve Çözeltilerin Hazırlanması	41
3.2. Barbitüratların Metillenmesi	46
3.3. Barbitüratların Hidrolizlenmesi	46
3.4. Cıva Temizlenmesi	47
3.5. Deneysel Cihaz ve Düzenekler	48
3.5.1. Polarografik Cihaz ve Düzenek	48
3.5.2. Diğer Cihazlar ve Düzenekler	49
4. Bulgular	52
4.1. Değişik Elektrolitlerde Türevsel Puls Polarog- rafik Pik Akımının pH ile Değişmesi	52

4.2.	Barbitürük Asit Türevlerinin Pik Potansiyelleri ile Elektrolit Bozunma Pik Potansiyelleri Arasındaki Farkın pH ile Değişimi	57
4.3.	Farklı Elektrolit Pik Potansiyelleri ile Barbitürat Pik Potansiyelleri Arasındaki Fark	58
4.4.	Cıva Sütunu Yüksekliğinin Pik Akımına ve Pik Potansiyeline Etkisi	59
4.5.	Sıcaklığın Pik Akımına Etkisi	63
4.6.	Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Potansiyeline Etkisi	63
4.7.	Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Akımına Etkisi	64
4.8.	Barbitüratların Pik Potansiyelleri Üzerine pH Etkisi	64
4.9.	Logaritmik Analiz ve α Değerlerinin Bulunması .	66
4.10.	Tablet Analizleri	66
5.	Tartışma ve Sonuç	70
5.1.	Destek Elektrolit Seçimi	70
5.2.	Barbitürat Pikleri ile Elektrolit Piklerinin Ayrılabilirliği	80
5.3.	Cıva Sütunu Yüksekliğinin Barbitüratların Pik Akımları ve Pik Potansiyelleri Üzerine Etkisi	85
5.4.	Sıcaklık Etkisi	94
5.5.	Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Potansiyeline Etkisi	96
5.6.	Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Akımına Etkisi	100

5.6.1.	Yöntemin Analitik Kullanılabilirliğinin Araştırılması	106
5.7.	Barbitüratların Pik Potansiyelleri Üzerine pH Etkisi	109
5.8.	Elektrot Reaksiyonunun Niteliği	113
5.9.	Polarografik Davranış Üzerine Sübstitüent Etkisi	113
5.9.1.	Barbitüratların Polarografik ve Farmakolojik Özellikleri Arasındaki İlişki	125
5.10.	Barbitürat İçeren Tabletlerin Türevsel Puls Polarografik Analizleri	127
Özet	132
Summary	135
Kaynaklar	138
Ek 1.	Pik Akımının Hesaplanması	154
Ek 2.	Pik Potansiyelinin Hesaplanması	155
Ek 3.	Analizi Yapılan Ticari İlaçlar	155
Özgeçmişim	156

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<u>Şekil No.</u>	<u>Sayfa No.</u>
2.1. Cd ⁺⁺ iyonlarının 1 F HCl çözeltisindeki normal polarogramı	6
2.2. Normal polarografi dalgasının ve alternatif akım polarografisinde pikin şematik görünüşü . . .	12
2.3. Kare dalga polarografisinde doğrusal değişen voltaj üzerine bindirilen kare dalga voltajı, faradik akım ve kapasitif akım değişimleri . . .	14
2.4. Puls Polarografisinde uygulanan artan genlikli potansiyel pulsları	15
2.5. Türevsel puls polarografisinde uygulanan potansiyel pulsları	18
3.1. Deiyonize üçlü damıtık su damıtma düzeneği ..	51
5.1. Fênobarbitalin 0.1 N NaOH çözeltisinde zamana karşı türevsel puls polarogramı.	72
5.2. Allobarbitalin 0.05 M Borat tamponunda değişik pH değerlerinde türevsel puls polarografik pikleri	774
5.3 a-g Barbitüratların değişik tamponlarda pik akımlarının pH ile değişimleri	75-78
5.4. Barbitüratların 0.05 M Borat tamponunda pik akımlarının pH ile değişmesi	79
5.5. 0.05 M Borat tamponunun pH 9.00 da türevsel puls polarografik piki	81
5.6. 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.00) allobarbital ve elektrolitintürevsel puls polarografik pikleri	82

- 5.7. Barbitürat ve 0.05 M Borat tamponu bozunma pik potansiyelleri arasındaki farkın pH ile değişmesi 84
- 5.8 a,b Amobarbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel puls polarografik pik akımının civa sütunu yüksekliği ile(a) ve civa sütunu yüksekliğinin kare kökü ile (b) değişimi86-87
- 5.9 a,b Barbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel ^{puls} polarografik pik akımının civa sütunu yüksekliği ile (a) ve civa sütunu yüksekliğinin kare kökü ile(b) değişimi 88-89
- 5.10. Artan pentobarbital konsantrasyonu ile elektrolit (0.05 M Borat, pH 9.30) bozunma pik yüksekliğinin azalması. 91
- 5.11. Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin civa sütunu yüksekliği ile değişimleri(0.05 M Borat tamponu, pH 9.30). 93
- 5.12. Pentobarbitalin türevsel puls polarografik pik potansiyelinin konsantrasyonla değişimi(0.05 M Borat tamponu, pH 9.30) 97
- 5.13. Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin konsantrasyonla değişimleri(0.05 M Borat tamponu, pH 9.30). 98
- 5.14 Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin konsantrasyonun logaritmasıyla değişimleri(0.05 M Borat tamponu, pH 9.30) 99

5.15	Amobarbitalin türevsel puls polarografik pik akımının konsantrasyonla değişimi(0.05 M Borat tamponu, pH 9.30)	101
5.16	Düşük konsantrasyonlarda allobarbitalin türevsel puls polarografik pik akımı üzerine oksijenin etkisi	102
5.17	Barbitüratların 0.05 M Borat tamponunda(pH 9.30) türevsel puls polarografik kalibrasyon doğruları	104
5.18	Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin pH ile değişimleri(0.05 M Borat tamponu)	111
5.19.	Allobarbitalin türevsel puls polarografik pik potansiyelinin pH ile kayması(0.05 M Borat tamponu)	110
5.20	Barbitalin 0.05 M Borat tamponununda (pH 9.30) d.c. polarogramı	117
5.21.	Barbitüratların uygulanan potansiyele karşı $\log(i_{lim} - i/i)$ grafikleri	118
5.22.	Barbitüratların doğrusal serbest enerji grafiği	124
5.23.	Metillemenin, barbitüratların türevsel puls polarografik piki üzerine etkisi	127
5.24.	Sandoptalin 80°C de 0.4 N NaOH çözeltisinde türevsel puls polarografik pik yüksekliğinin zamana göre değişimi	129

TABLOLARIN LİSTESİ

<u>Tablo No.</u>	<u>Sayfa No.</u>
2.1. Bazı Barbitürük asit türevlerinin pK_{a_1} değerleri	21
2.2. Barbitüratların farmakolojik etki sürelerine göre sınıflandırılmaları	31
3.1. Çalışılan Barbitürük asit türevleri	42
4.1. Denenen destek elektrolitler ve pH aralıkları	53
4.2 a-g Barbitürük asit türevlerinin değişik tamponlarda pik akımlarının pH ile değişimi	54
4.3. Barbital, allobarbital ve fenobarbitalin pik potansiyelleri ile elektrolit bozunma pik potansiyeli arasındaki farkın pH ile değişimi	58
4.4. Allobarbital ve elektrolit pik potansiyelleri arasındaki fark	59
4.5. Barbitalin pik akımının değişik konsantrasyonlarda cıva sütunu yüksekliği ile değişimi	60
4.6. Amobarbitalin pik akımının değişik konsantrasyonlarda cıva sütunu yüksekliği ile değişimi	60
4.7. Barbitürük asit türevlerinin pik potansiyellerinin cıva sütunu yüksekliği ile değişimi .	61
4.8. Barbitüratların 0.05 M Borat tamponu ve pH 9.30 da pik akımlarının sıcaklıkla değişimleri	62
4.9. Barbitürük asit türevlerinin pik potansiyellerinin konsantrasyonla değişimi	63
4.10. Barbitüratların pik akımlarının konsantrasyonla değişimi	64

<u>Tablo No.</u>	<u>Sayfa No.</u>
4.11. Barbitüratların pik potansiyellerinin pH ile değişimi	65
4.12. Barbitüratların uygulanan değişik potansiyellerdeki $\log(i_{lim}-i/i)$ değerleri	66
4.13a-f Barbitürat içeren bazı tabletlerin analiz bulguları	66-69
5.1. Barbitüratların türevsel puls polarografik pik akımları için sıcaklık katsayıları	95
5.2. Barbitüratların türevsel puls polarografik tayinlerinde alt ve üst tayin sınırları	105
5.3. Varyans analiz çablosu	107
5.4. Barbitüratların türevsel puls polarografik kalibrasyon doğruları için regresyon değerleri	108
5.5. Barbitüratların pik potansiyellerinin pH ile değişim doğrularının eğimleri ve korelasyon katsayıları	112
5.6. Barbitüratların logaritmik analiz yöntemiyle bulunan α_n değerleri	119
5.7. Barbitüratların ΔE_p , $\Delta \alpha_n$ ve σ değerleri	123
5.8. Barbitüratların fizikokimyasal, polarografik ve farmakolojik özellikleri	126

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1903 yılında barbitalin sedatif-hipnotik etkiye sahip bir madde olduğunun gözlenmesinden sonra barbitürik asitlerin binlerce türevleri sentez edilmiştir. Bu türevlerden yalnız 5,5-disüstitüe olanlarında sedatif-hipnotik etkinin diğer türevlerinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Sedatif dozları 30 mg, hipnotik dozları ise 100 mg civarındadır. Barbitüratların analjezik etkileri fazla değildir. Fakat analjezik ilaçların kombinasyonlarında etki artırıcı rol oynarlar. Daha yüksek dozlarda ise anestezi amaçla kullanılabilirler. Barbitüratlar toksik etkileri en fazla olan ilaçlardandır. Letal doz ile tedavi dozu arasındaki farkın fazla olmasına karşılık zehirlenme olaylarının çoğunlukla barbitüratlardan ileri geldiği bilinmektedir. Hatta bazı durumlarda tedavi dozu bile zehirlenmelere yol açmaktadır. Bu yüzden ilaç preparatlarındaki barbitürat miktarı ve biyolojik sıvılardaki teşhis ve tayinlerinin hızlılığı büyük öneme sahiptir.

Literatürde barbitüratların, gravimetrik, sulu ve susuz ortam titrasyonları, uv ve görünür bölge spektroskopisi, fluorometrik, ince tabaka, kağıt, gaz kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve çeşitli elektrokimyasal yollarla analizlerine rastlanmaktadır.

Farmakolojik önemi olan organik maddelerin büyük bir kısmının polarografik aktivitesinin olması, polarografinin farmasötik analizlerde çok başvurulmasına neden olmuştur. Son yıllarda türevsel puls polarografisinin (TPP) geliştirilmesiyle ayrılabilirlik, tekrarlanabilirlik, duyarlık,

kesinlik, kolaylık ve cihazın ucuzluğu bakımından polarografi diğer birçok yöntemin yerine geçebilecek bir analiz yöntemi durumuna gelmiştir.

Alkaloitler(1,2), vitaminler(3,4), steroidler(5,6), estrogenler(5,7-9) ve diğer hormonlar(10,11), antibiyotikler (12-15), antiseptik ve konzervanlar(16-18), anestezikler(19), analjezikler(20,21), psikiyatride kullanılan ilaçlar(22-24) antihistaminikler(25), kardiotonikler(26), sedatifler ve antikonyülsanlar(27-29), diüretikler(30,31), antikoagülanlar (32,33), antineoplastikler(34) ve diğer birçok ilaçlar polarografi ile analiz edilebildikleri gibi ilaçların stabilite, metabolizma, organik ve inorganik safsızlık analizlerinde de bu yöntem kullanılabilir(35-37).

Barbitüratların polarografik miktar tayinleri üzerine literatürde yeterli çalışmanın bulunmaması bu çalışmanın yapılma nedenlerinden biridir. Bir diğer neden ise değişik türevlerin neden olduğu polarografik davranışları izleyerek sübstitüentlerin elektrot reaksiyonuna etkisinin incelenmek istenmesidir. Bu amaçla ülkemizde bulunan preparatlarda en çok kullanılan sekiz değişik türev seçilerek Türevsel Puls Polarografisi ile analiz yöntemi geliştirilmiş ve polarografik bulgularla elektrot reaksiyonu incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. POLAROGRAFI

2.1.1. Tarihçe ve Uygulama Alanları:

Polarografi ilk defa 1925 yılında Çekoslovak ilim adamı Prof. Jaroslav Heyrovski tarafından geliştirilmiş ve bugüne kadar bu yöntemde pek çok ilerlemeler kaydedilmiştir. Elektrolitik olarak indirgenebilen veya yükseltgenebilen inorganik ve organik maddelerin (depolarizer) çözeltileri, elektrotlardan birisi damlayan cıva olan bir hücrede elektroliz edildiklerinde akım-voltaj eğrileri bu maddeler için karakteristiktir. Akım-voltaj eğrileri yardımı ile hem kalitatif hem de kantitatif analizler yapılabilmektedir. Çok küçük hacimlerde ve oldukça düşük konsantrasyonlarda çalışılabilmesi yönünden diğer birçok yöntemlere göre üstünlükleri vardır.

Polarografinin ilk uygulamaları inorganik maddeler üzerine olmuştur. Periyodik cetvelde yer alan 103 elementin 79 tanesinin analizi yapılabilmektedir(38-40). Organik maddelere uygulaması daha sonraları başlamış ise de inorganik polarografiden çok daha geniş kullanım sahası bulmuştur. Bugün sayılamıyacak kadar çok organik maddelerin polarografik analizleri yapılmıştır ve her geçen gün bu sayı büyük bir hızla artmaktadır. Organik polarografi, maddelerin elektrokimyasal özellikleri ve reaktiviteleri hakkında bilgi edinelebilen en ucuz ve kolay yöntemlerden birisidir(41). Polarografik ölçümler ile kısa zamanda az çözelti kullanarak ve ucuz

cihazlarla; reaksiyonların tersinirliği, yavaş elektrot olayları, adsorpsiyon olayları, maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, çözeltideki maddelerin hidrate veya hidrate olmayan şekilleri, radikal, radikal anyon ve radikal katyon şeklinde olup olmadığı hakkında bilgi edinilebilmektedir. Elektrot yüzeyinde oluşan hızlı reaksiyonların, ve çözeltide oluşan yavaş reaksiyonların izlenmesinde, kinetikte hız ve denge sabitlerinin bulunmasında da polarografiden geniş ölçüde faydalanılmaktadır. Ayrıca bazı durumlarda reaksiyon ara ürünlerinin tanınması ve bunların konsantrasyonlarındaki değişme, zamana karşı gözlenebilmektedir. Moleküllerdeki yapı değişiklikleri ve süstitüentlerin reaktivite üzerine etkisi son zamanlarda polarografinin ençok uygulama alanlarından biri olmuştur(42).

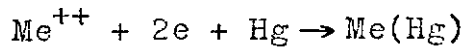
Yukarıda sayılan çeşitli kullanım alanları yanında, polarografiden ençok analitik problemlerin çözümünde yararlanılmaktadır. Analizler hem direkt hem de indirekt yolla yapılabilmektedir. Direkt yöntemde elektroaktif olan maddenin polarogramı uygun bir destek elektrolitte alınır. Indirekt yöntemde ise elektroaktif olmayan madde uygun kimyasal yollarla elektroaktif duruma dönüştürülüp yine uygun destek elektrolitte polarogramı alınır.

2.1.2. Teori:

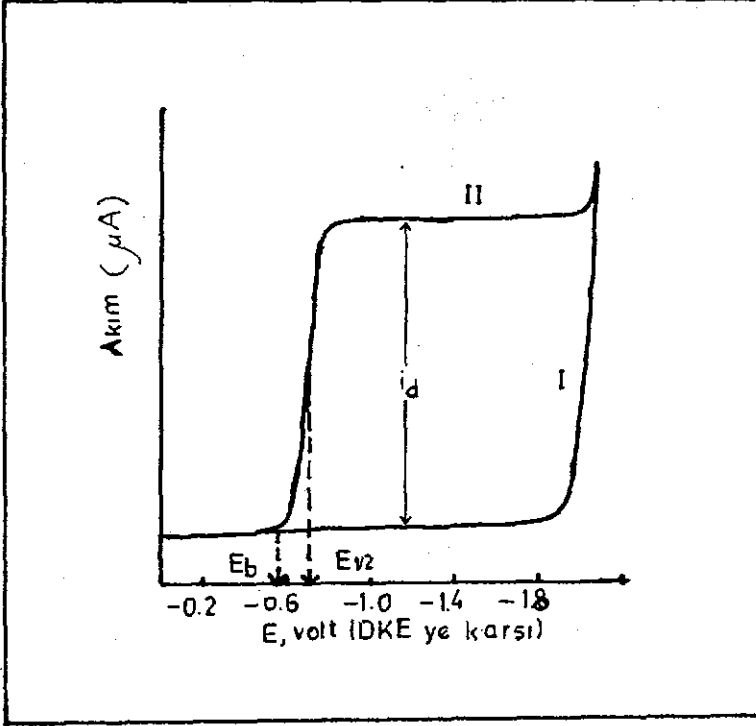
Polarografi, uygulanan potansiyele karşı oluşan akımın ölçülme esasına dayanan voltametrik bir yöntemdir(43). Özel

bir elektrolitik hücre içindeki çözeltiye polarlaşabilen bir mikro elektrot ve polarlaşmayan bir referans elektrot daldırılmasıyla elde edilen $i-E$ (akım-voltaj) eğrisine "polarogram" adı verilir. Normal polarografide (d.c. polarografisi) bu eğriler, volumetrik titrasyonlarda görülen eğriler gibi, S şeklindedirler. En yaygın olarak kullanılan referans elektrotlar; kalomel, gümüş-gümüş klorür elektrotu ve civa havazudur. Çalışma elektrotu olarak da "Damlayan Civa Elektrotu(DCE)" kullanılır. Çok ince bir kılcaldan sürekli olarak damlatılan cıvadan oluşur. Damlayan civa elektrotu kullanılmasının, her damla ile taze bir yüzey oluşması, yüzeyin çok küçük olması dolayısıyla elektrokimyasal değişmeye uğrayan maddenin çok az olması ve buna bağlı olarak tekrarlanabilirliğin yüksek olması, civa üzerinde hidrojen aşırıgeriliminin büyük olmasından oldukça negatif potansiyellerde çalışılabilmesi, cıvanın damlaması sonucu kendiliğinden bir karışma olup homojenliğin korunması gibi bir çok avantajları bulunmaktadır.

Şekil 2.1 de normal polarografide rastlanan bir polarogram görülmektedir. I eğrisi ortamdaki 1 F HCl çözeltisine, II eğrisi ise 1 F HCl çözeltisi içerisindeki 0.5 mM Me^{++} (Cd^{++}) iyonlarına aittir. Me^{++} iyonları civa damlası üzerinde



reaksiyonuna göre indirgenerek amalgam oluştururlar. Bu reaksiyonun henüz başlamadığı potansiyellerde küçük de olsa bir akımın varlığı gözlenmektedir. "Artık akım" adı verilen bu



Şekil 2.1. 0.5 mM Cd⁺⁺ iyonlarının 1F HCl çözeltisi içerisindeki (II) ve 1 F HCl çözeltisinin (I) normal polarogramları.

akımın iki nedeni vardır: Birincisi, çözelti içerisinde analiz edilecek maddeden daha elektroaktif safsızlıkların indirgenmesi (Faradaik akım), ikincisi ise cıva damlasının yüklenmesinden dolayı oluşan çift tabakanın kapasitör gibi davranmasıdır (Kapasitif akım).

Me⁺⁺ iyonlarının indirgenmeye başladığı potansiyele "bozunma potansiyeli (E_b)" denir. Bozunma potansiyelinden

itibaren çok az bir potansiyel değişmesine karşılık oluşan akımda hızlı bir artış gözlenir. Belli bir potansiyelden sonra akım sabitleşir ki bu akıma "sınır akımı" adı verilir. Tersinir elektrot reaksiyonlarında polarogramın yükselen kısmında akım-potansiyel ilişkisi aşağıdaki eşitlikle ifade edilir. (Reaksiyon ürünü çözünebilir veya cıva ile amalgam oluşturabilirse).

$$E = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{i - i_{da}}{i_{dk} - i} \quad 2-1$$

i : uygulanan potansiyeldeki akım

i_{da} : anodik sınır akımı

i_{dk} : katodik sınır akımı

R : gaz sabiti

T : mutlak sıcaklık

F : Faraday sabiti

$E_{1/2}$: yarı-dalga potansiyeli.

Bozunma potansiyelinden daha pozitif potansiyelerde Me^{++} iyonları indirgenmediği için artık akım dışında bir akım gözlenmez. Elektrotta indirgenme olmadığı için, elektrot yüzeyinde ve ana çözelti içerisindeki Me^{++} konsantrasyonu aynıdır. Bozunma potansiyelinden itibaren cıva damlası yüzeyindeki iyonlar indirgenmeye başlayacaktır. Elektrot yüzeyindeki indirgenmeden dolayı ana çözelti ve elektrot yüzeyi arasında Me^{++} konsantrasyon farkı doğacak bunun sonucunda çözültiden elektrotta doğru konsantrasyon

farkını gidermek üzere iyon hareketi başlayacaktır.

Elektrota doğru madde üç şekilde göç eder: a) Konveksiyon (mekanik karışma) ve termal karışma. b) Elektrostatik çekim (iyonik göç): Uygulanan potansiyel elektrotları yüklediğinden çözeltideki iyonlara elektrostatik kuvvet uygulayarak çeker veya iterler. c) Difüzyon : Maddenin **derişik** olduğu bölgeden (ana çözeltiden) seyreltik olduğu bölgeye (elektrot yüzeyine) hareketidir.

Analiz durgun bir ortamda yapılırsa konveksiyon ve sabit sıcaklıkta yapılırsa termal karışma önlenabilir. İyonik göçü önlemek için de elektroaktif maddenin transfer sayısını azaltmak gerekir. Eşdeğer iletkenliği yüksek olan bir tuz elektroaktif maddeden 50 kat daha **derişik** olursa, elektroaktif maddenin transfer sayısı sıfıra yaklaşır(43). Polarografide konveksiyon ve iyonik göç yok edilerek veya etkileri en aza düşürülerek maddenin elektrotta sadece difüzyonla ulaşması sağlanır.

Polarogramın yükselen kısmında eşitlik 2-1 den anlaşılacağı gibi akımı kontrol eden faktör potansiyeldir.

Sınır akımı bölgesinde elektron transferi yeteri kadar hızlıdır. Burada potansiyel ne olursa olsun akım sabittir. Elektrot yüzeyine ulaşan iyonlar hızlı bir şekilde hemen indirgendiği veya yükseltgendiği için akım elektrotta gelen madde miktarı ile artacaktır. Elektrotta gelen madde miktarı ise difüzyonla sınırlıdır. Cıva yüzeyinde madde konsantrasyonu sıfır ve difüzyon tabakasının kalınlığı da sabit

olduğu için gelen madde miktarı da sabittir. Plato bölgesinde akımın sabit olmasının sebebi budur. Sınır akımı, başka bir deyişle dalganın yüksekliği, ana çözeltideki madde konsantrasyonu ile ilkoviç eşitliği (eşitlik 2-2) gereğince doğrusaldır. İlkoviç eşitliğince belirlenen bu akıma "difüzyon akımı" da denir.

$$i_d = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C \quad 2-2$$

- i_d : difüzyon akımı (μA)
n : aktarılan elektron sayısı
D : maddenin difüzyon katsayısı (cm^2/sn)
m : cıvanın akış hızı (mg/sn)
t : damlama süresi (sn)
C : madde konsantrasyonu (m mol/lt)
607 : sabit sayılar toplamı

İlkoviç eşitliğindeki damlama süresi ve cıva akış hızı sabit tutulabilir. Aktarılan elektron sayısı belli bir reaksiyon için sabittir. Difüzyon katsayısı sadece sıcaklığa bağlı bir değişkendir. Sabit sıcaklıkta ilkoviç eşitliği

$$i_d = kC \quad 2-3$$

şeklinde yazılabilir. Bu eşitliğe göre difüzyon akımının madde konsantrasyonu ile değişimi orijinden geçen bir doğru denklemi şeklindedir. Polarografinin kantitatif analizlerde kullanılmasının esası ilkoviç eşitliğinin bu sonucudur.

Sınır akımı difüzyon kontrollü olabileceği gibi; adsorpsiyon, kinetik ve kapasitif kontrollü de olabilir. Her bir akımın cıva sütunu yüksekliğine (h) bağılı farklıdır(41). Örneğin difüzyon akımı h ile parabolik, \sqrt{h} ile doğrusal; kinetik akım h ile değişmez; adsorpsiyon akımı h ile doğrusal, \sqrt{h} ile parabolik olarak artar. Kapasitif ve adsorpsiyon akımlarının h ile değişimi aynıdır. Bütün bu akımların sıcaklıkla değişimleri de farklıdır.

Şekil 2.1 den görüldüğü gibi sınır akımının yarı olduğu değerdeki potansiyel "yarı dalga potansiyeli($E_{1/2}$)" adını alır. $E_{1/2}$ değerlerinin her madde için karakteristik olması sonucu polarografinin kalitatif analizlerde de kullanılma olanağı doğmuştur.

2.1.3. Çeşitli Polarografik Teknikler:

Normal polarografik yöntemle 10^{-3} - 10^{-4} M konsantrasyondaki madde tayini yapılabilmektedir. Bu tayin sınırı sistemde yapılan çeşitli değişikliklerle düşürülebilir. Yapılan değişikliklere göre polarografik yöntemler değişik adlar alırlar. Bunlardan bazıları: türevsel polarografi, alternatif akım polarografisi, kare dalga polarografisi, puls polarografisi ve türevsel puls polarografisidir.

Türevsel polarografide (44) birbirine giren iki dalganın daha iyi ayrılmasının sağlanması amacı vardır. Bunun için normal polarografi devresine bir kapasitör konarak çıkış voltajı giriş voltajının türevi

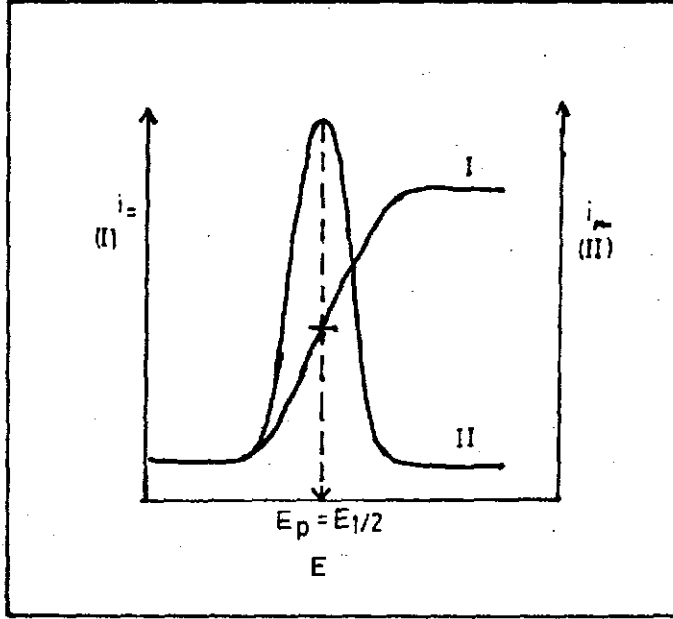
haline getirilir. Böylece normal polarografik dalga şekli yerine, yarı dalga potansiyeli yerinde bir pik akımı gözlenir ve böylece yarı dalga potansiyelleri 60-70 mV farklı dalgaların ayrılması sağlanmış olur. Ancak bu yöntemde duyarlılıkta bir kazanç yoktur. Çünkü ölçülmesi istenmeyen diğer akımların da türevi alınır.

Damlayan cıva elektrotunda cıva yüzeyinin yüklenmesinden oluşan kapasitif akım duyarlığın çok azalmasına neden olur. Depolarize iyon konsantrasyonu azaldıkça faradaik akımın azalmasına rağmen kapasitif akım değişmez. Böylece kapasitif akımın faradaik akıma oranı devamlı büyür ve faradaik akım kapasitif akımdan küçük olduğunda oran birden büyük olur. Bu artık akımı yok edecek ters yönde doğrusal değişen bir akım hücreden geçirilebilinirse de düşük depolarizer konsantrasyonlarında bu tip karşılama nadiren yeterli olur.

T a s t (v e y a S t r o b e) p o l a r o g r a f i s i n d e (45) ortalama akım yerine damlanın düşmesine yakın bir andaki akım ölçülür. Difüzyon akımı $t^{1/6}$ ile, kapasitif akım ise $t^{-1/3}$ ile orantılıdır. Yani damla hayat süresinin sonuna doğru difüzyon akımı en büyük, kapasitif akım ise en küçük değerdedir. Bu yüzden ölçüm, kapasitif akımın en küçük olduğu anda yapılarak duyarlılık artırılmış olur.

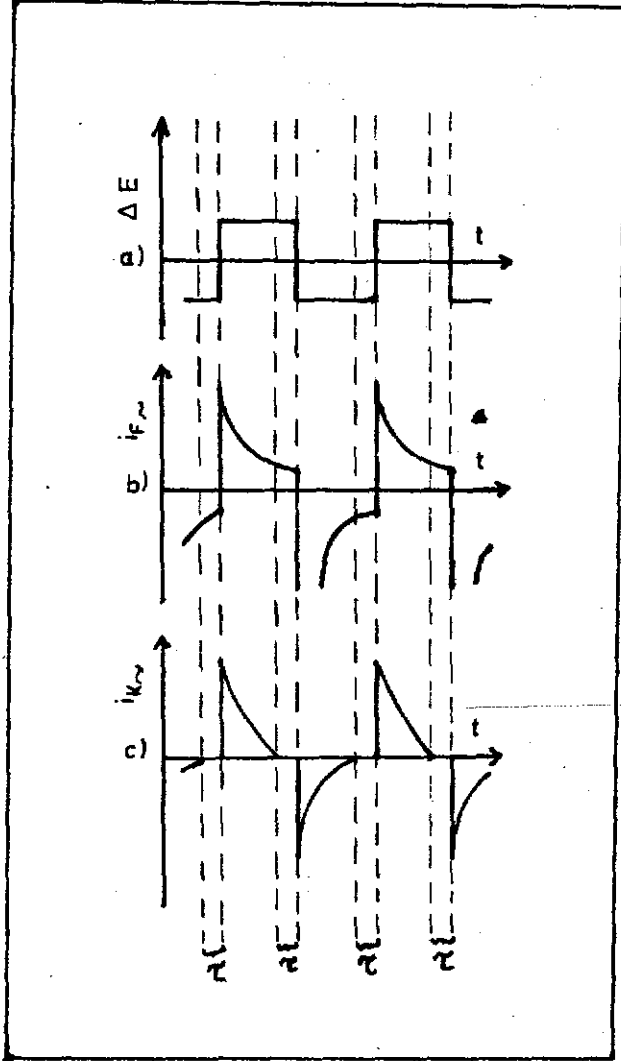
A l t e r n a t i f a k ı m (a . c) p o l a r o g r a f i s i n d e (46,47) devamlı artan doğru akım voltajına sabit ve küçük genlikli (1-50 mV) sinüzoidal

bir voltaj bindirilir. Bu alternatif akımın frekansı 1-250 devir/sn dir. Doğru akım indirgenmeyi sağlayacak değere yavaş yavaş çıkarılır. Uygulanan alternatif akım etkisi ile faradaik akım da alternatif karakter kazanır. Bu akım bir maksimum verir. Bu maksimumun bulunduğu potansiyel yaklaşık olarak doğru akım polarogramındaki $E_{1/2}$ değerindedir. Bunun türevsel polarografiden farkı, diğer akımların türevlerinin alınmamış olmasıdır. Plato bölgesinde akım potansiyel ile değişme göstermediğinden alternatif akım sifıra iner. Şekil 2.2 de doğru akım ve alternatif akım polarografisinde elde edilen polarogramlar görülmektedir. Bu teknikte akımın d.c. kısmı bir kondansatörle süzülür, a.c. kısmı ise şiddetlendirilip ölçülür.



Şekil 2.2 Normal polarografi dalgasının(I) ve alternatif akım polarografisinde pikin(II) şematik görünüşü.

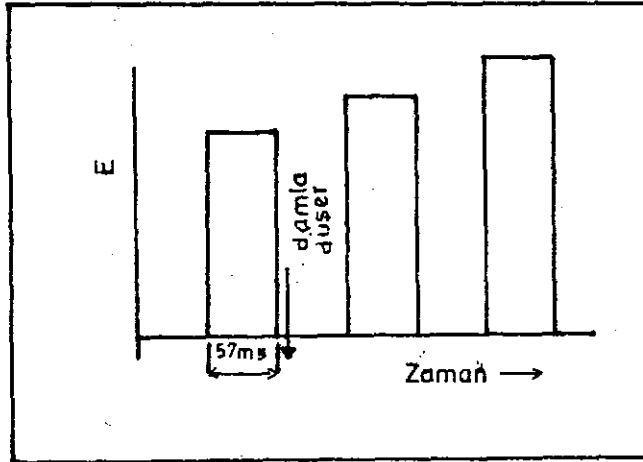
Alternatif akım polarografisinde artan d.c. voltajına sinüzoidal bir dalga bindiriliyordu. Sinüzoidal dalga yerine kare dalga bindirilirse kapasitif ve faradaik akım değişimleri daha kolay gözlenebilir. Bu tür polarografiye kare dalga polarografisi adı verilir (48). Burada iki türlü kapasitif akım oluşur. Bunlardan birisi elektriksel çift tabakanın yükünün periyodik değişmesinden, diğeri ise damla yüzeyinin büyümesindedir. Bu teknikte her iki kapasitif akımın da yok edilmesine çalışılır. Şekil 2.3 de görüldüğü gibi faradaik akım kapasitif akımdan daha yavaş azalır. Bundan yararlanarak akım, kare dalga impulsunun bütün periyodu boyunca ölçüleceğine, τ kadar ufak bir zaman biriminde ölçülür. Bu anda kapasitif akım sifıra çok yakın olup, faradaik akım oldukça büyüktür. Damlanın büyümesinden oluşan kapasitif akım ise damla ömrünün sonuna doğru çok küçülür. Bu esnada artık yüzey büyümesi çok yavaştır ve bu yüzden kapasitif akım da çok azdır. Buna rağmen bu akıma zıt yönde bir voltajla karşılanabilir. Kare dalganın tavan kısmı eğimli yapılarak karşı bir voltaj sağlanır. Elde edilen polarogram yine pik şeklindedir ve basamaklı bir görünüşü vardır. Pik şeklinde oluşundan dolayı akım çok az hata ile okunabilir. Duyarlığı oldukça yüksek olup 10^{-3} - 10^{-6} M madde tayini yapılabilir. Ayırma gücü normal polarografiden yüksektir. Kare dalga polarografisinde impuls süresi 1/450 sn, ölçme süresi ise $\tau = 1/3600$ sn.dir.



Şekil 2.3. Kare dalga polarografisinde doğrusal değişen voltaj üzerine bindirilen kare dalga voltajı(a), faradaik akım(b) ve kapasitif akım (c) değişimleri.

Duyarlığın artırılmasında faradaik akımın(i_f) kapasitif akıma(i_k) oranının büyük olması gerekir. Kapasitif akım için impuls başına verilen elektrik miktarı impuls süresine bağlı değildir. Faradaik akımda ise harcanan elektrik miktarı impuls süresi ile artar. Kare dalgada 1/450 sn. olan impuls süresi 1/25 sn. yapıлып her damlada bir defa puls verilirse bu tür polarografi, p u l s p o l a r o g r a f i s i a d ı n ı a l ı r(49). Damlanın büyüme hızı damla ömrünün sonuna doğru küçülür. Bundan dolayı impuls, damla kopmadan hemen önce bir defa olarak uygulanır. İki türlü puls polarografisi vardır.

Birincisinde sabit bir doğru akım potansiyeline zamanla genliği artan impulslar bindirilir(Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Puls polarografisinde uygulanan artan genlikli potansiyel pulsları.

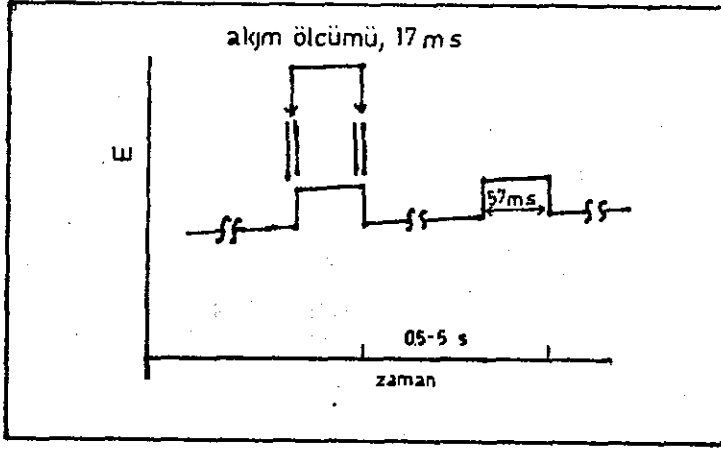
Pulsler damlanın kopmasına yakın bir zamanda 57 ms süreyle yüklenir. Damla kopunca potansiyel başlangıç değerinde kalır. Burada elde edilen polarogram normal polarografide elde edilen gibidir. Normal polarogramdan farkı basamaklı oluşudur. Impulsun ikinci yarısındaki hücre akımının farkı yükseltilir. Uygulanan polarizasyon voltajından oluşan akım şunlardan ibarettir: a) Başlangıç potansiyeli tarafından oluşturulan impulsun verilmesinden önceki akım ki buna referans akımı da denilir; b) Puls süresince elektriksel çift tabakanın yüklenip boşalmasından oluşan kapasitif akım; c) Üçüncü olarak faradaik akım. Faradaik akım, ortamda depolarizer bulunduğu zaman herbir impuls süresince oluşur. Bu akım impulsun uygulama anındaki difüzyon akımı değişmesini gösterir. Bu akımın voltaja göre değişimi basit d.c. akım polarogramını andırır. Referans akım, kare dalga polarografisinde olduğu gibi yüksek geçirgen filtre ile süzülür. Bu filtre düşük frekansları geçirmez. Kapasitif akım kare dalgada olduğu gibi yok edilir. Impuls daha uzun süreli olduğundan karşılama daha iyi yapılıır.

Böylece düzgün bir d.c. potansiyeline genliği gittikçe artan pulsler verildiğinde normal polarografideki gibi bir şekil elde edilir. Bunun sebebi ise plato bölgesinde akımın $i=0$ ile $i=i_d$ arasında değişmesi, yani a.c. akımının sabit değer almasıdır. Potansiyel, bu bölgede d.c. potan-

siyeli ile pulsla verilen potansiyel arasında değiştiğinden ve uygulanan d.c. potansiyelinde indirgenme olmadığından($i=0$) akım, $i=0$ ile $i=i_d$ (plato b6lgesi) arasında değişir. Bu t6r polarografiye normal puls polarografisi adı verilir.

T6revsel puls polarografisinde (50,51) negatif y6nde artan bir d.c. potansiyeline sabit genlikli (50 mV kadar) impulslar bindirilir(şekil 2.5). Burada da kapasitif akım ve referans akım normal puls polarografisinde olduğu gibi yok edilir. Bu polarografide yaklaşık $E_{1/2}$ yerinde bir pik elde edilir. Bunun sebebi ise plato b6lgesinde potansiyel, pulsun alt ve 6st sınırında maddeyi indirgeyecek değerde olduğundan pulstan 6nce ve sonra $i= i_d$ dir. Alternatif akım oluşmaz, $i_{ac}= 0$ olur.

T6revsel puls polarografisinde elde edilen sinyalin b6y6kl6đu uygulanan pulsun genliğine bağlıdır. Pulsun genliği arttıkça sinyalin b6y6kl6đu de artar. Bu teknik diğer b6t6n tekniklerden daha duyarlı ve daha belirgin pikler vermektedir.



Şekil 2.5. Türevsel puls polarografisinde uygulanan potansiyel pulsları.

Parry ve Osteryoung(52) türevsel puls polarografisinde tersinir reaksiyonların pik akımı için aşağıdaki formülü geliştirmişlerdir.

$$i_p = nFACD^{1/2} \pi^{-1/2} t^{-1/2} \left(\frac{\sigma-1}{\sigma+1} \right) \quad 2-4$$

Bu eşitlikte;

$$\sigma : \exp(-\Delta E n F / 2RT)$$

ΔE : puls genliği

t : pulsun uygulanmasından sonraki ölçme zamanı.

Normal puls polarografisindeki sınır akımı ise(53)

$$i_l = nFACD^{1/2} \pi^{-1/2} t^{-1/2} \quad \text{dir} \quad 2-5$$

2-4 ve 2-5 eşitliklerinden;

$$i_p = i_l \left(\frac{\sigma-1}{\sigma+1} \right) \quad 2-6$$

elde edilir. ΔE nin büyük değerleri için $(\sigma-1)/(\sigma+1)$ oranını

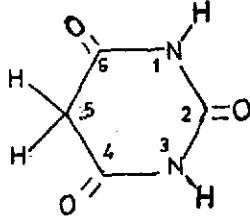
bire yaklaşıır. Küçük ΔE değerleri için birden küçüktür. Eğitlik 2-6 dan görüldüğü gibi türevsel puls polarografisinin duyarlığı normal puls polarografisinin duyarlığından büyük olamaz. Buna rağmen türevsel puls polarografisinin duyarlı olması sinyal/gürültü oranının büyük olmasındandır.

Teorik esasları henüz tam olarak geliştirilmemesine rağmen türevsel puls polarografisi farmasötik analizlerde son yollarda en çok baş vurulan polarografik tekniktir. (4,14,16,24,54).

2.2. BARBITÜRATLAR:

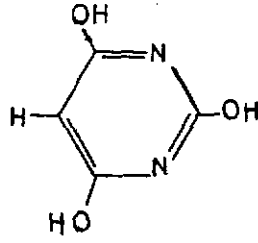
2.2.1. Barbitüretların Yapısı ve Sulu Çözeltilerdeki İyonlaşmaları.

Barbitüret serisinin en basiti olan barbitürik asitin açık formülü aşağıdaki gibidir.



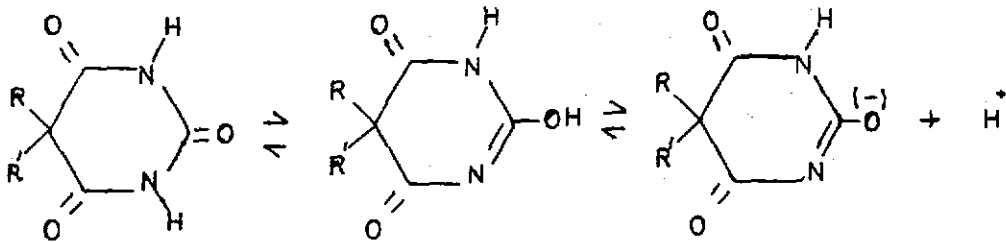
X ışınları difraksiyonu çalışmaları heterosiklik halka atomlarının barbitürik asitin oksijen atomlar ile aynı düzlemdede olduğunu göstermiştir(55).

Çözeltilerde ise yukarıda gösterilen gekli ile 2,4,6-trihidroksipirimidin yapısında tötomerik şeklinin de bulunduğu bilinmektedir(56).

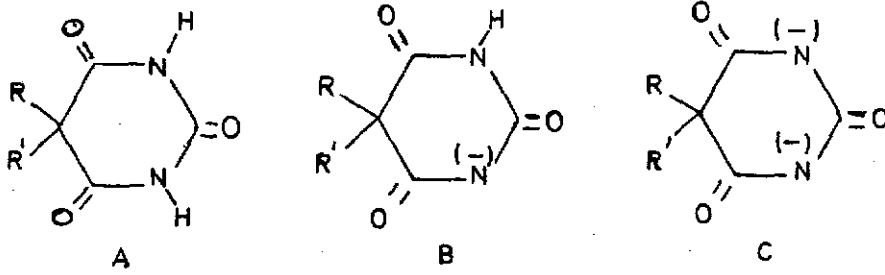


2,4,6-trihidroksipirimidin

Ayrıca kısmen enolleşmiş tautomerik şeklinde olduğu bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir(55). Sedatif ve Hipnotik etkiye sahip olan türevler 5-pozisyonundaki karbon atomuna bağlı disüstitüe türevlerdir. 5,5-disüstitüe asitlerin pKa, değerleri 7-8.5 arasındadır. Barbitürik asidin pKa değerinin 5,5-disüstitüe olanlardan 3-4 birim daha düşük olması, bunların proton kaybetme yerlerinin farklı olmasındandır. 5,5-disüstitüe barbitürik asitlerin sulu çözeltilerdeki iyonlaşma reaksiyonu Briggs ve diğerleri (57) tarafından şu şekilde açıklanmıştır:



Zuman ve diğeri(58) ise enol şekline geçmeden nötral molekülün doğrudan doğruya iyonlaştığını kabul etmişlerdir. İki değerli asit olan 5,5-disüstitüe barbitürük asitler sulu çözeltilerinde nötral molekül(A), monoanyon(B) ve dianyon(C) şeklinde bulunabilirler. Monoanyon ve dianyon rezonansa



girerek stabilize olurlar. Bu rezonans sınır şekillerinden birisi de Briggs ve diğeri(57) tarafından öne sürülen anyondur.

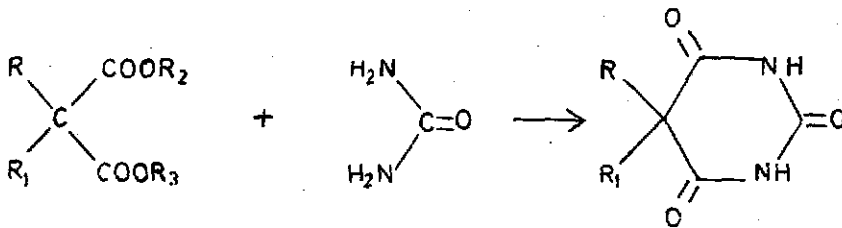
Tablo 2.1. Bazı barbitürük asit türevlerinin pK_{a1} değerleri

Madde	pK_{a1}	Kaynak
Barbital	7.91	(59)
Amobarbital	7.94	(59)
Pentobarbital	8.11	(59)
Allobarbital	7.79	(59)
Sandoptal	7.63	(60)
Sekobarbital	7.92	(61)
Fenobarbital	7.41	(59)

5,5-disübstitüe barbitürük asitlerde asitliğe etki eden en önemli faktör, indüktif etkidir(I). Sübstitüentlerin büyümesi asiti zayıflatır(+I). Bu durum barbital, amobarbital ve pentobarbitalde açık olarak görülmektedir. Fenil grubu barbitürat anyonunu kararlı hale getirerek asitliği artırır(-I). Fenobarbital, barbitalden daha kuvvetli asittir. Etil yerine allil gruplarınının girmesi yine asitliği artırır. Çünkü doymamış karbon atomlarının affinitesi doymuş karbon atomlarının affinitesinden daha fazladır. İndüktif etkinin yanında diğer etkilerin varlığı ve asitliğin bütün etkilerin bir sonucu olduğu bilinmektedir. Ayrıca barbitüratların pKa değerlerinin birbirlerine çok yakın olmaları ve ölçümlerden gelen hatalar yüzünden asitlik karşılaştırılmalarında ihtiyatlı olmak zorunluluğunu gerektirmektedir. Nitekim literatürde raslanan pKa değerleri yönteme ve araştıracıya bağlı olarak değişmektedir.

2.2.2 Barbitüratların Sentezi.

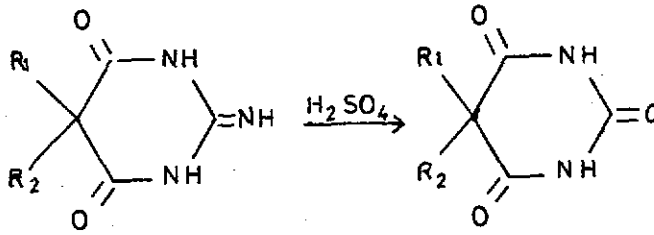
5,5-disübstitüe barbitürük asitler sodyum alkoksitli ortamda uygun disübstitüe malonik ester ve ürenin kondenzasyonu ile elde edilirler(62). 5,5-disübstitüe barbitürük asitlerin genel sentez reaksiyonu şu şekildedir;



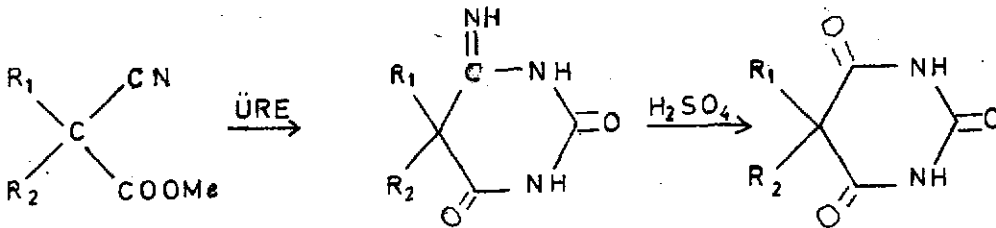
Eğer 5-karbonunda doymamış bir grup istenirse(örneğin allil gibi) önce monosüstitüe barbitürik asit hazırlanır, daha sonra allilasyon uygulanır(56).

Süstitüe malonik ester, N-alkil üre ile kondanze edilirse N-alkil barbitürik asitler; tiyoüre ile kondanze edilirse tiyobarbitürik asitler elde edilir. N-alkil türevleri üre ve malonik ester reaksiyonundan sonra dimetil sülfat veya diğer metilleyicilerle de metillenerek elde edilebilir(56).

Guanidinden imino türevleri ve bunların da H_2SO_4 ile hidroliziyle de barbitüratlar elde edilebilir(56).



Malonik ester yerine siyanoasetik ester kullanılırsa oluşan iminobarbitürik asitin H_2SO_4 ile hidrolizinden barbitüratlar elde edilebilir(56). 5-karbonunda aril grubu



içeren barbitüratlar ise arilmalonik esterlerin üre ile kondensazyonundan elde edilirler(56).

2.2.3. Barbitüratların Çözünürlük ve Kararlılıkları:

Barbitüratlar renksiz, kristalize katı maddelerdir. Erime sıcaklıkları 96-205°C arasında değişir. Suda çok az çözünürlükler fakat alkali ortamdaki çözünürlükleri fazladır(63). Barbital, suda 160 dal, 100°C deki suda 12 de 1, etanolde 15 de 1, eterde 40 dal, kloroformda 75 de 1; Amobarbital, suda 1500 de 1, etanolde 5 de 1, eterde 6 da 1, kloroformda 20 de 1; Allobarbital, suda 800 de 1, etanolde 20 de 1, eterde 30 da 1; Sandoptal, soğuk suda çok az, sıcak suda daha fazla, etanol, eter ve kbroformda çok; Sekobarbital, suda çok az etanol ve eterde çok çözünür. Pentobarbital Sodyum, suda ve etanolde çok çözünür eterde hemen hiç çözünmez.

Barbitüratların sulu çözeltilerdeki kararlılıkları üzerine yapılan çalışmalarda, kararlılığın pH ve sıcaklık ile değiştiği gözlenmiştir(64). Barbitüratlar hidroksil iyonlarının katalitik etkisi altında halka parçalanmasına uğramaktadırlar. İyonize olmayan şekilleri hidroksil iyonu ile ve dianyonları su ile monoanyonları ise hem hidroksil iyonu hem de su tarafından hidrolizlenmektedirler. Barbitüratların hidrolizlenme hız-pH profilleri birbirlerine benzemektedir. Hidrolizlenme hız sabitleri düşük pH larda küçük olup pKa değerlerine doğru artmakta, pH nın pKa civarında olduğu değerlerde hemen hemen aynı kalmakta, yüksek pH larda ise hızla artmaktadır. Bütün barbitüratların sulu

çözümleri düşük pH larda daha kararlıdır. Hidrolizlenme hızı sıcaklıkla artmakta, dolayısıyla kararlılık azalmaktadır. 5-karbonundaki süstitüentler, hidrolizlenme hızları ve dolayısıyla kararlılık üzerine etki etmektedirler. Alkil zincirinin uzaması kararlılığı arttırmaktadır. Doymuş alkil grubu içeren barbitüratlar, doymamış alkil grubu içeren barbitüratlardan daha kararlıdır. Zincirdeki dallanma 5-karbonuna ne kadar yakınsa kararlılık o kadar artmaktadır. Azot atomlarındaki süstitüentler kararsızlığı arttırmaktadır.

Barbitüratların hidrolizlenme ürünleri birçok çalışmalarda izole ve teşhis edilmişlerdir. Literatürde parçalanma ürünleri olarak malonürik asitler, asetik asit ve diğer karboksilik asitler, üre, asetil üreidler ve diamitler belirtilmektedir(64,65).

Hidrolizlenme mekanizmaları(64,66) iyonize ve iyonize olmayan şekilleri için farklıdır. İyonize olmayan şekilleri 1-2 veya ona eşdeğer olan 2-3 pozisyonundan halka açılmasına uğrayarak süstitüe diamit oluştururlar. İyonize şekilleri ise 1-6 veya eşdeğeri olan 3-4 pozisyonundan kırılmaya uğrayarak süstitüe asetilüre türevleri meydana getirirler. Ancak iyonize barbitüratlardan diamitin izole edildiği Fretwurst tarafından belirtilmektedir(67).

2.2.4. Barbitüratların Spektroskopik Özellikleri:

5,5-disüstitüe barbitüratların iyonize olmayan şekli u v s p e k t r o s k o p i s i n d e 200-210 nm dalga

boyu civarında, molar absorptivitesi 30.000-50.000 olan absorpsiyon gösterirler(58,63). Bu absorpsiyon karbonil kromoforunun $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine karşılıktır. Noniyonize şeklin yine 200 nm dalga boyu civarında olan $n \rightarrow \pi^*$ geçişi ise çok zayıftır. Düşük pH değerlerinde ($\text{pH} < \text{pKa}$) 200 nm dalga boyu civarında tek pik gözlenir. $\text{pH} > \text{pKa}$ değerlerine doğru gittikçe iyonlaşma artacak ve monoanyonun yine $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine karşılık gelen piki ortaya çıkarken iyonize olmamış şeklin piki azalacaktır. Monoanyonun absorpsiyon piki pH 10 da 240 nm dalga boyu civarındadır. Monoanyonda karbonil kromoforu ile çift bağın konjügasyonu kırmızı kaymaya sebep olmaktadır(68,69). Dianyion ise daha yüksek pH larında 250 nm dalga boyu civarında bir pik vermektedir.

Barbitüratların I R s p e k t r u m l a r ı , sübstitüentin türüne, serbest asit veya sodyum tuzu olmasına göre değişir(63,70). İyonlaşmamış barbitüratlar, fenobarbital hariç, 3300 cm^{-1} in üzerinde absorpsiyon göstermezler. $3500-3400 \text{ cm}^{-1}$ arasında bazen gözlenen bandın orijini belli değildir. Bütün barbitüratların IR spektrumlarında N-H geriliminden dolayı $3200-3100 \text{ cm}^{-1}$ arasında iki band vardır. 5,5-disübstitüe barbitüratlarda 3100 cm^{-1} deki band diğerinden daha zayıftır. Azot atomlarında hidrojenin başka bir sübstitüent varsa 3100 cm^{-1} deki band çok zayıflar, diğerinin bir omuzu gibi gözlenir. Metarbitalde ($\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{CH}_3$) durum böyledir. Metilfenobarbitalde ise 3100 cm^{-1} deki band en kuvvetli olanıdır.

3000-2800 cm^{-1} arasında ise 1 ve 5-pozisyonundaki sübstitüentlerin C-H gerilim titreşimlerine karşılık orta şiddette dört band görülür. Bu bandların bağıl şiddetleri C-H bağ sayısı ile, dolayısıyla karbon sayısı ile orantılıdır. Sodyum tuzlarında 3000-2950 cm^{-1} arasındaki bandlar serbest asitlerde olduğundan daha şiddetlidir.

1765-1670 cm^{-1} arasında C=O gerilme titreşimine karşılık üç band görülür. 1760-1740 cm^{-1} arasındaki band, molekülün simetri eksenine dik olan 4 ve 6-pozisyonundaki C=O titreşimleridir. 1720-1700 cm^{-1} deki band 2-pozisyonundaki C=O titreşiminden etkilenmiş 4 ve 6-pozisyonundaki C=O titreşimine karşılıktır. Barbitüratların sodyum tuzlarının bu bölgede sadece iki bandı vardır. Bunlar da 1700-1650 cm^{-1} arasındadırlar. Ayrıca 1600-1550 cm^{-1} de geniş ve şiddetli bir band bulunmaktadır. Serbest asitlerde bu bölgede absorpsiyon gözlenmez.

Çoğu barbitüratlar 1460-1250 cm^{-1} arasında C-H deformasyonu ve C-N gerilim titreşimlerine karşılık birkaç band verirler. Barbitüratların birçoğu, 1150-900 cm^{-1} arasında birkaç tane zayıf ve orta şiddette band verirler. N-sübstitüe barbitüratlar için bu bandlar keskin, orta şiddette ve çok sayıdadırlar. Allil grubu içeren barbitüratlarda 1000-960 cm^{-1} arasında C-H deformasyon titreşim bandları gözlenir. Bütün barbitüratlar 900-800 cm^{-1} arasında orta şiddette tek bir band verirler.

Barbitüratların N M R s p e k t r u m l a r ı(71).
süstitüent değişmelerine karşı çok duyarlıdırlar. Birbirine
çok benzeyen pentobarbital ve amobarbital gibi iki izomer
kolayca ayırdedilebilirler. 5,5-pozisyonunda iki doymuş,
yan zincir taşıyan barbitüratların N-H piki dışında
0.75-2.2 ppm arasında sinyalleri gözlenir. Allil sübsti-
tüentlerin 5-5.9 ppm ve 2.55-2.85 ppm arasında tipik allil
pikleri, aromatik süstitüentlerin ise 7.3 ppm de tipik aro-
matik metil proton pikleri vardır. N-alkil barbitüratların
proton pikleri 3.3 ppm dedir.

Barbitüratların k ü t l e s p e k t r u m l a r ı n -
d a(72). 5-karbonundaki süstitüentlerin molekülden kopma-
sına dayanan karakteristik pikler gözlenir. Parçalanma model-
leri çok benzerlik gösterir. Genel olarak moleküler iyon
pikleri ya yoktur veya çok zayıftır. Barbital, pentobar-
bital ve amobarbitalin moleküler iyon pikleri gözlenmez.
Her üçünde de bütil veya metil radikallerinin ayrılmasıyla
oluşan m/e 156 ve m/e 141 pikleri kuvvetlidir. Pentobarbital
ve amobarbitalde ayrıca etil grubunun ayrılmasıyla m/e
198 piki gözlenir. Her iki türevde de gözlenen m/e 183
pikinin(m-43) $-C_3H_7$ veya $-HNCO$ kaybandan ileri geldiği
konusunda literatürde ihtilaf vardır(73). Amobarbitalin
kütle spektrumunda m/e 165.5 de yarı kararlı bir pik bulun-
maktadır.

Fenobarbital ve metilfenobarbitalin m/e 232 ve
m/e 246 da zayıf moleküler iyon pikleri ve kuvvetli (m-28)
pikleri karakteristiktir. Fenobarbitalin m/e 179.2 de metil-
fenobarbitalin ise m/e 193.2 de yarı kararlı pikleri gözlenir.

Sekobarbital, sandoptal ve allobarbitalde moleküler iyon pikleri yoktur. Buna karşılık sekobarbitalde ve allobarbitalde propil radikalının kaybı ile gözlenen %26 lık m/e 195 ve m/e 165 pikleri gözlenir. Bu pik sandoptalde yoktur. Sekobarbitalde m/e 168 ve m/e 167 pikleri kuvvetli ve karakteristiktir.

2.2.5. Barbitüratların Farmakolojik Özellikleri.

Barbitüratlar sedatif-hipnotik etkiye sahip ilaçların en çok kullanılanlarıdır. Merkezi sinir sistemine etki ederek yatıştırıcı rol oynarlar. Etki mekanizmalarını kesin olarak bilinmemesine rağmen, absorpsiyon, dağılma, farmakolojik etki ve atılmaları fizikokimyasal özellikleri ile yakından ilgilidir. Meyer-Overton kuralına göre bir ilacın hipnotik etkisi lipit çözünürlüğü ile artar(74,75). Lipit/su partisyon katsayısı ne kadar büyükse, merkezi sinir sistemine etkisi de o kadar fazladır. Lipit çözünürlük ilacın etki merkezine ulaşması, metabolizması, birikimi ve atılma hızında en önemli fizikokimyasal bir özelliktir.

Barbitürik asitin 5-karbonundaki her iki hidrojenin alkil, alkenil, sikloalkenil veya aril grupları ile yer değiştirmesiyle hipnotik etki ortaya çıkar. 5-pozisyonundaki alkil zincirindeki karbon sayısı arttıkça depresan etki de artar. Bu artış karbon sayısı altı oluncaya kadar devam eder. Karbon sayısı daha da arttıkça depresan

etki azalır buna karşılık k o n v ü l s a n etki ortaya çıkar.

5-pozisyonundaki dallanmış, halkasal veya doymamış gruplar içeren türevler, aynı sayıda karbona sahip doymuş grup içeren türevlerden daha kısa etkilidirler. 1 veya 3-pozisyonundaki alkil grubu etki süresini çok kısaltır. Bu sübstitüent, metilden büyük olduğu zaman klinik kullanımı kısıtlanır. N-sübstitüe: türevlerin asitlikleri az olduğundan lipit çözünürlükleri fazla ve merkezi sinir sistemine geçişleri kolaydır. 5-pozisyonundaki sübstitüentlerin polarlığı hem etkimeye başlama süresini hem de etki süresini değiştirir. Bu sübstitüentler polarlaştıkça etkimeye başlama ve etki süresi uzar. Örneğin fenobarbitalin π elektronlarının polarize olabilme özellikleri sudaki çözünürlüğünü artırarak etkimeye başlama ve etki süresini uzatır. Etki sürelerine göre barbitüratlar, kısa, orta ve uzun etki süreli olmak üzere üç gruba ayrılırlar(Tablo 2.2).

Tablo 2.2 Barbitüratların farmakolojik etki sürelerine göre sınıflandırılmaları.

Barbitürat	Sedatif doz (mg)	Hipnotik doz (mg)	Etkimeye başlama süresi(dak)
A. Uzun etki süreli barbitüratlar (6 saatten fazla)			
Barbital	-----	300	30-60
Metilfenobarb.	30-100	100	30-60
Fenobarbital	15-30	100	20-40
B. Orta etki süreli barbitüratlar (3-6 saat)			
Sandoptal	---	200-600	20-30
Amobarbital	20-40	100	20-30
Allobarbital	30	100-300	15-30
C. Kısa etki süreli barbitüratlar(3 saatten az)			
Sodyum Pentob.	30	100	20-30
Sekobarbital	15-30	100	20-30

Bütün barbitüratlar vücuda alındıktan sonra aynı yolu takibederek etki gösterirler. Sedatif dozlar sinir sistemini yatıştırır, hipnotik dozlar ise ağızdan verildikten 20-60 dakika sonra, intravenöz yolla verilirse hemen uyutur. Sedatif ve hipnotik dozajlar, solunum, dolaşım ve sindirim sistemi fonksiyonlarında hiçbir etki meydana getirmez. Daha büyük dozlarda anesteziik etki

gösterirler. Anesteziik etki, maddenin türü, doz ve verilme şekline bağlı olarak 0.5-12 saatte sona erer. Analjezik etkilerinin fazla olmamasına karşılık, birlikte alındıkları zaman diğer analjezik ilaçların etkilerini artırırılar.

Barbitüratlar çoğunlukla midede olmak üzere, barsak, rektum ve kastan absorbe olurlar. Gerek değişmemiş halleri gerekse metabolitleri, idrarla dışarı atılırlar.

Barbitüratların metabolizmaları dört değişik şekilde olmaktadır: 1.5-pozisyonundaki grupların oksidasyonu. 2.N-alkil radikallerinin uzaklaştırılması(N-demetilasyon). 3. Tiyobarbitüratların oksijen analoglarına dönüştürülme-leri. 4.Barbitürat halkasının hidrolitik parçalanması(76). Bunlardan ençok raslanan metabolit, 5-pozisyonundaki grupların okside olmuş halidir. Fenobarbitalin başlıca meta- bolik ürünü 5-etil-5-(p-hidroksifenil) barbitürik asittir (77). Uzun etki süreli barbitüratların (barbital, feno- barbital) atılmaları yavaştır. Barbital birkaç günde büyük kısmı değişmemiş olarak atılır. Pentobarbital w oksidas- yonu ile aldehite, w-1 oksidasyonu ile alkole dönüşür(78). Alkol ve aldehit miktarları aşağı yukarı eşit durumdadır- lar. Amobarbital 5-izoamil grubunda çoğunlukla w-1 oksidasyonuna uğrar. Doymamış halkalı sübtitüent içeren barbitüratlar (hegzobarbital) halka oksidasyonu, N-deme- tilasyonu ve halka açılmasına uğramaktadırlar. Halka açılması ençok N-sübtitüe türevlerde rasla- nır ve %5 den fazla değildir(76).

2.3. BARBİTÜRATLARIN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Soliman ve diğerleri(79) barbitüratları s u s u z ortam t i t r a s y o n u ile tayin etmişlerdir. Titrant olarak dioksan içerisinde 0.02N HClO₄ çözeltisi ve titrasyon ortamı için ise 3/2 oranında CHCl₃-Ac₂O karışımı kullanılmıştır. İndikatör olarak % 0.1 lik trope-din OO in kullanıldığı bu çalışmada verimin % 98.9-100.2, standart sapmanın ise % \pm 0.10-0.42 arasında olduğu belirtilmektedir. Aynı yöntemde dönüm noktası p o t a n s i - y o m e t r i k olarakta tesbit edilebilmektedir.

Dutrieux ve diğerleri(80) piridinli ortamda barbitüratları 0.5 N AgNO₃ çözeltisinde çözüp alkollü 0.1 N NaOH çözeltisi ile tayin etmişlerdir. Bu s u s u z ortam t i t r a s y o n u n d a ise indikatör % 1 lik alkollü timol mavisidir.

USP XVIII de(81) dimetilformamit içerisinde timol mavisini indikatörü ve 0.1 N Sodyum metoksit çözeltisinin titrant olarak kullanıldığı s u s u z ortam t i t r a s y o n u yer almıştır. Aynı yöntem küçük değişikliklerle Foreman ve Blake(82) tarafından p o t a n s i y o m e t r i k olarak yapılmıştır.

Barbitüratların sodyum tuzları a s i d i m e t r i k t i t r a s y o n yöntemiyle de tayin edilebilmektedir. Tomaskova ve diğerleri(83) bromokresol yeşili

ve metil kırmızısı karışımını indikatör olarak kullanmış ve sodyum pentobarbitali 0.1 N HCl çözeltisi ile titre etmişlerdir.

Sarsunova ve Lukacova(84) alkali piridinde barbitüratları AgNO_3 çözeltisi ile çöktürüp, çökelekten gümüşü $\text{K}_2\text{Ni}(\text{CN})_4$ ile alıp 0.01 M Chelaton 3 ile kompleksometrik olarak titre etmişlerdir.

Tschan ve Leupin de(85) Cu^{++} , Ag^+ , Zn^{++} , Hg^{++} ve Ni^{++} ile barbitüratları kompleksometrik titrasyon yöntemiyle tayin etmeye çalışmışlar ve her katyonun değişik barbitürat ile uygun kompleks verdiğini gözlemişlerdir. Ortamdaki fazla metal iyonu Complexon III ile titre edilmiştir.

Ag^+ ile titrasyon, gümüş iyonlarının barbitüratlarla kompleks oluşturma esasına dayanır. Farmakopelerde yer alan bu yöntemde Na_2CO_3 ile tamponlanmış ortamda sulu barbitürat çözeltisi 0.1 N AgNO_3 çözeltisi ile bulanıklık gözleninceye kadar titre edilir(87).

Gravimetrik analizler barbitürat miktar tayinlerinde başvurulan en eski yöntemlerdendir. Küçük değişikliklerle uygulanan yöntemin sonuncusu USP, XVIII de(81) yer almıştır. Barbitüratların hem sodyum tuzlarına hem de serbest asit şekillerine uygulanabilmektedir. Sodyum tuzu HCl çözeltisi ile asitlendirilerek yeteri kadar kloroform ile ekstre edilir ve kloroform uçurulur. Dehidrate alkol ile tekrar muamele edilerek alkol

uçurulur. Kalıntı 100°C de 2 saat kurutulup tartılır. Tablet analizlerinde kloroform ekstraksiyonundan önce eter ekstraksiyonuna ve diğer bazı işlemlere de başvurulur. Bu yöntem Türk Farmakopesi(86), ve İngiliz Farmakope'sinde de(87) yer almıştır.

Goldbaum'un(88) geliştirdiği spektrofotometrik yöntemde, 0.45 N NaOH çözeltisi ve pH 10.5 da sırasıyla dianyon ve monoanyonun absorbans farklarının Beer kuralına uyduğu ve bu farkın barbitüratın türüne göre belirli dalga boylarında maksimum fark vermesi gözlemine dayanır. Örneğin; Amobarbital için bu fark 260 nm de negatif olarak maksimum, 235 nm de ise pozitif olarak maksimumdur. Bu dalga boylarındaki fark hangisinde en büyükse o dalga boyu seçilerek dianyon ve monanyon absorbans farkları için kalibrasyon doğrusu çizilir.

Kiper(89). Fenobarbital, salisilamid, fenasetin kafein ve diphen hidramin HCl içeren tabletleri ince tabaka kromatografisi ile ayırıp fenobarbitalin 255 nm de doğrudan spektrofotometrik tayinini yapmıştır.

Barbitüratların $CoCl_2$ -izopropilamin ile reaksiyona girerek kırmızı renkli bir kompleks oluşturdukları ve bu komplekslerin 570 nm de maksimum absorpsiyon verdiği gözlemine dayanarak, Tazuzowa ve diğerlerinin(90) geliştirdikleri spektrofotometrik yöntemde absorbansın 0-0.4 mg/ml arası doğrusal olduğu bulunmuş

ve standard sapma % 0.5 olarak verilmiştir.

Miles ve Schenk(91) barbitüratların 0.1 N NaOH çözeltisi içerisinde 255 nm de uyarılıp 415 nm de fluoresens ve fosforesens özellik gösterdiklerini gözleyerek fluoresometrik tayin yöntemi geliştirmişlerdir. Fluoresens özellik göstermeyen diğer maddelerin yanında fluoresens özellik gösteren barbitüratların önayırma ve temizleme işlemlerine gerek kalmadan yapılabildiği için diğer spektrofotometrik yöntemlere üstünlüğü vardır. Yalnız N-süstitüe barbitüratlar fluoresans özellik göstermediklerinden bu yöntemle tayin edilemezler. Fluorometrik yöntemle absorbans, 0.1-15 µg/ml arası barbitürat konsantrasyonu ile doğrusaldır. Standart sapma % 1 olarak verilmiştir.

Barbitüratların gaz kromatografisi ile analizleri üzerine son zamanlarda oldukça fazla çalışmalar yapılmıştır. Allen(92), % 10 SE-30 kolonu ile 180°C sıcaklıkta, butabarbitol, amobarbitol, sekobarbitol, pentobarbitol ve fenobarbitalin birbirinden tam olarak ayrıldığını ve herbirinin ayrı ayrı kantitatif analizinin yapılabileceğini göstermiştir. Katı faz olarak Gas Chrom.Q'nün kullanıldığı bu çalışmada enjeksiyon hatasını azaltmak için iç standart olarak mephobarbitali kullanmıştır.

Nader ve Aranda (93) toz haline getirilen tabletleri sıcak metanolde çözüp süzdükten sonra, 80/100 mesh

Gas Chrom. Q üzerine CHCl_3 de % 4.5 siklohegzadimetanol süksinatlı kolona enjekte etmiştir. Kolon 240°C , alev iyonizasyon dedektörü 260°C ve enjeksiyon bölümü 250°C sıcaklıkta tutulmuş ve taşıyıcı gaz olarak 60 ml/dak akış hızında azot gazı kullanılmıştır.

Kasyak ve Knoblock(94) biyolojik ortamlarda, özellikle idrar çalışmalarında ekstraksiyondan sonra %5 ve %1 lik SE-30 ve QF-1(FS-1265) kolonlarını kullanmışlar, argon β -iyonizasyon dedektörü ile barbitüratları tayin etmişlerdir. Parker ve Kirk(95) aynı kolonları kullanarak sadece ekstraksiyon yönteminde değişiklik yapmışlardır.

Barbitüratların polar özellikleri, fazla adsorpsiyondan dolayı madde kaybı, kolonun kirlenmesi ve simetrik olmayan piklere sebep olma gibi bir takım sorunlar doğurmaktadır. Özellikle barbitürat miktarı mikrogramdan daha az ise bu sorunlar miktar tayinlerini güçleştirmektedir(96). Barbitüratlar dimetil türevlerine dönüştürüldüğü zaman, bu türevlerin daha uçucu ve polarlıklarının daha az olması sebebiyle, yukarıda sayılan güçlükler ortadan kaldırılmıştır. Martin ve Driscoll(97) metillenmeyi dimetilsülfat ile yapmışlar ve metillenmiş türevleri kolona enjekte etmişlerdir.

Stevenson(98), barbitürat ve tetrametilamonyum hidroksiti(1/4 molar oranında) birlikte kolona enjekte

edip, metillenmeyi kolonda yapmaya çalışmıştır. Fakat 5-fenil sübstitüe türevlerin alkali ortamda parçalanarak birden fazla pik vermeleri yöntemin genel kullanılabilirliğini kısıtlamıştır.

Brochmann-Hanssen(99), tetrametilamonyum hidroksit yerine trimetilanilyum hidroksit kullanıldığı zaman hidrolizlenmenin önlendiğini gözlemişlerdir. Ayrıca trimetilanilyum hidroksit miktarını % 50-500, enjeksiyon bölümünün sıcaklığını 200-350°C arasında değiştirerek piklerin şekilleri ve ayrılmaları üzerine etkili olmadığını görmüşlerdir. Bu yöntemde pik yüksekliği barbitürat miktarı ile 0.1-1.0 µg arasında doğrusal değişmektedir.

Barbitüratların ayırma ve teşhisleri için biyolojik sıvılarda, çeşitli ilaç preparasyonlarında ve organik asit şekillerinde kağıt kromatografisi (100,101), ince tabaka kromatografisi (102), kolon kromatografisi(103, 104) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (105,106) ile birçok çalışmalar yapılmıştır.

Lackner ve Doering(107) Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi ile 30 önemli barbitürat üzerinde çalışarak hem kalitatif hem de kantitatif bir yöntem geliştirdiler Dötörkloroform içerisinde N-H sinyalinin ppm değeri barbitürat konsantrasyonuna bağlıdır. Konsantrasyon arttıkça ppm değeri artar.

Böylece çok kolay bir şekilde ve karışımlarda barbitüratların miktar tayinleri yapılabilmektedir.

Barbitürat analizlerinde amperometrik ve kulometrik yöntemler, diğer yöntemlerden az olmakla beraber, literatürde yer almaktadırlar. Amperometrik titrasyonlara Beral ve diğerlerinin(108) yaptıkları çalışmalar örnek gösterilebilir.

Sodyum fenobarbital, Sodyum barbital, sodyum sekonal ve sodyum sandoptal Monforte ve Purdy(109) tarafından sabit akım kulometrisi ile titre edilmişlerdir. Elektrolit olarak $\text{KNO}_3\text{-Me}_2\text{CO}$ veya $\text{NaClO}_4\text{-Me}_2\text{CO}$ çözeltilerinin kullanıldığı bu yöntemde titrant, elektrotta oluşturulan Hg(II) dir.

Allobarbitali, Büchler ve diğerleri(110) 0.25 M NaBr, 0.05 M CuSO_4 ve 3 M HCl çözeltileri karışımında elektrotta oluşan brom ile kulometrik titrasyonla tayin etmişlerdir. Oluşan bromun fazlası Cu(I) ile geri titre edilip biamperometrik yöntemle tayin edilmiştir.

Charles ve Knevel(111) Sodyum sekobarbitalin, 0.05 M H_2SO_4 ve 0.2 M NaBr çözeltisinde elektrotta oluşan brom ile kulometrik tayinini yaptılar. Bromun fazlası arsenik(III) ile amperometrik yolla titre edilmiştir. 10 mg madde için bağıl standard sapmanın % 0.67

olduğu belirtilmiştir.

5,5-disüstitüe barbitürük asit türevlerinin polarografik davranışları üzerine ilk çalışmayı Zuman ve diğerleri gerçekleştirmiştir(112). d . c . P o l a r o g r a f i s i ile yapılan bu çalışmada analizden ziyade cıva ile çözünmez tuz oluşumu ve adsorpsiyon olaylarının incelenmesi amacının güdüldüğü görülmektedir.

Dusinsky ve Faith o s i l l o g r a f i k p o l a r o g r a f i (113) Woodson ve Smith ise a l t e r n a t i f a k ı m p o l a r o g r a f i s i ile(114) barbitürük asit türevlerinin analizlerini yapmaya çalışmışlarsa da oldukça negatif potansiyelde indirgenme olayının analiz için uygun olmadığını göstermişlerdir. Woodson ve Smith(114) fenobarbitalin 0.1 M $N(C_4H_9)_4 ClO_4$ ve asetonitril çözeltileri karışımında d.c. yarı dalga potansiyelinin -2.1 volt da analiz için uygun olmadığını, a.c. pikinin ise yine analiz amacına uygun şekilde olmadığını gözlemişlerdir.

Pasek ve diğerleri(115,116) barbitürük asitlerin benzoil türevlerinin d . c . p o l a r o g r a f i k analizleri üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmalarda da reaksiyon mekanizmasının açıklanma amacı güdüldüğü görülmektedir.

Fenobarbitalin nitrolandıktan sonra hem d . c . p o l a r o g r a f i s i (117) hem de t ü r e v s e l p u l s p o l a r o g r a f i s i(28) ile analizi yapılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Maddelerin Temini ve Çözeltilerin Hazırlanması.

Bu çalışmada kullanılan sekiz barbitürik asit türevi Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü İlaç Kontrol Laboratuvarından temin edilmişlerdir. Standart maddelerden Barbital, Amobarbital, Sandoptal, Sekobarbital, Fenobarbital, Allobarbital ve Metilfenobarbital serbest asit, Pentobarbital ise sodyum tuzu şeklindedir (Tablo 3.1). Erime derecesi, ince tabaka kromatografisi, UV ve IR spektrumları yardımıyla maddelerin saf oldukları anlaşıldığından ön saflaştırma yapılmamıştır.

Kontrol edilen ilaçlar Ankara Eczanelerinden temin edilmişler ve Ek 3 de ticari isimleri ve imal eden firma adlarıyla gösterilmişlerdir. Ticari adı ve firma adı verilmeden bilimsel geleneklere uyularak A,B,C.. gibi haflerle gösterilen ilaçlar şunlardır:

1. A draje (K firması)

İçerdiği aktif maddeler : 1 drajede 40 mg Isoptinhidroklörür .. ve 20 mg Pentobarbital.



2. B draje (L firması)

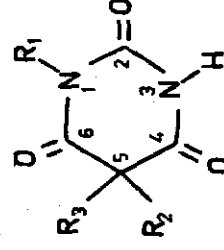
İçerdiği aktif maddeler: 1 drajede 20 mg Barbital, 30 mg Kafein ve 150 mg Piramidon.

3. C tablet (M firması)

İçerdiği aktif maddeler: 1 tablette 35 mg Dekstropropoksifen HCl, 200 mg Aminofenazon, 30 mg Allobar-

Tablo 3.1. Çalışılan barbitürük asit türevleri.

MADDE	R ₁	R ₂	R ₃
BARBİTAL 5,5-di-2,4,6(1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ -CH ₃
AMFONBİTAL 5-etil-5-(3-metilbütül)-2,4,6 (1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃
PENTOBARİTAL 5-etil-5-(1-metilbütül)-2,4,6 (1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃
ALLOBARBİTAL 5,5-di-2-propenil-2,4,6 (1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH=CH ₂	-CH ₂ -CH=CH ₂
SANDOPTAL 5-(2-metilpropil)-5-(2-propenil)- 2,4,6(1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH=CH ₂	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃
SEKOBARBİTAL 5-(1-metilbütül)-5-(2-propenil)- 2,4,6(1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH=CH ₂	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃
FENOBARBİTAL 5-etil-5-fenil-2,4,6(1H,3H,5H) pirimidintron	H	-CH ₂ -CH ₃	
METİLFENOBARBİTAL 5-etil-1-metil-5-fenil-2,4,6 (1H,3H,5H) pirimidintron	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	



bital ve 30 mg Trimetilksantin.

4. D draje (N firması)

İçerdiği aktif maddeler: 1 drajede 0.1 mg Bellad. fol.alkaloit tot., 0.3 mg Ergotamin tartarat ve 20 mg Fenobarbital.

5. E tablet (P firması)

İçerdiği aktif maddeler: 1 tablette 100 mg Feno-
barbital.

6. F tablet (R firması)

İçerdiği aktif maddeler: 1 komprimede 220 mg
Dimetilamino-fenil-dimetilpirazolon ve 30 mg Allobarbi-
tal.

Standart maddeler, sodyum tuzu halinde olan Pentobarbital hariç, suda çok az çözünürler. Doymuş çözeltilerinin konsantrasyonları 10^{-4} M veya daha düşüktür. Alkali ortamda ise serbest olarak çözünürler. Stok çözeltiler: Yeteri kadar madde tartılıp 0.002 M NaOH ile gereken hacimde çözümlü 10^{-3} M olarak hazırlanmışlardır. Barbitüratlar alkali ortamda hidroliz olduklarından(64), daha fazla NaOH gerektiren daha derişik stok çözeltiler hazırlanmasından kaçınılmıştır. 0.002 N NaOH çözeltilerindeki 10^{-3} M sulu çözeltilerinin en fazla beş saat kararlı kaldıkları gözlenmiş ve bu süreden fazla kullanılmamışlardır.

Tablet analizlerinde 20 tablet toz edilip tartılarak ortalama tablet ağırlığı bulunmuştur. Toz haline getirilmiş tabletlerden yaklaşık bir tablet ağırlığı alınarak 0.003 N NaOH de uygun konsantrasyona kadar ($\cong 10^{-3}M$) çözülmüştür. Bu çözeltilerden belli bir miktar tübe alınarak santrifüj edilmiş ve üstteki berrak çözelti analiz için kullanılmıştır.

Destek elektrolit ve diğer çözeltilerin hazırlanması ve kullanılan maddelerin özellikleri ise şu şekildedir:

0.1 M H_2SO_4 çözeltisi : 5.5 ml derişik H_2SO_4 (Merck, extra pure) çözeltisi alınıp su ile 1 litreye tamamlandı.

Walpole Asetat tamponu(38): 49.2 ml glasiyel asetik asit (BDH, analar) ve 70.6 g sodyum asetat (BDH, analar) karıştırılıp su ile 1 litreye tamamlandı.

McIlvaine Sitrat tamponu(38): 21.0 g sitrik asit (Merck, proanalysi) 200 ml 1 N NaOH çözeltisinde çözülp su ile 1 litreye tamamlandı. 0.2 M Na_2HPO_4 çözeltisi eklenerek istenen pH ya ayarlandı.

0.2 M Na_2HPO_4 çözeltisi: 35.6 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (Merck) tartılıp su ile 1 litreye tamamlandı.

Michaelis Fosfat tamponu: 9.08 g KH_2PO_4 (Merck) ve 11.87 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ayrı ayrı tartılıp su ile 1 er litreye tamamlandıktan sonra yeterli miktarlarda karıştırılarak istenilen pH ya ayarlandı.

Karbonat-Bikarbonat tamponu(38): 2.65 g Na_2CO_3 (Merck, proanalysi) ve 2.10 g $NaHCO_3$ (Merck, proanalysi) tartılarak su ile 1 litreye tamamlandı.

Michaelis Borat tamponu(38):12.4 g Borik asit (Riedel, chem. pure) 100 ml 0.1 N NaOH çözeltisinde çözümlenerek su ile 1 litreye tamamlandı. Elde edilen 0.2 M lık bu çözeltiden seyrelme ile 0.05 M çözelti elde edildi.

Britton-Robinson tamponu(BR) (38):2.47 g Borik asit (Riedel, chem. pure), 2.7 ml Fosforik asit(Merck, proanalysi) ve 2.3 ml Asetik asit (BDH, analar) karıştırılıp su ile 1 litreye tamamlandı.

1 N NaOH çözeltisi: 40.0 g NaOH(Merck, extra pure) tartılarak su ile 1 litreye tamamlandı. Daha seyreltik NaOH çözeltileri 1 N NaOH çözeltisinin seyreltilmesiyle hazırlandı.

0.1 N HCl çözeltisi: 8.44 ml derişik HCl (Riedel) alınarak su ile 1 litreye tamamlandı.

Asetat, Karbonat-Bikarbonat, Borat ve BR tamponlarının pH ayarlamaları 0.1 N NaOH veya 0.1 N HCl çözeltileriyle yapılmıştır.

0.1 N AgNO_3 çözeltisi: 1.70 g AgNO_3 (yerli) tartılarak 100 ml suda çözülmüştür.

Doymuş NaH_2PO_4 çözeltisi: Bir miktar su içerisinde çözünmeyen katı $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kalıncaya kadar karıştırılmıştır.

Dimetil Sülfat (Riedel) orijinal kabından kullanılmıştır.

Bütün çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize üçlü damıtık su kullanılmıştır. Yukarıda ve bundan sonra "su"

denildiği zaman deiyonize üçlü damıtık su anlaşılmalıdır.

3.2 Barbitüratların metillenmesi.

Barbitüratların metillenmesinde(97) 2 ml barbitürat içeren çözeltiye 2 ml doymuş sodyum dihidrojen fosfat çözeltisi ve 10 ml eter eklenip 30 saniye şiddetli bir şekilde çalkalanmıştır. 1 dakika santrifüjlenip yaklaşık 7 ml eter fazı başka bir tübe alınarak su banyosunda eteri uçurulmuştur. Kalıntı, potasyum karbonat çözeltisi ile doyurulmuş 2 ml % 10 luk(h/h) su-metanol(Merck) çözeltisinde çözülmüş ve 0.1 ml dimetil sülfat eklenmiştir. 57°C de 4 dakika bekleyerek reaksiyonun tamamlanması sağlanmış ve metanol 57°C de hava akımı ile, birkaçdamla karışmayan organik ve su fazları kalıncaya kadar uçurulmuştur. 1 ml 1 M pH 6 asetat tamponu ile tamponlanarak 2 ml kloroform(Merck) ile ekstre edilmiştir. Kloroform su banyosunda 80°C uçurulup; kalıntı, 0.05 M Borat tamponunda çözümlü polarografik analize hazır hale getirilmiştir.

3.3 Barbitüratların Hidrolizlenmeleri:

Barbitüratların bozunma ürünlerinin, barbitüratlar ile TPP de girişim yapıp yapmadığını kontrol için 10^{-4} M barbitürat 0,4 N NaOH çözeltisinde 80°C de hidrolizlenmeye bırakılmış ve zamanla TPP pikleri takibedilmiştir. Reaksiyonun başlangıcından itibaren belli zaman aralıkları ile reaksiyon kabından her defasında eşit hacimde (1 ml) alınarak, soğutulduktan sonra, oksijeni uzaklaştırılmış 9 ml 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) TPP pikleri alınmıştır.

3.4 Cıva Temizlenmesi:

Cıva içerisindeki kirliliklerin, elektrot reaksiyonunu engellemesi ve hidrojen iyonu aşırı gerilimini azaltması gibi sakıncaları vardır. Bu nedenle kullanılan cıvanın çok saf olması gerekmektedir. Literatürde çok çeşitli cıva temizleme yöntemine rastlanmaktadır. ise de bunlardan aşağıda anlatılan yöntem(118) maksadımıza en uygun olduğu için seçilmiştir.

Temizlenecek olan cıva, alt tarafında bir iğne deliği bulunan ve bir huniye yerleştirilmiş olan kantitatif süzgeç kağıdı içerisinde temiz bir erlene geçirilerek üzerindeki kaba kirler uzaklaştırıldı. Daha sonra bir ucu trompa bağlı diğer ucu havaya açık yıkama şişesine alınıp hava ile çalkalandı. Bu çalkalama işleminde cıva üzerinde önce su, daha sonra da $2F HNO_3$ çözeltisi bulunmaktaydı. Hava emdirme işlemi her iki-şiyle de ikişer gün aralıksız devam etti. Cıvanın temizlendiği, ayırma hunisine alınan cıvanın şiddetli bir şekilde çalkalanıp bırakıldığı zaman oluşan kabarcıkların 10-15 sn kararlı kalması ile anlaşılmaktadır. Temizlendiği anlaşılan cıva, su ile iyice yıkanıp içerisinde asit kalmaması sağlandıktan sonra, huniye yerleştirilen ve dibinde iğne deliği bulunan süzgeç kağıdından iki defa geçirilip kurulandı.

3.5 Deneysel Cihaz ve Düzenekler.

3.5.1. Polarografik Cihaz ve Düzeneç:

Analizler"PAR Model 174 A (Princeton Applied Research Corporation) Polarographic Analyzer" cihazı ile yapılmış ve polarogramlar "Houston Omnigraphic Model 2000 X-Y Recorder" ile alınmıştır. Cıva damlaları "PAR Model 174/70 Drop Kocker" ile saniyede bir damla düşecek şekilde ayarlanmıştır. Polarografik analiz cihazının duyarlılığının arttırılması için "PAR Model 174/51 Linear Sweep Module" aksesuarından yararlanılmıştır. Çözelti içerisindeki çözülmüş oksijeni uzaklaştırmak için özel kutucudan ve akkor halindeki bakır talaşları üzerinden geçirilerek oksijenden temizlenmiş azot gazından faydalanılmıştır. Polarogramlar alınırken hava oksijeninin çözelti ile temas ederek tekrar çözünmesini engellemek için çözeltinin üst kısmının azot gazı ile kaplı kalmasını sağlayan musluk sistemi kullanılmıştır.

Kantitatif çalışmalarda hücre içerisindeki çözeltinin buharlaşmasını önlemek için azot gazı, hücreye gelmeden önce, içerisinde destek elektrolit bulunan yıkama şişesinden geçirilmiştir. Referans elektrot olarak "Coleman Model Fiber Junction" doymuş kalomel elektrotu (DKE), yardımcı elektrot olarak platin tel ve ucu gittikçe incelen bir kılcaldan oluşan damlayan cıva elektrotundan ibaret üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrotu vazifesini gören damlayan cıva elektrotu, tygon boru

vasıtasıyla cıva haznesine bağlanmıştır. Hidrostatik basınç, cıva haznesinin hareketli bir destek üzerine oturtulması ile ayarlanabilmiştir. Polarografik hücre sistemi, elektronik gürültülerden korunmak için Faraday kafesi içine yerleştirilmiştir.

Seçilen 50 cm lik cıva sütunu yüksekliğinde, damla kütlesi 2.270 mg/sn ($m^{2/3}t^{1/6} = 1.73$) olarak ölçülmüştür.

Türevsel Puls Polarografisi ile yapılan çalışmalarda cıva damlası üzerine 25 mV luk sabit genlikli pulslar bindirilmiştir. Potansiyel taramaları, doymuş kalomel elektrotuna göre -0.200 veya -0.250 volttan +0.100 volta kadar negatif potansiyelden pozitif potansiyele doğru 2mV/sn lik hızla yapılmıştır. Potansiyel tam skalası 3 volt ve akım duyarlılığı en fazla 500 nanoamper(nA) olacak şekilde ayarlanmıştır. Referans ile çalışma elektrotu arasındaki IR düşmesi "PAR Model 174/51 Linear Sweep Module" üzerindeki IR karşılama düğmesi ile ve artık akım da, "PAR Model 174 A" cihazında bulunan "Offset" kontrol düğmesi ile her polarogram alınışından önce sıfırlanmıştır.

Sıcaklık etkisi çalışmalarında, istenen konsantrasyondaki barbitürat çözeltisi, 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) hazırlanıp, soğutucuda ve ağzı iyice kapatılmış hücre ile birlikte soğutuldu. Çözeltiye daldırılan termometre ile takibedilerek istenilen sıcaklıkta polarogramlar alındı. Sıcaklık etkisi 9-20°C arasında incelendi.

3.5.2 Diğer Cihazlar ve Düzenekler:

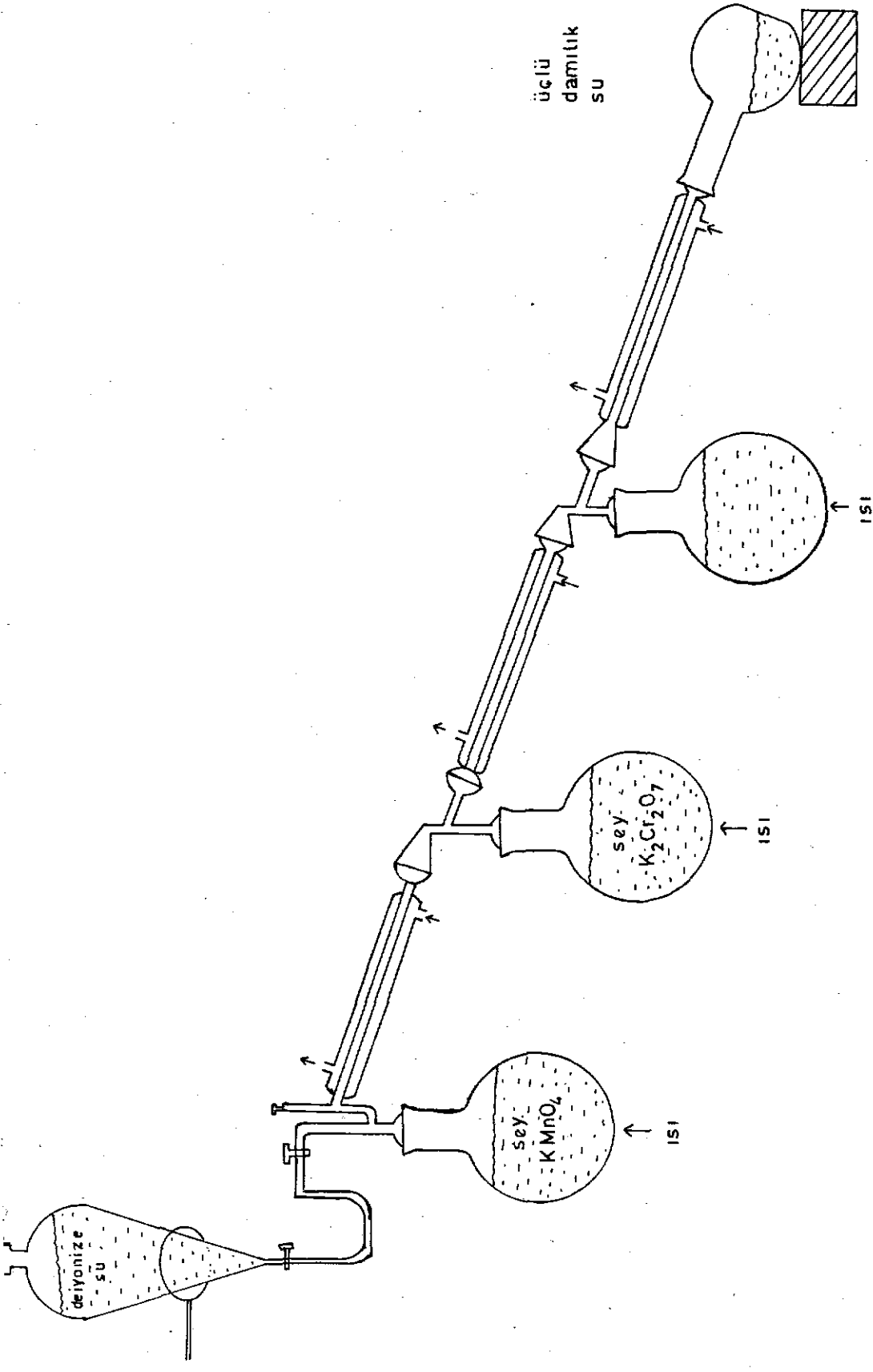
pH ölçüm ve ayarlamaları "Corning Model 12 Research"

pH metresi ile yapılmış ve ölçümlerden önce çözeltilerin iyice karışmasını sağlamak için "MK 20 Magnetik karıştırıcı" kullanılmıştır. pH ölçümlerindeki elektrotlar: "Corning Model cam elektrotu" ve "Coleman Model doymuş kalomel elektrotudur". pH metrenin kalibrasyonu, BDH Tampon tabletlerinden bir tanesinin 100 ml suda çözülmesiyle elde edilen pH 7.00 tamponu ile yapıldı.

Santrifüjlerde "Janetzki T5" cihazlarından yararlanıldı.

Tartımlar, "Mettler Model" H20 10^{-2} mg duyarlıklı hassas terazi ile yapıldı.

Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan suyun saflandırılması için yeni bir sistem geliştirildi. Şematik olarak Şekil 3.1 de gösterilen bu sistemde: Barnstead tipi metalik damıtma cihazından alınan su, anyon ve katyon değiştirici reçinelerin karışık olarak bulunduğu deiyonizasyon kolonundan geçirilip üçlü damıtma sistemine verildi. Birinci balonda seyreltik $KMnO_4$ çözeltisi ve ikincisinde ise seyreltik $K_2Cr_2O_7$ çözeltisi, oksitlenebilen organik maddeleri parçalamak için kullanıldı. Bu sistemden elde edilen suyun saflığı "Yellow Spring Instrument Co. Model 31" iletkenlik köprüsü ile kontrol edildi. Aynı firmanın "3402" Cat. numaralı, hücre sabiti 0.1 olan hücresi ile iletkenlik ölçümü yapıldı. İletkenliği $1 \mu MHO$



Şekil 3.1. Deiyonize üçlü damıtık su damıtma düzenegi

dan küçük olan su bütün çözeltilerin hazırlanmasında kullanıldı.

Erime sıcaklığı tayinleri Gallenkamp erime noktası cihazı ile yapıldı.

UV spektrumları "Beckman Model DB-GT Spectrophotometer" ve 0.5 cm lik kuvars küvetlerle alındı.

Küçük hacimde çözeltiler eklemeleri 50 μ l lik Eppendorf marka mikropipetle yapıldı. Daha büyük hacim ölçmelerinde değişik marka pireks cam pipetler, çözeltiler hazırlamalarında ise 25-1000 ml hacminde pireks balon jöjeler kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Değişik Elektrolitlerde Türevsel Puls Polarografik Pik Akımının pH ile Değişmesi:

Barbitürik asit türevlerinin türevsel puls polarografisi ile yapılan çalışmalarında, pik akım şiddetinin en büyük olduğu elektrolit ve pH değerini bulmak için tablo 4.1 de verilen elektrolitler kısa pH aralıkları ile denendi.

Tablo 4.1. Barbitürük asit türevlerinin türevsel puls polarografisi ile analizleri için denenen elektrolitler ve pH aralıkları:

ELEKTROLIT	pH aralığı
0.1 M H ₂ SO ₄	1 den küçük
Walpole Asetat tamponu	3.6-5.6
McIlvaine Sitrat tamponu	2.2-8.0
Michaelis Fosfat tamponu	5.8-8.3
Karbonat tamponu	9.0-10.5
Michaelis Borat tamponu	7.6-12.3
Britton Robinson tamponu	2.0-12.0
0.1 N NaOH	12.0 den büyük

Barbitürük asit türevlerinin Walpole Asetat tamponunda değişik pH larda ve 0.1 M H₂SO₄ çözeltisinde türevsel puls polarografik pikleri gözlenememiştir. 0.1 N NaOH çözeltisinde kararsız olmaları ve karbonat tamponunda çok küçük pik oluşturmaları nedeniyle değerlendirilmeye katılmamıştır.

McIlvaine Sitrat, Michaelis Fosfat, Michaelis Borat ve Britton-Robinson tamponlarında pH 7.50-11.50 arasında anodik pikleri gözlemiştir ve 0.5-1 pH birim aralıklarıyla ölçülen pik akımları tablo 4.2 de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Barbitürük asit türevlerinin değişik tamponlarda pik akımlarının pH ile değişimi(Konsantrasyon(c)= 4.76×10^{-5} M, her akım değeri altı ölçüm(n) ortalamasıdır).

a. BARBİTAL

	BORAT	BR		FOSFAT	SİTRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	168.82	127.36	7.50	115.27	112.61
8.50	195.21	168.74	8.00	140.08	135.13
9.50	204.32	180.64	-	-	-
10.50	192.50	177.41	-	-	-
11.50	122.38	145.10	-	-	-

b. AMOBARBİTAL

	BORAT	BR		FOSFAT	SİTRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	38.12	13.11	7.50	6.12	4.17
8.50	57.85	44.27	8.00	26.22	23.76
9.50	64.93	56.89	-	-	-
10.50	56.17	53.21	-	-	-
11.50	18.07	17.64	-	-	-

c. PENTOBARBITAL

	BORAT	BR		FOSFAT	SITRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	25.16	11.02	7.50	6.02	4.13
8.50	40.08	29.11	8.00	17.63	12.37
9.50	48.17	40.03	-	-	-
10.50	41.26	34.07	-	-	-
11.50	12.30	17.16	-	-	-

d. ALLOBARBITAL

	BORAT	BR		FOSFAT	SITRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	73.03	56.93	7.50	50.76	39.96
8.50	96.16	80.06	8.00	64.82	59.82
9.50	103.27	89.92	-	-	-
10.50	92.86	82.21	-	-	-
11.50	41.04	43.16	-	-	-

e. SANDOPTAL

	BORAT	BR		POSFAT	SITRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	57.50	37.51	7.50	35.10	34.20
8.50	77.64	66.10	8.00	46.41	43.02
9.50	88.17	78.04	-	-	-
10.50	73.65	72.14	-	-	-
11.50	31.40	30.06	-	-	-

f. SEKOBARBITAL

	BORAT	BR		POSFAT	SITRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	21.16	11.03	7.50	7.51	5.01
8.50	40.04	30.99	8.00	19.48	15.18
9.50	44.96	41.10	-	-	-
10.50	39.69	37.09	-	-	-
11.50	14.98	9.67	-	-	-

g. FENOBARBİTAL

	BORAT	BR		FOSFAT	SİTRAT
pH	i_p (nA)	i_p (nA)	pH	i_p (nA)	i_p (nA)
7.50	16.12	11.04	7.50	7.38	4.96
8.50	22.99	18.64	8.00	12.84	11.26
9.50	27.03	23.16	-	-	-
10.50	24.92	22.08	-	-	-
11.50	6.71	6.68	-	-	-

4.2. Barbitürük Asit Türevlerinin Pik Potansiyelleri ile 0.05 M Borat tamponu Bozunma Pik Potansiyelleri Arasındaki Farkın pH ile Değişimi : Hem barbitüratların hem de elektrolitin pik potansiyelleri çözeltinin pH sı ile değişmektedir. Bu yüzden uygun pH nın seçilebilmesi için 0.05 M Borat tamponuna ait bozunma pik potansiyeli ile barbital, allobarbital ve fenobarbitalin pik potansiyelleri arasındaki farkın pH ile değişimleri tablo 4.3 te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Barbital, allobarbital ve fenobarbitalin pik potansiyelleri ile 0.05 M Borat tamponu bozunma pik potansiyelleri arasındaki farkın pH ile değişimi ($c=4.76 \times 10^{-5} M$, $n=4$).

BARBİTAL		ALLOBARBİTAL		FENOBARBİTAL	
pH	ΔE_p (mV)	pH	ΔE_p (mV)	pH	ΔE_p (mV)
8.10	106.25	8.40	115.00	8.40	149.37
9.26	95.63	9.30	117.28	9.25	146.25
10.05	73.75	10.09	105.00	10.11	123.75
11.20	75.63	11.09	92.50	11.26	106.25

4.3. Değişik Tamponlarda Aynı pH da Elektrolit ile Barbitürat Pik Potansiyelleri Arasındaki Fark.

Değişik tamponlarda barbitürat ve elektrolit pikinin ayrılabilirliğini kontrol için, allobarbital ile elektrolitlerin pH 8.00 de pik potansiyelleri arasındaki fark gözlemlendi. Sonuçlar tablo 4.4 de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Allobarbital ve elektrolit pik potansiyelleri arasındaki fark ($C=4.76 \times 10^{-5} M$, $n=4$).

Tampon (pH=8.00)	ΔE_p (mV)
0.05 M BORAT	112.50
BR	105.63
FOSFAT	102.50
SİTRAT	103.12

4.4 Cıva Sütunu Yüksekliğinin Pik Akımına ve Pik Potansiyeline Etkisi.

Cıva sütunu yüksekliği, pik akımı ve pik potansiyelini etkileyen bir parametredir. Pik akımı ile barbitürat konsantrasyonunun (i_{pc}) doğrusal ilişki sınırını ve duyarlığı etkilediğinden optimum bir değer verilmesi gerekir. Ayrıca pik akımının cıva sütunu yüksekliği ile değişiminin niteliği, elektrot olayı hakkında da bilgi vermektedir(43).

Tablo 4.5. Barbitalin pik akımının değişik konsantrasyonlarda civa sütunu yüksekliği ile değişimi (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30, n=4).

h(cm)	\sqrt{h}	i_p (nA)		
		$4.76 \cdot 10^{-5} M$	$7.41 \cdot 10^{-5} M$	$9.09 \cdot 10^{-5} M$
40	6.32	177.5	225.0	250.0
50	7.07	204.0	260.0	282.5
60	7.75	230.0	292.5	317.5
70	8.38	250.0	325.0	352.5
85	9.22	280.0	361.0	406.0

Tablo 4.6. Amobarbitalin pik akımının, değişik konsantrasyonlarda, civa sütunu yüksekliği ile değişimi. (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30 n=4).

h(cm)	\sqrt{h}	i_p (nA)		
		$4.76 \cdot 10^{-5} M$	$7.41 \cdot 10^{-5} M$	$9.09 \cdot 10^{-5} M$
40	6.32	57.5	85.0	100.0
50	7.07	66.2	100.0	122.5
60	7.75	72.5	112.5	142.5
70	8.38	77.5	127.5	166.0
85	9.22	85.0	140.0	197.0

Tablo 4.8. Barbitüratların 0.05 M borat tamponu ve pH 9.30 da pik akımlarının(nA) sıcaklıkla değişimleri.

t°C	Barbital		Pentobarbital		Allobarbital		Sekobarbital	
	4.76x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.66x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.66x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.6x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M
9	162.06	237.79	47.50	74.87	98.94	169.69	42.55	65.85
11	172.94	243.00	48.37	77.69	104.09	176.69	44.14	67.63
13	178.22	255.32	50.79	80.75	108.30	182.00	45.83	70.41
15	186.53	263.45	52.20	83.45	111.75	189.94	47.50	72.96
16	190.14	266.17	53.10	84.97	113.62	191.17	48.31	73.85
18	196.74	274.61	55.23	87.79	117.72	199.29	50.35	76.64
20	203.75	283.28	57.11	90.86	121.86	205.12	52.06	79.17

Tablo 4.7. Barbitürük asit türevlerinin pik potansiyellerinin (DKE ye göre), cıva sütunu yüksekliği ile değişimi (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30, C=4.75x10⁻⁵ M, n=4).

h (cm)	Barbital	Amobarb.	Pentobarb.	Allobarb.	Sandoptal	Sekobarb.	Fenobarb.
50	+25.78	-12.03	-9.02	+4.78	+6.50	+4.23	-17.03
60	+28.94	-18.90	-6.99	+5.84	+7.13	+9.23	-15.62
70	+30.09	-20.62	-3.98	+6.37	+9.00	+10.48	-12.25
85	+34.40	-17.19	-2.46	+8.50	+10.25	+12.98	-10.76

4.5 Sıcaklığın Pik Akımına Etkisi.

Analiz çalışmalarında sıcaklık kontrolü ve akımın karakterinin anlaşılması bakımından pik akımının sıcaklıkla değişimi önemlidir (41) (Tablo 4.8.).

4.6. Barbitürat konsantrasyonunun Pik Potansiyeline Etkisi.

Tablo 4.9 Barbitürik asit türevlerinin pH 9.30 ve 0.05 M Borat tamponunda pik potansiyellerinin (DKE'ye göre) konsantrasyonla değişimi (n=6).

Cx10 ⁵ M	logC	Pik potansiyeli (mV)						
		Barb.	Amob.	Pentob.	Allob.	Sand.	Sekob.	Fenob.
0.99	-5.0044	+54.88	+16.25	+21.56	+25.00	+24.06	+16.41	-14.38
1.96	-4.7077	+45.81	+10.31	+13.59	+15.63	+14.84	+12.97	+2.12
3.85	-4.4145	+29.79	-3.28	0.00	+7.50	+5.47	+2.66	-13.22
5.66	-4.2472	+23.44	-10.63	-9.38	+1.89	-2.50	-6.41	-25.00
7.41	-4.1302	+15.47	-15.94	-15.16	-0.63	-6.25	-12.50	-34.38
9.09	-4.0414	+9.06	-19.06	-18.75	-2.50	-9.38	-17.34	-38.13
10.71	-3.9702	----	----	-21.25	----	----	-19.38	-40.63

4.7 Barbitürat konsantrasyonunun Pik Akımına Etkisi.

Tablo 4.10 Barbitüratların pH 9.30, 0.05 Borat tamponunda pik akımlarının konsantrasyonla değişimi (n=6).

Cx10 ⁵ M	Pik akımı (nA)						
	Barb.	Amob.	Pentob.	Allob.	Sand.	Sekob.	Fenob.
0.99	35.41	17.50	11.55	21.25	14.45	14.06	5.94
1.96	80.52	29.53	21.33	43.07	33.98	22.66	11.88
3.85	164.70	53.75	38.91	84.19	68.95	36.52	22.31
5.66	236.33	78.13	56.49	135.56	98.83	51.37	34.06
7.41	261.33	99.77	72.73	166.00	129.49	63.67	51.25
9.09	284.77	121.88	90.62	206.03	157.23	78.52	71.56
10.71	--	--	108.75	--	--	96.09	94.69

4.8 Barbitüratların Pik Potansiyelleri Üzerine pH Etkisi. Süstitüent değişikliklerinin polarografik davranış üzerine etkisini inceleyebilmek için, barbitüratların pik potansiyellerinin pH ile değişimlerinin aynı olması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmanın bulguları tablo 4.11 de verilmiştir.

Tablo 4.11 Barbitüratların 0.05 M Borat tamponunda değişik pH değerlerindeki pik potansiyelleri (DKE'ye göre, $C = 4.76 \times 10^{-5}$ M, $n=6$).

TÜREV	pH	E_p (mV)
BARBİTAL	8.15	+72.50
	9.30	+26.00
	10.06	+1.00
	11.20	-55.83
AMOBARBİTAL	8.04	+50.63
	9.30	-11.88
	10.09	-46.88
	11.15	-100.00
PENTOBARBİTAL	8.12	+56.25
	9.30	-8.75
	10.11	-43.75
	11.40	-106.25
ALLOBARBİTAL	8.12	+62.50
	9.30	+5.00
	10.09	-34.38
	11.10	-81.25
SANDOPTAL	8.14	+60.00
	9.30	+6.88
	10.03	-34.38
	11.00	-81.25
SEKOBARBİTAL	8.16	+56.25
	9.30	+5.00
	10.34	-55.00
	11.46	-115.63
FENOBARBİTAL	8.40	+25.63
	9.30	-17.50
	10.11	-48.75
	11.26	-97.50

4.9 Logaritmik Analiz ve α_n Değerlerinin Bulunması.

Tablo 4.12 Barbitüratların uygulanan değişik potansiyellerdeki $\log (i_{lim} - i/i)$ değerleri.

$\log (i_{lim} - i/i)$							
E (mV)	Barb.	Amob.	Pentob.	Allob.	Sand.	Sekob.	Fenob.
-20	0.321	0.038	0.152	0.213	0.184	0.083	0.022
-10	0.182	-0.075	0.018	0.099	0.055	-0.039	-0.125
0	0.049	-0.200	-0.126	-0.010	-0.073	-0.153	-0.248
+10	-0.082	-0.342	-0.257	-0.172	-0.208	-0.293	-0.382
+20	-0.205	-0.472	-0.382	-0.301	-0.334	-0.405	-0.511

4.10 Tablet Analizleri.

Tablo 4.13a A draje (K firması) analiz bulguları.

Numune No.	Bulunan mg Pentobarbital /draje	
1	19.86	Belirtilen =20 mg/draje \bar{x} =19.81 mg/draje % S.S.= 1.07 Bulunanın % si = % 99.05
2	19.54	
3	19.93	
4	20.01	
5	19.72	

Tablo 4.13b. B draje(L firması) analiz bulguları.

Numune No	Bulunan mg barbital/draje	
1	20.07	Belirtilen = 20mg/draje \bar{x} = 20.17mg/draje % S.S.=0.56 Bulunanın % si =% 100.85
2	20.19	
3	20.13	
4	20.36	
5	20.11	

Tablo 4.13c C tableti(M Firması) analiz bulguları.

Numune No	Bulunan mg allobarbita- lital/tablet	
1	29.62	Belirtilen = 30mg/tablet \bar{x} =29.70mg/tablet % S.S.=0.72 Bulunanın % si = % 99.00
2	29.74	
3	29.40	
4	29.78	
5	29.98	

Tablo 4.13d. D draje (N firması) analiz bulguları

Numune No	Bulunan mg fenobarbital/draje	
1	19.84	Belirtilen = 20 mg/draje \bar{x} = 19.79mg/draje % S.S. = 0.63 Bulunanın % si = % 98.95
2	19.62	
3	19.93	
4	19.71	
5	19.86	

Tablo 4.13e E tableti(P firması) analiz bulguları.

Numune No	Bulunan mg fenobarbital/tablet	
1	98.03	Belirtilen = 100 mg/tablet \bar{x} = 98.70 mg/tablet % S.S.=0.60 Bulunanın % si = % 98.70
2	99.16	
3	98.34	
4	99.45	
5	98.53	

Tablo 4.13f. F komprime (R firması) analiz bulguları.

Numune No	Bulunan mg allobar- bital/komp.	
1	31.04	Belirtilen = 30 mg/komp. \bar{x} = 31.39 mg/komp. % S.S.= 1.14 Bulunanın % si = % 104.63
2	31.66	
3	30.97	
4	31.54	
5	31.73	

5. TARTIŞMA ve SONUÇ.

5.1. Destek Elektrolit Seçimi.

Polarografide çalışılan maddenin yanında "destek elektrolit" adı verilen iyonlaşabilen bir çözeltinin de bulunması gereklidir(43). Destek elektrolit'in kullanımı üç amaca yöneliktir; a) Çözeltinin iletkenliğini sağlamak; b) İyonik göçü ortadan kaldırmak; c) En iyi pik(dalga)şeklini elde etmek. Destek elektrolit asit, baz, tuz veya tampon çözeltisi olabilir. Destek elektrolitler için kullanılabilir potansiyel aralığı, cıvanın yükseltgenme (pozitif potansiyelde) ve katyonların indirgenme(negatif potansiyelde) potansiyelleri ile sınırlıdır. Sülfat, sitrat, asetat, fosfat ve borat tamponları pozitif potansiyellerde çalışmak için uygun elektrolitlerdir. Pozitif yarı dalga potansiyellerinde anodik pik veren maddeler ile yapılan çalışılmalarda bu elektrolitlere başvurulur(119).

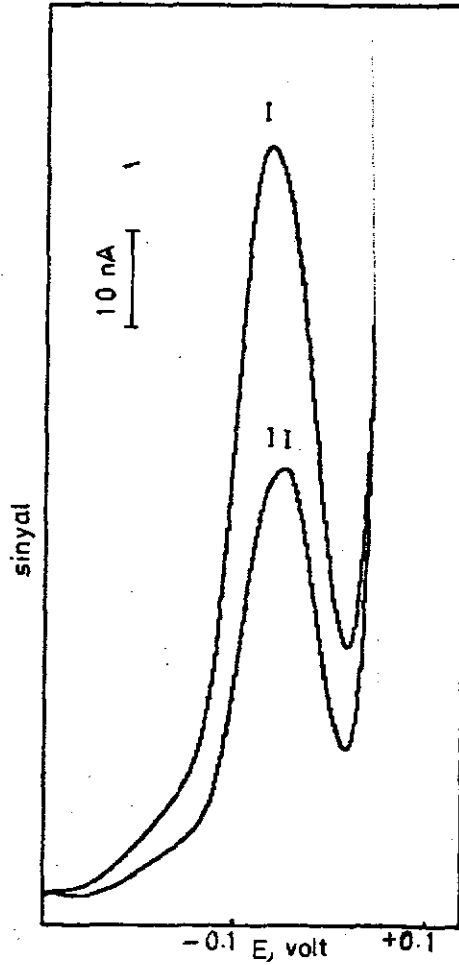
Önce çalışılmalarda barbitüratların anodik dalga(pik) vermelerinin gözlenmesi ve pik potansiyellerinin 0.00Volt civarında olması; sülfat, sitrat, asetat, fosfat ve borat tamponlarının seçilmesinin daha uygun olduğunu göstermiştir. Organik maddelerin genel olarak yarı dalga potansiyelleri (veya pik potansiyelleri) pH ile değişmektedir. İlkovic eşitliğindeki (eşitlik 2-2) difüzyon katsayısı iyonların sonsuz seyreltmede eşdeğer iletkenliklerine ve çözeltinin viskozitesine bağlı olduğu için(43) pik yükseklikleri de

elektrolitin türüne ve pH ya bağlıdır. Eğer pik potansiyeli pH ile değişiyorsa bu değişimin en az olduğu aralıkta çalışılmalıdır ki herhangi bir sebeple veya cıva damlası yüzeyindeki reaksiyon sonucu meydana gelen pH değişimleri ile pik kaymamış olsun. Barbitürik asitler gibi zayıf asitlerde, serbest asit, monokanyon ve dianyon şekillerinin oranları ortamın pH sı ile değişmektedir. Elektrokimyasal değişikliğe uğrayan veya cıva iyonları ile çözünmez tuz oluşturan parçacık bunlardan biri veya birkaçı olabilir. pH nın sabit tutulmasıyla bu oran da sabit tutulmuş olur.

Çalışmanın ilk safhasında her türev için hangi elektrolitin hangi pH da en büyük pik yüksekliğine neden olduğunu ve pik yüksekliğin pH ile en az değiştiği aralığı bulmak için tablo 4.1 deki elektrolitler denendi. pH taramaları her elektrolit için tampon özelliğinin korunduğu aralıklarda yapıldı. Pik yüksekliklerinin karşılaştırılabilmeleri için her türevin konsantrasyonu $4.76 \times 10^{-5} M$ de tutuldu. Bu konsantrasyon hemen hemen bütün türevlerde pik akımının barbitürat derişimi ile doğrusal değiştiği bölgenin orta değeri olduğu için seçilmiştir.

Denenen elektrolitlerden $0.1 M H_2SO_4$ çözeltisi ($pH < 1$) ve asetat tamponunda pik gözlenememiştir. Karbonat tamponunda, alctin en duyarlı halinde bile çok küçük bir pik verdiği gözleendiğinden, karşılaştırmada göz önüne alınmamıştır. Ayrıca karbonat tamponları $CO_3^{2-} - HCO_3^-$ için dengeye ulaşma hızının yavaş olduğu bilindiğinden (120) polarografik çalışmalarda çok fazla kullanılmaz. $0.1 N NaOH$ çözeltisi

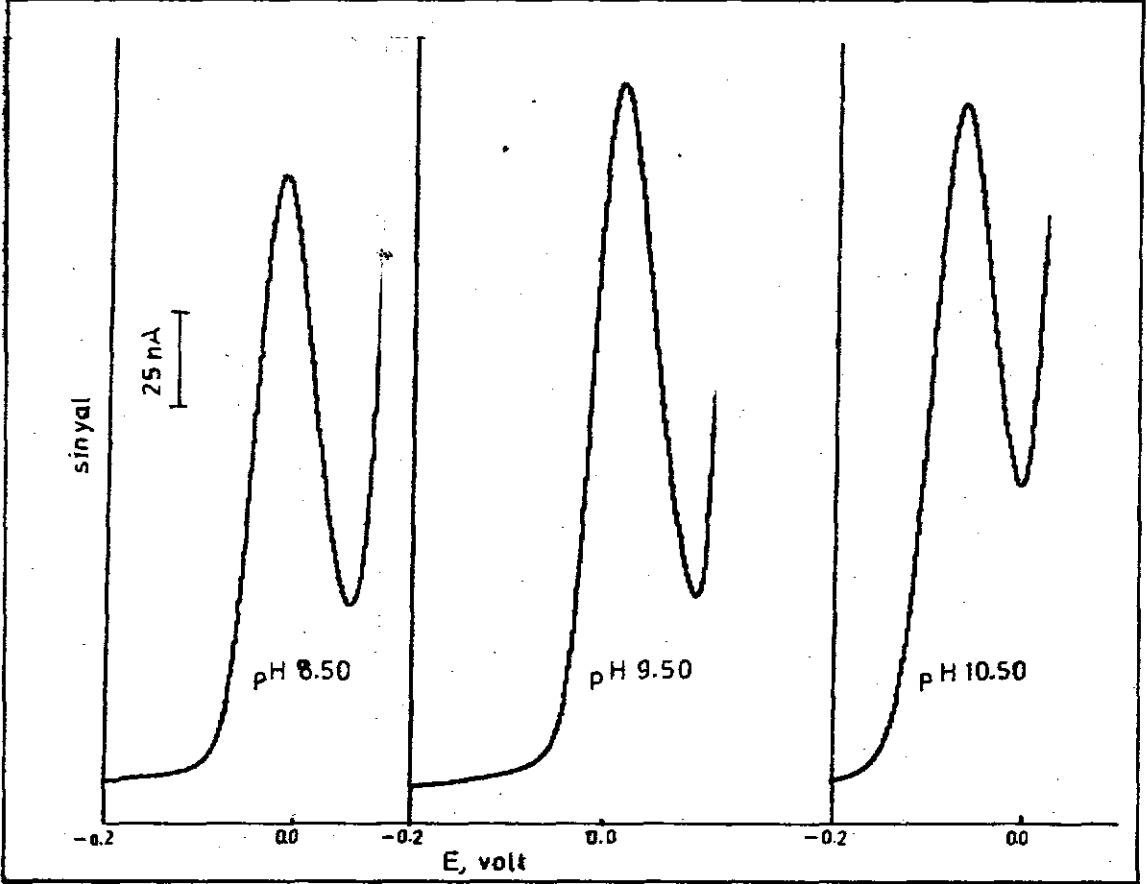
tisinde pik gözlenmesine rağmen barbitüratların bu ortamda kararsız olmaları(64), azot geçirme süresinde bile pikin belirgin bir şekilde küçülmesine neden olduğundan değerlendirilmeye katılmamıştır(Şekil 5.1).



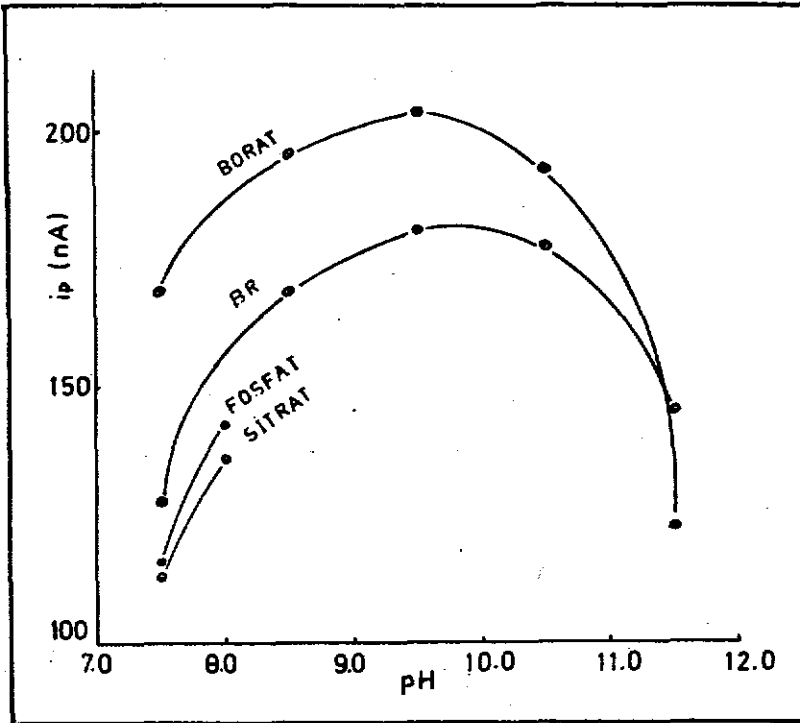
Şekil 5.1. Fenobarbitalin 0.1 N NaOH çözeltisinde zamana karşı türevsel puls polarogramı. I. 7.22×10^{-5} M Fenobarbital 10 dak. azot gazı geçirildikten sonra, II. Tekrar 30 dk. azot gazı geçirildikten sonra (TH=5 mV/sn, DS=1 damla/sn, h=50 cm). (TH : Tarama hızı, DS : Damlama süresi, h : Civa sütun yüksekliği).

Borat, Britton-Robinson, Fosfat ve Sitrat tamponlarında belirgin ve kararlı pikler gözleendiğinden ilk ikisi için pH 7.00-12.00 arasında tarama yapıldı. pH 7.00-7.50 ve 11.50-12.00 arasındaki piklerin küçük ve düzensiz olmaları dolayısıyla pH 7.50-11.50 arasındaki 5 değişik pH değerinde pikler ölçülmüştür. Bu iki tamponda pH'nın 7.00 den küçük ve 12.00 den büyük değerlerinde barbitürat piki gözlenememiştir. Fosfat ve sitrat tamponlarında ise yalnız pH 7.50 ve 8.00 de pikler alınarak değerlendirilmiştir. Adı geçen dört tamponda her türev için pH ya karşı pik akımları tablo 4.2 de verilmiştir. Allobarbitol için pik yüksekliğinin pH ile değişimi Şekil 5.2 de görülmektedir. Metilfenobarbitalin hiçbir elektrolitte pik oluşturmaması, cıva iyonları ile kararlı kompleks veya çözünmez tuz oluşturmadığını göstermektedir.

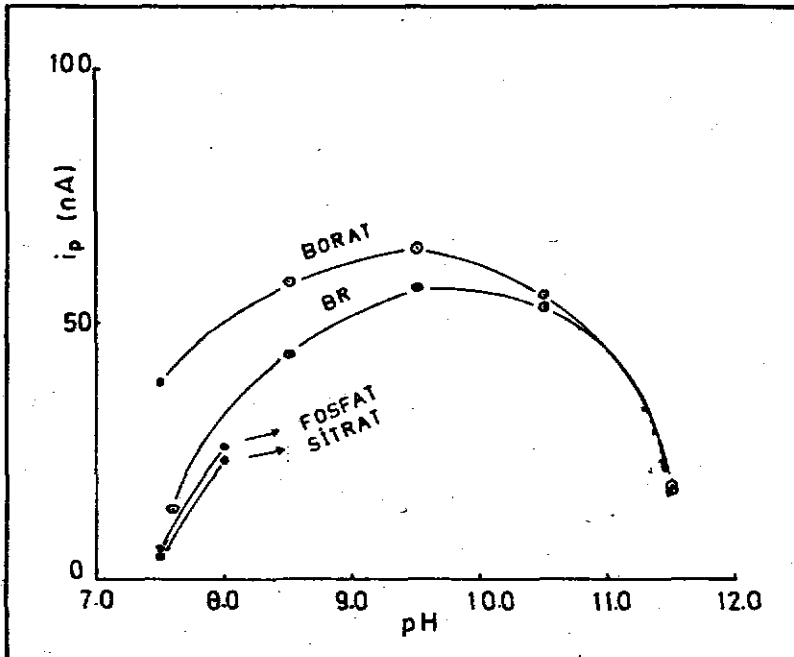
Tablo 4.2 de verilen değerler grafiğe geçirilirse pik akımının pH ile değişimi daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Her türev için i_p -pH grafikleri Şekil 5.3 de görülmektedir.



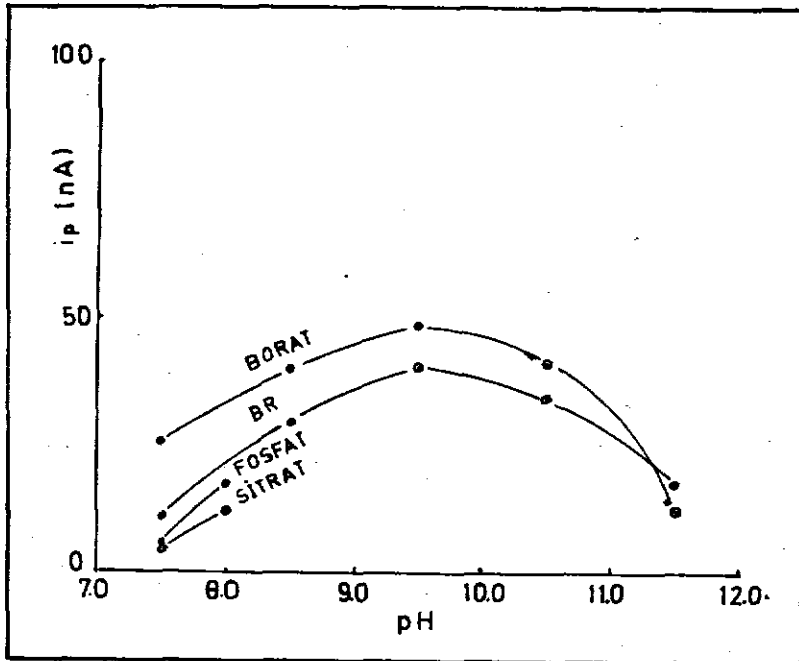
Şekil 5.2. 4.76×10^{-5} M Allobarbitalin 0.05 M Borat tamponunda değişik pH değerlerinde türevsel puls polarografik pikleri (TH= 2 mV/sn, DS= 1 damla/sn, h=50 cm).



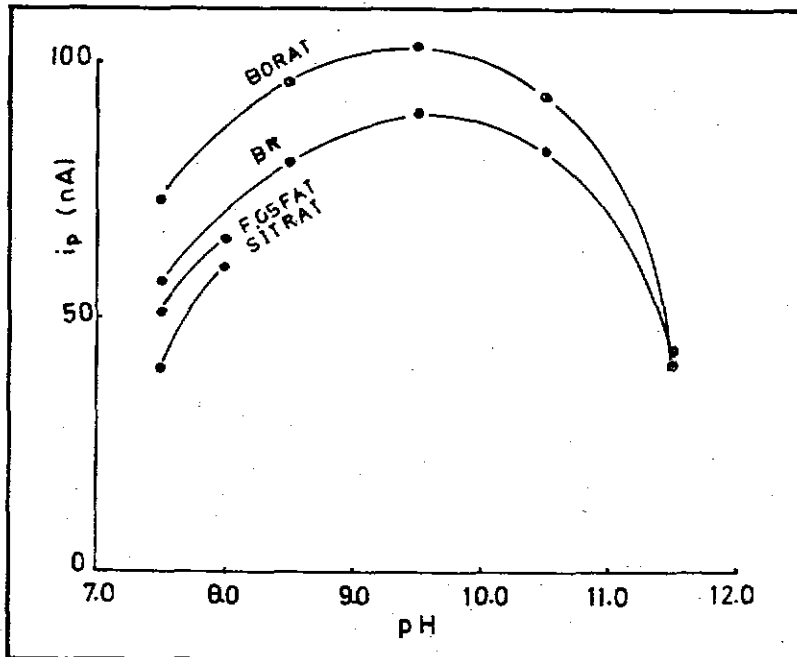
Şekil 5.3a Barbital



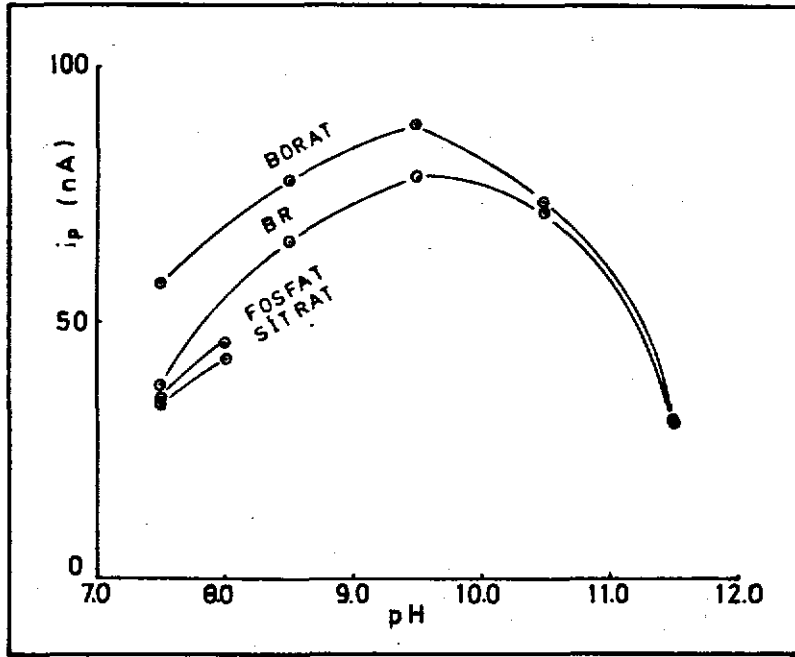
Şekil 5.3b Amobarbital



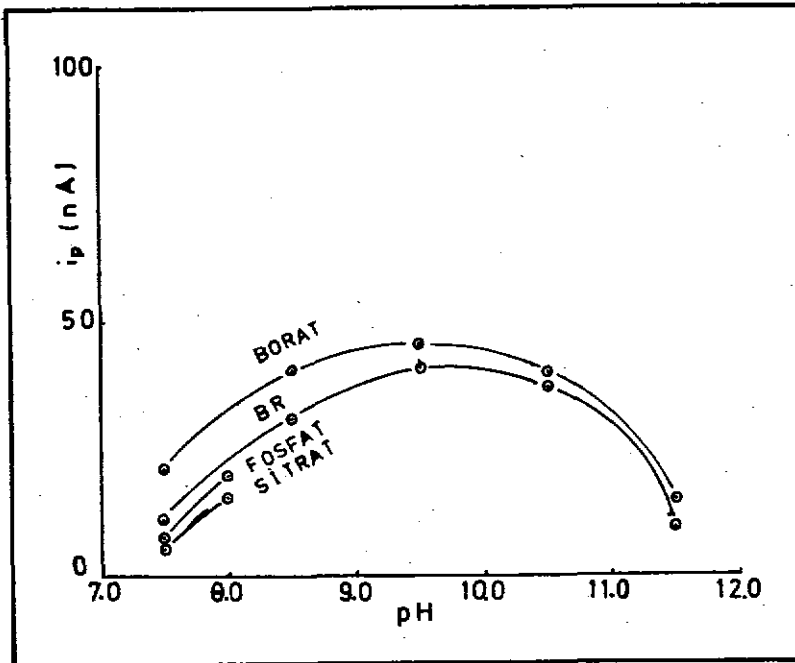
Şekil 5.3c Pentobarbital



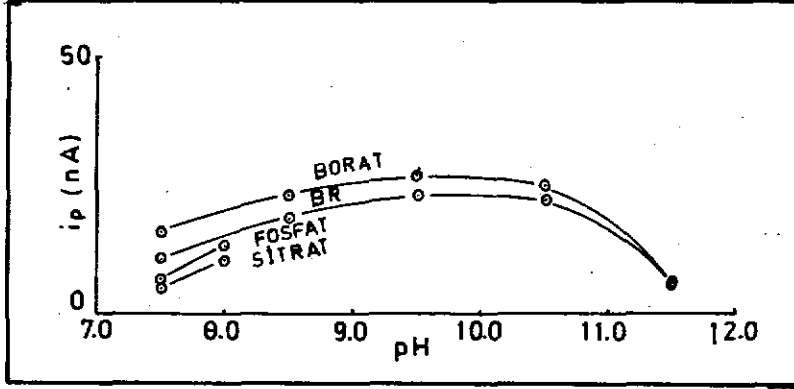
Şekil 5.3d Allobarbitol



Şekil 5.3e Sandoptal



Şekil 5.3f Sekobarbital

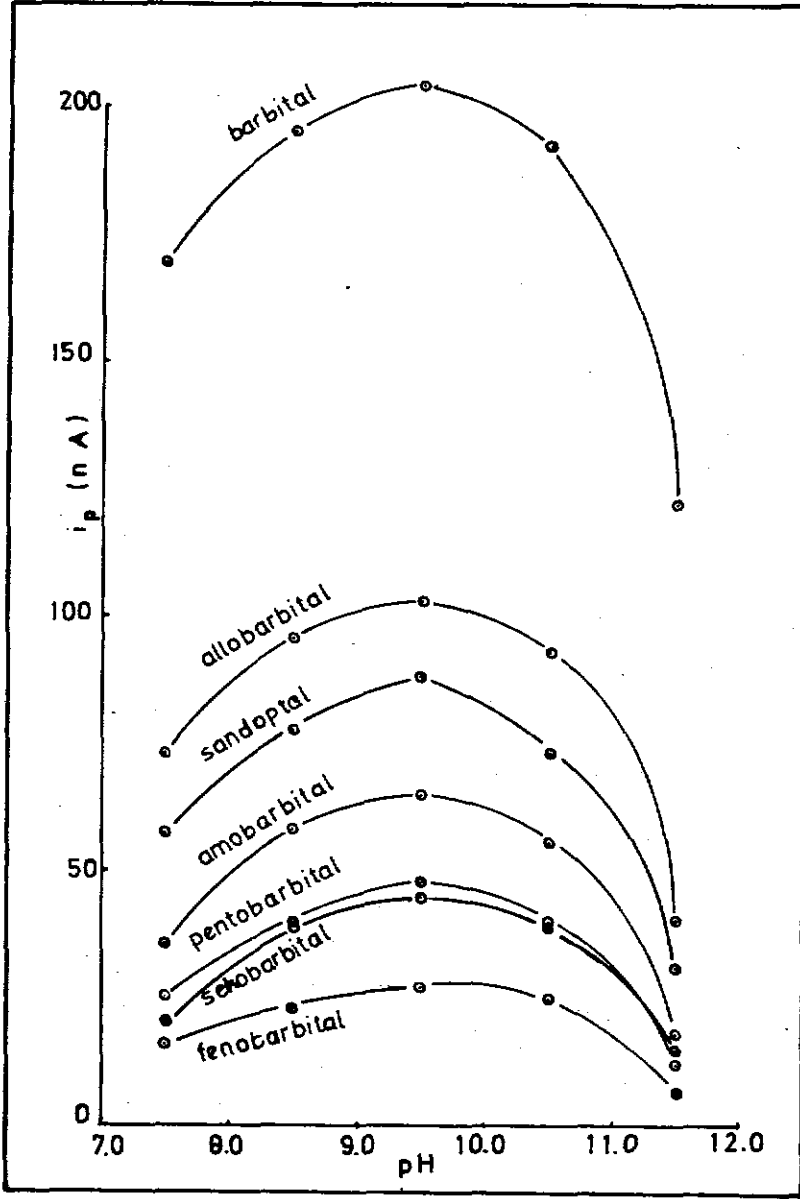


Şekil 5.3g Fenobarbital

Şekil 5.3. Barbitüratların değişik tamponlarda pik akımlarının pH ile değişimleri ($C=4.7 \times 10^{-5}$ M, $TH=2$ mV/sn, $n=50$ cm, $DS=1$ damla/sn).

Barbital, amobarbital, pentobarbital, allobarbital, sandoptal, sekobarbital ve fenobarbital için en büyük pik akımının elde edildiği tampon 0.05 M borat tamponu olduğu Şekil 5.3 den görülmektedir. Daha sonra sırasıyla Britton-Robinson, fosfat ve sitrat tamponları gelmektedir.

Şekil 5.4 de 0.05 M borat tamponunda barbitüratların pik akımlarının pH ya göre değişimleri birarada gözlemlendiğinde aynı konsantrasyonda olmalarına rağmen pik akımlarının birbirinden farklı olduğu görülmektedir.



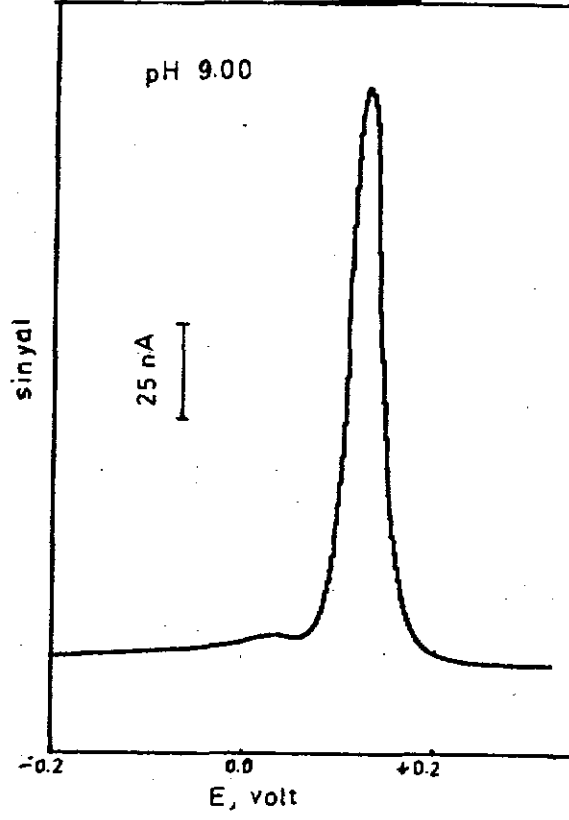
Şekil 5.4 Barbitüratların 0.05 M Borat tamponunda pik akımlarının pH ile değişmesi ($C=4.76 \times 10^{-5} M$, $T_H=2mV/sn$ $DS=1$ damla/sn, $h=50$ cm).

Bütün barbitüratlarda pik akımlarının pH 9-10 arasında bir maksimum değere ulaştığı şekil 5.4 den görülmektedir. Pik akımının pH ile değişiminin en küçük olduğu aralık da bu pH aralığıdır. Sonuç olarak hem pik akımının ^{değişmesinin} maksimum olduğu hem de pH değişmelerine karşı pik akımının en az olduğu ortam 0.05 M borat tamponu için pH 9-10 aralığıdır. Bu pH aralığında barbitüratların türevsel puls polarografisi ile analizleri yapılabilir.

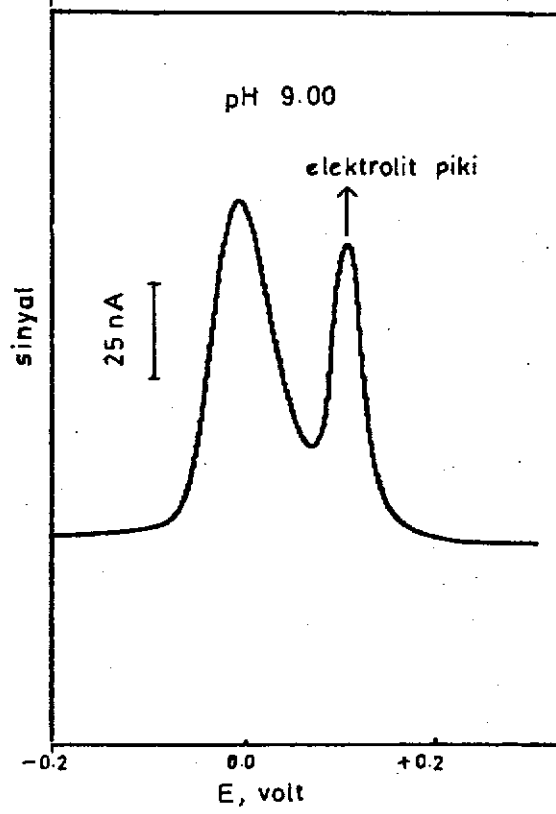
Borik asitin pKa değeri 9.30(38) dur. Bir tamponun kapasitesinin pKa değerine eşit pH değerlerinde en fazla olduğu bilinmektedir. Barbitürat analizlerinde de en uygun pH'nın 9.30 olduğu söylenebilir.

5.2. Barbitürat Pikleri ile Elektrolit Piklerinin Ayrılabilirliği:

Barbitüratlar türevsel puls polarografisi ile 0.00 volt civarında pik vermektedirler. Pik potansiyellerinin tamponun türüne, ortamın pH'ına, barbitürat konsantrasyonuna bağlı olmasına rağmen bu parametrelere bağlı olan değişiklik çok fazla değildir. Barbitürat pikinden daha pozitif potansiyel tarafında, denenen bütün elektrolitlerde gözlenen bir elektrolit bozunma piki bulunmaktadır(16,69). Şekil 5.5 de 0.05 M borat tamponunun pH 9.00 daki bozunma piki ve Şekil 5.6 da ise 0.05 M borat tamponunda (pH=9.00)allobarbital pikleri görülmektedir.



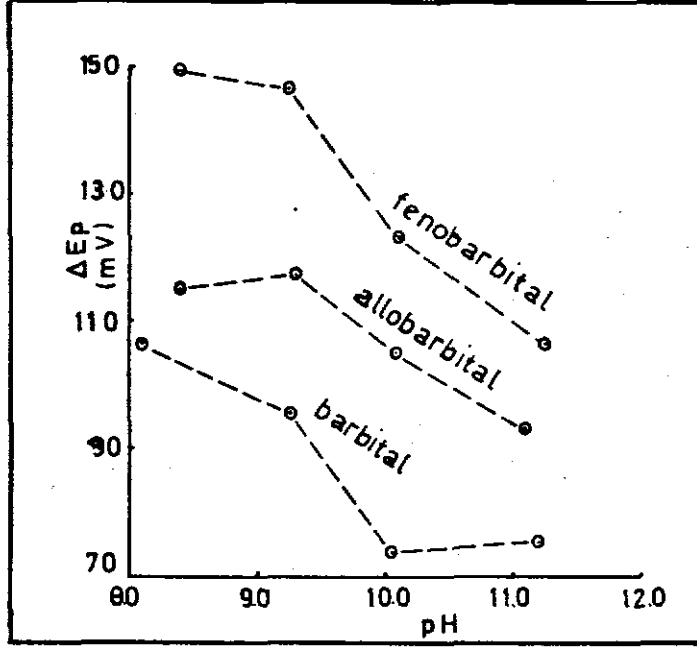
Şekil 5.5. 0.05 M Borat tamponunun pH 9.00 da türevsel puls polarografik piki (TH=5 mV/sn, DS= 1 damla/sn, h=50cm)



Şekil 5.6. 0.05 M Borat tamponunda (pH 9.00) allobarbital ve elektrolitin türevsel puls polarografik pikleri (TH= 5 mV/sn, DS= 1 damla/sn, h= 50 cm).

Elektrolit bozunma pikleri hem elektrolitin türüne hem de pH ya bağlı olduklarından en uygun destek elektrolit ve pH seçiminde piklerin ayrılabilirliğinin kontrolü önem kazanmaktadır. Piklerin birbirlerine yakınlığı bu kontrolün önemini ortaya çıkarmaktadır. Aynı ayrı tamponlarda ayrılabilirliği kontrol için aynı pH da allobarbital için yapılan deneylerde 0.05 M borat tamponunda ayrılabilirliğin en iyi olduğu görülmüştür. Tablo 4.4 de iki pik potansiyeli arasındaki fark milivolt(mV) olarak verilmiştir. Tablo 4.4. den de görüleceği gibi ayrılabilirlik 0.05 M borat tamponunda en iyi olmakla beraber diğer elektrolitlerden çok fazla değildir.

Hem barbitürat pikinin hem de elektrolit bozunma pikinin pH ya bağlı olması, ayrılabilirliğin en iyi olduğu pH nın araştırılmasını gerektirmektedir. Barbital, allobarbital ve fenobarbital için 0.05 M borat tamponunda değişik pH larda pik potansiyelleri arasındaki fark tablo 4.3 de gösterilmiştir. Bulgular düşük pH larda pik potansiyelleri arasındaki farkın bu üç türev için daha fazla olduğunu göstermektedir. Şekil 5.7 de yaklaşık pH 9.30 dan büyük değerlerde pik potansiyelleri arasındaki farkın her üç türev için de aynı şekilde azaldığı görülmektedir.



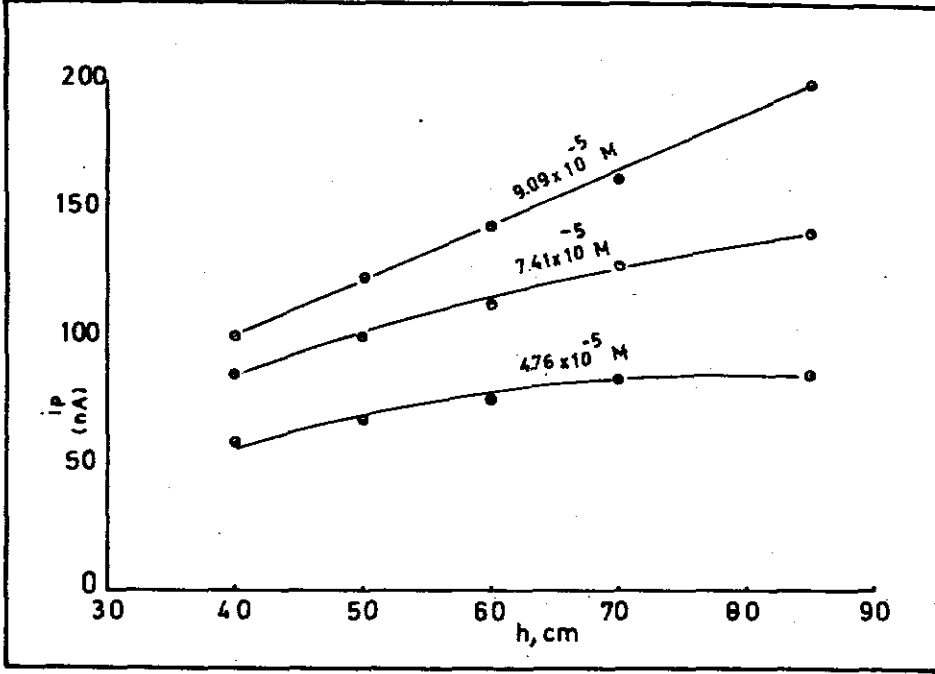
Şekil 5.7. Barbitürat ve 0.05 M Borat tamponu bozunma pik potansiyelleri arasındaki farkın pH ile değişmesi.

Değişik elektrolitlerde ve 0.05 M borat tamponunda değişik pH larda elde edilen bulgular da ayrılabilirliğin en iyi olduğu elektrolitin 0.05 M borat tamponu ve 9.30 dan küçük pH lar olduğu sonucunu vermektedir. pH 8.9.30 arası pik potansiyelleri arasındaki fark şekil 5.7 den görüleceği gibi çok fazla değildir. Fakat bölüm 5.1 de pik yüksekliğinin 9.30 dan küçük pH larda daha az olduğu sonucu elde edilmişti. pH 8.00 ve 9.30 da pik yükseklikleri arasındaki fark pik potansiyelleri arasındaki farktan daha önemli olduğu için ilk kritere göre pH 9.30 un seçilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır.

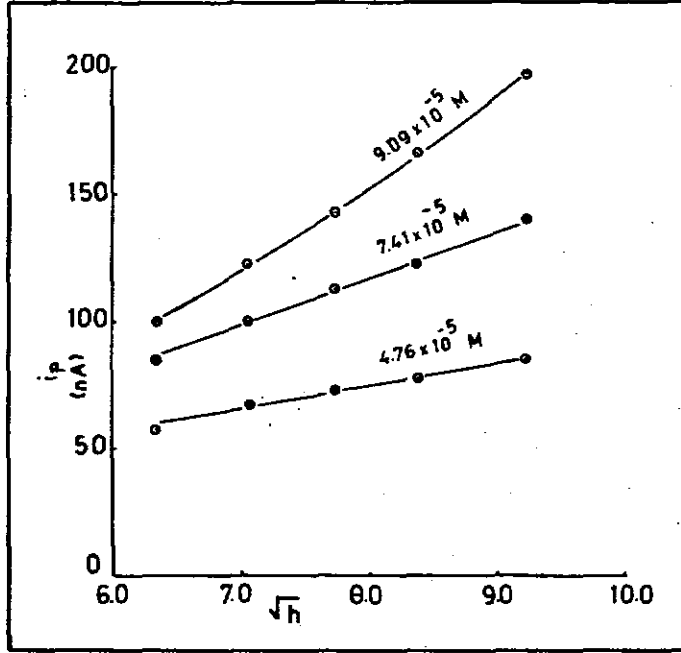
5.3. Cıva Sütunu Yüksekliğinin, Barbitüratların Pik Akımları ve Pik Potansiyelleri Üzerine Etkisi.

İlkoviç eşitliğinden (eşitlik 2-2) sınır akımının cıvanın akış hızına bağlı olduğu bilinmektedir. Cıva sütun yüksekliği arttıkça pik akımı da artar. Ancak bu artış akımın niteliğine bağlıdır. Sınır akımının diffüzyon, adsorpsiyon, kinetik ve kapasitif olmasına göre h veya \sqrt{h} ile farklı olarak değişir. Analitik çalışmalarda bir maddenin vermiş olduğu pik'in yanı sıra, pikin niteliği hakkında bilgi edinmenin, analizlerin sıhhati ve pik üzerine etkili olan çeşitli parametrelere kontrolü açısından faydası vardır.

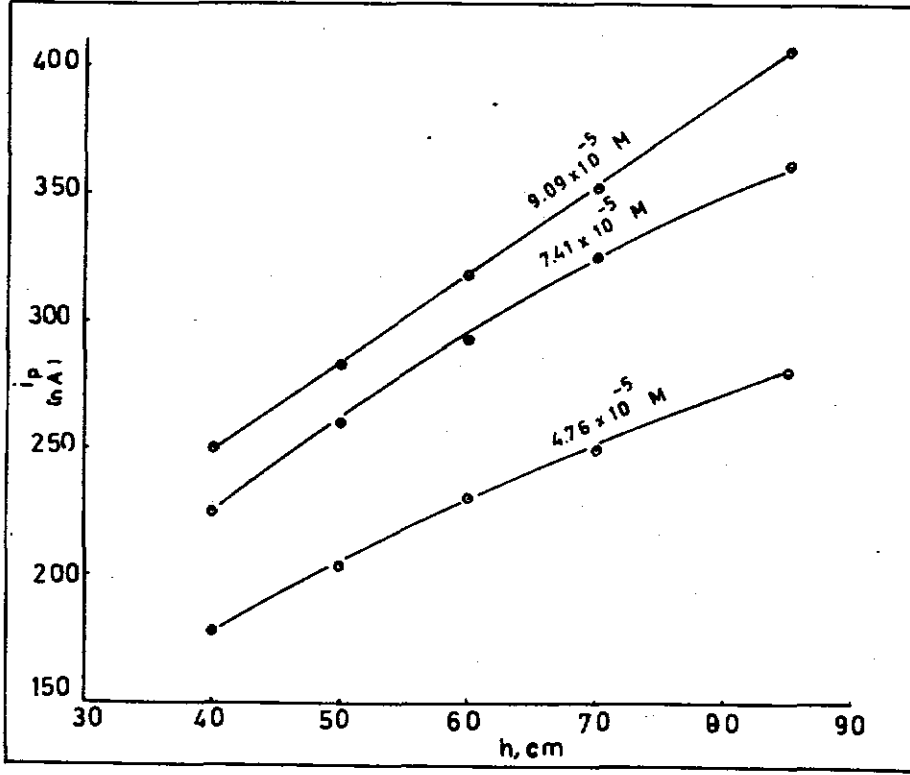
Pik akımının (veya sınır akımının) niteliği elektrot olayı ve mekanizma hakkında da bilgi verir. Pik akımının h ve \sqrt{h} ile değişimini gösteren bu bulgular barbital için tablo 4.5 de amobarbital için ise tablo 4.6 da verilmiştir. 5,5-disüstitüe barbitüratların şimdiye kadar gözlenmiş olan polarografik özelliklerinin incelenmesi sonucunda birbirlerine çok benzediği görüldüğünden, cıva sütunu yüksekliğinin pik yüksekliğine etkisini gözlemek için yalnız barbital ve amobarbital ile çalışıldı. Barbitüratların analizlerinin yapılabileceği doğrusal bölge sınırları içinde (bölüm 5.6) üç ayrı konsantrasyonda incelendi. Tablo 4.5 ve tablo 4.6 daki bulgular şekil 5.8 ve şekil 5.9 da grafiğe geçirilmiştir.



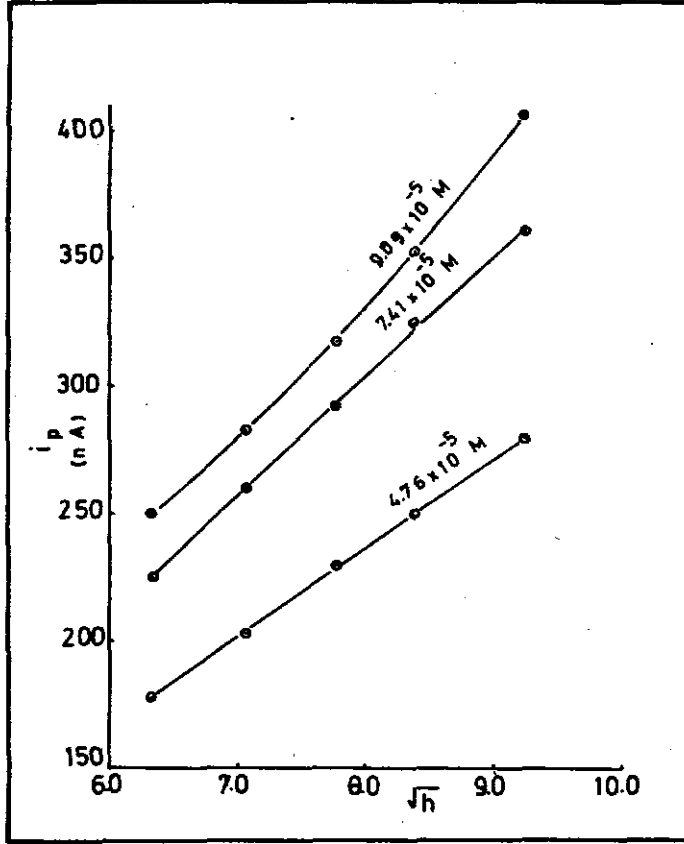
Şekil 5.8 a Amobarbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel puls polarografik pik akımının cıva sütunu yüksekliği ile değişimi.



Şekil 5.8b Amobarbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel puls polarografik pik akımının cıva sütunu yüksekliğinin kare kökü ile değişimi.

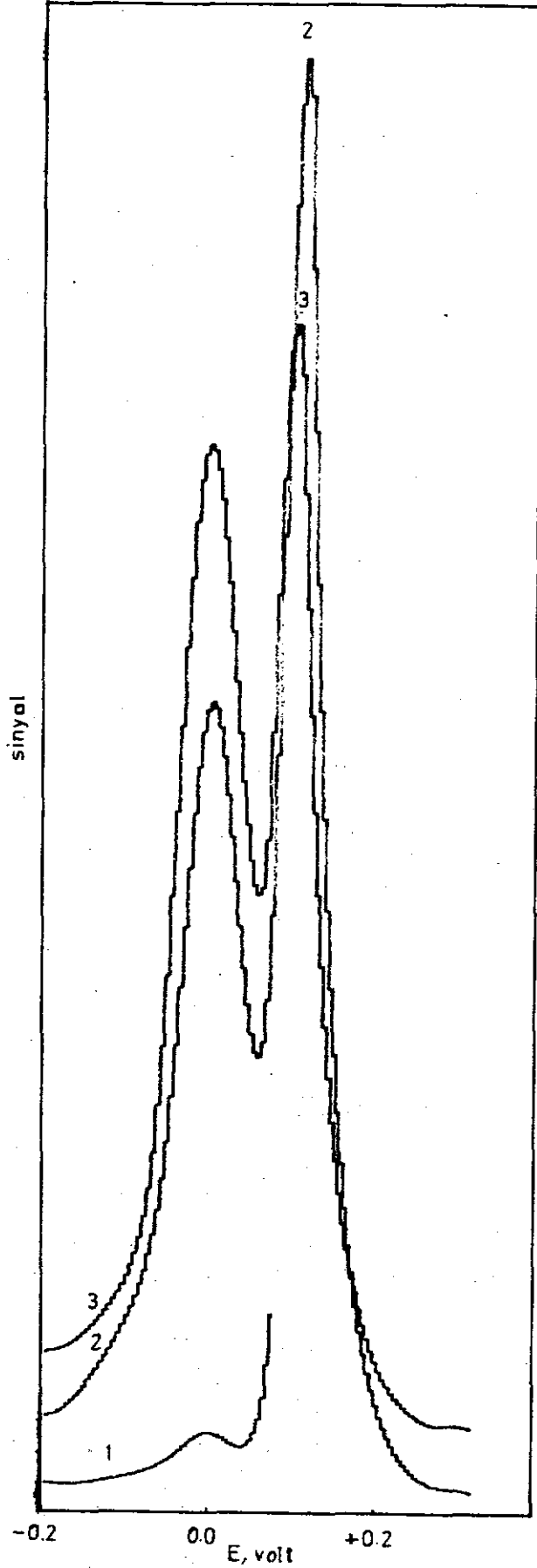


Şekil 5.9a Barbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel puls polarografik pik akımının cıva sütunu yüksekliği ile değişimi.



Şekil 5.9b. Barbitalin 0.05 M Borat tamponunda (pH=9.30) türevsel puls polarografik pik akımının cıva sütunu yüksekliğinin kare kökü ile değişimi.

Amobarbital ve barbitalin pik akımları şekil 5.8a ve şekil 5.9a da görüldüğü gibi düşük konsantrasyonlarda (4.76×10^{-5} M ve 7.41×10^{-5} M) h ile parabolik, yüksek konsantrasyonda (9.09×10^{-5} M) h ile doğrusaldır. Pik akımlarının \sqrt{h} ile grafiği ise amobarbital ve barbital için 4.76×10^{-5} M ve 7.41×10^{-5} M konsantrasyonlarında doğrusal, 9.09×10^{-5} M konsantrasyonunda ise paraboliktir. Düşük konsantrasyonlarda pik akımının h ile parabolik ve \sqrt{h} ile doğrusal değişmesi sınır akımının difüzyon akımı, yüksek konsantrasyonlarda h ile doğrusal ve \sqrt{h} ile parabolik değişmesi ise sınır akımının adsorpsiyon akımı olduğunu gösterir(41). Fakat yüksek konsantrasyonlarda pik akımının \sqrt{h} ile parabolik değişiminin çok net olmayışı adsorpsiyon karakterinin zayıf olduğunu göstermektedir. Adsorpsiyon olayının artan konsantrasyonla arttığını gösteren diğer bir bulgu da artan barbitürat konsantrasyonu ile elektrolit bozunma pikinin azalmasıdır. Cıva-barbitürat tuzu, cıva damlası üzerinde adsorplanarak elektrolitin bozunma reaksiyonunu engellemektedir. Belli bir barbitürat konsantrasyonundan sonra elektrolit bozunma piki barbitürat pikinden ayrılmayacak kadar küçülmekte ve barbitürat pikinin ölçülmesini (değerlendirilmesini) önlemektedir. Şekil 5.10 da görülen bu durum üst tayin sınırlarını da belirlemektedir. Elektrolit bozunma piki barbitürat pikinde kaybolduktan sonra adsorpsiyon karakteri tam olarak ortaya çıkmakta ve pik yüksekliği artan barbitürat konsantrasyonu ile hemen hemen değişmemektedir.



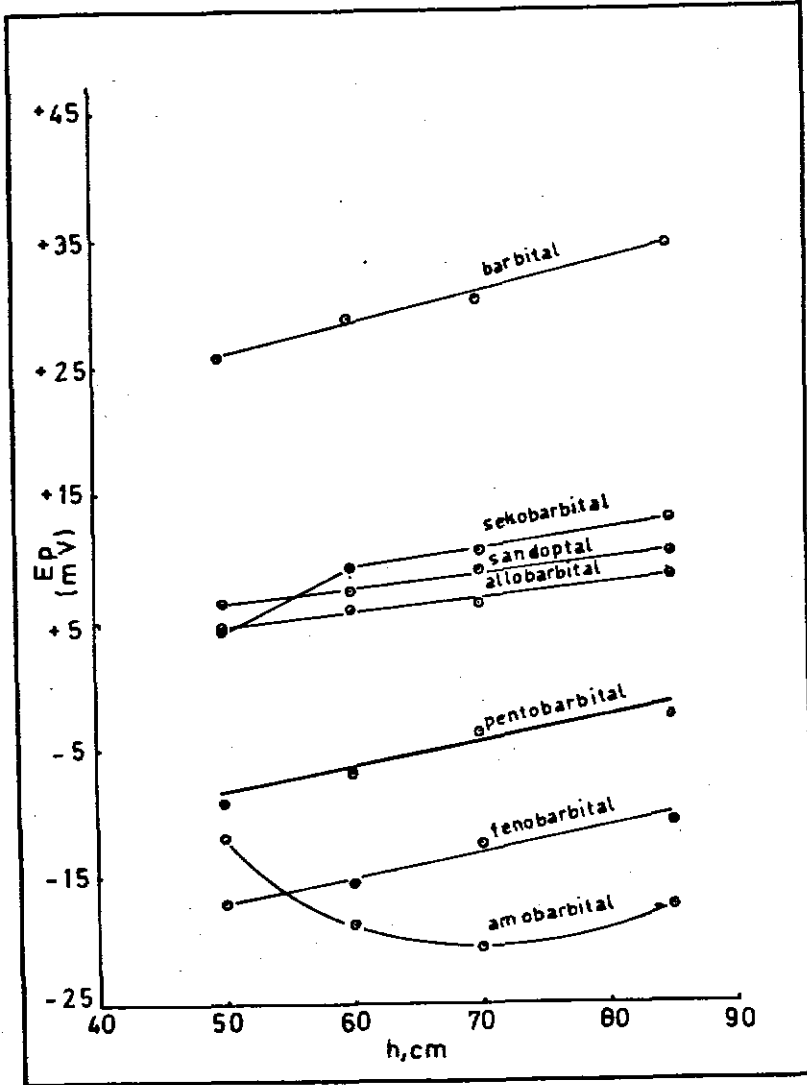
Şekil 5.10 Artan Pento-
barbital konsantrasyonuyla
elektrolit (0.05 M Borat
tamponu, $pH=9.30$) bozun-
ma pik yüksekliğinin azal-
ması.

1. Elektrolit
2. 2.44×10^{-5} M
3. 4.76×10^{-5} M Pento-
barbital.

Pik potansiyelleri de cıva sütunu yüksekliği ile ilk bakışta değişmektedir. Tablo 4.7 de verilen pik potansiyellerinin h ile değişim bulgularının grafikleri şekil 5.11 de görülmektedir. Değişme, barbital, sandoptal, allobarbital pentobarbital ve fenobarbital için yaklaşık olarak doğrusal sayılabilir. Bu türevlerde pik potansiyelleri artan cıva sütunu yüksekliği ile pozitif değerlere kaymaktadır. Sekobarbital ve amobarbitalde ise şekil 5.11 da görüldüğü gibi değişim doğrusal değildir. 35 cm lik cıva sütunu yüksekliğinin pik potansiyellerinde sebep olduğu değişiklik her türev için aşağıdaki olduğu gibidir.

Barbital	: + 8.62 mV
Amobarbital	: - 5.16 mV
Pentobarbital	: + 6.56 mV
Allobarbital	: + 3.72 mV
Sandoptal	: + 3.75 mV
Sekobarbital	: + 8.75 mV
Fenobarbital	: + 6.27 mV

Başlangıçta cıva sütunu yüksekliği ile pik potansiyelleri arasında olduğu kabul edilen ve şekil 5.11 de gösterilen ilişkinin, istatistiksel değerlendirmeye tabi tutulduğunda deneysel hata sınırları içerisinde ihmal edebileceği görülmüştür. Böylelikle barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin cıva sütunu yüksekliğine bağlı olmadığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 5.11. Barbitüratların ($4.76 \times 10^{-5} M$) türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin cıva sütunu yüksekliği ile değişimleri (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30).

5.4 Sıcaklık Etkisi:

Cıva sütunu yüksekliğinin pik akımına etkisi incelenirken sınır akımının adsorpsiyon karakter gösteren difüzyon akımı olabileceği sonucuna varılmıştır. Sıcaklığın pik akımı üzerine etkisi, akımın karakteri konusunda bilgi veren diğer bir parametredir(41). Ayrıca analitik amaçlı çalışmalarda sıcaklığa bağlı olan değişme miktarının bilinmesi sıcaklığın kontrolü bakımından da önem taşımaktadır. Barbital, nentobarbital, allobarbital ve sekobarbital için değişik sıcaklıklardaki pik akımları tablo 4.8 de verilmiştir. 20°C deki pik akımı temel alınarak bir derecelik sıcaklık değişmesine karşılık olan pik akımı değişmesi hesaplanmış ve sıcaklık katsayısı, $\%(\Delta i_p / ^\circ\text{C})$ tablo 5.1 de gösterilmiştir. Sıcaklık katsayısı aşağıdaki formül yardımıyla bulunmuştur.

$$\% (\Delta i_p / ^\circ\text{C}) = \frac{(i_{20} - i_t) / i_{20}}{20 - t} \times 100$$

Tablo. 5.1. Barbitüratların türevsel puls polarografik pik akımları için sıcak-

lık katsayıları.

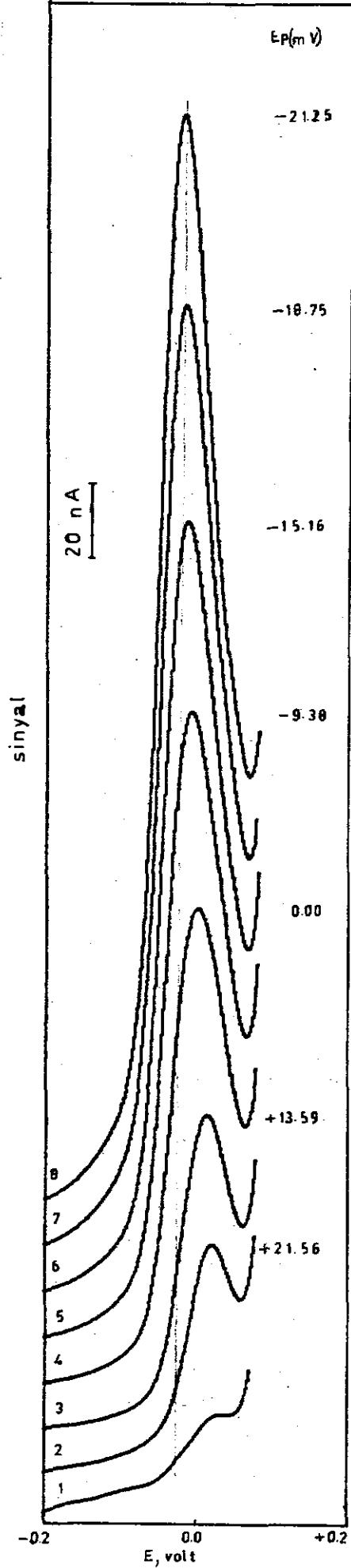
t°C	Barbital		Pentobarbital		Allobarbital		Sekobarbital	
	4.76x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.66x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.66x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M	5.66x10 ⁻⁵ M	9.09x10 ⁻⁵ M
9	1.86	1.46	1.53	1.60	1.71	1.57	1.66	1.53
11	1.68	1.58	1.70	1.61	1.62	1.54	1.69	1.62
13	1.79	1.41	1.58	1.59	1.59	1.61	1.71	1.58
15	1.69	1.40	1.72	1.63	1.66	1.48	1.75	1.57
16	1.67	1.51	1.76	1.62	1.69	1.70	1.80	1.68
18	1.72	1.53	1.65	1.69	1.70	1.42	1.64	1.60
20	--	--	--	--	--	--	--	--
Ort.	1.74	1.48	1.66	1.62	1.66	1.55	1.71	1.60

Her iki konsantrasyonda da sıcaklık arttıkça pik akımı da artmaktadır. Artma miktarı türevden türeve farklı olmakta beraber aynı türev için konsantrasyon değişmelerine karşı davranış aynıdır. Her dört türev için de konsantrasyon arttıkça sıcaklık katsayısının değeri azalmaktadır.

Difüzyon akımının sıcaklık katsayısının $\% 1.8/^\circ\text{C}$ olarak karakteristik olduğu ve sıcaklıkla arttığı, adsorpsiyon akımının ise sıcaklıkla bazen değişmeyip, bazen artıp bazen de azaldığı bilinmektedir(41). Düşük konsantrasyondaki sıcaklık katsayısı difüzyon akımı katsayısına yakındır. Yüksek konsantrasyonda bu değerler daha da düşmesi ile difüzyon karakterin azalıp adsorpsiyon karakterin ortaya çıktığı söylenebilir.

5.5. Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Potansiyeline Etkisi:

Tersinir elektrot reaksiyonlarında pik potansiyeli (yarı-dalga potansiyeli) depolarizer konsantrasyonuna bağlı değildir. Cıva ile çözünmez tuzlar veren anyonlarda ise pik potansiyeli depolarizer konsantrasyonuna bağlıdır(43). Elektrot reaksiyonunun niteliğinin aydınlatılması için yapılan deneylerden elde edilen bulgular tablo 4.9 da gösterilmiştir. Pentobarbitalin türevsel puls polarografik pik potansiyelinin konsantrasyonla değişimi şekil 5.12 de görülmektedir.

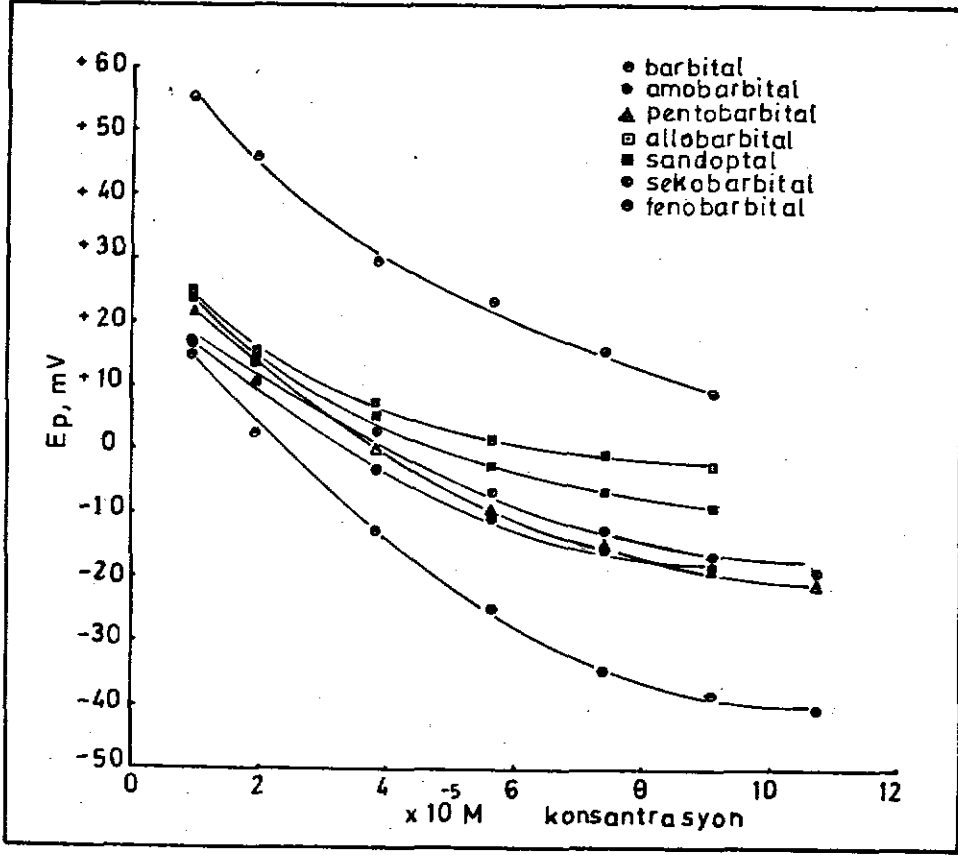


Şekil 5.12. Pentobarbitalin türevsel puls polarografik pik potansiyelinin konsantrasyonla değişmesi (0.05 M Borat tamponu, pH 9.30).

1. 0 M
2. 0.99×10^{-5} M
3. 1.96×10^{-5} M
4. 3.85×10^{-5} M
5. 5.66×10^{-5} M
6. 7.41×10^{-5} M
7. 9.09×10^{-5} M
8. 10.71×10^{-5} M

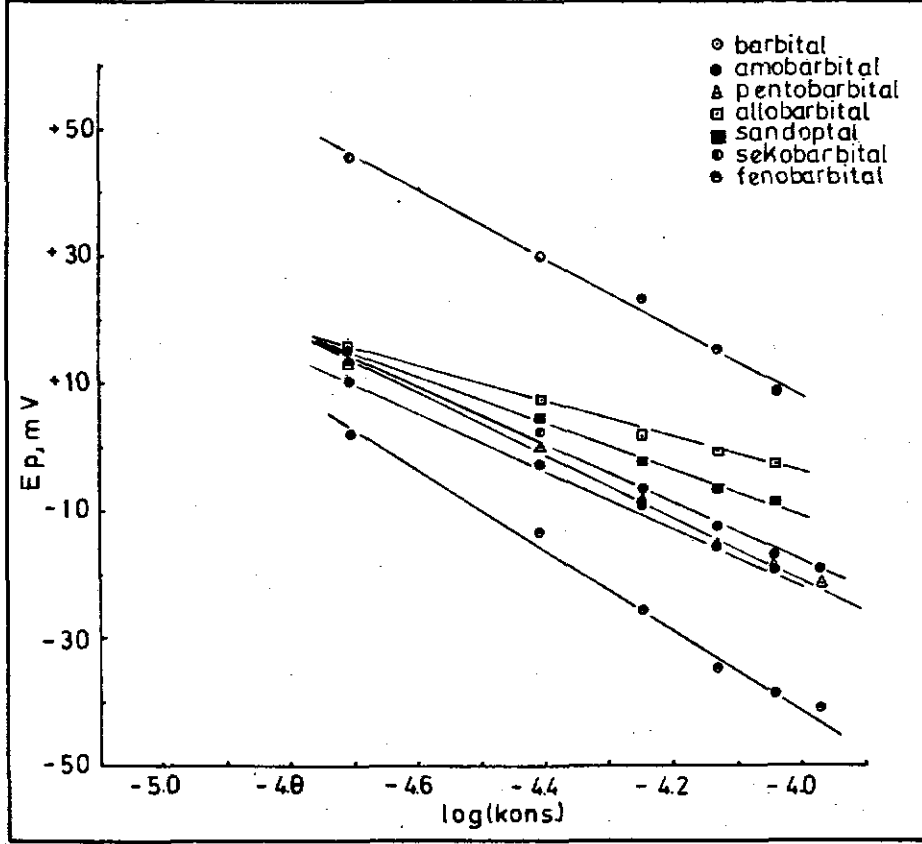
Pentobarbital

Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin konsantrasyonla değişimi şekil 5.13 de grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 5.13. Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin konsantrasyonla değişimleri (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30).

Bütün türevlerin pik potansiyelleri konsantrasyonla aynı şekilde değişme özelliği göstermektedirler. Artan barbitürat konsantrasyonu ile şekil 5.13 de gösterilen değişme yüksek konsantrasyonlara gittikçe azalmaktadır. Bu grafikler karakteristik lorgatmik özellik göstermektedir. Pik potansiyelleri konsantrasyonun logaritmasına karşı grafiğe geçirildiklerinde her biri bir doğru vermektedir (Şekil 5.14).



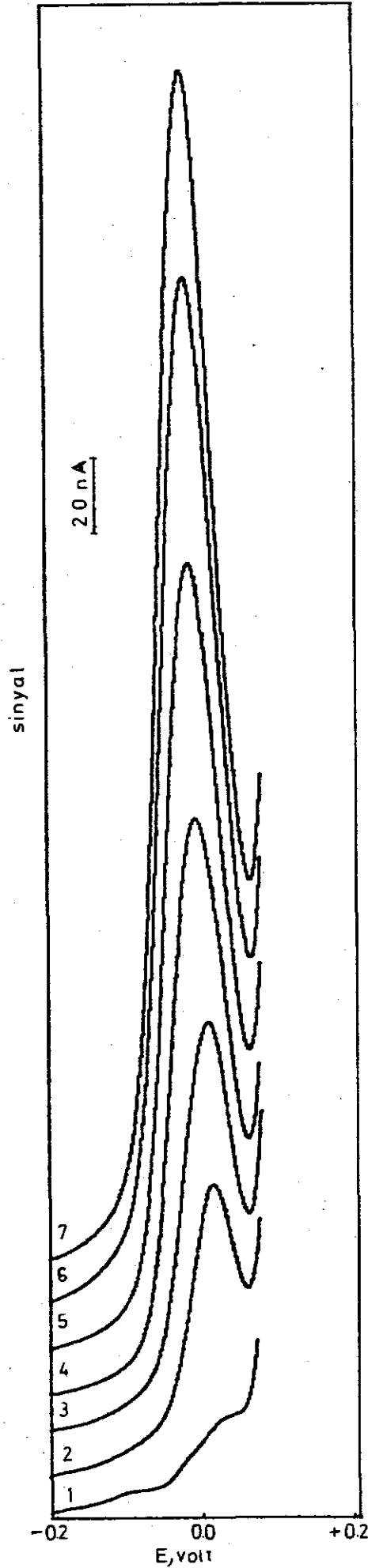
Şekil 5.14 Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin konsantrasyonun logaritmasıyla değişmesi(0.05 M Borat tamponu, pH=9.30).

5.6 Barbitürat Konsantrasyonunun Pik Akımına Etkisi.

Barbitüratlar türevsel puls polarografisinde doymuş kalomel elektroda karşı 0.00 V civarında pik vermektedirler. Oksijenin birinci indirgenme piki de ($O_2 \rightarrow H_2O_2$) tam bu potansiyelindedir(119). Bu yüzden çözelti içerisinde çözünmüş olarak bulunan oksijen gazından çok fazla etkilenmektedirler. Analizlerde çözeltideki çözünmüş oksijenin ortamdaki uzaklaştırılması için azot gazının 10 dakika geçmesi yeterlidir. Azot gazı, özel oksijen tutucusundan ve akkor halindeki bakır talaşları üzerinden geçirilmesine rağmen oksijenden tamamen arındırılmamış ve bu yüzden oksijen piki tamamen yok edilememiştir. Piklerin alınışında hava oksijeninin tekrar çözünmesini önlemek için çözeltinin üzerinden devamlı azot gazı geçirilerek hava ile temasının kesilmesine çalışılmıştır.

Barbitüratların türevsel puls polarografik pik akımları barbitürat konsantrasyonu ile doğrusal olarak artmaktadır(Şekil 5.15).

Doğrusal değişimin alt sınırı oksijenin indirgenme piki tarafından tayin edilmektedir. Oksijen tamamen ortadan kaldırılamadığı için düşük barbitürat konsantrasyonlarında etkilidir. Armstrong ve diğerlerinin(121) elektrolitik yolla elde edilen civa-barbitürat tuzlarının özelliklerini tayin için yaptıkları bir çalışmada civa-barbitüratların adsorpsiyonu ile oksijenin indirgenmesinin engellendiği belirtilmiştir. Ancak bu engelleme belirli

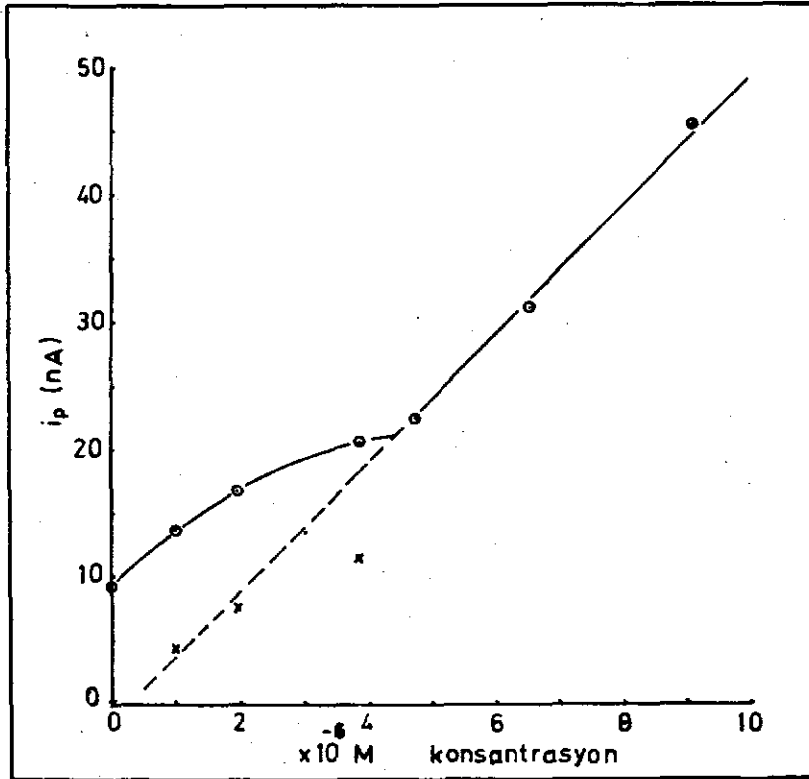


Şekil 5.15 Amobarbitalin türevsel puls polarografik pik akımının konsantrasyonla değişmesi (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30).

1. 0
2. 0.99×10^{-5} M
3. 1.96×10^{-5} M
4. 3.85×10^{-5} M
5. 5.66×10^{-5} M
6. 7.41×10^{-5} M
7. 9.09×10^{-5} M

Amobarbital

barbitürat konsantrasyonundan sonra olmaktadır. İşte bu konsantrasyon, barbitürat tayinlerinde alt tayin sınırını belirlemektedir. Düşük barbitürat konsantrasyonlarında pik akımının konsantrasyonla ilişkisi doğrusallıktan sapmaktadır. Bu durum allobarbital için şekil 5.16 da görülmektedir.

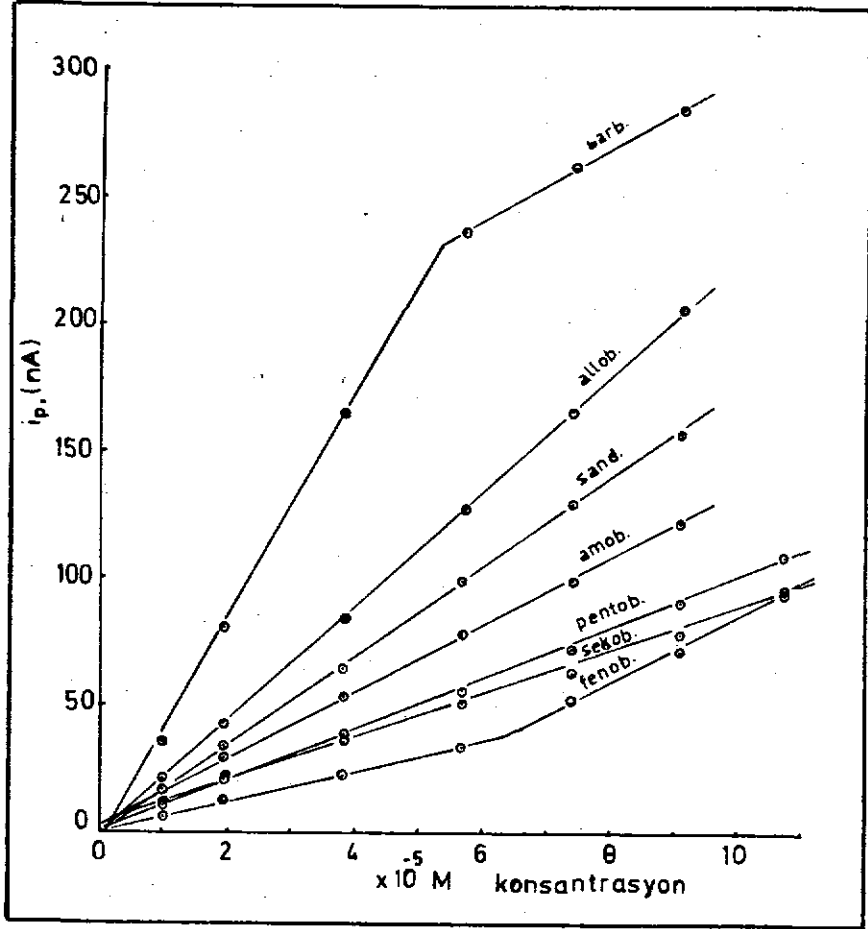


Şekil 5.16 Düşük konsantrasyonlarda allobarbitalin türevsel puls polarografik pik akımı üzerine oksijenin etkisi(0.05 M Borat tamponu, pH=9.30).

Şekil 5.16 dangörüleceği üzere 4.6×10^{-6} M allobarbital konsantrasyonundan sonra pik akımı konsantrasyonla doğrusaldır. 0.99×10^{-6} M, 1.96×10^{-6} M ve 3.85×10^{-6} M barbitürat konsantrasyonlarında okunan pik akımının barbitürat ve oksijen pik akımlarının toplamı olduğunu kabul ederek oksijen pikini (çözeltide barbitürat yokken) çıkarırsak elde edilen değerlerin, doğrunun uzantısında olduğunu görülməsi bu durumu doğrulamaktadır. 3.85×10^{-6} M barbitürat konsantrasyonundan sonra oksijen piki hemen hemen engellenmiştir. Düşük konsantrasyonlardaki eğri ile yüksek konsantrasyonlardaki doğrunun keşişme noktası barbitüratların alt tayin sınırını oluşturmaktadır.

Üst tayin sınırı ise elektrolit piki ile sınırlanmıştır. Barbitürat piki artan konsantrasyonla büyüdükçe elektrolit piki küçülmektedir (Şekil 5.10). Belli bir barbitürat konsantrasyonundan sonra elektrolit piki, barbitürat piki ile karışıp, barbitürat pikinin değerlendirilmesini engellemektedir. Barbitüratların alt ve üst tayin sınırları tablo 5.2 de verilmiştir.

Barbitüratların türevsel puls polarografik pik akımlarının konsantrasyonla ilişkileri şekil 5.17 de görülmektedir. Barbital ve fenobarbital için bu doğrular iki eğimlidir.



Şekil 5.17 Barbitüratların türevsel puls polarografik kalibrasyon doğruları (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30, h=50 cm, TH=2 mV/sn, DS=1 damla/sn).

Tablo 5.2. Barbitüratların türevsel puls polarografik tayinlerinde alt ve üst tayin sınırları(0.05 M Borat tamponu, pH= 9.30).

TÜREV	Alt tayin sınırı		Üst tayin sınırı	
	mmol/ml	$\mu\text{g/ml}$	mmol/ml	$\mu\text{g/ml}$
BARBİTAL	4.0×10^{-6}	0.74	9.09×10^{-5}	16.7
AMOBARBİTAL	4.3×10^{-6}	0.97	9.09×10^{-5}	20.6
PENTOBARBİTAL	4.8×10^{-6}	1.09	10.71×10^{-5}	24.2
ALLOBARBİTAL	4.6×10^{-6}	0.96	9.09×10^{-5}	18.9
SANDOPTAL	4.2×10^{-6}	0.94	9.09×10^{-5}	20.4
SEKOBARBİTAL	4.8×10^{-6}	1.14	10.71×10^{-5}	25.5
FENOBARBİTAL	5.2×10^{-6}	1.21	10.71×10^{-5}	24.9

Barbital ve fenobarbital için standard ekleme yöntemi ile miktar tayini hatalara sebep olabilir. Bu yüzden bu iki türev için kalibrasyon doğrusunu kullanmak daha uygundur. Diğer türevler için her iki yöntem de uygulanabilir.

5.6.1 Yöntemin Analitik Kullanılabilirliğinin Araştırılması:

Barbitüratların şekil 5.17 de görülen türevsel puls polarografik kalibrasyon doğruları için, doğrusal regresyon analizi, doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapılarak korrelasyon katsayısı hesaplanarak (122) tablo 5.2 de gösterilen sınırlar arasında yöntemin analitik olarak kullanılabilir nitelikte bir yöntem olup olmadığı araştırılmıştır.

Doğrusal regresyon eşitliğinin eğimi ve korelasyon katsayısı aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplandı.

$$\text{Regresyon katsayısı (b)} = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{\text{XYÇT}}{\text{XOAKT}} \quad (\text{nA/mmol}\cdot\text{ml}^{-1})$$

$$\text{Korelasyon katsayısı (r)} = \frac{\text{XYÇT}}{\sqrt{\text{XOAKT} \cdot \text{YOAKT}}}$$

x : molar konsantrasyon (mmol/ml)

y : pik akımı (nA)

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü için aşağıdaki varyans analiz tablosu kurularak her türev için hesaplanan F_n değerleri ile seçilen yanılma olasılığındaki ($p = 0.05$) F_t değerleri tablolardan bulunup bu iki değer karşılaştırıldı.

Tablo 5.3. Varyans analiz tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi(SD)	Kareler toplamı(KT)	Kareler ortalaması(KO)	F_h
YOA	n-1	YOAKT	--	$\frac{RKO}{RAKO}$
R	1	Eğim.XYÇT	RKT/RSD	
RA	n-2	Y OAKT-RKT	RAKT/R SD	

Tabloda, y ortalamadan ayrılış Y OA, regresyon R, regresyondan ayrılış RA şeklinde kısaltılmış olarak gösterildi. Ölçüm sayısı(n) bazı türevler için 6, bazıları için 7 dir. x ve y nin çarpımlar toplamı XYÇT, x ortalamadan ayrılışın kareler toplamı XOAKT, y ortalamadan ayrılışın kareler toplamı YOAKT şeklinde kısaltıldı. İki değişkenli bir regresyon analizi yapıldığı için regresyon serbestlik derecesi (RSD) 1 olarak alındı, regresyondan ayrılışın serbestlik derecesi ise RASD= n-2 formülünden hesaplandı.

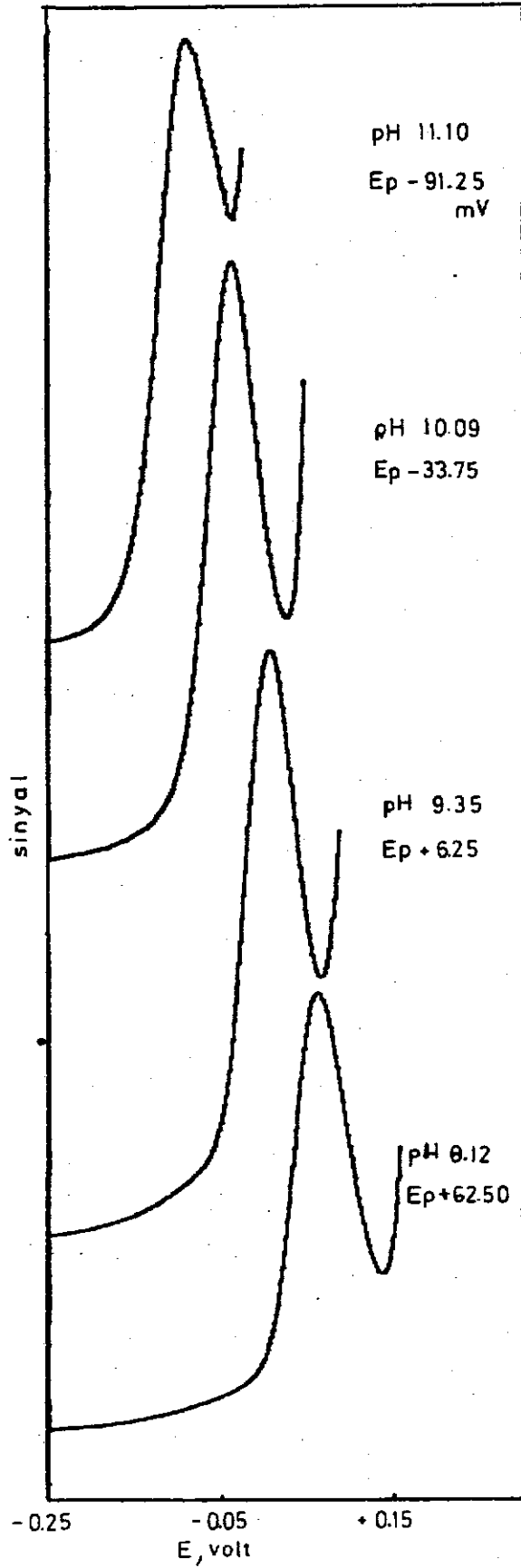
Tablo 5.4. Barbitüratların türevsel puls polarografik kalibrasyon doğruları için çeşitli kareler toplamları, serbestlik dereceleri, kareler ortalamaları, korelasyon katsayısı ve F değerleri.

TÜREV	n	r	$bx \cdot 10^{-6}$	XYCT $\times 10^4$	RKT=RKO $\times 10^{-3}$	YOAKT $\times 10^{-3}$	RAKT	RAKO	F_h	F_t
BARBİTAL	4	0.9951	4.38	56.375	24692.16	24943.06	250.900	125.450	196.8	18.51
	3	0.9999	1.41	8.309	1171.61	1173.62	2.014	2.014	581.8	161.40
AMOBARBİTAL	6	0.9999	1.29	63.817	8232.42	8239.03	6.608	1.652	4982.3	7.71
PENTOBARBİTAL	7	0.9959	0.99	77.966	7718.67	7721.08	2.416	0.483	15972.7	6.61
ALLOBARBİTAL	6	0.9992	2.28	112.603	25673.39	25687.54	14.147	3.537	7258.9	7.71
SANDOPTAL	6	0.9996	1.75	86.701	15172.63	15217.42	44.792	11.198	1354.9	7.71
SEKOBARBİTAL	7	0.9983	0.82	64.787	5312.00	5323.55	11.550	2.310	2299.6	6.61
FENOARBİTAL	4	0.9994	0.596	7.674	457.65	458.20	0.550	0.275	1662.7	18.51
	3	0.9989	1.312	7.164	942.59	944.84	2.251	2.251	418.8	161.40

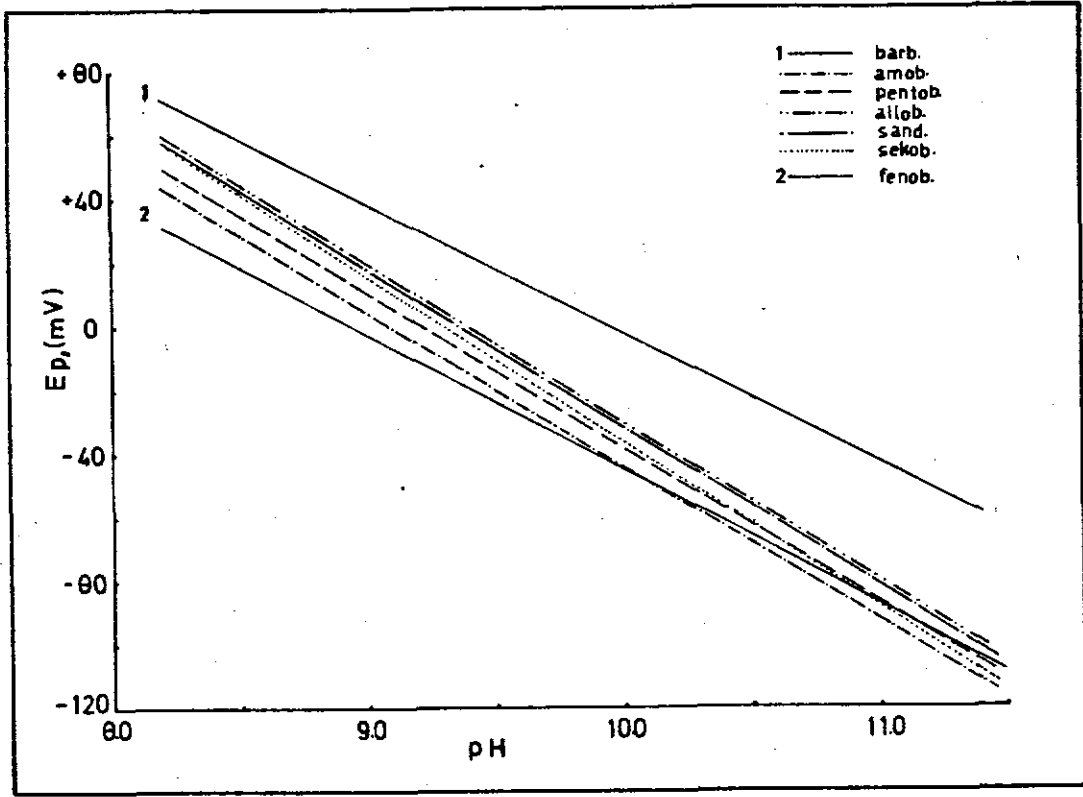
Tablo 5.4. de görüldüğü gibi bütün türevler için $F_h > F_t$ dir. Yani her türev için belirtilen doğrusal konsantrasyon bölgesinde türevsel polarografik pik akım-konsantrasyon doğruları deneysel noktaları temsil etmektedir. İncelenen türevler için yöntemin analitik olarak kullanılabilir bir yöntem olduğuna karar verilmiştir.

5.7. Barbitüratların Türevsel Puls Polarografik Pik Potansiyelleri Üzerine pH Etkisi.

Organik maddelerin çok büyük bir kısmının polarografik davranışları (yarı dalga potansiyeli, dalga yüksekliği, dalga şekli, vb.) çözeltinin asitliğine bağlıdır. Bu bağıllık asit-baz dengesi ve elektrot reaksiyonunun hızı ile ilgilidir. Ayrıca ortamın pH sı difüzyon katsayısını da değiştirmektedir. Bölüm 5.1 de pH nın pik yüksekliğine etkisi tartışılmıştır. Pik potansiyellerinin pH ile değişimi hem analiz parametrelerinin tesbiti, hem de elektrot reaksiyonunun niteliğinin açıklanması bakımından önemlidir. 0.05 M Borat tamponunda barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin pH ile değişim bulguları tablo 4.8 de verilmiştir. Şekil 5.18 de ise pik potansiyellerinin pH ya karşı değişimleri görülmektedir. Bütün türevlerde pik potansiyelleri pH arttıkça negatif değerlere kaymaktadır(Şekil 5.19).



Şekil 5.19 $4.76 \times 10^{-5} M$ Allobarbitalin türevsel puls polarografik pik potansiyelinin pH ile kayması (0.05 M Borat tamponu).



Şekil 5.18. Barbitüratların (4.76×10^{-5} M) türevsel puls polarografik pik potansiyellerinin pH ile değişimleri. (0.05 M Borat tamponu).

Şekil 5.18 den görüldüğü gibi pik potansiyellerinin pH ile değişmesi doğrusaldır. pH 8.0 den küçük değerlerde doğrusallıktan sapma vardır. pK_{a1} değerlerine karşılık olan

bu değerlerde sapma çok belirgin olmadığından pKa değerlerinin bulunmasında(41) kullanılacak nitelikte değildirler. Her türev için yapılan regresyon analizinden(122) Ep-pH ilişkisinin doğrusal olduğu bulunmuş ve bu doğruların deneysel hata sınırları içinde konvaryans analizleri ile (123) bir-birlerine paralel olduğu gözlenmiştir. Ep-pH doğrularının eğimleri ve korelasyon katsayıları(r) aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 5.5. Ep-pH doğrularının eğimleri ve korelasyon katsayıları.

Türev	Eğim	r
Barbital	-41.2155	-0.9968
Amobarbital	-48.1813	-0.9998
Pentobarbital	-49.1406	-0.9990
Allobarbital	-49.8657	-0.9999
Sandoptal	-49.8436	-0.9990
Sekobarbital	-52.7189	-0.9979
Fenobarbital	-42.3763	-0.9983

Doğruların eğimleri bir birimlik pH değişmesine karşılık pik potansiyelindeki kaymadır ve deneysel hata sınırları içerisinde aralarındaki farkın koņvaryans analizi ile önemsiz olduğu bulunmuştur.

5.8. Elektrot Reaksiyonunun Niteliği.

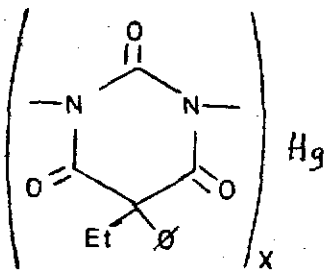
Polarografinin analitik uygulamalarında bir maddenin yalnız pik(dalga) verdiğini gözlemek yeterli değildir. Analitik uygulamanın sıhhati bakımından analizcinin, elektrot reaksiyonu hakkında bilgi sahibi olması gerekmektedir. Ayrıca bir maddenin çeşitli parametrelere bağlı polarografik davranışları, o maddenin fizikokimyasal özelliklerini yansıtmaları bakımından da önemli bulgulardır. Pratik açıdan da, polarografik hücrede süregelen reaksiyonun nasıl yürüdüğü'nün bilinmesi, girişim yapan diğer maddelerin ortamdaki uzaklaştırılmasının gereğini ortaya çıkarır. Örneğin barbitürat ve klorür-iyonlarının elektrot reaksiyonu benzer şekildedir ve aynı çözeltide girişim yaparlar. Polarografide sistemin özelliklerini bilmekle hangi parametrenin nasıl kontrol edilmesi gerektiğini öğrenebiliriz. Örneğin, akımın difüzyon karakterde olduğu bilinirse laboratuvar şartlarında sıcaklığın günlük değişmelerinin analizi etkilemeyeceği sonucuna varılır. Eğer akım kinetik kontrollü ise sıcaklığın çok hassas bir şekilde kontrol edilmesi gerekir(41). Polarografide sıcaklık, pH, elektrolitin türü, cıva sütunu yüksekliği elektrot reaksiyonunun niteliğinin açıklanmasında önemli parametrelerdir.

Tersinir bir elektrot reaksiyonunun pik potansiyeli (veya yarı dalga potansiyeli) konsantrasyona bağlı değildir (43). Pik potansiyelinin konsantrasyonla değişmesi cıva ile

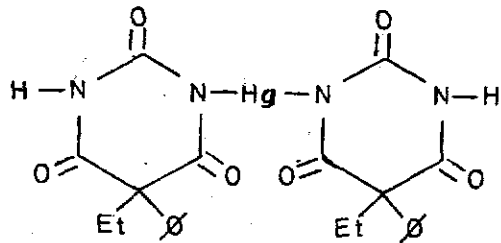
çözünmez tuzlar veren anyonların karakteristik bir özelliğidir(43). Bu tip reaksiyonlarda damlama süresi pik potansiyelini değiştirmez. Yine bu tip reaksiyonlarda pik potansiyelleri cıva sütunu yüksekliğine bağlı değildir(43). Şekil 5.11 de barbitüratların pik potansiyellerinin h ile çok az bir şekilde değiştiiği görülmüştür. Ayrıca bu değişmenin her türev için aynı olmaması deneysel hata sınırları içerisinde değişimin ihmal edilebileceğini göstermektedir. Cıvasütun yüksekliğinin 50 cm ve 85 cm olduğu durumlarda her türev için pik potansiyellerinin Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmasında(124) aradaki farkın önemsiz olduğu görülmüştür. Pik potansiyellerinin konsantrasyona bağlılığı ise önemli ve düzenlidir(Bölüm 5.5). Bu üç gözlemden elektrot reaksiyonunun cıva ile çözünmez tuz oluşturdıklarına dayanan bir reaksiyon olabileceği sonucu çıkmaktadır. Bu tip reaksiyonlar sonucu oluşan tuzun damla yüzeyinde adsorplanması yine karakteristik bir durumdur (112,125). Oksijen pikinin ve elektrolit pikinin barbitürat konsantrasyonu ile azalması ve yüksek barbitürat konsantrasyonlarında pik akımının konsantrasyonla değişmemesi adsorpsiyon olayını belirgin bir şekilde göstermektedir. Bölüm 5.4 de sıcaklığın pik akımı üzerine etkisi incelenirken de adsorpsiyon olayının sıcaklık katsayısını etkilediği sonucuna varılmıştı .

Elektrot reaksiyonunun cıvanın yüksetgenmesi sonucu oluşan cıva-barbitürat tuz oluşumu sonucuna vardiyan diğer bir bulgu da N- metil türevi olan metilfenobarbital ile akım gözlenemeyişidir. Yine bu gözlemden cıvanın barbitüratlar ile N-Hg bağı vasıtasıyla tuz oluşturdukları sonucuna varılabilir. Ancak cıvanın, barbitüratın her iki azotuna mı yoksa tek bir azotuna mı bağlanabileceğini anlamak zordur. Eğer çözünmez tuz her iki azota cıvanın bağlanmasıyla oluşuyorsa N-metil süstitüenti buna engeldir.

Literatürde cıva(II) ve barbitüratların reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin yapısı hakkında çalışmalar bulunmaktadır. Bjorling ve diğerleri(126) cıva(II) oksit ile barbitüratları reaksiyona soktuklarında birer molekülük birimlerden oluşan polimerler elde etmişlerdir. Monforte ve Purdy(109) ise kulometrik yolla oluşturulan cıva(II)-feno-barbital ürününün yine bir polimer olduğunu kanıtlamışlardır. Fakat cıva(II) klorür ve cıva(II) nitratı, barbitüratlarla reaksiyona soktuklarında ise iki molekül barbitüratın bir molekül cıva(II) ile birleştiğini görmüşlerdir. Monforte ve Purdy(109) bu iki ürünün formüllerinin aşağıdaki şekilde olduğunu iddia etmektedirler.



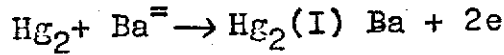
Polimerik ürün



HgCl₂ den elde edilen ürün

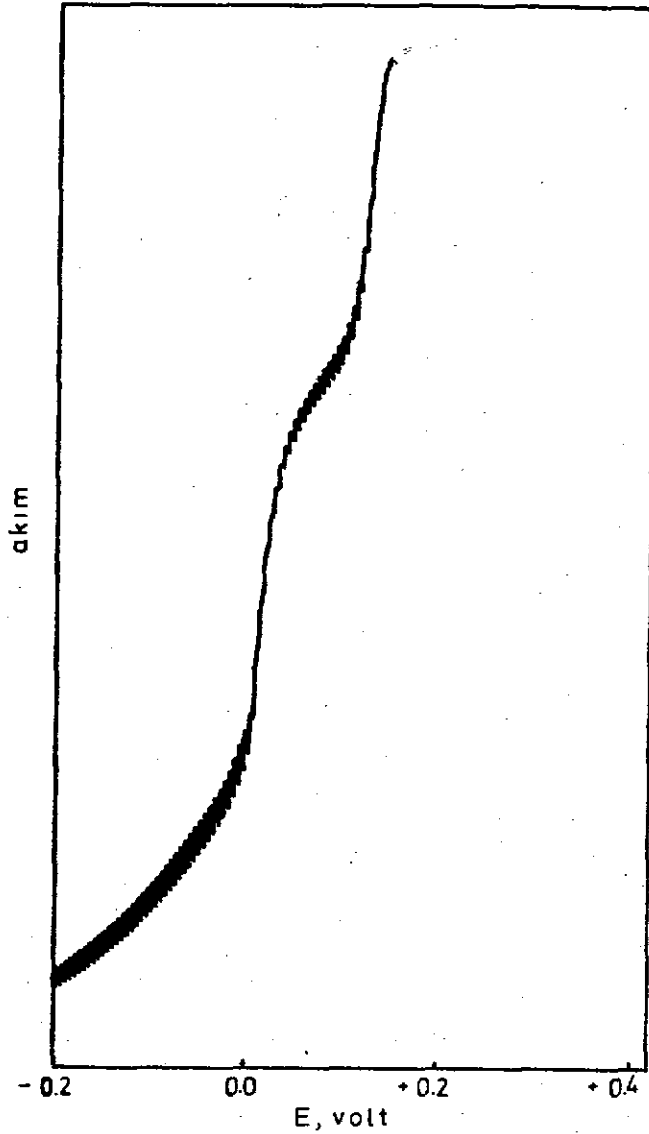
Sakamoto ve Takamura(127) ile Tiwari ve Seth(128) 2-tiyobarbitürik asitin anodik cıva ürününün, cıva(I) -2-tiyobarbitürik asit şeklinde olduğunu ileri sürmektedirler.

Zuman ve diğerleri(112) ürünün, iki cıva(II) ve üç barbital molekülünden oluştuğunu iddia etmelerine rağmen Armstrong ve diğerleri(121) cıva ile barbitalin elektrot reaksiyonunun aşağıdaki iki reaksiyondan birisinin olabileceğini fakat birincisinin çözeltilerde meydana geldiği için elektrotta da olabileceğini büyük bir ihtimal olarak kabul etmişlerdir.



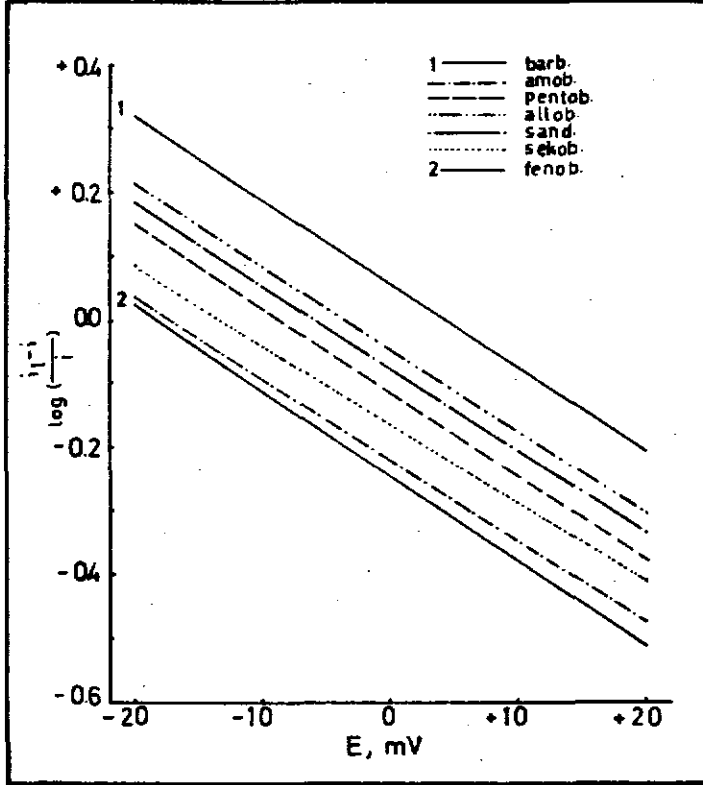
Elektrot reaksiyonu hakkında çelişkili ve net olmayan bilgilerin bulunmasından cıva ile barbitürat arasında olan reaksiyonun tek kademeli ve basit olmayıp karmaşık bir durum gösterdiği anlaşılmaktadır. Fakat çalışılan yedi türevin bütün destek elektrolitlerde pik potansiyelleri ve pik akımlarının; pH, konsantrasyon ve cıva sütun yüksekliği ile aynı davranışı göstermeleri, adsorpsiyon karakterlerinin ve sıcaklık katsayılarının yaklaşık aynı değerlerde bulunması elektrot reaksiyonunun bütün türevler için aynı olabileceği sonucuna vermiştir.

Eşitlik 2.1 den görüleceği gibi tersinir bir anodik dalga için $\log(i_{lim}-i/i)$ nin E ye karşı değişmesi dalganın yükselen kısmında doğrusaldır. Bu doğrunun eğimi 25°C de $-0.059/n$ dir(43). Eğer dalga tersinir değilse eğim $-0.059/ \alpha n$ dir(43). Her türev için d.c. polarogramının yükselen kısmında (Şekil 5.20) $\log(i_{lim}-i/i)$ değerleri, uygulanan potansiyele karşı tablo 4.12 de gösterilmiştir.



Şekil 5.20. 5.66×10^{-5} M Barbitalin 0.05 M Borat tamponu, pH 9.30 da d.c. polarogramı.

$\log(i_{lim}^{-1}/i)-E$ grafikleri şekil 5.21 den görüldüğü gibi polarogramın yükselen kısmında doğrusaldır. Bu doğruların eğimlerinden hesaplanan αn değerleri tablo 5.6 da gösterilmiştir. Eğer reaksiyon tersinir olsa idi αn değerlerinin tamsayı olması gerekirdi. Logaritmik analiz bulguları ve dalganın şekli, civa-barbitürat çözünmez tuz oluşumu toplam reaksiyonunun tersinir olmadığını göstermektedir.



Şekil 5.21. Barbitüratların $\log(i_{lim}^{-1}/i)-E$ grafikleri
0.05 M Borat tamponu, $pH=9.30$, $C=4.76 \times 10^{-5}$ M).

Tablo 5.6. Barbitüratların logaritmik analiz yöntemiyle bulunan αn değerleri.

Türev	Eğim	αn
Barbital	-0.01299	0.458
Amobarbital	-0.01287	0.455
Pentobarbital	-0.01343	0.449
Allobarbital	-0.01299	0.464
Sandoptal	-0.01299	0.464
Sekobarbital	-0.01230	0.468
Fenobarbital	-0.01323	0.465

5.9. Polarografik Davranış üzerine Süstitüent Etkisi.

Polarografide aynı davranışı gösteren, yani elektrot reaksiyonu aynı olan yapı bakımından benzer maddelerin genel davranışları gözlenirse, aynı gruba dahil çalışılmamış diğer maddelerin polaregrafik analiz ve özellikleri hakkında tahminler yapılabilir. Bir molekülde reaksiyon merkezi X ve değişen diğer kısmı R ile ifade edilirse, R grubundaki değişme reaksiyonun serbest enerjisini doğrusal olarak ve buna bağlı olarak yarı dalga (veya pik) potansiyelini etkiler(129). Bu kural doğrusal serbest enerji değişimi olarak adlandırılır. Doğrusal serbest enerji ilişkilerinin birçok faydaları vardır:

(i). Yapı bakımından benzer türevlerin yarı dalga (pik) potansiyellerinin yeri yaklaşık olarak tahmin edilir. (ii). Elektrot olaylarının mekanizma çalışmalarında baş yurulur. (iii). Çalışılmamış bir maddenin süstitüent sabitini, dolayısıyla yaklaşık pKa değerini verir. (iv). Yeni deneylerin planlanmasında seçilecek maddeler için yol gösterir.

Ana gözeltilelerde oluşan reaksiyonlarda olduğu gibi reaktifin yapısındaki değişiklikler elektrot reaksiyonunu da etkiler. Bu etki ancak aynı mekanizmaya göre reaksiyona giren bir seri madde için karşılaştırılabilir.

Polarografide yapı değişikliğinin elektrokimyasal reaktivite üzerine etkisinin en belirgin göstergesi yarı-dalga potansiyellerindeki kaymadır. Çünkü yarı dalga potansiyelindeki değişme, reaksiyonun serbest enerjisindeki değişme ile aynıdır(42). Serbest enerjiyi ve dolayısıyla yarı-dalga potansiyelini değiştiren etkiler polar(P), mezomerik(M) ve sterik(S) karakterlidir ve şu şekilde formüle edilebilir:

$$\Delta E_{1/2} = P + M + S$$

Eğer mezomerik ve sterik etkiler ihmal edilir ve $E_{1/2}$ yerine E_p alınır formül

$$\Delta E_p = P$$

olur. Yalnız indüktif etkinin geçerli olduğu durumlarda polar etki Hammett eşitliği ile ifade edilir(129).

$$\Delta E_p = P = \rho_R \sigma_x$$

σ_x , toplam polar sübstitüent sabiti olarak adlandırılır. σ_x sübstitüentin türüne bağlıdır ve aşağıdaki şekilde formüle edilen bağıl bir sabittir.

$$\sigma_x = \log K_x/K_0$$

K_x = sübstitüent türevinin dissosiasyon sabiti K_0 = referans türevinin dissosiasyon sabiti. ρ_R ise reaksiyon sabiti adını alır. Sübstitüentlerin toplam polar etkilerinin elektrot reaksiyonu üzerine etkisinin bir ölçümüdür. Sübstitüentin türüne bağlı değildir. Destek elektrolitin konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlıdır.

Eğer reaksiyonlar tersinir değilse aynı mekanizmaya göre yürüyen bir seri reaksiyon için $(\Delta E_p, \Delta \alpha n) - \nu$ grafiği doğrusal olmalıdır(41).

Bölüm 5.8 de bütün türevlerin aynı destek elektrolitte (0.05 M Borat tamponu) i_p -pH, E_p -pH, i_p -h, E_p -h, i_p -C, E_p -C değişimlerinin benzer olması ve sıcaklık değişiminin yaklaşık eşit olması ile her türev için reaksiyon mekanizmasının aynı olduğu sonucuna varılmıştı. Doğrusal serbest enerji ilişkisi karşılaştırılmalarında her reaksiyonun tersinir olmama derecelerinin de yaklaşık eşit olması gerekmektedir(42). Tersinir olmama dereceleri, şekil 5.21 deki $\log(i_{lim} - i/i) - E$ doğrularının eğimlerinin kovaryans analizi ile aralarındaki farkın deneysel hata sınırları içerisinde ihmal edilebileceği

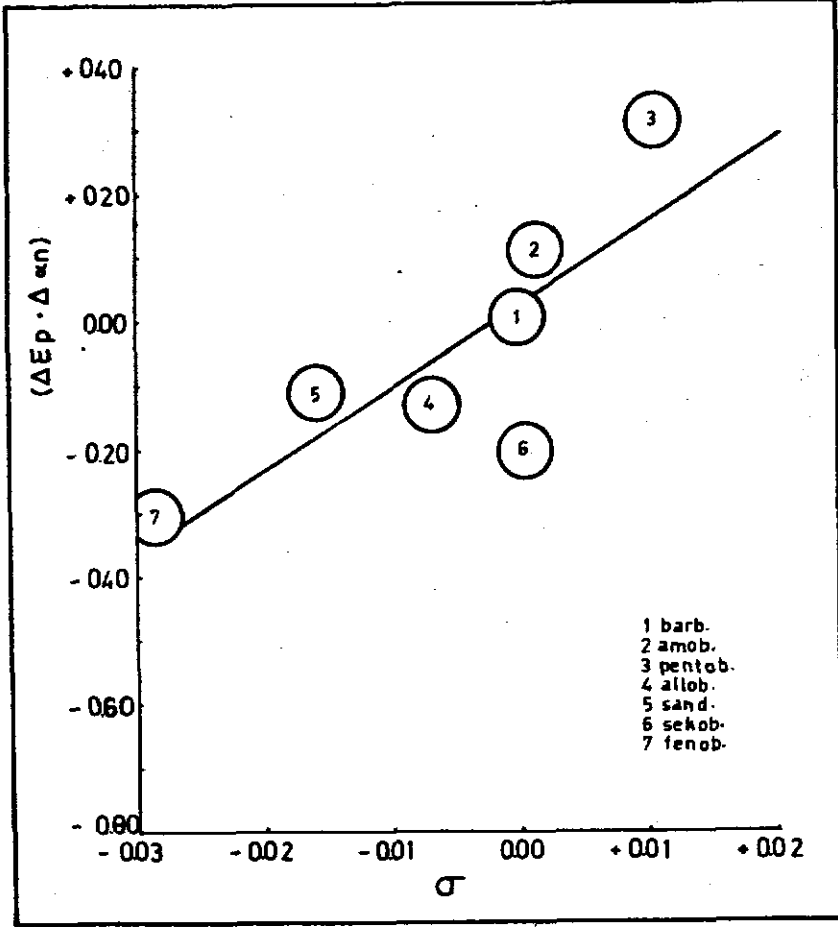
bulunmuştur. Çalışılan yedi türev, azot atomları vasıtasıyla civa ile tersinir olmayan bir şekilde reaksiyona girerek çözünmez tuzlar oluşturmaktadırlar. Buna göre reaksiyon merkezinin reaksiyona girme eğilimi mezomerik, sterik ve polar (indüktif) etkilerle değişmektedir. (Elektrokimyasal reaktivite).

5,5-disüstitüe barbitürik asitlerde mezomerik etki süstitüentlerin halka ile konjüge olmaları durumunda oluşabilir ki, allil süstitüentlerin halka ile konjügasyonlarının söz konusu olmadığı bilinmektedir(57). 5,5-disüstitüe barbitürik asit türevlerinde süstitüentlerin reaksiyon merkezine uzaklığı ve heterosiklik halkanın düzlemsel olduğu(55) düşünülürse sterik etkinin az olacağı söylenebilir. Eğer reaksiyon merkezi heterosiklik halka üzerinde ise süstitüentlerin sterik etkilerinin ihmal edilebileceği Zuman tarafından belirtilmektedir (42). Sonuç olarak yalnız polar etkinin varlığını kabul ederek Hammett eşitliğinin kullanılabileceğine karar verilmiştir.

Tablo 5.7. deki ΔE_p değerleri Hammett sabitine karşı şekil 5.22 de grafiğe geçirilmiştir.

Tablo 5.7. Barbitüratların ΔE_p , $\Delta \alpha n$ ve değerleri ($4.76 \times 10^{-5} M$, $0.05 M$ Borat tamponu, $pH=9.30$).

TÜREV	E_p (mV)	ΔE_p (mV)	αn	$\Delta \alpha n$	$\Delta E_p \cdot \Delta \alpha n$	pKa	σ
BARBİTAE	+26.00	0	0.458	0	0	7.91	0
AMOBARBİTAL	-11.88	-37.88	0.455	-0.003	0.113	7.94	0.0016
PENTOBARBİTAL	- 8.75	-34.75	0.449	-0.009	0.313	8.11	0.0108
ALLOBARBİTAL	+ 5.00	-21.00	0.464	0.006	-0.126	7.79	-0.0067
SANDİPTAL	+ 6.88	-19.12	0.464	0.006	-0.115	7.63	-0.0157
SEKOBARBİTAL	+ 5.00	-21.00	0.468	0.010	-0.210	7.92	0.0006
FENOBARBİTAL	-17.50	-43.50	0.465	0.007	-0.305	7.41	-0.0284



Şekil 5.22 Barbitüratların doğrusal serbest enerji grafiği (0.05 M Borat tamponu, pH=9.30, 4.76×10^{-5} M)

Şekil 5.22 deki ilişkinin regresyon analizi (122) yapılarak regresyonun önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Yani incelenen türev için elektrot mekanizması aynıdır. Aksi durumda doğrusallıktan sapma çok büyük olacaktı.

Şekil 5.22 de görüldüğü gibi doğrusallıktan sapma pentobarbital ve sekobarbital için en fazladır. Bu türevlerin 5-karbonundaki süstitüentleri sırasıyla etil, 1-metilbütil ve alil, 1-metilbütildir. İncelenen türevlerden süstitüenti en büyük olan bu ikisidir. Doğrusallıktan sapmanın 1-metilbütil süstitüentin sterik etkisinden dolayı olduğu söylenebilir.

5.9.1 Barbitüratların Polarografik ve Farmakolojik Özellikleri Arasındaki İlişki.

Barbitüratlar klinik kullanımları fazla olan ilaçlardan oldukları için fizikokimyasal ve farmakolojik özellikleri arasındaki ilişkiler hakkında bilgi edinmek önemlidir. Bu amaçla Price ve diğerleri barbitüratların C=O gerilme frekansının farmakolojik etki süresine bağlı olarak düzenli bir şekilde değiştiğini göstermişlerdir(130).

Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyelleri (E_p) ile etkiye süreleri arasında düzenli bir ilişki yoktur. Fakat pik akımları ile farmakolojik etki süreleri arasında tam bir paralellik göze çarpmaktadır. Pik akımının büyüklüğü difüzyon katsayısının büyüklüğü ile orantılıdır. Difüzyon katsayısı ise molekül ağırlığına bağlıdır.

Molekül ağırlığı düştükçe, yani molekül küçüldükçe difüzyon hızı artar. Bu durum molekül ağırlığının artmasıyla pik akımının düşmesine yol açar. Bu ki tablo 5.8 incelendiği zaman bunun böyle olduğu görülmektedir. Farmakolojik etki süresi; ilacın lipid çözünürlüğü, çeşitli organlardaki difüzyon hızı, polarlığı, denge durumu, plazmadaki proteinlere bağlanma özelliği, metabolik inaktivasyon hızı vb. gibi çok değişkenli

ve karmaşık olayların toplam sonucudur. Yalnız molekül ağırlığı ve difüzyon hızı ile etki süresinin izahı mümkün değildir. Bütün bu sayılan parametrelerin bir sonucu olarak ortaya çıkan etki süresinin allil ve alkil sübstitüentler için paralel değişmesi bir gerçek ama net bir açıklaması mümkün değildir.

Tablo 5.8. Barbitüratların fizikokimyasal, polarografik ve farmakolojik özellikleri.

TÜREV	E_p (mV) ^a	i_p (nA) ^b	MA	EN(°C)	Etkime süresi
BARBİTAL	+26.00	236.33	184.2	190	Uzun
ALLOBARBİTAL	+ 5.00	122.56	208.2	173	Orta
SANDOPTAL	+ 6.88	98.83	224.3	138	Orta
AMOBARBİTAL	-11.88	78.13	226.3	155	Orta
PENTOBARBİTAL	- 8.75	56.49	226.3	128	Kısa
SEKOBARBİTAL	+ 5.00	51.37	232.3	100	Kısa
FENOBARBİTAL	-17.50	34.06	238.3	176	Uzun

(a) 0.05 M Borat tamponu, pH=9.30 ve 4.76×10^{-5} M.

(b) 0.05 M Borat tamponu, pH=9.30 ve 5.66×10^{-5} M.

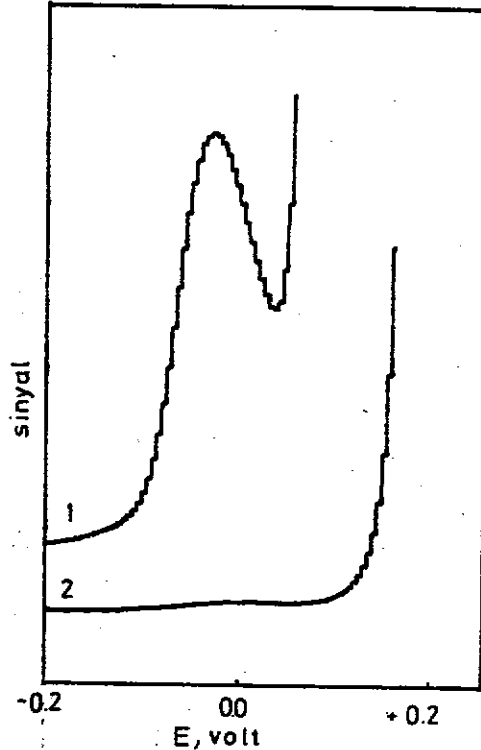
Pik akımı ile erime derecesi arasında da azalan pik akımına karşı erime derecesinin azaldığı gibi bir ilişki varsa da amobarbital ve fenobarbital gibi bu kurala uymayan iki türev olduğu için bu ilişkiyi genelleştirmek hatalı olur.

5.10. Barbitürat İçeren Tabletlerin Türevsel Puls

Polarografik Analizleri :

Bölüm 3.1 de verilen tabletler çözelti haline getirildikten sonra TPP pikleri alınmış ve 0.00 V civarında karakteristik barbitürat pikleri gözlenmiştir. 0.05 M Borat tamponu ve pH 9.30 daki bu piklerin tamamen barbitürata ait olmadığı çeşitli deneylerle kontrol edilmiştir. Barbitürat ile aynı yerde pik veren diğer aktif maddeler, katkı maddeleri veya bozunma ürünleri teorik olarak bulunabilir.

Bu amaçla tablet çözeltilerinin pikleri alındıktan sonra aynı çözelti, daha önce polarografik olarak aktif olmadığı gözlenen N-metil türevlerine dönüştürülüp(97) tekrar polarogramı alındığında pikin kaybolduğu gözlenmiştir(Şekil 5.23).



Şekil 5.23 Metillenmenin barbitüratların TPP pik üzerine etkisi. 1. C tablet çözeltisinin metillenmeden önceki TPP piki 2. C tablet çözeltisinin metillenmeden sonraki TPP polarogramı.

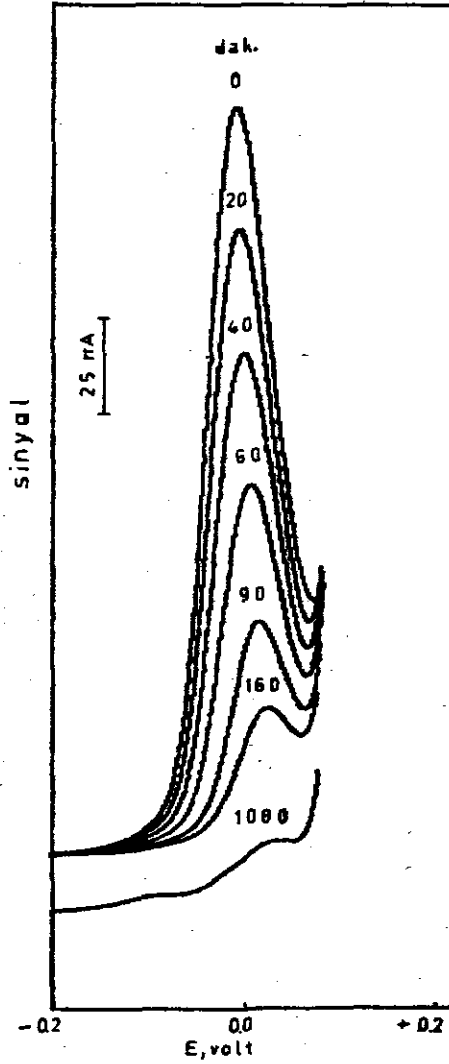
Teorik olarak aynı davranışı gösteren diğer maddelerin bulunabileceği düşünülerek ayrıca AgNO_3 testi yapılmıştır. Barbitüratların Ag^+ iyonu ile çözünmez tuzlar oluşturmaları bilinmektedir(131). Tablet çözeltisine 0.1 N AgNO_3 çözeltisi eklenerek barbitürat çöktürüldükten sonra çökelek ayrılıp çözeltinin polarogramı alındığı zaman pik gözlenememiştir.

Ayrıca tablet çözeltilerinin artan konsantrasyonla piklerinin negatif değerlere kayması da gözlenen piklerin barbitüratlara ait olduğunun bir kanıtıdır.

Metillenmenin tam olduğu, fenobarbital ve pentobarbital için standart ve tablet çözeltilerinin IR spektrumlarında bulunan 3100 ve 3200 cm^{-1} deki karakteristik iki pikin metilleme ile kaybolmasından anlaşılmıştır.

Barbitürat tabletleri bazik ortamda çözüldükten sonra polarogramları alındığından bu işlemler için geçen zaman aralığında oluşabilecek bozunma ürünlerinin barbitüratlar ile aynı potansiyelde pik verip vermediklerini göstermek gereklidir. Bu amaçla çalışılan yedi türev 80°C de 0.4 N NaOH çözeltisinde hidrolizlenerek barbitürat pikinin tamamen kaybolduğu ve bozunma ürünlerinin girişim yapmadığı anlaşılmıştır(Şekil 5.24).

Bütün bu denemeler analizi yapılan tabletlerde bulunan izoptinhidroklorür, klorfeniramin hidroklorür, dekstropropoksifen HCl, amfetamin, trimetilksantin, ergotamin tartarat, dimetilamino-fenil-dimetilpirazolon, katkı maddelerinin ve



Şekil 5.24. 10^{-4} M sandoptalin 0.4 N NaOH çözeltilisinde ve 80°C de TPP pikinin zamana göre değişimi.

barbitüratların hidrolizlenme ürünlerinin barbitüratlar ile polarografik girişim yapmadıklarını göstermiştir.

Barbitürat içeren tabletlerin analizi için Türk Farmakopesi(86) ve İngiliz Farmakopesi(87) gravimetrik yöntemi salık vermektedirler. Bu yöntemde ekstraksiyon ile

önayırma işlemlerine gerek duyulmaktadır. Doğrudan UV spektrofotometrik analizlerde(89) diğer aktif ve katkı maddelerinin girişimi söz konusu olduğundan yine ekstraksiyon ve ince tabaka kromatografisi gibi önayırma işlemlerine başvurulmaktadır. Renkli kompleks oluşumuna dayanan kolorimetrik yöntemde(90) kompleks oluşturma reaksiyonu fazla zaman almaktadır. Doğrudan gaz kromatografik yöntemin sakıncalarını(96) gidermek için yapılan metilleme işleri kolon dışında yapılırsa(97) yine zaman kaybına neden olmaktadır. Metillemenin trimetilanilinyum hidroksit ile kolonda yapıldığı durumlarda gaz kromatografisi; zaman, ayırma ve duyarlık bakımından tek başvurulacak yöntem olmaktadır(99). Fluorometrik yöntemde (91) floresans özellik gösteren maddeler bulunmadıkça önayırma işlemine gerek yoktur.

Türevsel Puls Polarografisinde barbital, amobarbital, pentobarbital, sekobarbital, sandoptal, allobarbital ve fenobarbitalin pikleri birbirlerine çok yakın oldukları için pratikte ayrılmaları oldukça zordur. Bu yüzden yöntem total barbitürat miktarı hakkında bilgi vermektedir. 5,5-disübstitüe barbitüratları ayırmak, ancak kolonda metillemenin yapıldığı gaz kromatografik yöntemle mümkündür(91). Diğer bütün yöntemlerle bulunan miktar, total barbitürat miktarıdır.

Tablo 4.13 de analizi yapılan altı ticari barbitürat tabletinin bulguları verilmiştir. Hiçbir önayırma işlemi yapılmaksızın tabletlerin doğrudan doğruya 0.003 N NaOH

çözeltisinde çözülmesiyle, elektrolitten 10 dakikalık azot gazı geçirilmesi dahil 15 dakikada analizleri yapılabilmektedir. Barbitürat miktarları % 1 civarında değişen standart sapma ile Türk Farmakopesinin(86) vermiş olduğu %94.0-106.0 sınırları arasında bulunmuştur.

ÖZET

Sedatif-Hipnotik ilaçların en yaygın kullanılanları 5,5-disüstitüe barbitürik asit türevleridir. Bu ilaçların geniş çapta kullanılmaları ve toksik etkiye sahip bulunmaları ucuz, kolay ve hızlı analiz yöntemlerinin önemini arttırmaktadır.

Bu çalışmada, son yıllarda geliştirilen voltametik yöntemlerden türevsel puls polarografisi ile, barbitüratların analizlerinin hangi ortam ve şartlarda yapılabileceği amacı güdülmüştür. Bu amaçla; barbital, amobarbital, pentobarbital, allobarbital, sandoptal, sekobarbital, fenobarbital ve metilfenobarbitalin analizi için, destek elektrolit olarak 0.1 M H_2SO_4 çözeltisi, Walpole asetat, McIlvaine sitrat, Michaelis fosfat, Michaelis borat, karbonat, Britton-Robinson tamponları ve 0.1 N NaOH çözeltisi denenmiştir. N-metil türevi olan metilfenobarbitalin bu elektrolitlerin hiçbirisinde piki gözlenememiştir. Diğer yedi türevin 0.00 V civarında anodik pikleri gözlenmiş ve bütün türevler için duyarlık ve ayrılabilirlik bakımından en uygun ortamın 0.05 M Borat pH 9.30 tamponu olduğu bulunmuştur.

Cıva sütun yüksekliği değiştirilerek yapılan deneylerde elektrot reaksiyonunun düşük konsantrasyonlarda difüzyon kontrollü, yüksek konsantrasyonlarda ise adsorpsiyon kontrollü olduğu görülmüştür. Artan cıva sütunu yüksekliği ile pik yüksekliğinin arttığı, bunun da üst tayin sınırını düşürdüğü gözlenmiş ve optimum sütun yüksekliğinin 50 cm olmasına karar

verilmiştir. Sıcaklığın pik yüksekliği üzerine etkisinin incelendiği deneylerde sıcaklığın bir santigrat derece değişmesiyle pik yüksekliğinin % 1.55-1.74 arasında değiştiği ve günlük laboratuvar sıcaklık değişmelerinin analizi etkilemeyeceği sonucuna varılmıştır.

Pik yüksekliğinin barbitürat konsantrasyonu ile doğrusal değiştiği aralık 0.05 M Borat pH 9.30 tamponunda 1-20 $\mu\text{g/ml}$ dir. Üst tayin sınırı diğer bütün analiz yöntemlerinden daha büyük, alt tayin sınırı ise gaz kromatografisi (0.1 $\mu\text{g/ml}$) ve fluorometrik yöntemden (0.1 $\mu\text{g/ml}$) daha kabadır. Alt tayin sınırı, kullanılan azot gazı içerisindeki oksijen safsızlığının miktarı tarafından belirlenmektedir.

Barbitüratların türevsel puls polarografik pik potansiyelleri, artan pH ve barbitürat konsantrasyonu ile negatif değerlere kaymaktadır.

Sıcaklık, pH, cıva sütun yüksekliği, konsantrasyon gibi parametrelerin pik akımı ve pik potansiyeli üzerine yaptığı etkilerden ve adsorpsiyon olayının varlığından, elektrot reaksiyonunun tersinir olmayan bir şekilde cıva ile barbitüratların çözünmez tuz oluşturmaya dayandığı anlaşılmıştır.

Çalışılan yedi türev için reaksiyon mekanizmalarının ve reaksiyonların tersinir olmama derecelerinin aynı olması, sübstitüent değişmelerinin polarografik davranış üzerine etkisinin incelenebileceği sonucunu vermiştir. Doğrusal serbest enerji değişimi kuralına uydukları ($\Delta E_p \cdot \Delta \alpha_n$) değerlerinin Hammett sabitine karşı grafiğinin bir doğru vermesiyle kanıtlanmıştır.

5,5-diallil ve dialkil türevlerinde farmakolojik etki süreleri azaldıkça türevsel puls polarografik pik akımının da azaldığı gözlenmiştir.

Geliştirilen yöntemin gerçek numunelere uygulaması barbitürat içeren altı değişik tablette yapılmıştır. Tabletler doğrudan doğruya 0.003 N NaOH çözeltisinde çözüldükten sonra hiçbir önayırma ve saflaştırma işlemine gerek duyulmadan % 1 standart sapma ile analiz edilebilmektedirler. İncelenen tabletlerde bulunan diğer aktif maddeler ve katkı maddelerinin barbitüratlarla polarografik olarak çok az veya hiç girişim yapmadıkları gözlenmiştir.

SUMMARY

5,5-disubstituted barbituric acid derivatives are the commonly used sedative-hipnotic drugs. The importance of the more rapid, easier and cheaper method of analysis comes from the extensive usage and the toxic properties of these drugs.

The purpose of this reserch is to find in which experimental conditions of the analysis of barbiturates can be performed by using a newly developed Voltammetric method called "differential puls polarography". Walpole acetate, McIlvaine citrate, Michaelis phosphate, Michaelis borate, carbonate, Britton-Robinson buffers, 0.1 M H_2SO_4 and 0.1 M NaOH solutions were experimented as supporting electrolytes for the analysis of the selected barbituric acid derivatives such as barbital, amobarbital, pentobarbital, allobarbital, sandoptal, secobarbital, fenobarbital and methylphenobarbital. Differential puls polarographic peak of N-methyl derivative, methylphenobarbital, was not observed in the all of the electrolytes experimented. At around 0.00 V vs. saturated Calomel electrode, anodic peaks of other seven derivatives were observed. 0.05 M Borate buffer at pH 9.30 was found to be the most appropriate supporting electrolyte from the point of view of sensitivity and senerability.

By changing the height of the mercury column the electrode reactions were found to be diffusion controlled at low barbiturate concentrations and adsorption controlled at high barbiturate concentrations. 50 cm mercury pressure head was found to be appropriate; otherwise lowering of upper

limit of detection was observed since increasing of the mercury pressure head causes to increase the peak height.

Temperature changes the peak height between 1.55-1.74 % per centigrade degree. So it was decided that the daily temperature changes of the laboratory was not an important parameter of our experiments.

The relationship between the peak currents and barbiturate concentrations was found to be linear in the range of 1-20 $\mu\text{g/ml}$ for the 0.005 M Borate buffer at pH 9.30. The upper limit of detection was observed higher than all other methods of analysis and lower limit of detection was a little less sensitive than only gas chromatographic (0.1 $\mu\text{g/ml}$) and fluorometric (0.1 $\mu\text{g/ml}$) methods of analysis. The lower limit of detection was found to be dependent on the amount of oxygen in nitrogen stream.

The differential puls polarographic peak potentials of barbiturates were shifted to negative values while pH of the solution and barbiturate concentration increasing.

Irreversible electrode reactions between mercury and barbiturate produce insoluble salt. This character of electrode reaction was concluded by the adsorption phenomena and the effects of experimental parameters such as temperature, pH, mercury column height, barbiturate concentration on peak potentials and peak currents.

It was concluded that the effects of the change of substituents on polarographic behaviors can be investigated due to

the similarity of the reaction mechanism and equality of the degree of irreversibility of seven derivatives studied. By looking at the plot of $(\Delta E_p \cdot \Delta \alpha n)$ vs. Hammett constants, it was proved that the barbituric acid derivatives are within the rule of "linear free energy relationship".

It was observed that differential puls polarographic peak currents of 5,5-diallyl and dialkyl derivatives decrease by decreasing pharmacological duration of action.

The application of the differential puls polarographic method of analysis on real samples was realized by the six different commercial tablets. The tablets were analysed after dissolving directly in 0.003 N NaOH solution without any preseparation and other processes with a relative standard deviation of 1 % or less. It was observed that other drug substances and additives present in barbiturate tablets studied, caused little or no interferences on the polarographic behaviors of barbiturates.

KAYNAKLAR

1. Furst, W., Polarographic Determination of Hydroxyl-Containing Compounds as Dinitrobenzoates and Dinitrophenyl Ethers, Pharm. Zentralh., 107, 184(1967). Ref: C.A. 69, 5227p(1968).
2. Zsadan, B., Paal, T., Kinetic Routine Method for the Polarographic Determination of the Morphine Content of the Poppy Capsule, Herba. Hung., 8, 157(1969). Ref: C.A. 72, 103784a(1970).
3. Schertel, M.F., Sheppard, A.J., Cathode Ray Polarography of Riboflavin, Thiamine Hydrochloride, and Niacinamide Content of Pharmaceutical Preparations, J. Pharm. Sci., 60, 1070(1971).
4. Lindquist, J., Farroha, M., Application of Pulse Polarography to the Assay of Vitamins, Analyst, 100, 377(1975).
5. Spahr, J.L., Knevel, A.M., Comparative Study of the Alternating and Direct Current Polarography of Several Δ^4 -3-Ketosteroids, J. Pharm. Sci., 55, 1020(1969).
6. Woodson, A.L., Smith, D.E., Direct Current and Alternating Current Polarographic Response of Some Pharmaceuticals in an Aprotic Organic Solvent System, Anal. Chem., 42, 242(1970).
7. Summa, A.F., Graham, J.H., Determination of Dienestrol in Pharmaceuticals, J. Pharm. Sci., 54, 612(1965).
8. Sachweh, H., Seidenglanz, G., Richter, J., Qualitative and Quantitative Determination of Estradiol Benzoate in Oily Solutions, Arzneimittelstandardisierung, 7, 697(1966).

Ref: C.A., 67, 25428s(1967).

9. Forman, B.J., Grady, L.T., Inclusion Compounds in Pharmaceutical Analysis I: Determination of Dienestrol Cream, J. Pharm. Sci., 58, 1262(1969).

10. Wachholz, E., Pfeifer, S., Polarographic Microbestimmung von Jodaminosäuren, Pharmazie, 27, 43(1972).

11. Wachholz, E., Pfeifer, S., Bestimmung von Jodaminosäuren in Tabletten und Getrockneten Schilddrüsen, *ibid.*, 27, 97(1972).

12. Fosdal, K., Jacobsen, E., Polarographic Determination of Chloramphenicol, Anal. Chim. Acta, 56, 105(1971).

13. Pfflegel, P., Shoukrallah, I., Zur Gleichzeitigen Polarographischen Bestimmung von Chloramphenicol und Chloramphenicolpalmitat, Pharmazie, 28, 483(1970).

14. Kabasakalian, P., Kalliney, S., Westcott, A., Differential Pulse Polarographic Analysis of Everninomicin Complex in Fermentation Broth, J. Pharm. Sci., 63, 641(1974).

15. Chatten, L.G., Moskalyk, R.E., Locock, R.A., Huang, K.S., d.c. Polarographic Assay of Tetracyclines, J. Pharm. Sci., 65, 1315(1976).

16. Brooks, M.A., de Silva, J.A.F., D'Arconte, L.M., Determination of 2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-pyrimidine (Trimethoprim) in Blood and Urine by Differential Pulse Polarography, Anal. Chem., 45, 263(1973).

17. Mason, W.D., Sandman, B., Determination of Nitrofurantoin in Urine by Reduction at Rotating Platinum Electrode, J. Pharm. Sci., 65, 599(1976).

18. Burmicz, J.S., Smyht, W.F., Palmer, R.F., An Ultraviolet Spectral and Polarographic Study of Nitrofurantoin, an Urinary Tract Antibiotic, *Analyst*, 101, 986(1976).
19. Burghardt, H., Jager, H., von Stackelberg, M., Polarographische Untersuchung Einiger Arzneilich Verwendeter Lokalanästhetika, *J. Electroanal. Chem.*, 17, 191(1968).
20. Shearer, C.M., Christenson, K., Papariello, G.J., Peak Voltammetry at Glassy Carbon Electrode of Acetaminophen Dosage Forms, *J. Pharm. Sci.*, 61, 1627(1972).
21. Riggin, R.M., Schmidt, A.L., Kissinger, P.T., Determination of Acetaminophen in Pharmaceutical Preparations and Body Fluids by HPLC Chromatography with Electrochemical Detection, *ibid.*, 64, 680(1975).
22. Jacobsen, E., Jacobsen, T.V., Polarographic Determination of Diazepam in Pharmaceuticals, *Anal. Chim. Acta*, 60, 472(1972).
23. Jacobsen^b, E., Jacobsen, T.V., Rojahn, T., The Determination of Diazepam in Serum by Differential Pulse Polarography, *ibid.*, 64, 473(1973).
24. Van Dorne, P., Differential Pulse Polarographische Bestimmung van Benzodiazepinen, *Pharm. Weekbl.*, 110, 149(1975).
25. Porter, G.S., Beresford, J., The Polarographic Determination of Chlorpromazine and Chlorpromazine Sulfoxide, *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 223(1966).
26. Flan, B.C., Polarographic Assay of Glyceryl Trinitrate Sublingual Tablets for Content Uniformity, *J. Pharm. Sci.*, 58, 122(1969).

27. Danek, A., Strozik, H., Polarographic Determination of α -ethyl- α -phenyl-glutarimide, *Diss. Pharm. Pharmacol.*, 18, 519(1966). Ref: C.A. 67, 47115g(1967).

28. Brooks, M.A., de Silva, J.A.F., Hackman, M.R., The Determination of Phenobarbital and Diphenylhydantoin in Blood by Differential Pulse Polarography, *Anal. Chim. Acta*, 64, 165(1973).

29. Wiegrebe, W., Wehrhahn, L., Polarographische Bestimmung Einiger Phenylsubstituierter Antikonvulsiva, *Arzneim-Forsch.*, 25, 517(1976).

30. Dryhurst, G., De, P.K., A Direct Electrochemical Method for the Determination of Allopurinol and Uric Acid Mixtures, *Anal. Chim. Acta*, 58, 183(1972).

31. Kkolos, F., Walker, J., The Polarographic Determination of Some Thiazide Diuretics in Compound Tablets, *ibid.*, 80, 17(1975).

32. Mnoucek, K., Polarographic and Spectral Study of Some 4-dihydroxy Coumarin and Chromone Derivatives, *Cesk. Farm.*, 17, 173(1968). Ref: C.A. 69, 99471f(1968).

33. Vegnere, V., Stradins, J.P., Ozols, J., Arens, A., Polarographic Determination of 2-amino-1,3-indandiones, *Latv. PSR Zinat. Akad. Vest., Kim. Ser.*, 34(1969). Ref: C.A. 72, 15788y(1970).

34. Garret, E.R., Cumisano, A.G., Polarography of Various N-alkyl-N-nitrosoureas, *J. Pharm. Sci.*, 55, 702(1966).

35. Balatre, P., Guyot, J.C., Traisnel, M., Oscillopolarography in the Study of the Alteration of Alkaloids in

Solution, Ann. Pharm. Fr., 24, 425(1966). Ref: C.A. 66, 5733n(1967).

36. Parrak, F.R., Mohelska, O., Differentiation of Quinine from its Oxidation Products, Cesk. Farm., 18, 309(1969). Ref: C.A. 72, 47385f(1970).

37. Rubin, S.H., De Ritter, D.E., Johnson, J.B., Stability of Vitamin C (Ascorbic Acid) in Tablets, J. Pharm. Sci., 65, 963(1976).

38. Dean, J.A., Lange's Handbook of Chemistry, Mc Graw Hill, New York, (1979).

39. Somer, G., Solak, A.O., Çakır, O., Kömürdeki Ağır Eser Elementlerin Türevsel Puls Polarografisi ile Tayini, TÜBİTAK VII. Bilim Kongresi, Matematik, Fiziki ve Biyolojik Bilimler Araştırma Grubu Tebliği, Kuşadası, (1980).

40. Somer, G., Temizer, A., Özyörük, G., Özyörük, H., Hava Kirinde Bulunan Ağır Eser Elementlerin Türevsel Puls Polarografisi ile Tayini, TÜBİTAK VII. Bilim Kongresi, Matematik, Fiziki ve Biyolojik Bilimler Araştırma Grubu Tebliği, Kuşadası, (1980).

41. Zuman, P., The Elucidation of Organic Electrode Processes, Academic Press, London, (1969).

42. Zuman, P., Substituent Effects in Organic Polarography, Plenum Press, New York, (1967).

43. Heyrovski, J., Kuta, J., Principles of Polarography, Academic Press, New York, (1966).

44. Schmidt, H., von Stackelberg, M., Modern Polarographic Methods, Academic Press, New York-London, (1963).

45. Elbel, A.W., Tastpolarographie, Z. Anal. Chem., 173, 70(1960).

46. Breyer, B., Gutman, F., Reversible Electrode Reactions on Alternating Fields. I. Theory of the Reversible Depolarising Process in an Alternating Field, Trans. Faraday Soc., 42, 645(1946).
47. Bauer, H.H., Elving, P.J., Alternating Current Polarography, Anal. Chem., 30, 334(1958).
48. Barker, G.C., Jenkins, I.L., Square-wave Polarography, Analyst, 77, 685(1952).
49. Barker, G.C., Gardner, A.W., Pulse Polarography, Z. Anal. Chem., 173, 79(1960).
50. Blutstein, H., Bond, A.M., Fast Sweep Differential Pulse Voltammetry at a Dropping Mercury Electrode, Anal. Chem., 48, 248(1976).
51. Princeton Applied Research Corporation, Model 174A Polarographic Analyzer Instruction Manual (V-9), Princeton, N.J., (1976).
52. Parry, P.A., Osteryoung, R.A., Evaluation of Analytical Pulse Polarography, Anal. Chem., 37, 1634(1965).
53. Myers, D.J., Osteryoung, J., Determination of Arsenic(III) at the ppb Level by Differential Pulse Polarography, *ibid.*, 45, 267(1973).
54. Temizer, A., Determination of O-tolidine at ppm Level by Differential Pulse Voltammetry at Dropping Mercury Electrode, J. Heyrovski Memorial Congress on Polarography Proceeding II., Prag(1980).
55. Soundararajan, S., The Dipole Moment and Molecular Structure of Barbituric Acids, Trans. Faraday Soc., 54, 1147(1958).

56. Evers, N., Caldwell, D., The Chemistry of Drugs, Ernest Benn Limited, London, 3. baskı (1959).

57. Briggs, A.G., Sawbridge, J.E., Tickle, P., Wilson, J.M., Thermodynamics of Dissociation of Some Barbituric Acids in Aqueous Solution, J. Chem. Soc., 7, 802B (1969).

58. Zuman, P., Vida, J.A., Kardos, A., Romer, M., Determination of pK-values of Some Barbituric Acid Derivatives, Analytical Letters, 9, 849 (1976).

59. Suzuki, A., Higuchi, W.I., Ho, N.F.H., Theoretical Model Studies of Drug Absorption and Transport in the Gastrointestinal Tract II., J. Pharm. Sci., 59, 651 (1970).

60. Maulding, H.V., Zoglio, M.A., pKa Determinations Utilizing Solutions of 7-(2-Hydroxypropyl) Theophylline, *ibid.*, 60, 309 (1971).

61. Clowes, G.H.A., Keltch, A.K., Krahl, M.E., Extracellular and Intracellular Hydrogen Ion Concentration Relation to Anesthetic Effects of Barbituric Acid Derivatives, J. Pharmacol. and Exptl. Therap., 68, 312 (1940).

62. Neville, G.A., Avdovich, H.W., By, A.W., Physicochemical Properties of Some New 1,5- and 5,5-alkyl Substituted Barbituric Acids, Can. J. Chem., 48, 2276 (1970).

63. Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, London, (1969).

64. Garret, E.R., Bojarki, J., Yakatan, G.J., Kinetics of Hydrolysis of Barbituric Acid Derivatives, J. Pharm. Sci., 60, 1145 (1971).

65. Maulding, H.V., Polesuk, J., Rosenbaum, D., Practical Kinetics I: Quantitation of Barbiturate Stability by TLC, *ibid.*, 64, 272(1975).
66. Tishler, J., Sinsheimer, J.E., Goyan, J.E., Mechanism of Phenobarbital Degradation, *ibid.*, 51, 214(1962).
67. Fretwurst, F., Der Abbau von Natriumbarbituraten in wässriger Lösung bei 37°C., *Arzneim-Forsch.*, 8, 44(1958).
68. Nasanen, R., Heikkila, T., Potentiometric and Spectrophotometric Studies on the Ionization of Violeric, Barbituric and 5,5-diethylbarbituric Acids, *Soumen Kemistiletti*, 32, B163(1959).
69. Smyth, W.F., Jenkins, T., Siekiera, J., Baydar, A., Acid-Base Equilibria of Some 6-membered N-heterocyclic Compounds, *Anal. Chim. Acta*, 80, 233(1975).
70. Price, W.C., Bradly, J.E.S., Fraser, R.D.B., Quilliam, J.P., The Relationship Between the Infra-Red Absorption Spectra of Some 5,5-disubstituted Barbituric Acids and Their Pharmacological Activity, *J. Pharm. Pharmacol.*, 6, 522(1954).
71. Lackner, H., Döring, G., Die NMR-spektroskopische Identifizierung von Barbituraten, I.. Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der Methode, *Arch. Toxikol.*, 26, 220(1970).
72. Coutts, R.T., Locock, R.A., Identification of Medicinal Barbiturates by Means of Mass Spectrometry, *J. Pharm. Sci.*, 57, 2097(1968).

73. Coutts, R.T., Locock, R.A., The (M-43)⁺ Ion in the Mass Spectra of Some Medicinal Barbiturates, *ibid.*, 58, 775(1969).

74. Daniels, T.C., Jorgensen, E.C., "Central Nervous System Depressants", Wilson, C.O., Gisvold, O., Doerge, R.F. (derleyenler), Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Lippincott Co., Toronto, (1971).

75. Bush, M.T., "Sedatives and Hypnotics", Root, W.S., Hoffmann, F.G. (derleyenler), Physiological Pharmacology, Academic Press, New York, (1963), cilt I.

76. Burns, J.J., The Metabolic Fate of Phenylbutazon (Butazolidin) in Man, *J. Pharmacol. and Exptl. Ther.*, 113, 481(1955).

77. Butler, T.C., Metabolic Oxidation of Phenobarbital to p-hydroxyphenobarbital, *Science*, 120, 494(1954).

78. Cooper, J.R., Brodie, B.B., Enzymatic Oxidation of Pentobarbital, *J. Pharmacol. Exptl. Ther.*, 120, 75(1957).

79. Soliman, S.A., Beltagy, Y.A., Roushdi, I.M., Direct Nonaqueous Titration Procedure for Determining Barbiturates in Different Pharmaceutical Forms, *J. Pharm. Pharmacol.*, 21, 44(1969).

80. Dutrieux, F., Nonclero, M., Nys, C., Mrs. Laboureur, Analysis of Barbiturates, *J. Pharm. Belg.*, 22, 225(1967).
Ref: C.A. 67, 84928d(1967).

81. "The United States Pharmacopeia, 18th revision, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18042(1970).
82. Foreman, R., Blake, M.I., Determination of Aminophylline and Phenobarbital Combinations, J. Pharm. Sci., 54, 12(1965).
83. Tomaskova, V., Blesova, M., Zahradnicek, M., Determination of Soluble Pentobarbital by Means of Mixed Indicator Bromocresol Green- Methyl Red, Cesk. Farm., 13, 93(1964). Ref: C.A. 61, 11854c(1964).
84. Sarsunova, M., Lukacova, O., Complexometric Determination of Some Barbituric Acid Derivatives in Mixtures and Galenic Preparations, Cesk. Farm., 13, 74(1964). Ref: C.A. 61, 13130f(1964).
85. Tschan, D., Leupin, K., Complexometric Determination of Barbituric Acids, Pharm. Acta Helv., 42, 657(1967). Ref: C.A. 68, 16176b(1968).
86. Türk Farmakopesi 1974 Türk Kodeksi, Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Sayı 435, Milli Eğitim Basımevi, İstanbul(1974).
87. British Pharmacopeia 1973, Her Majesty's Stationary Office, University Printing House, Cambridge(1973).
88. Goldbaum, L.R., Determination of Barbiturates, Anal. Chem., 24, 1604(1952).
89. Kiper, M., Salisilamid, Fenasetin, Kafein, Diphene hidremin klorhidrat Kombinasyonunda Luminalin izolesi, teşhisi ve Kuantitatif tayini, Türk Hij. Tecr. Biyol. Derg., 29 143(1969).

90. Tazzuzowa, M., Shimada, M., Suzuki, T., Metal Complexes of Cyclic Ureides I: Spectrophotometric Determination of Barbital in Pharmaceutical Preparations, *Bunseki Kagaku*, 17, 422(1968). Ref: C.A. 69, 30162w(1968).

91. Miles, C.I., Schenk, C.H., Fluorescence and Phosphorescence of Phenylethylamines and Barbiturates, *Anal. Chem.*, 45, 130(1973).

92. Allen, J.L., Gas Chromatographic Separation and Quantitative Estimation of Barbiturate Mixtures in Solid Dosage Forms, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 51, 619(1968). Ref: C.A. 69, 12939a(1968).

93. Rader, B.R., Aranda, E.S., Quantitative Determination of Some Single and Multiple Component Drugs by Gas-Liquid Chromatography, *J. Pharm. Sci.*, 57, 847(1968).

94. Kasyak, L., Knoblock, E.C., Application of Gas Chromatography to Analytical Toxicology, *Anal. Chem.*, 35, 1448(1963).

95. Parker, K.D., Kirk, P.L., Separation and Identification of Barbiturates by Gas Chromatography, *ibid.*, 33, 1378(1961).

96. Brochmann-Hanssen, E., Gas Chromatography and Its Application to Pharmaceutical Analysis, *J. Pharm. Sci.*, 51, 1017(1962).

97. Martin, H.F., Driscoll, J.L., Gas Chromatographic Identification and Determination of Barbiturates, *Anal. Chem.*, 38, 345(1966).

98. Stevenson, G.W., On-Column Methylation of Barbituric Acids, *ibid.*, 38, 1948(1966).
99. Brochmann-Hansen, E., Olawayi Oke, T., Gas Chromatography of Barbiturates, Phenolic Alkaloids and Xanthine Bases: Flash-Heater Methylation by Means of Trimethylanilinium Hydroxide, *J. Pharm. Sci.*, 58, 371(1969).
100. Hilf, R., Lightburn, G.A., Gastano, F.F., Identification of Barbiturates by Paper Chromatography, *J. Lab. Clin. Med.*, 54, 320(1959).
101. Ahmed, Z.F., El-Daravey, Z.I., Aboul-Encin, M.N., Abu El-Naga, M.A., El-Leithy, S.A., Identification of Some Barbiturates by Paper and Thin Layer Chromatography, *J. Pharm. Sci.*, 55, 433(1966).
102. Comer, J.P., Comer, I., Application of Thin-Layer Chromatography in Pharmaceutical Analysis., *ibid.*, 56, 413(1967).
103. Blake, M.I., Nona, D.A., Analysis of Dosage Forms Containing Ephedrine and Barbiturate Combinations, *ibid.*, 53, 570(1964).
104. Cunningham, C.G., Barkan, S., Column Chromatographic Analysis of Barbiturates in Their Dosage Forms. II. Secobarbital, Amobarbital, and Pentobarbital, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 58, 525(1975).

105. Atwell, S., Green, V., Haney, W., Development and Evaluation of Method for Simultaneous Determination of Phenobarbital and Diphenylhydantoin in Plasma by High Pressure Liquid Chromatography, *J. Pharm. Sci.*, 64, 306(1975).

106. Adams, R.F., Vandemark, F.L., Simultaneous High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Some Anticonvulsants in Serum, *Clin. Chem.*, 22, 25(1976).

107. Lackner, H., Doering, G., Identification of Barbiturates by NMR Spectroscopy I. Efficiency of the Method, *Arch. Toxikol.*, 26, 220(1970).

108. Beral, V.H., Wermescher, B., Murea, L., Madgearu, M., Cuciureanu, E., Die Amperometrische Bestimmung Einiger Barbitursäure-Derivate in Tabletten, *Pharm. Zentralhalle*, 103, 112(1964).

109. Monforte, J.R., Purdy, W.C., The Coulometric Titration of Barbiturates, *Anal. Chim. Acta*, 52, 25(1970).

110. Büchler, W., Giske, P., Meier, J., Anwendung der Coulometrischen Titration in der Industriellen Analytik, *Z. Anal. Chem.*, 239, 289(1968).

111. Charles, R.L., Knevel, A.M., Coulometric Assay of Selected Medicinals Using an Arseno-amperometric End Point Detection Technique, *J. Pharm. Sci.*, 54, 1678(1965).

112. Zuman, P., Koryta, J., Kalvoda, R., Polarography of Barbituric Acid Derivatives: Barbital, Collect. Czech. Chem. Commun., 18, 350(1953). Ref: C.A. 49, 1146f(1955).
113. Dusinsky, G., Faithy, L., Identification of Drugs by the Use of Oscillopolarography, Pharmazie, 22, 475(1967).
114. Woodson, A.L., Smith, D.E., Direct Current and Alternating Current Polarographic Response of Some Pharmaceuticals in an Aprotic Organic Solvent System, Anal. Chem., 42, 242(1970).
115. Kohl, W., Pasek, W., Polarographic Investigation of Barbituric Acid Derivatives: Polarographic Analysis of 1-p-nitrobenzoyl- γ , δ -diethylbarbituric acid, Roczn. Chem., 46, 965(1972). Ref: C.A. 77, 146992m(1972).
116. Pasek, W., Volke, J., Manousek, O., Electrochemical Reduction of Benzoyl Substituted Barbituric Acids in Acid Solution, Collect. Czech. Chem. Commun., 40, 819(1975). Ref: C.A. 83, 67881v(1975).
117. Wiegrebe, W., Wehrhahn, L., Polarographische Bestimmung Einiger Phenylsubstituierter Antikonvulsiva, Arzneim-Forsch., 25, 517(1976).
118. Gordon, J.C.L., Withers, E., Purification of Mercury and Its Physical Properties, Annals N.Y. Acad. Sci., 65, 369(1957).
119. Zuman, P., Organic Polarographic Analysis, Pergamon Press, New York(1964).

120. Elving, P.J., "Polarography in Organic Analysis", Zuman, P., Kolthoff, I.M. (derleyenler), Progress in Polarography, Interscience, New York (1962), cilt 2.

121. Armstrong, R.D., Fleischmann, M., Oldfield, J.W., Properties of Anodically Formed Mercury Barbiturates, Trans. Faraday Soc., 65, 3053 (1969).

122. Kutsal, A., Müluk, F.Z., Uygulamalı Temel İstatistik, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2. Baskı (1975).

123. Tatsuo, M.M., Multivariate Analysis; Techniques for Educational and Psychological Research, Wiley, New York (1971).

124. Sümbül ~~Ç~~oğlu, K., Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Matis Yayınları, Ankara (1978).

125. Zuman, P., Svehla, G., Smyth, W.F., Polarography of Some Sulfur Containing Compounds, Anal. Chim. Acta, 51, 463 (1970).

126. Bjorling, C.O., Berggren, A., Nygard, B., Determination of Barbituric Acid Derivatives of Mercury Compounds III. Composition and Structure of Isolated Compounds, Acta Chem. Scand., 16, 1481 (1962).

127. Sakamoto, M., Takamura, K., Polarographic Behavior of Thiobarbituric Acid in Aqueous Solution, Yagugaku Zasshi, 95, 996 (1975). Ref: C.A. 84, 23712g (1976).

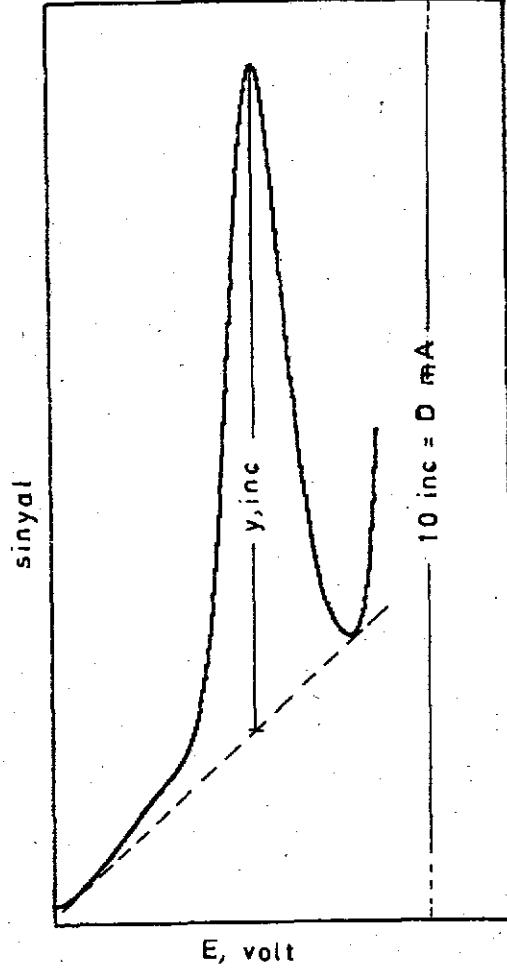
128. Tivari, S.K., Seth, T.D., Polarography of 2-thiobarbituric Acid, Vijnana Parishad Anusandhan Patrika, 6, 127 (1963). Ref: C.A. 62, 1518g (1965).

129. Hammett, L.P., *Physical Organic Chemistry*, McGraw-Hill, New York, 2. baski(1970).

130. Price, W.C., Bradley, E.S., Fraser, D.B., The Relationship Between the Infra-Red Absorption Spectra of Some 5,5-Substituted Barbituric Acids and their Pharmacological Activity, *J. Pharm. Pharmac.*, 6, 522(1954).

131. Leyda, J.P., Harris, L.E., Stability of Anionic Complexes of Some Barbituric Acid Derivatives and Silver, *J. Pharm. Sci.*, 51, 725(1962).

Ek 1. Pik akımının hesaplanması.



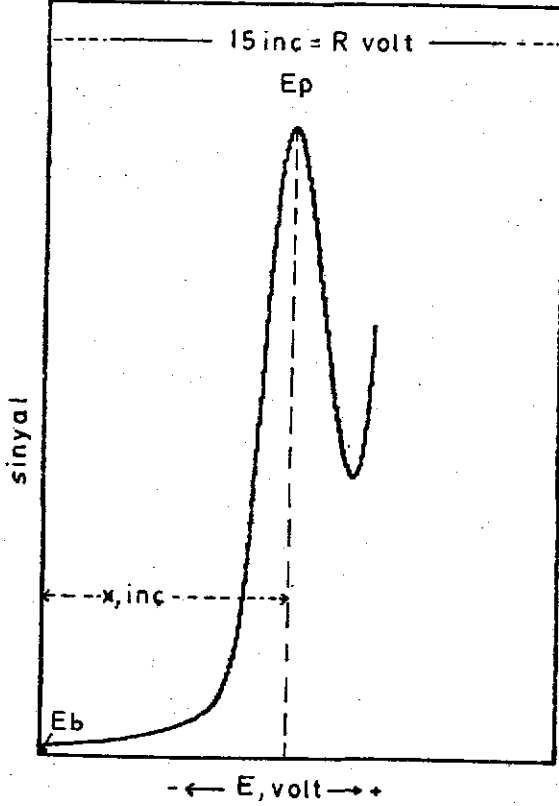
$$i_p = 10^5 D \cdot y$$

D : Tam skala duyarlık(mA/10 inç).

y : Numune pik yüksekliği(inç).

i_p : Numune pik akımı(nA).

Ek 2. Pik potansiyelinin hesaplanması.



$$E_p = E_b + \frac{x}{15} R$$

E_p : Numune pik potansiyeli (Volt).

E_b : Başlangıç potansiyeli. (Volt).

x : Başlangıç potansiyeli ile pik potansiyeli arasındaki uzaklık (inç).

R : 15 inç için sınır potansiyeli (Volt).

Ek 3. Analizi yapılan ticari ilaçlar.

- İsoptin[®] S (Knoll)
- Luminal[®] 0.1 (Bayer-Merck)
- Darval (Eczacıbaşı)
- Bellergal[®] (Sandoz)
- Gibalgine[®] (Ciba)
- Dolorin (Tek İlaç San. A.Ş.)

ÖZGEÇMİŞİM

1950 yılında Erzurum'un Şenkaya İlçesinde dünyaya geldim. İlk Öğrenimimi 1957-62 yıllarında Sarıkamış Halit Paşa İlkokulunda, Orta Öğrenimimi 1963-69 yıllarında Sarıkamış Orta Okulu ve Erzurum Lisesinde tamamladım. 1974 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünden mezun oldum. Bir yıla yakın Sümerbank Genel Müdürlüğünde Mühendis olarak çalıştıktan sonra 1975 yılı Temmuzunda Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Bilim Dalına Asistan olarak atandım. Halen bu görevimi sürdürmekteyim.

