



METİMAZOL ETKİN MADDESİNİN FARMASÖTİK PREPARATLARDA VE İNSAN  
PLAZMASINDA KARE DALGA VE DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİ YÖNTEMLERİ  
İLE MİKTAR TAYİNİ

Haluk YAŞAR

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Bilal YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi - 2016

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METİMAZOL ETKİN MADDESİNİN FARMASÖTİK  
PREPARATLARDA VE İNSAN PLAZMASINDA KARE DALGA  
VE DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİ YÖNTEMLERİ İLE  
MİKTAR TAYİNİ

Haluk YAŞAR

Analitik Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Bilal YILMAZ


ERZURUM  
2016

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

METİMAZOL ETKİN MADDESİNİN FARMASÖTİK PREPARATLARDA  
VE İNSAN PLAZMASINDA KARE DALGA VE DİFERANSİYEL PULS  
POLAROGRAFİ YÖNTEMLERİ İLE MİKTAR TAYİNİ

Haluk YAŞAR

Tez Savunma Tarihi : 16.06.2016  
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Bilal YILMAZ (Atatürk Üniversitesi)  
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU (Atatürk Üniversitesi)  
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. M. Fatih POLAT (Erzincan Üniversitesi)

  
Y. Kadioğlu  
M.F. Polat

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM  
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi  
ERZURUM-2016

İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	V
<b>ÖZET</b> .....	VI
<b>ABSTRACT</b> .....	VII
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	VIII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	IX
<b>TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	X
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	4
2.1. Metimazol.....	4
2.1.1. Etki Mekanizması.....	4
2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri.....	4
2.1.3. Kimyasal Yapısı.....	4
2.2. Metimazol İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	5
2.3. Voltametri ve Voltametrik Yöntemler.....	7
2.3.1.Dönüşümlü Voltametri (CV).....	8
2.3.1.1. Tersinir Sistemler.....	11
2.3.1.2. Tersinmez ve Yarı – Tersinir Sistemler.....	12
2.3.1.3. Adsorbsiyonun Dönüşümlü Voltametri İle İncelenmesi .....	12
2.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV).....	13
2.3.3. Kare Dalga Voltametri (SWV).....	14
2.4. Elektrokimyasal Ölçme Sistemi.....	15
2.5. Kullanılan Elektrotlar.....	16
2.6. Destek Elektrolit.....	16
2.7. Dönüşümlü Polarografi Deneyinin Yapılışı.....	16

2.8. Kare Dalga Polarografi Deneyinin Yapılışı.....	17
2.9. Diferansiyel Puls Polarografi Deneyinin Yapılışı.....	17
2.10. Yöntem Geçerlilik Testleri.....	18
2.10.1. Doğruluk ve Kesinlik .....	19
2.10.2. Örneklerin Kararlılığı (Stabilite).....	19
2.10.3. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi.....	19
2.10.4. Duyarlılık.....	20
2.10.5. Tayin Alt Sınırı (LOQ).....	20
2.10.6. Gözlenebilme (Teşhis) Sınırı (LOD).....	20
2.10.7. Geri Kazanım.....	20
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	21
3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	21
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	21
3.3. Polarografik Yöntem Şartları.....	21
<b>4. BULGULAR</b> .....	22
4.1. Polarografi Yöntemi.....	22
4.1.1. Dönüşümlü Polarografi Çalışmaları.....	22
4.2. Kare Dalga Polarografi (SWP) Deneyinin Yapılışı .....	23
4.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	23
4.2.2. Kare Dalga Polarografi Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu) .....	24
4.2.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi .....	24
4.2.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ) .....	25
4.2.2.3. Doğruluk ve Kesinlik .....	26
4.2.2.4. Kararlılık (Stabilite) .....	26
4.2.2.5. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	27

4.2.2.6. Geri Kazanım .....	29
4.3. Diferansiyel Puls Polarografi (DPP) Deneyinin Yapılışı .....	29
4.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	29
4.3.2. Diferansiyel Puls Polarografi Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu) .....	30
4.3.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi .....	30
4.3.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ) .....	31
4.3.2.3. Doğruluk ve Kesinlik .....	32
4.3.2.4. Kararlılık (Stabilite) .....	32
4.3.2.5. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması.....	33
4.3.2.6. Geri Kazanım .....	34
4.3.3. Kare Dalga Polarografi (SWP) Deneyinin Plazma Çalışması.....	35
4.3.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	35
4.3.3.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu).....	36
4.3.3.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi.....	36
4.3.3.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ) .....	37
4.3.3.2.3. Doğruluk ve Kesinlik .....	38
4.3.3.2.4. Plazmadan Geri Kazanım .....	38
4.3.3.2.5. Kararlılık (Stabilite).....	39
4.3.4. Diferansiyel Puls Polarografi (DWP) Deneyinin Plazma Çalışması.....	40
4.3.4.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	40
4.3.4.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu).....	41
4.3.4.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi.....	41
4.3.4.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ) .....	42
4.3.4.2.3. Doğruluk ve Kesinlik .....	42

4.3.4.2.4. Plazmadan Geri Kazanım .....	43
4.3.4.2.5. Kararlılık (Stabilite).....	43
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>45</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>59</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>66</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>66</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....</b>	<b>67</b>



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin planlanmasında, yürütülmesinde ve hazırlanmasında ilgisini, fikirlerini, yardımlarını esirgemeyen ve bu yolda her türlü fedakârlığı yapmaktan kaçınmayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Bilal YILMAZ'a, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımı kimyasal madde ve malzeme yönünden 2015/77 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Haluk YAŞAR



## ÖZET

### Metimazol Etkin Maddesinin Farmasötik Preparatlarda ve İnsan Plazmasında Kare Dalga ve Diferansiyel Puls Polarografi Yöntemleri ile Miktar Tayini

**Amaç:** Bu çalışmada metimazolün elektrokimyasal davranışı, damlayan civa elektrotta 0.1 M sülfürik asit ortamında Dönüşümlü Polarografi, Kare Dalga Polarografi ve Diferansiyel Puls Polarografi yöntemleri ile incelendi.

**Materyal ve Metot:** Metimazolün dönüşümlü polarogramı yaklaşık olarak damlayan civa elektrotta +22 mV da yükseltgenme piki gözlenmiştir. Doğrusallık, kesinlik, doğruluk, stabilite, tayin edilebilme sınırı ve miktar tayin sınırı gibi parametreler ICH Guidelines'e göre çalışıldı.

**Bulgular:** Kare dalga Polarografi ve Diferansiyel Puls Polarografi yönteminin kalibrasyon eğrileri 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında doğrusaldır. Metimazol için gün-içi ve günler arası kesinlik değerleri % 2.84'den ve doğruluk (bağlı hata) % 4.24'den küçüktür.

**Sonuç:** Geliştirilen bu yöntemler ile metimazol etkin maddesini içeren Thyramazol preparatında miktar tayini yapıldı. Elde edilen analiz sonuçları değerlendirildi ve geliştirilen yöntemler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Diferansiyel puls voltametri,dönüşümlü voltametri, kare dalga voltametri, metimazol, plazma

## ABSTRACT

### **Quantitation of Methimazole Effective Substance in the Pharmaceutical Preparations and Human Plasma with Square Wave and Differential Pulse Polarographic Methods**

**Aim:** In this study, electrochemical behaviors of methimazole was investigated on mercury drop electrode in 0.1 M sulfuric acid by Cyclic Voltammetry, Square Wave Polarography Differential Puls Polarography methods.

**Material and Method:** Cyclic polarogram of methimazole was observed oxidation peak at about +22 mV on mercury drop electrode. Parameters such as linearity, precision, accuracy, stability, limit of detection and limit of quantification were studied according to the ICH Guidelines.

**Results:** Calibration curves of Square Wave Polarography and Differential Puls Polarography methods were linear between the concentration range of 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Within- and between-day precision values for methimazole were less than 2.84% and accuracy (relative error) was better than 4.24%.

**Conclusion:** Quantitation of methimazole was performed with these methods which is developed in Thyramazol pharmaceutical preparation containing the methimazole effective substance. Obtained analysis results were evaluated and the developed methods were compared as statistics.

**Key Words:** Cyclic voltammetry, differential puls polarography, methimazole, plasma, square wave polarography

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>BSS</b>	: Bağlı standart sapma
<b>DPP</b>	: Diferansiyel puls polarografi
<b>ICH</b>	: International conference on harmonization
<b>LOD</b>	: Gözlenebilme sınırı
<b>LOQ</b>	: Tayin alt sınırı
<b>SWP</b>	: Kare dalga polarografi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Metimazolün Kimyasal Yapısı.....	5
Şekil 2.2. Dönüşümlü Voltametre İçin Uyarma Sinyalinin Dalga Şekli .....	9
Şekil 2.3. Yük. $\leftrightarrow$ İnd. Reaksiyonuna Ait Tersinir (Eğri 1), Tersilmez ( $\alpha=0.5$ ) (Eğri 2) ve Tersinir Fakat İnd Türünün Elektroinaktif Bir Türe Dönüştüğü Bir Sistem (Eğri 3) İçin Dönüşümlü Voltamogramlar.....	10
Şekil 2.4. Diferansiyel Puls Voltametrosinde Puls Tipi Uyarma Sinyalinin Dalga Şekli .....	14
Şekil 2.5. Kare Dalga Voltametrinde Puls Tipi Uyarma Sinyalinin Dalga Şekli .....	14
Şekil 4.1. 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ metimazolün 0.1 M sülfürik asit ortamında damlayan civa elektrotta elde edilen dönüşümlü polarogramları ( $v$ : 0.1 $\text{Vs}^{-1}$ , 1: destek elektrolit, 2: metimazole ait anodik pik) .....	23
Şekil 4.2. Metimazol etkin maddesinin 0.1 M sülfürik asit ortamında kare dalga polarogramları (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) .....	24
Şekil 4.3. Kare dalga polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi .....	25
Şekil 4.4. Thyromazol farmasötik preparatının kare dalga polarogramları.....	28
Şekil 4.5. Metimazol etkin maddesinin 0.1 M sülfürik asit ortamında diferansiyel puls polarogramları (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) .....	30
Şekil 4.6. Diferansiyel puls voltametrik yöntem kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 4.7. Thyromazol farmasötik preparatının diferansiyel puls polarografik polarogramları (30 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ve 60 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).....	34
Şekil 4.8. Plazmadan elde edilen metimazol çözeltilerinin kare dalga polarogramları (blank, 10, 40 ve 70 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).....	36
Şekil 4.9. Plazma çalışmasında kare dalga polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi.....	37
Şekil 4.10. Plazmadan elde edilen metimazol çözeltilerinin diferansiyel puls polarogramları (blank, 10, 40 ve 70 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) .....	40
Şekil 4.11. Plazma çalışmasında diferansiyel puls polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi....	41

## TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 4.1.</b> Kare dalga polarografik çalışmada metimazole ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri .....	25
<b>Tablo 4.2.</b> Kare dalga polarografik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri .....	26
<b>Tablo 4.3.</b> Metimazolün kare dalga polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerler.....	27
<b>Tablo 4.4.</b> Kare dalga polarografik yöntemle belirlenen farmasötik preparatların günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri .....	29
<b>Tablo 4.5.</b> Diferansiyel puls voltametrik çalışmada metimazole ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri.....	31
<b>Tablo 4.6.</b> Diferansiyel puls polarografik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri .....	32
<b>Tablo 4.7.</b> Diferansiyel puls polarografik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	33
<b>Tablo 4.8.</b> Diferansiyel puls polarografik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri.....	35
<b>Tablo 4.9.</b> Kare dalga polarografik yöntemle plazma çalışmasında metimazole ait kalibrasyon eğrisi ile ilgili istatistiki değerler .....	37
<b>Tablo 4.10.</b> Kare dalga polarografik yönteminin plazmadan günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri .....	38
<b>Tablo 4.11.</b> Kare dalga polarografik yönteminin plazmadan geri kazanım değerleri.....	39
<b>Tablo 4.12.</b> Metimazolün kare dalga polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri .....	39
<b>Tablo 4.13.</b> Diferansiyel puls polarografik yöntemle plazma çalışmasında metimazole ait kalibrasyon eğrisi ile ilgili istatistiki değerler.....	41
<b>Tablo 4.14.</b> Diferansiyel puls polarografik yönteminin plazmadan günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	42
<b>Tablo 4.15.</b> Diferansiyel puls polarografik yönteminin plazmadan geri kazanım değerleri....	43
<b>Tablo 4.16.</b> Metimazolün diferansiyel puls polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri .....	44

# 1. GİRİŞ

Tiroid bezi hastalıkları, günümüzde oldukça sık karşılaşılan ve önemli endokrin sorunların başında gelen hastalıklar olarak tanımlanmaktadır. Tiroid bezi endokrin bir bez olup, bazı hormonlar salgılar ve bu hormonlar da kan dolaşımına girerek vücudun değişik organ ve dokularında etki gösterir. Tiroid bezi boynun ön bölümünde bulunur. Bezin sağ ve sol olmak üzere iki lobu bulunmakta olup, bu loblar istmus adı verilen bölümlerle birbirine bitişik halde bulunurlar. Tiroid bezi, tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) adı verilen iki hormonun yapımından ve bu hormonları dolaşıma vermekten sorumludur. T4 hormonunda 4 tane iyot atomu, T3'de ise 3 tane iyot atomu vardır. Hücre içinde T3 hormonu etkili olduğundan T4 hücreye girmeden önce T3'e dönüşür. Bu hormonlar vücudumuzun metabolizmasından sorumludur. Vücudumuz bu hormonları çok fazla salgırsa metabolizmamız hızlanır ve hipertiroidi gelişir; az salgırsa metabolizmamız yavaşlar ve hipotiroidi gelişir. Hipo, az; hiper, fazla anlamına gelmektedir. Tiroid bezinin çalışması ise beyinde bulunan ve hipofiz adı verilen bir bezden salgılanan tiroid uyarıcı hormon (TSH) ile kontrol edilir. Kan dolaşımındaki tiroid hormonları (T4 ve T3) azalınca hipofizden TSH salgısı artar ve bu hormon da tiroid bezinden tiroid hormon salgılanmasını artırır. Tersisi durumunda ise tiroid bezi hormon salgılarını azaltır. Tiroid bezinin iyi çalışıp çalışmadığı hastanın kanındaki T3, T4 ve TSH hormonlarının ölçülmesi ile öğrenilir. Testlerin sonuçlarına göre tanı konulur ve uygun farmakolojik veya cerrahi tedavi uygulanır. Farmakolojik tedavide eğer hormon sentezi az ise dışarıdan hormon takviyesi yapılır, fazla ise hormon sentezini azaltıcı yönde etki gösteren ilaçlar kullanılır. Tedavideki amaç hastanın sıkıntılarını gidermek, hastalığı hakkında bilgilendirmek ve yaşam kalitesini artırmaktır.<sup>1-7</sup>

Günümüzde tiroid tedavisi uygulamaları değişik klinik durumlar için değişik şekillerde yapılmaktadır. Bu amaçla kullanılan tiroid ilaçlarının başında metimazol etkin maddesini içeren farmasötik preparatlar gelmektedir. Metimazol içeren ilaçlar tiroid hastalıklarında yaygın olarak kullanılır. Metimazol içeren ilaçlar günümüzde 5 mg tablet dozda Thyramazol ticari adı ile satılmaktadır.

Son yıllarda enstrümental yöntemler yanında, elektrokimyasal ve biyolojik reaksiyonların arasındaki benzerlikler, elektrot ve metabolizma mekanizmaların benzer ilkelere sahip olmasından dolayı elektro analitik yöntemler de, ilaç etkin maddelerinin hem nicel tayini hem de etki mekanizmalarının nasıl yürüdüğü hakkında bilgiler edinmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Metimazol etkin maddesi için yapılan literatür araştırmasında biyolojik sıvılarda miktar tayinine yönelik spektrofotometrik<sup>8,9</sup> ve HPLC yöntemlerine ulaşılmıştır.<sup>10,11</sup> Ancak kare dalga polarografi, diferansiyel puls polarografi gibi elektro analitik yöntemlerle tayinlere rastlanmadığından dolayı metimazol etkin maddesinin tayini için polarografik yöntemler geliştirilmesi düşünülmüştür.

İlaç etkin maddelerinin fiziksel ve farmakokinetik yapısındaki değişikliklerin hepsi, moleküllerin yükseltgenme/indirgenme davranışlarındaki değişikliklere bağlıdır, dolayısıyla bu değişikliklerin izlenmesinde elektrokimyasal teknikler önemli rol oynamaktadır. Günümüzün modern analitik tekniklerinden olan (yüzeyde tutunma olaylarına dayalı) adsorptif sıyırma, diferansiyel puls ve kare dalga voltametri/polarografisi tekniklerinin kullanılması ile geliştirilmiş olan yöntemlerin duyarlı, seçici, basit, hızlı, bir ön işleme gerek duyulmaması ve uygulamada değişikliğe açık olması ilaç dozaj formlarından (tablet, kapsül, şurup, ampul vb.) ve vücut sıvılarından (kan, idrar, anne sütü vb.) analizlerine uygulanabilirliği açısından özel bir yeri vardır.

Bu çalışmada metimazol ilaç etkin maddesinin öncelikle elektrokimyasal davranışı, dönüşümlü polarografi gibi yöntemler ile tersinirlik, aktarılan elektron sayısı, adsorpsiyon özellikleri gibi özelliklerin incelenmesi düşünülmüştür. Bu verilerin ışığı altında nicel tayini için yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla, pH, derişim, tarama hızı gibi deneysel parametreler değiştirilerek, en uygun deneysel koşullar belirlenmiş ve bu koşullarda nicel tayin çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Geliştirilen yöntemler istatikselsel olarak değerlendirilip kesinlik, duyarlık, seçicilik gibi parametreler incelenerek yöntemin analitik amaç için uygunluğu araştırılmıştır. Ayrıca geliştirilen yöntemler metimazol içeren farmasötik preparatlardan Thyramazol tablete uygulanmıştır. Elde edilen veriler istatikselsel açıdan da karşılaştırmış ve elektrokimyasal yöntemler arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Buna ilaveten metimazol etkin maddesinin insan plazmasında kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri ile miktar tayinine yönelik iki farklı polarografik yöntemde geliştirilerek yöntem validasyonları yapılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Metimazol

Hipertiroidi operasyonlarına hazırlık, radyoiyot tedavisinden sonra çocukluk çağındaki hipertiroidi ve diğer hastalıklarında kullanılır.<sup>3-7</sup>

#### 2.1.1. Etki Mekanizması

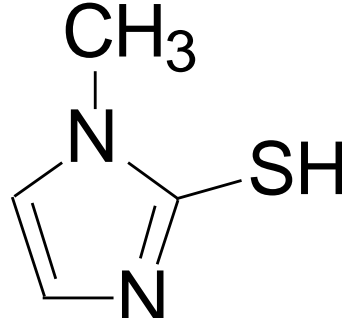
Metamizolün analjezik, antipiretik ve antispazmodik etkileri vardır. Metamizol büyük olasılıkla kombine bir santral ve periferik etki şekline sahiptir. Afferent lifler, omurilik ve periakvaduktal gri madde düzeyindeki santral etki mekanizmaları metamizolün analjezik etkisine katkıda bulunabilir. Etki mekanizması tam olarak açık değildir. Bazı veriler metamizol ve ana metabolitinin (4-N-metilaminoantipirin) kombine bir santral ve periferik etki modeline sahip olabileceğini göstermektedir.

#### 2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri

Metamizol ve metabolitlerinin farmakokinetiği tam olarak açık değildir. Oral uygulamadan sonra metamizol tamamen aktif metaboliti olan 4-N-metilaminoantipirine (MAA) hidrolize olur, MAA'nın mutlak biyoyararlanımı yaklaşık olarak %90'dır ve oral uygulama sonrası intravenöz uygulamaya oranla biraz daha yüksektir. Metamizol besinlerle birlikte alındığında MAA'nın farmakokinetiği fark edilir bir değişikliğe uğramaz.

#### 2.1.3. Kimyasal Yapısı

Metimazol  $114.17 \text{ g mol}^{-1}$  molekül kütlesine ve  $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{S}$  kimyasal formülüne sahiptir. Kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir.<sup>12-14</sup>



Şekil 2.1. Metimazolün kimyasal yapısı

## 2.2. Metimazol ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Zakrzewski<sup>15</sup> metimazolün kolon sonrası türevlendirme ile idrarda miktar tayini için UV dedektörlü bir HPLC yöntemi geliştirmiştir. Çalışmada C<sub>18</sub> Symmetry ters faz kolon (5 µm, 3.9 mm x 150 mm), asetonitril:su (50:50, h/h) mobil fazı, 350 nm dedektör dalga boyu, 0.5 ml dak<sup>-1</sup> kolon akış hızı parametreleri ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Doğrusallık için 2-100 nmol ml<sup>-1</sup> derişim aralığında kalibrasyon eğrisi türetilmiş olup eğrinin korelasyon katsayısı 0.999'dan büyük olarak tespit edilmiştir. Geliştirilen yöntemin tiroid tedavisi gören bir hastanın idrarında metimazol tayini için uygulanabilir olduğu gösterilmiştir.

Kusmiere ve ark.<sup>16</sup> metimazolün insan idrarında tayin edilebilmesi için basit ve hassas bir HPLC yöntemi geliştirmişler. Çalışmada ters-faz Zorbax C<sub>18</sub> kolon, asetonitril-25 mM fosfat tamponu (pH 3.2) mobil fazı gradient elüsyonu, 1.2 ml dak<sup>-1</sup> kolon akış hızı, 345 nm dalga boyu kullanılarak HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Doğrusallık 0.25-50 µg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında oluşturulmuş ve kalibrasyon eğrisi türetilip korelasyon katsayısı (r) 0.99'dan büyüktür. Kesinlik bağıl standart sapma ile ifade edilmiş olup gün içi ve günler arası BSS % 5.0'dan küçük bulunmuştur. Çalışmanın plazmadan geri kazanımı sıvı-sıvı faz ekstraksiyon ile gerçekleştirilmiş olup geri kazanım % 95.7 ile % 103.3 arasında bulunmuştur. Metimazolün seri dilüsyonları

kullanılarak yöntemin miktar tayin sınırı (LOQ) değeri  $0.25 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Başka bir çalışmada Kutluay ve ark.<sup>17</sup> farmasötik preparatlarda metimazolün belirlenmesi için kompozit kaplı camsı karbon elektrot kullanarak dönüşümlü voltametri yöntemi ile metimazolün miktar tayinini yapmışlardır. Metimazol etkin maddesinin pik akımları ile derişimi göz önünde bulundurularak kalibrasyon eğrisi türetilmiştir. Eğrinin regresyon denklemi  $y=0.323x+0.0014$  ve korelasyon katsayısı (r) 0.9995 olarak tayin edilmiştir. Kesinlik bağıl standart sapma ile ifade edilmiş olup gün içi ve günler arası % BSS % 1.02'den küçük bulunmuştur. Çalışmanın doğruluğu bağıl hata ile verilmiş olup gün içi ve günler arası bağıl hata % 0.80'den küçük bulunmuştur. Geliştirilen ve valide edilen voltametrik yöntem metimazol içeren bir farmasötik dozaj formuna uygulanmış ve tabletten geri kazanım % 98.8 ile % 99.2 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak geliştirilen yöntemin farmasötik preparatlarda metimazol etkin maddesinin tayininde başarı ile kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Molero ve ark.<sup>18</sup> farmasötik preparatlarda metimazol miktar tayini için duyarlı ve seçici bir kare dalga voltametri yöntemi geliştirmişlerdir. Metimazol için  $6 \times 10^{-6}$  ile  $240 \times 10^{-6}$  M derişim aralığında kalibrasyon eğrisi türetilmiş olup eğrinin korelasyon katsayısı (r) 0.999'dan büyük olarak bulunmuştur. Kesinlik bağıl standart sapma ile ifade edilmiş olup gün içi ve günler arası BSS % 2.0'dan küçük bulunmuştur. Çalışmanın tabletten geri kazanımı standart ekleme yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup geri kazanım % 100.8 olarak bulunmuştur. Metimazolün seri dilüsyonları kulanılarak yöntemin LOQ değeri  $1.98 \times 10^{-6}$  M olarak bulunmuştur. Geliştirilen ve valide edilen yöntemin uygulaması Thyrozol tablette yapılmıştır.

Aslanoglu ve ark.<sup>19</sup> farmasötik preparatlarda metimazolün belirlenmesi için bir platin elektrot kullanarak kare dalga voltametri yöntemi geliştirmişlerdir. Metimazol etkin maddesinin 1-700 µM derişim aralığında pik akımları göz önünde bulundurularak kalibrasyon eğrisi türetilmiştir. Eğrinin regresyon denklemi  $y=2364.82x+0.465$  ve korelasyon katsayısı (r) 0.9993 olarak tayin edilmiştir. Kesinlik bağıl standart sapma ile ifade edilmiş olup gün içi ve günler arası % BSS % 2.89'dan küçük bulunmuştur. Geliştirilen ve valide edilen voltametrik yöntem metimazol içeren bir farmasötik dozaj formuna uygulanmış ve tablettten geri kazanım ortalama % 96.8 bulunmuştur. Sonuç olarak geliştirilen yöntemin farmasötik preparatlarda metimazol etkin maddesinin tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

### **2.3. Voltametri ve Voltametrik Yöntemler**

Elektrokimya, çözücülerde homojen olarak ya da elektrot çözücü ara yüzeyinde heterojen olarak meydana gelen yük ayrılması ve yük aktarımı ile ilişkili olan olaylarla ilgilenir. Elektrokimya uzun bir geçmişe sahiptir ve yaklaşık 200 yıl önce Volta'nın elektrik pilini 1799 yılında keşfi ile başlar. Son yıllardaki ilerlemeler oldukça fazladır. Bugün, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar ve küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümüne gerekli katkılar yapar.<sup>20</sup>

Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin birbiri arasındaki ilişkileriyle ilgilenen bir kimya dalıdır. Elektrokimyanın büyük bir kısmı, bir elektrik akımının geçmesinin neden olduğu kimyasal değişikliklerin araştırılmasıyla ve kimyasal reaksiyonlar sonucu elektrik enerjisinin üretilmesiyle ilgilenir. Aslında, elektrokimya, çok sayıda farklı olayların, araçların ve teknolojilerin yer aldığı bir daldır.<sup>21</sup>

Voltametri, potansiyel, akım, elektrik yük miktarı ile madde miktarı arasındaki ilişkiye dayanan elektroanalitik bir yöntemdir. Voltametrik yöntemlerin bir kısmında potansiyel sabit tutulur veya çeşitli şekillerde değiştirilerek madde miktarına bağlı

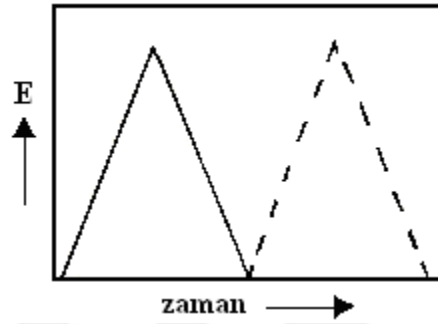
olarak oluşan akım miktarı incelenir. Bu elektroanalitik tekniklerle maddelerin, kalitatif ve kantitatif analizleri yapılabileceği gibi elektrot reaksiyonlarının mekanizmaları da incelenebilir.

Ayrıca maddelerin çözeltilerdeki kararlılıkları ve çeşitli fizikokimyasal sabitlerinin de tayinini yapmak mümkündür. Voltametrinde, çalışma elektrodunun potansiyeli zamanla değiştirilirken akım ölçülür. Elektroda, zamanın bir fonksiyonu olarak farklı potansiyellerin uygulanmasıyla oluşan farklı şekillerdeki potansiyel-zaman fonksiyonlarına uyarma sinyali denir. Aşağıda, voltametrinde yaygın olarak kullanılan uyarma sinyallerinden ve kimyasal sistemlerin incelenmesinde uygulanan çeşitli elektrokimyasal yöntemlerden bu tez çalışmasında kullanılanlar kısaca anlatılmaktadır.

### **2.3.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)**

Bu yöntemde, potansiyel, üçgensel potansiyel döngüsü verecek şekilde Şekil 2.2'de görüldüğü gibi,  $E_1$ 'den  $E_2$ 'ye ileri ve  $E_2$ 'den  $E_1$ 'e geriye doğru doğrusal olarak taranırken oluşan akım ölçülür. Hücrede oluşan akımın potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilmesiyle elde edilen akım-potansiyel eğrilerine dönüşümlü voltamogram denir. Bir voltamogram örneği Şekil 2.2'de verilmiştir. Bu şekilde,  $Yük + ne^- \rightarrow İnd$  reaksiyonu için çözeltide sadece Yük'ün bulunduğu çeşitli dönüşümlü voltamogram örnekleri görülmektedir. Eğri 1,  $Yük + ne^- \rightarrow İnd$  reaksiyonu tersinir olduğunda elde edilir. İleri doğru taramada, doğrusal taramalı voltametrindeki (LSV) gibi, Yük'ün İnd'e indirgenmesi ile katodik bir pik elde edilir. Geriye doğru taramada, ileri doğru tarama süresince meydana gelen İnd'in Yük'e tekrar yükseltgenmesinden kaynaklanan, anodik bir pik gözlenir. Tersinir reaksiyonlar için, katodik ve anodik pik akımlarının büyüklükleri ( $|ip^k| = |ip^a|$ ) eşittir ve katodik pik potansiyeli ( $Ep^k$ ) anodik pik potansiyelinden ( $Ep^a$ )  $(58/n)$  mV daha negatiftir. Bunlar, tersinirlik için önemli parametrelerdir. Ayrıca, formal redoks potansiyelini elde etmek için kullanılan yarı

dalga potansiyeli,  $E_{1/2} = (E_p^k + E_p^a)/2$  şeklinde bulunur. Tersinirliğin azalması ile iki pik potansiyeli arasındaki fark artar. Eğri 2, önemli derecede tersinmez olan sistemler içindir. Eğri 1 ile karşılaştırıldığında, katodik pik çok daha negatif, anodik pik ise çok daha pozitif potansiyelindedir. Sistem tamamen tersinmez ise, anodik pik ölçülebilen potansiyel aralığında görünmez. Tersinmez dönüşümlü voltamogram eğrisinden, genellikle bir simülasyon yöntemi ile elektrot reaksiyonu için kinetik parametreler (hız sabiti ve transfer katsayısı) hesaplanabilir.

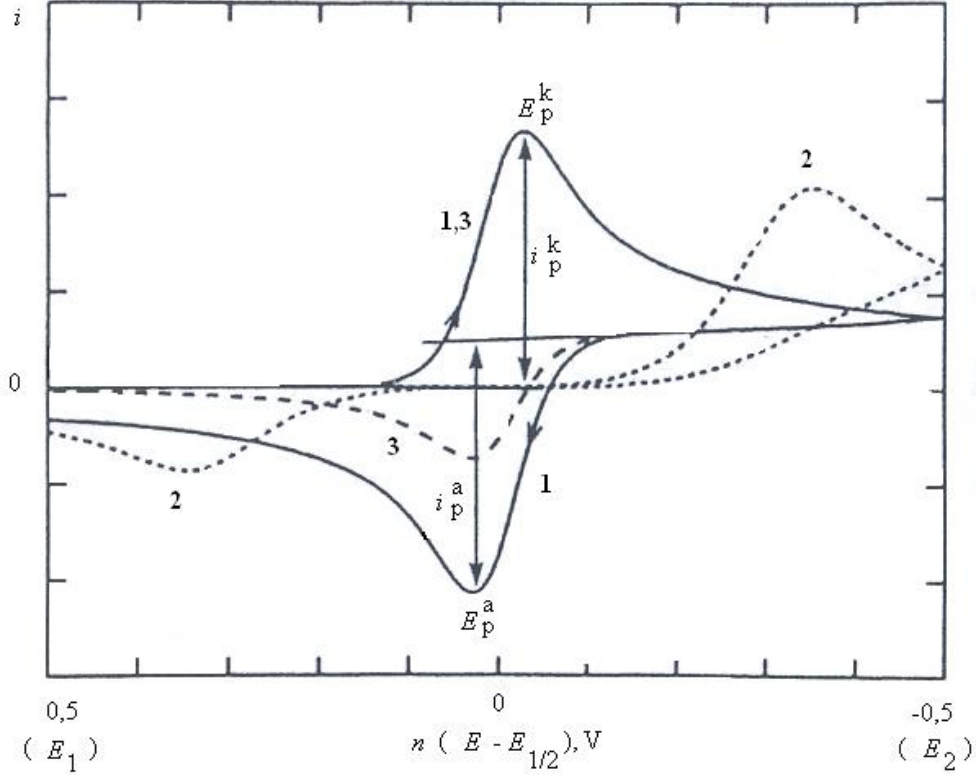


**Şekil 2.2.** Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyalinin dalga şekli

Eğri 3, İnd'in tersinir olarak Yük'e tekrar yükseltgenebildiği, tekrar yükseltgenmeden önce, İnd'in bir kısmının elektroaktif olmayan A türüne dönüşebildiği bir durum içindir (Yük ↔ İnd A). Katodik pik Eğri 1'deki gibi aynı şekilde görünür, fakat anodik pik akımı Eğri 1'dekinden daha küçük olur. Anodik pik akımındaki azalmadan,  $k$  hız sabitini elde edebiliriz. Dönüşümlü voltametrde, potansiyel tarama hızı geniş bir aralıkta değiştirilebilir.<sup>20</sup>

Dönüşümlü voltametri, susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal çalışmalarda en kullanışlı yöntemlerden biridir. Özellikle, kararsız bir ara ürün veya ürün içeren elektrot reaksiyonlarının incelenmesinde faydalıdır. Elde edilen voltamogramlar incelenerek reaksiyon mekanizmaları tahmin edilebilir ve kararsız türlerin termodinamik ve kinetik özellikleri belirlenebilir. Ayrıca, kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonların her biri

farklı reaksiyon hızlarına ve tersinirliklere sahiptir. Bunların hepsi, voltamogramlara yansır. Potansiyel aralığı, tarama hızı, sıcaklık, elektrodun cinsi, çözeltinin bileşimi gibi çeşitli parametreleri değiştirerek bir elektrot reaksiyonunun dönüşümlü voltamogramı alınır ve voltamogramlar uygun bir şekilde analiz edilirse, elektrot reaksiyonuyla ilgili bilgi edinilebilir.<sup>20</sup>



**Şekil 2.3.** Yük  $\leftrightarrow$  İnd reaksiyonuna ait tersinir (Eğri 1), tersinmez ( $\alpha = 0.5$ ) (Eğri 2) ve tersinir fakat İnd türünün elektroaktif bir türe dönüştüğü bir sistem (Eğri 3) için dönüşümlü voltamogramlar

Dönüşümlü voltametri tekniğinin, nicel amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında nitel bilgi edinilmesinde en yaygın olarak kullanılan teknik olmasının nedeni, redoks olaylarının termodinamiği, heterojen elektron-transfer reaksiyonlarının kinetiği ve takip eden kimyasal reaksiyonlar ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgileri hızlı bir şekilde sağlamasıdır.

Dönüşümlü voltametri elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Özellikle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesini sağlar.<sup>22</sup>

### 2.3.1.1. Tersinir Sistemler

Tersinir bir çift için pik akımı (25 °C), Randles-Sevcik eşitliğiyle verilir.

$$i_p = (2.69 \times 10^5)^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2}$$

Burada  $n$ , aktarılan elektron sayısı;  $A$ , elektrodun alanı ( $\text{cm}^2$ );  $C$ , derişim ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ );  $D$ , difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) ve  $\nu$ , tarama hızıdır ( $\text{V}/\text{s}$ ). Buna göre, akım, derişimle doğru orantılıdır ve tarama hızının kareköküyle artar. Basit bir tersinir çift için, anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1'dir. Bu oran, redoks reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyonların varlığından oldukça güçlü bir şekilde etkilenir.

Potansiyel eksenindeki piklerin konumu, redoks işleminin formal potansiyeline bağlıdır. Bu yüzden, pik potansiyelleri farkı, aktarılan elektron sayısının belirlenmesinde bir davranış kriteri olarak kullanılabilir. Buna göre, hızlı bir elektronlu reaksiyon, 59 mV'luk bir  $\Delta E_p$  gösterir. Katodik ve anodik piklerin her ikisi de tarama hızından bağımsızdır. Çok elektronlu bir indirgenme gerçekleşiyorsa, sistemin tersinir olması için voltamogramda, birbirinden iyi bir şekilde ayrılmış ve  $E^0$  değerleri birbirinden sırayla artış gösteren çok sayıda pikin olması gerekir.<sup>22</sup>

Bir reaksiyonun tersinir olduğunun belirlenmesinde, dönüşümlü voltametri çalışmalarından yararlanır ve aşağıdaki kriterlerin sağlanması elektrot reaksiyonunun tersinir olduğunu gösterir. Bu kriterler şunlardır:

- $E_p^k - E_p^a = 59/n$  mV veya  $E_p - E_p/2 = 57/n$  mV'tur.
- $E_p$  tarama hızı ile değişmez.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez.



- $i_p/v^{1/2}$ , tarama hızıyla değişmez.
- Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.

### 2.3.1.2. Tersinmez ve Yarı-Tersinir Sistemler

Elektron transferinin yavaş olduğu tersinmez sistemler için, piklerin büyüklüğü tersinir sistemlere göre daha azalır ve pikler birbirinden epeyce ayrılır.<sup>22</sup> Tersinmez sistemlerde, tarama hızıyla pik potansiyelinde kayma olur. Yarı-tersinir sistemlerde, pik potansiyelleri, tersinir sistemlerle karşılaştırıldığında, birbirinden oldukça ayrıdır. Bir reaksiyonun yarı-tersinir olduğunun belirlenmesinde de dönüşümlü voltametri çalışmalarından elde edilen verilerden yararlanır. Bu amaçla, aşağıdaki kriterler incelenir.<sup>23</sup> Yarı tersinir bir sistem için:

- $i_p/v^{1/2}$  tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir. ( $\alpha = 0.5$  ise)
- $E_p^k$  tarama hızı ile değişir. Bu değişime genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
- $E_p^k - E_p^a$  farkı düşük tarama hızlarında  $59/n$ 'e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur.

### 2.3.1.3. Adsorpsiyonun Dönüşümlü Voltametri ile İncelenmesi

Dönüşümlü voltametri aynı zamanda, elektroaktif türlerin ara yüzeydeki davranışının incelenmesinde de kullanılır. Reaktif ve ürünün her ikisi de, adsorpsiyon-desorpsiyon olayında yer alabilir. Bu durumda, alınan çoklu voltamogramlarda, katodik ve anodik pik akımlarının dereceli olarak artması, elektrot yüzeyinde adsorpsiyonun göstergesidir. Reaktif veya ürünün her ikisi değil de, sadece biri elektrot yüzeyine kuvvetli adsorbe olabilir. Bu durumda, reaktif elektrot yüzeyine kuvvetli adsorpsiyonu varsa difüzyon pikinden daha negatif bir potansiyelde bir arka pik gözlenirken, ürünün

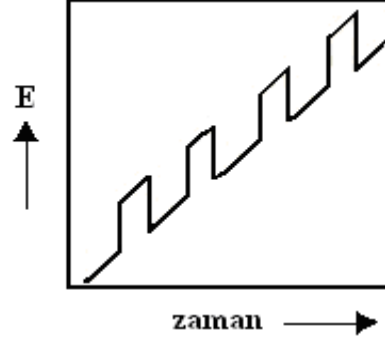
elektrot yüzeyine kuvvetli adsorbsiyonu varsa difüzyon pikinden daha pozitif bir potansiyelde bir ön pik gözlenir.<sup>22</sup>

### 2.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

Puls voltametri teknikleri, Barker ve Jenkin tarafından (1952), voltametrik çalışmalarda tayin sınırını düşürmek amacıyla önerildi. Böylece, faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki oran artırılarak, tayin sınırları  $10^{-8}$  M'a kadar düşürüldü. Kısaca DPV olarak gösterilen diferansiyel puls voltametrisi, organik ve anorganik türlerin eser miktarlarının ölçülmesinde son derece kullanışlı bir tekniktir. Diferansiyel puls voltametrisinde, doğrusal bir potansiyel artışına göre ayarlanmış sabit büyüklükte pulsar ( $dE/dt$ ), çalışma elektroduna belli bir süre uygulanır (Şekil 2.4). İki kez akım ölçülür. Birincisi, puls uygulanmadan önce yani tam pulsun başladığı anda potansiyelde bir artış olmadan, ikincisi, pulsun bitmesine yakın bir bölgede ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark puls olarak verilir. Sonunda, uygulanan potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı elde edilir.<sup>22</sup> Voltamogramlardaki pik akımlarının yüksekliği, aşağıdaki eşitlikte de görüleceği gibi ilgili analitin derişimiyle doğru orantılıdır:

Burada,  $\sigma = \exp[(nF/RT)(\Delta E/2)]$ 'dir ve  $\Delta E$  puls genişliğidir.

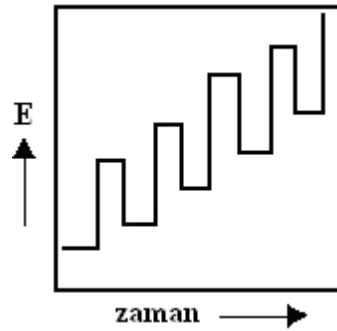
DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Normal puls voltametrisiyle karşılaştırıldığında iki üstünlüğü vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayrılabilirdiği için tek bir voltamogramda pek çok analitin belirlenebilmesini sağlamaktadır. İkinci üstünlüğü ise, diferansiyel akımla çalışılması ve böylece voltametrik bir pikin elde edilmesiyle analitik duyarlılığın  $5.0 \times 10^{-8}$  M'dan  $1.0 \times 10^{-8}$  M'a gelişmesidir.



**Şekil 2.4.** Diferansiyel puls voltametrisinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

### 2.3.3. Kare Dalga Voltametri (SWV)

Kare dalga voltametri, diferansiyel pulsdan daha sık tercih edilen elektroanalitik yöntemdir. Kısaca SWV olarak gösterilir ve çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, büyük genişlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda ( $t_1$ ) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır ( $t_2$ ). Bu iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltamogramı elde edilir (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Kare dalga voltametrinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

SWV'nin en büyük üstünlüğü oldukça hızlı bir teknik olmasıdır. Etkin tarama hızı, kare dalganın frekansı ( $f$ ) ve basamak yüksekliği ( $\Delta E_s$ ) değiştirilerek belirlenir. Böylece, birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilmektedir. Bu, ortalama 2-3

dakikayı bulan diferansiyel puls voltamogramının tamamlanması ile karşılaştırıldığında, kare dalga voltametrisinin analiz süresini oldukça kısalttığı bir göstergesidir.<sup>22</sup> SWV yönteminin ikinci büyük üstünlüğü de, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkıların minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece, tarama hızı çarpıcı bir şekilde artırılabilir, 1 V s<sup>-1</sup>'lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir. SWV'de net akım ( $\Delta I$ ) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyüktür. Bu nedenle, voltametrik pik genellikle oldukça kolay okunmaktadır. Bu da, yöntemin doğruluğunu arttırmakta ve diferansiyel puls voltametrisinden daha yüksek duyarlılığın elde edilmesini sağlamaktadır. Böylece 1.0×10<sup>-8</sup> M'a yakın çok düşük tayin sınırlarına inilebilmektedir. Kare dalga ve diferansiyel puls voltametri karşılaştırılırsa, kare dalga akımlarının benzer diferansiyel puls cevaplarından, tersinir ve tersinmez sistemler için sırasıyla 4 ve 3.3 kat daha yüksek olduğu söylenebilir.

#### **2.4. Elektrokimyasal Ölçme Sistemi**

Metimazolün elektrokimyasal davranışlarının incelendiği bu çalışmada, dönüşümlü polarografi, diferansiyel puls polarografi (DPP) ve kare dalga polarografi (SWP) gibi tekniklerden yararlanmak amacı ile Interface 1000 Gamry markalı elektrokimyasal sistem kullanıldı. Uygulanan teknikleri otomatik olarak gerçekleştirmek ve bilgisayar kontrollü olan bu elektrokimyasal ölçme sisteminden elde edilen verileri değerlendirmek için ana üniteye bağlı bilgisayar sistemindeki yazılımından yararlanıldı. Elektrokimyasal sistemde, deneye başlamadan önce hazırlanan çözeltilerden gaz geçirilmesi ve çözeltilerin karıştırılması otomatik olarak yapılabilmektedir. Uygun görülen deney parametreleri sisteme girilip onaylandıktan sonra deney tamamlandığında deney verileri, grafik olarak elde edilebilmekte ve grafikler, daha önce elde grafiklerle üst üste çakıştırılarak karşılaştırılabilmektedir. Ayrıca, kullanılan yazılımlar, gerektiğinde deney verilerinin kopyalanarak başka

bilgisayarlara aktarılıp Microsoft Excel, PowerPoint ve Paint gibi programlardan yararlanma olanağı sağlamaktadır.

### **2.5. Kullanılan Elektrotlar**

Deneylerde, çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrot, karşıt elektrot olarak 0.5 mm çapında Pt telden (BAS MW-1032) yararlanıldı. 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ortamında gerçekleştirilen elektrokimyasal çalışmalarda, Ag/AgCl referans elektrodu (BAS MF-2052 RE-5B) kullanıldı. Çalışmada kullanılan sulu ortam Ag/AgCl referans elektrodu, kullanılmadığı zaman 3.0 M KCl çözeltisinde saklandı.

### **2.6. Destek Elektrolit**

Elektrokimyasal olaylarda elektro aktif olan maddenin elektrot yüzeyine taşınma basamaklarının aynı anda olmaması olayı basitleştirmektedir. Bu taşıma sistemleri arasında engellenmesi en kolay olanı göç (migrasyon) olayıdır. Bunun için çalışılan ortama kolayca iyonlaşan bir tuz, elektrokimyasal özellikleri incelenen maddeninkinden çok daha yüksek derişimlerde ilave edilir. Bu tuza ya da bu tuzu içeren çözeltiye “*destek elektroliti*” adı verilir. Destek elektrolitinin derişimi incelenen maddenin derişiminden 100 kat daha fazla olmalıdır. Miktar tayini çalışmalarında ve kinetik incelemelerde analizi yapılacak maddeleri kolayca çözebilen, uygun pH aralığı sağlayan ve oldukça düşük akım veren çözeltiler destek elektroliti olarak seçilmiştir. Deneylerde destek elektroliti olarak 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmıştır.

### **2.7. Dönüşümlü Polarografi Deneyinin Yapılışı**

Metimazol etkin maddesinin dönüşümlü polarografi deneyleri için hücre standına, deneyde kullanılacak çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot yerleştirilerek üçlü elektrot sistemi oluşturuldu. Çalışma elektrotu damlayan civa elektrot, referans elektrotu Ag/AgCl elektrot, karşıt elektrot olarak da platin tel kullanılmıştır. Çözeltiden 5 dakika azot gazı geçirilerek ortamdaki oksijenin

uzaklaşması sağlandıktan sonra farklı potansiyel aralıklarında dönüşümlü polarogramları alındı. Akımın pratik olarak çok düşük olduğu ve değişmediği potansiyel aralığı, potansiyel penceresi olarak belirlendi.

Daha sonra çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot, incelenen metimazol çözeltilerine daldırılarak sistemden 5 dakika azot gazı geçirildi. Ardından, belirlenen potansiyel aralıklarında dönüşümlü polarogramları alındı ve metimazolün indirgenme ve yükseltgenme piklerinin incelenmesi için en uygun potansiyel aralığı seçildi.

Metimazolün polarogramlarına tarama hızının etkisini incelemek amacıyla, deney çözeltilerinin, farklı tarama hızlarında ve her tarama hızı çalışmasından önce çözeltiden belirli bir süre azot gazı geçirilerek polarogramları alındı. Ayrıca, aynı çözeltiler kullanılarak çoklu polarogramları da elde edildi.

### **2.8. Kare Dalga Polarografi Deneyinin Yapılışı**

Metimazolün kare dalga polarografi çalışmaları, dönüşümlü polarografi çalışmalarında kullanılan aynı elektrokimyasal hücrede, daha önceden belirlenen potansiyel aralığında, SWP tekniğinin en önemli parametresi olan frekansı 15 Hz değerinde, kare dalga genliğini 25 mV değerinde ve basamaklı adım yüksekliğini 4 mV değerinde sabit tutarak polarogramlar alındı. Elde edilen polarogramlardaki pik akımı ve pik potansiyelleri kaydedildi. Pik akımının derişimle ilişkisini belirlemek amacıyla, farklı derişimlerdeki metimazol çözeltileri için elde edilen pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi çizildi.

### **2.9. Diferansiyel Puls Polarografi Deneyinin Yapılışı**

Metimazol için gerçekleştirilen diferansiyel puls polarografi çalışmaları, dönüşümlü polarografi çalışmalarında kullanılan aynı elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilmiştir. DPP kullanılarak metimazol çözeltilisinin adsorptif diferansiyel puls

polarografi ile analizinde ve puls polarografisi ile analizinde puls genliği 5, 10, 25, 50 ve 100 mV değerler denenmiş ve puls genliğinin artmasıyla pik potansiyelinin pozitif değerlere kaydığı ve pik akımının arttığı gözlenmiştir. Ancak çok küçük ve çok büyük puls genlikleri ile tekrarlanabilir sonuçlar alınamaması üzerine çalışmalarda 50 mV puls genliği değerinde voltamogramlar alınmıştır. Elde edilen polarogramlardaki pik akımı ve pik potansiyelleri kaydedilmiştir. Pik akımının derişimle ilişkisini belirlemek amacıyla, farklı derişimlerdeki metimazol çözeltileri için elde edilen pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri çizilmiştir.

### **2.10. Yöntem Geçerlilik Testleri (Validasyon)**

Geçerlilik Testi (Validasyon), ürünlerin değerlendirme prosesinde, kalitatif veya kantitatif analizlerde seçilen yöntem yada yöntemlerin bu analiz işlemlerinde uygulanabilir olduğunu göstermek için yapılan testlerin tümüdür.<sup>24,25</sup> Seçilen analitik yöntemin geçerliliğini göstermek için kullanılan parametreler:

1. Doğruluk
2. Kesinlik
3. Saklanan Örneklerin Kararlılığı (Stabilite)
4. Doğrusallık
5. Seçicilik
6. Duyarlılık
7. Geri Kazanım

Farmasötik preparatlarda ve biyolojik ortamlarda etkin maddelerin miktarlarının belirlenmesinde uygulanan yöntemlerin geçerlilik testlerinin yapılmış olması gerekmektedir.

### 2.10.1. Doğruluk ve Kesinlik

Doğruluk, bir analitik yöntemde sonuçların gerçek değere veya gerçek olarak kabul edilen değere yakınlığı olarak ifade edilir ve bağıl ya da mutlak hata ile verilir. Kesinlik ise, analitik bir işlemde önceden belirlenmiş koşullar altında aynı homojen örnekten birçok örnekleme yapılır ve bu örneklerin her birinden alınan bir seri ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığı olarak ifade edilir ve % BSS (bağıl standart sapma) ile verilir.

**i) Güniçi kesinlik:** Bir birinden bağımsız biçimde hazırlanmış numunelerin aynı gün içerisinde tekrarlayan analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı ( $n=6$ ,  $n$ :ölçüm sayısı) % BSS değeri ile verilir.

**ii) Günler arası kesinlik:** Bir birinden bağımsız biçimde hazırlanmış numunelerin farklı günler (en az altı gün) içerisinde tekrarlayan analiz (en az  $n=6$ ) sonuçlarının birbirlerine olan yakınlık ölçüsüdür. Bu çalışmayla elde edilen değerler aynı zamanda yöntemin uygulanabilirliğinin de bir ölçüsüdür.

### 2.10.2. Örneklerin Kararlılığı (Stabilite)

Saklanan örneklerin analiz süresince bozunmadan sabit kaldığından emin olmak için yapılan testlere kararlılık (stabilite) denilmektedir. Etkin maddeyi içeren kan örneklerinin normal laboratuvar koşullarında nem, sıcaklık, hava ve örneklerin dondurulup-eritilmesi ( $-20$  °C bekletilmesi) gibi etkilere maruz kaldığında etkin maddenin bozunmadan sabit kaldığı süre tespit edilmeli ve aynı zamanda elde edilen bilgilerin literatür bilgileri ile de desteklenmesi gerekmektedir.

### 2.10.3. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi

En düşük derişimden en yüksek derişime doğru bir seri çözelti hazırlanarak yöntemin doğrusal olduğu aralığın belirlenme işlemine doğrusallık denir. Bu aralık belirlendikten sonra çözeltinin derişimine karşı elde edilen cevaplar grafiğe geçirilerek



kalibrasyon eğrisi türetilir. Kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi yapılarak standart eğrinin doğru denklemi ve korelasyon katsayısı elde edilir. Kalibrasyon doğrusunun eğimi, doğrusallığın matematiksel bir ölçüsüdür.

#### **2.10.4. Duyarlılık**

Analitik yöntemin en düşük derişimdeki analitleri saptayabilmesinin bir ölçüsüdür.

#### **2.10.5. Tayin Alt Sınırı (LOQ)**

Belirlenen deney koşulları altında, analitik yöntemin tayin alt sınırı değeri numune içindeki analitin uygun doğruluk ve kesinlik ile tayin edilebildiği en düşük derişimdir. Kromatografik çalışmalarda tayin alt sınırı değeri, pik yüksekliğinin gürültü yüksekliğine oranın 10 olduğu derişim olarak belirlenir.

#### **2.10.6. Gözlenebilme (Teşhis) Sınırı (LOD)**

Bir analitik yöntemin gözlenebilme (teşhis) sınırı, bir örnekteki incelenen bileşimin belirlenebilen en düşük miktarıdır. Ancak burada belirlenen derişim kantitatif tayin için tam olarak kesinlik ifade eden bir değer olamayıp sadece bir sınır değeridir. Kromatografik çalışmalarda gözlenebilme sınırı değeri, pik yüksekliğinin gürültü yüksekliğine oranın 3 olduğu derişim olarak ifade edilir.

#### **2.10.7. Geri Kazanım**

Analiz sonucunda bulunan değerlerin gerçek değere oranı olarak ifade edilir.

## 3. MATERYAL VE METOT

### 3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Metimazol (Merck, Almanya)

Thyramazol tablet (Eczane, Erzurum, Türkiye)

Asetonitril (HPLC grade, Merck, Almanya)

Deiyonize su (Millipore)

Azot gazı (N<sub>2</sub>) (% 99.9 saflıkta, Erzurum, Türkiye)

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Etüv (Mettler)

Ultrasonik banyo (Elma LC 30)

Terazi (Mettler Toledo)

Karıştırıcı (Vorteks, IKA)

### 3.3. Polarografik Yöntem Şartları

Polarografik ölçümler dönüşümlü, kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri kullanılarak -100 mV ile +150 mV potansiyel aralığında Gamry Interface 1000 markalı potansiyostatta gerçekleştirildi. Çalışmada damlayan civa elektrot indikatör elektrot, Ag/AgCl referans elektrot ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. -100 mV ile +150 mV potansiyel aralığında background ve metimazol çözeltilerinin dönüşümlü polarografi taraması 100 mV tarama hızında gerçekleştirildi. Polarogramda +0.22 mV potansiyelde bir tane oksidasyon piki gözlemlendi. +0.22 mV potansiyeldeki pik akımlarının değerlerinde doğrusallık sağlandığından +0.22 mV potansiyelde derişime karşı pik akım değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi türetildi.

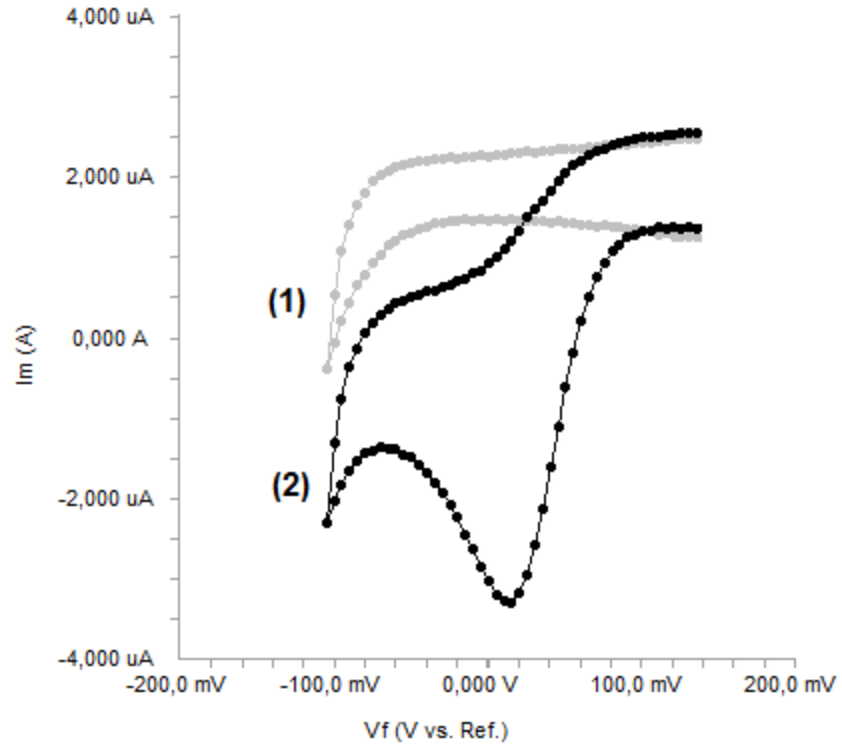
## 4. BULGULAR

### 4.1. Polarografi Yöntemi

#### 4.1.1. Dönüşümlü Polarografi Çalışmaları

Metimazolün elektrokimyasal davranışlarını incelemeye başlamadan önce, 0.1 M sülfürik asit ortamı için potansiyel penceresi belirlendi. Bu amaçla, 0.1 M sülfürik asit ortamında  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak hazırlanan çözeltinin dönüşümlü polarogramı alındı ve Şekil 4.1’de verildi. Şekil 4.1’den de görüleceği gibi -100 mV ile +150 mV aralığında çözücü sistemine ait herhangi bir indirgenme-yükseltgenme pikine rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel penceresinin -100 mV ile +150 mV olarak seçilmesine karar verildi. 0.1 M sülfürik asit ile hazırlanan metimazol çözeltilerinin,  $0.1 \text{ V s}^{-1}$  tarama hızında, -100 mV ile +150 mV potansiyel aralığında damlayan civa elektrot kullanılarak alınan dönüşümlü polarogramı Şekil 4.1’de verilmektedir.

Şekilde elektrokimyasal davranışı incelenen metimazole ait, asidik bölgede elde edilen polarogramda, bir anodik pik gözlenirken katodik pike rastlanmadı. Asidik ortamda anodik pik potansiyeli için +22 mV’dur. Voltamogramlarda bir katodik pikin gözlenmemesi, metimazolün yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğinin bir göstergesidir. Ancak, katodik pike rastlanmaması mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Çünkü elektron aktarım basamağını takip eden hızlı bir kimyasal reaksiyon gerçekleşirse, katodik pik gözlenemeyebilir. Ayrıca, farklı tarama hızlarında alınan doğrusal taramalı polarografi deneylerinden elde edilen polarogramlardan yararlanılarak da bu düşüncemiz doğrulandı.



**Şekil 4.1.**  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$  metimazolün 0.1 M sülfürik asit ortamında damlayan civa elektrotta elde edilen dönüşümlü polarogramları ( $v$ :  $0.1 \text{ Vs}^{-1}$ , 1: destek elektrolit, 2: metimazole ait anodik pik)

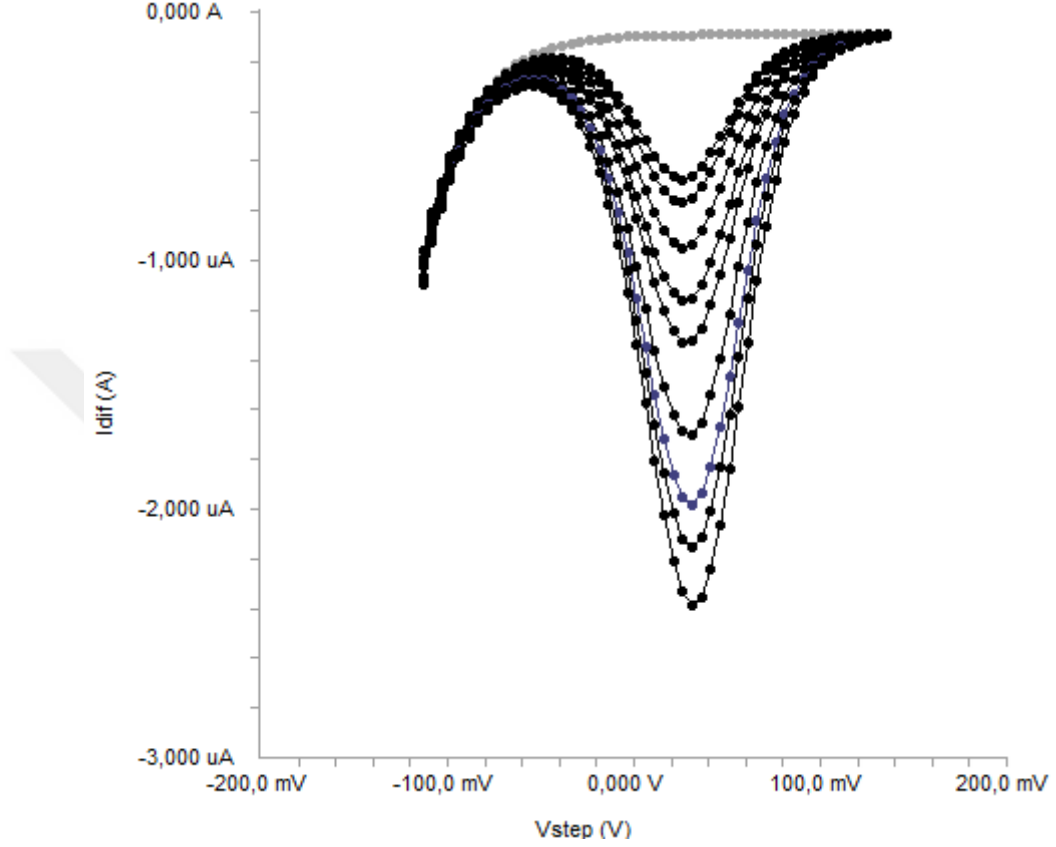
## 4.2. Kare Dalga Polarografi (SWP) Deneyinin Yapılışı

SWP deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücrede, daha önce yapılan SWP deneylerinde belirlenen potansiyel penceresinde, SWP yöntemi için gerekli parametreler ayarlandıktan sonra çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Metimazolün stok standart çözeltisinden elde edilen farklı derişimler için polarogramların pik akımları kaydedilmiştir.

### 4.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Metimazol 0.1 M sülfürik asit içinde  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden belirli hacimlerde alınıp 0.1 M sülfürik asit çözeltisi ile seyreltilerek 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve  $80 \mu\text{g ml}^{-1}$  derişimlerde metimazol

standart çalışma çözeltileri hazırlandı. Metimazolün +22 mV potansiyeldeki voltamogramları alındı (Şekil 4.2).

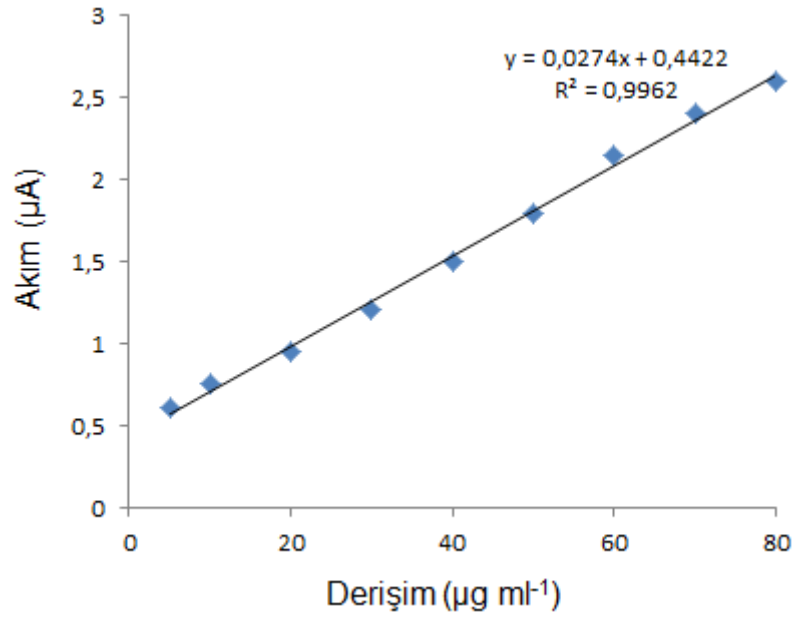


Şekil 4.2. Metimazol etkin maddesinin 0.1 M sülfürik asit ortamında kare dalga polarogramları (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ )

#### 4.2.2. Kare Dalga Polarografi Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

##### 4.2.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında metimazol çözeltilerinin derişimlerine karşı +22 mV potansiyelde okunan pik akım değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri elde edildi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Kare dalga polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi

Kare dalga voltametrik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrilerinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.1' de verildi.

**Tablo 4.1.** Kare dalga polarografik çalışmada metimazole ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri

Parametreler	Kare Dalga Polaragrafi
Potansiyel (E: mV)	+22
Doğrusal aralık (µg ml <sup>-1</sup> )	5-80
Regresyon doğrusu denklemi	A=0.0274x+0.4422
S <sub>a</sub>	0.012
S <sub>b</sub>	0.244
Korelasyon katsayısı (r)	0.9962
S <sub>r</sub>	1.06x10 <sup>-3</sup>

S<sub>a</sub>: Kaymanın standart sapması, S<sub>b</sub>: Eğimin standart sapması, S<sub>r</sub>: Korelasyon katsayısının standart sapması

#### 4.2.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ)

Metimazol için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl

standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Kare dalga polarografik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla  $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$  ve  $1.5 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulundu.

#### 4.2.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

Yöntemin doğruluğu ve kesinliği günüçi ve günler arası değişkenlerle belirlendi. Kalibrasyon eğrileri içine düşen üç farklı derişimdeki metimazol çözeltilerinin günüçi ve günler arası (farklı günlerde en az iki gün) pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları belirlendi. Yöntemin günüçi ve günler arası kesinliği yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk da bağıl hata ile Tablo 4.2' de verildi.

**Tablo 4.2.** Kare dalga polarografik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi			Günler arası			
Eklene ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS
15	15.20 $\pm$ 0.372	1.33	2.45	15.33 $\pm$ 0.419	2.20	2.73
25	24.89 $\pm$ 0.418	-0.44	1.68	25.16 $\pm$ 0.597	0.64	2.37
50	48.86 $\pm$ 0.479	-2.28	0.98	49.07 $\pm$ 0.682	-1.86	1.39

#### 4.2.2.4. Kararlılık (Stabilite)

Metimazol stok ve standart çözeltilerinin çalışma süresince kararlı (stabil) kaldığı süreyi belirlemek amacıyla kararlılık çalışması gerçekleştirildi. Bunun için metimazolün üç farklı derişimde hazırlanan çözeltileri oda sıcaklığı, 4 ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ve 48 saat süreyle bekletildi. Bu süreler sonunda çözeltilerin pik akımları ölçüldü ve

elde edilen değerler standart çözeltilerin hemen okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.3' de verildi.

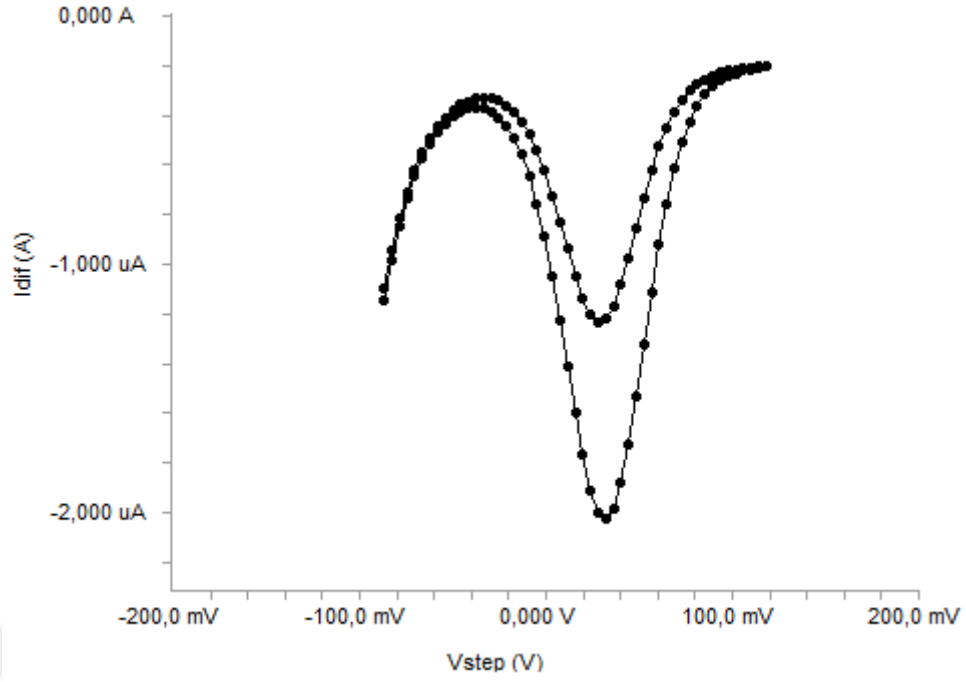
**Tablo 4.3.** Metimazolün kare dalga polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda sıcaklığı 24 saat	Oda sıcaklığı 48 saat	4 $^{\circ}\text{C}$ 24 saat	4 $^{\circ}\text{C}$ 48 saat	-20 $^{\circ}\text{C}$ 24 saat	-20 $^{\circ}\text{C}$ 48 saat
15	99.8 $\pm$ 1.06	96.4 $\pm$ 2.21	99.4 $\pm$ 0.96	97.4 $\pm$ 2.32	98.3 $\pm$ 2.28	102.1 $\pm$ 1.846
25	98.6 $\pm$ 1.52	97.7 $\pm$ 3.16	99.7 $\pm$ 1.68	96.7 $\pm$ 2.16	98.4 $\pm$ 2.46	98.2 $\pm$ 0.742
50	100.8 $\pm$ 1.64	98.6 $\pm$ 2.65	99.3 $\pm$ 2.18	98.8 $\pm$ 1.92	99.1 $\pm$ 2.41	101.2 $\pm$ 0.092

#### 4.2.2.5. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Geliştirilen ve geçerlilik testi (validasyonu) yapılan yöntemin uygulanabilir olduğunu görmek amacıyla metimazol içeren farmasötik preparatda etkin madde miktar analizi yapıldı. Bu çalışma için metimazol içeren Thyromazol tabletten sırasıyla 30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 60  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimlerde çözeltiler hazırlandı. Çözeltilerin kare dalga polarogramları alınıp pik akımları okundu. Polarogramlar standart çözeltilerin polarogramları ile karşılaştırıldı ve Şekil 4.4' te verildi.





**Şekil 4.4.** Thyromazol farmasötik preparatının kare dalga polarogramları  
(30 µg ml<sup>-1</sup> ve 60 µg ml<sup>-1</sup>)

#### 4.2.2.6. Geri Kazanım

Farmasötik preparattan geri kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemi ile yapıldı. Thyromazol tabletten 15 µg ml<sup>-1</sup> derişimde çözeltileri hazırlanarak pik akımları okundu. Sonra bu çözeltiler üzerine metimazolün 3 farklı derişimdeki standart çözeltileri eklendi ve günüçi ve günler arası (farklı günlerde en fazla iki gün) pik akımları belirlendi. Belirlenen pik akımı değerleri aynı derişimdeki standart çözeltilerinin pik akımı değerleriyle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.4' de verildi.

**Tablo 4.4.** Kare dalga polarografik yöntemle belirlenen farmasötik preparatların günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri

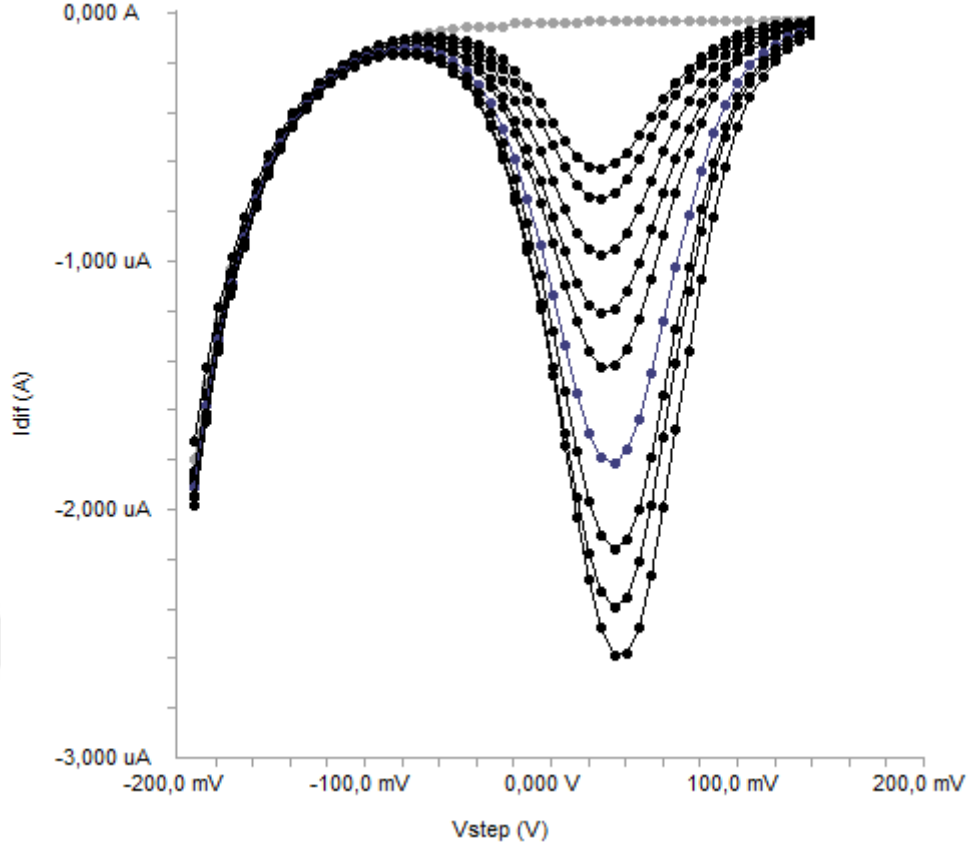
Preparat	Günüçi				Günler arası		
	Eklene ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	Geri kazanım	% BSS	Bulunan $\pm$ std. sapma	Geri kazanım	% BSS
Thyromazol (15 $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5	5.1 $\pm$ 0.18	102.0	3.53	4.9 $\pm$ 0.13	98.0	2.65
	15	14.8 $\pm$ 0.25	98.7	1.69	14.8 $\pm$ 0.27	98.7	1.82
	35	35.2 $\pm$ 1.67	100.6	4.74	35.4 $\pm$ 0.73	101.1	2.06

### 4.3. Diferansiyel Puls Polarografi (DPP) Deneyinin Yapılışı

Diferansiyel puls polarografi deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücrede, daha önce yapılan DPP deneylerinde belirlenen potansiyel penceresinde, DPP yöntemi için gerekli parametreler ayarlandıktan sonra çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Metimazolün stok standart çözeltisinden elde edilen farklı derişimler için polarogramların pik akımları kaydedilmiştir.

#### 4.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Metimazol 0.1 M sülfürik asit içinde 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden belirli hacimlerde alınıp 0.1 M sülfürik asit çözeltisi ile seyreltilerek 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimlerde metimazol standart çalışma çözeltileri hazırlandı. Metimazolün +28 mV potansiyeldeki voltamogramları alındı (Şekil 4.5).



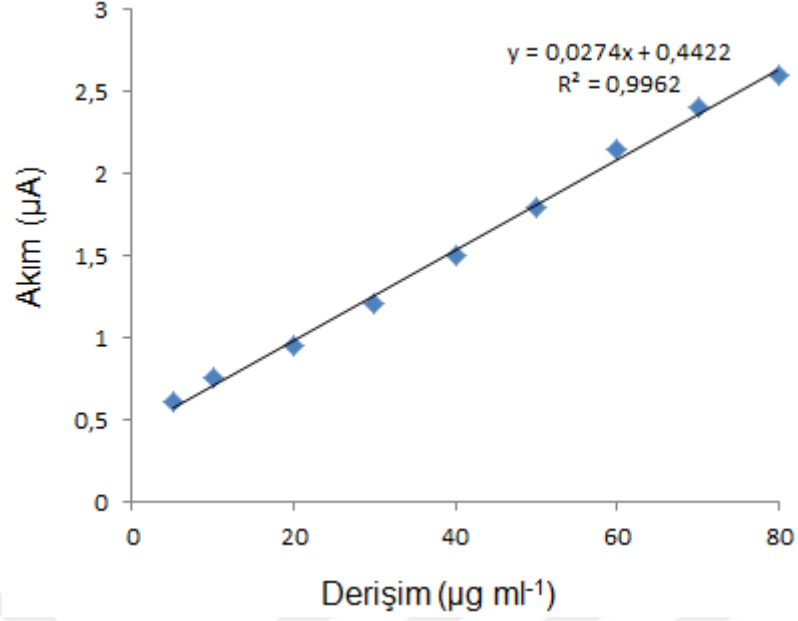
Şekil 4.5. Metimazol etkin maddesinin 0.1 M sülfürik asit ortamında diferansiyel puls polarogramları (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ )

#### 4.3.2. Diferansiyel Puls Polarografi Yönteminin Geçerlilik Testi

##### (Validasyonu)

##### 4.3.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında metimazol çözeltilerinin derişimlerine karşı +28 mV potansiyelde okunan pik akım değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri elde edildi (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** Diferansiyel puls voltametik yöntem kalibrasyon eğrisi

Diferansiyel puls voltametik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrilerinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.5’de verildi.

**Tablo 4.5.** Diferansiyel puls voltametik çalışmada metimazole ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri

Parametreler	Diferansiyel Puls Voltametri
Potansiyel (E: mV)	+28
Doğrusal aralık (µg ml <sup>-1</sup> )	5-80
Regresyon doğrusu denklemi	A=0.0274x+0.4422
S <sub>a</sub>	0.011
S <sub>b</sub>	0.049
Korelasyon katsayısı (r)	0.9962
S <sub>r</sub>	2.44x10 <sup>-3</sup>

S<sub>a</sub>: Kaymanın standart sapması, S<sub>b</sub>: Eğimin standart sapması, S<sub>r</sub>: Korelasyon katsayısının standart sapması

#### 4.3.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ)

Metimazol için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl

standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Diferansiyel puls polarografik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla 0.4 µg ml<sup>-1</sup> ve 1.2 µg ml<sup>-1</sup> olarak bulundu.

#### 4.3.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

Yöntemin doğruluğu ve kesinliği günüçi ve günler arası değişkenlerle belirlendi. Kalibrasyon eğrileri içine düşen üç farklı derişimdeki metimazol çözeltilerinin günüçi ve günler arası (farklı günlerde en az iki gün) pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları belirlendi. Yöntemin günüçi ve günler arası kesinliği yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk da bağıl hata ile Tablo 4.6' da verildi.

**Tablo 4.6.** Diferansiyel puls polarografik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi			Günler arası			
Eklenen (µg ml <sup>-1</sup> )	Bulunan±std. sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan ±std. sapma	% bağıl hata	% BSS
15	15.10±0.219	0.67	1.44	15.62±0.326	4.13	2.09
25	25.68±0.324	2.72	1.26	26.06±0.589	4.24	2.26
50	49.03±0.519	-1.94	1.06	50.12±1.080	0.24	2.15

#### 4.3.2.4. Kararlılık (Stabilite)

Metimazol stok ve standart çözeltilerinin çalışma süresince kararlı (stabil) kaldığı süreyi belirlemek amacıyla kararlılık çalışması gerçekleştirildi. Bunun için metimazolün üç farklı derişimde hazırlanan çözeltileri oda sıcaklığı, 4 ve -20 °C'de 24 ve 48 saat süreyle bekletildi. Bu süreler sonunda çözeltilerin pik akımları ölçüldü ve

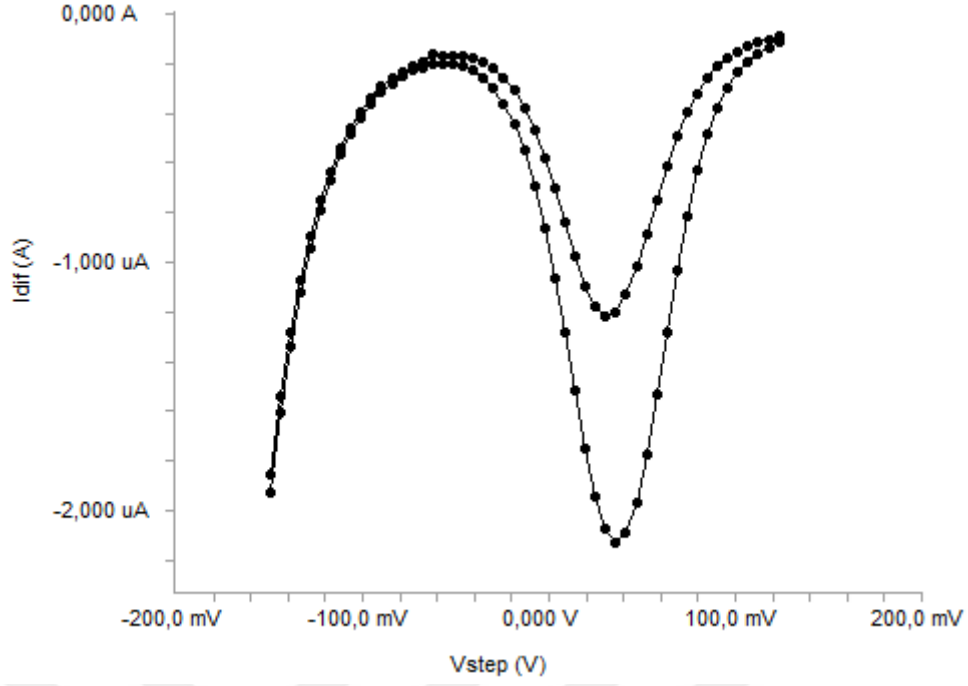
elde edilen değerler standart çözeltilerin hemen okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.7’de verildi.

**Tablo 4.7.** Metimazolün diferansiyel puls polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda	Oda	4 °C	4 °C	-20 °C	-20 °C
	sıcaklığı 24 saat	sıcaklığı 48 saat	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat
15	98.5±1.65	94.8±2.68	99.4±1.69	97.4±2.32	98.3±2.28	98.7±0.264
25	97.9±2.62	96.9±3.25	98.7±1.65	97.8± 2.86	98.1±3.17	98.5±0.214
50	98.8±2.16	95.7±3.62	98.9±2.98	96.7±3.18	97.5±2.96	101.5±0.096

#### 4.3.2.5. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Geliştirilen ve geçerlilik testi (validasyonu) yapılan yöntemin uygulanabilir olduğunu görmek amacıyla metimazol içeren farmasötik preparatda etkin madde miktar analizi yapıldı. Bu çalışma için metimazol içeren Thyromazolt abletten sırasıyla 30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 60  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimlerde çözeltiler hazırlandı. Çözeltilerin diferansiyel puls polarogramları alınıp pik akımları okundu. Polarogramlar standart çözeltilerin polarogramları ile karşılaştırıldı ve Şekil 4.7’de verildi.



Şekil 4.7. Thyromazol farmasötik preparatının diferansiyel puls polarografik polarogramları ( $30 \mu\text{g ml}^{-1}$  ve  $60 \mu\text{g ml}^{-1}$ )

#### 4.3.2.6. Geri Kazanım

Farmasötik preparattan geri kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemi ile yapıldı. Thyromazol tabletten  $15 \mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde çözeltileri hazırlanarak pik akımları okundu. Sonra bu çözeltiler üzerine metimazolün 3 farklı derişimdeki standart çözeltileri eklendi ve günüçi ve günler arası (farklı günlerde en fazla iki gün) pik akımları belirlendi. Belirlenen pik akımı değerleri aynı derişimdeki standart çözeltilerinin pik akımı değerleriyle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.8' de verildi.

**Tablo 4.8.** Diferansiyel puls polarografik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri

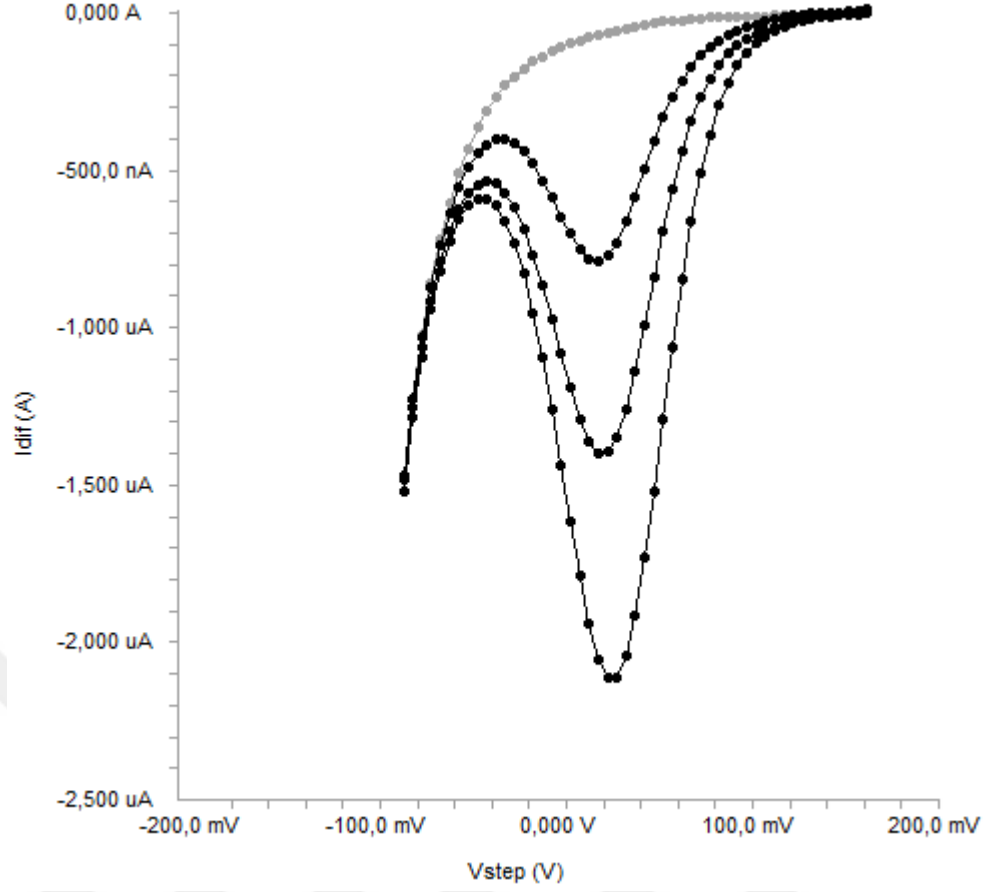
Preparat	Günüçi				Günler arası		
	Eklene (µg ml <sup>-1</sup> )	Bulunan±std. sapma	Geri kazanım	% BSS	Bulunan ±std. sapma	Geri kazanım	% BSS
Thyromazol (15 µg ml <sup>-1</sup> )	5	4.89±0.110	97.8	2.26	4.87±0.139	97.4	2.84
	15	14.52±0.311	96.8	2.14	14.29±0.392	95.3	2.74
	35	33.67±0.171	96.2	2.08	33.35±0.804	95.3	2.41

### 4.3.3.Kare Dalga Polarografi (SWP) Deneyinin Plazma Çalışması

#### 4.3.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Atatürk Üniversitesi, Yakutiye Araştırma Hastanesi Kan Alma Merkezinden temin edilen boş plazmanın 0.5 ml'sine 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 µg ml<sup>-1</sup> derişimlerde metimazol çözeltilerinden 1 ml olacak şekilde eklendi (spike edildi), 30 saniye karıştırıldı ve 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant kısım dekantasyon (aktarma) ile ayrıldı ve son hacim 3 ml olacak şekilde 0.1 M sülfirik asit ile tamamlandı. Numune çözeltisi hücreye koyuldu ve damlayan civa elektrotlu potansiyostat sisteminde kare dalga polarogramları alındı (Şekil 4.8).



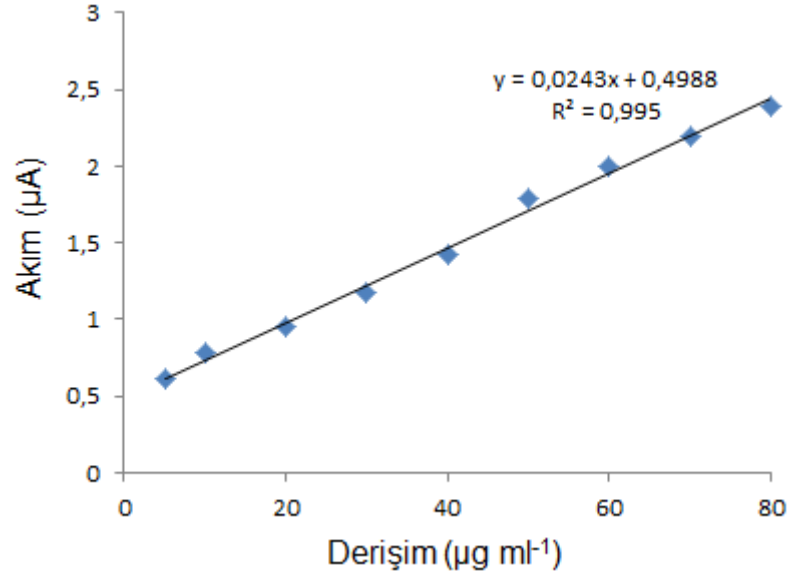


Şekil 4.8. Plazmadan elde edilen metimazol çözeltilerinin kare dalga polarogramları (blank, 10, 40 ve 70  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).

#### 4.3.3.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

##### 4.3.3.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

Plazmaya ekleme sonucunda elde edilen 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığındaki çözeltilerin derişimine karşılık okunan pik akımı değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrisi elde edildi (Şekil 4.9).



**Şekil. 4.9.** Plazma çalışmasında kare dalga polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi

Plazma çalışmasında kare dalga polarografik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrisinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.9’da verildi.

**Tablo 4.9.** Kare dalga polarografik yöntemle plazma çalışmasında metimazole ait kalibrasyon eğrisi ile ilgili istatistiksel değerler

Parametreler	Kare Dalga Polaragrafi
Potansiyel (E: mV)	+22
Doğrusal aralık (µg ml <sup>-1</sup> )	5-80
Regresyon doğrusu denklemleri	A=0.0243x+0.4988
S <sub>a</sub>	0.012
S <sub>b</sub>	0.244
Korelasyon katsayısı (r)	0.995
S <sub>r</sub>	1.06x10 <sup>-3</sup>

S<sub>a</sub>: Kaymanın standart sapması, S<sub>b</sub>: Eğimin standart sapması, S<sub>r</sub>: Korelasyon katsayısının standart sapması

#### 4.3.3.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ)

Plazma çalışmasında, metimazol için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu.

Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Kare dalga polarografik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla 0.6  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 1.8  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulundu.

#### 4.3.3.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

Plazma çalışmasında, yöntemin doğruluğu ve kesinliği günüçi ve günler arası değişkenlerle belirlendi. Kalibrasyon eğrisi içine düşen üç farklı derişimde hazırlanan metimazol çözeltileri plazmaya eklendi, karıştırıldı ve ekstrakte edildi. Ekstraktların günüçi ve günler arası pik akımları altı kez okundu. Okunan değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları belirlendi. Kesinlik yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk da bağıl hata ile Tablo 4.10'da verildi.

**Tablo 4.10.** Kare dalga polarografik yönteminin plazmadan günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi				Günler arası		
Eklene ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS
15	15.21 $\pm$ 0.332	1.40	2.18	15.32 $\pm$ 0.492	2.13	3.21
25	24.26 $\pm$ 0.328	-2.96	1.35	25.37 $\pm$ 0.667	1.48	2.63
50	50.07 $\pm$ 0.731	0.14	1.46	51.12 $\pm$ 1.298	2.24	2.54

#### 4.3.3.2.4. Plazmadan Geri Kazanım

Plazmadan geri kazanım çalışmasında, kalibrasyon eğrisi türetilmesinde kullanılan metimazol çözeltileri plazmaya eklendi, karıştırıldı ve ekstraksiyonları yapıldı. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen çözeltilerin pik akımları altı kez okundu. Okunan değerlerin ortalaması ve standart sapması belirlendi. Bu değerler standart

çözeltilerden elde edilen değerlerle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.11’de verildi.

**Tablo 4.11.** Kare dalga polarografik yönteminin plazmadan geri kazanım değerleri

Etkin madde	Eklenen	Bulunan±std. sapma	Geri kazanım	% RSD
Metimazol ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5	4.8±0.15	96	3.12
	10	9.8±0.32	98	3.27
	20	20.3±0.41	102	2.02
	30	28.9±0.49	96	1.69
	40	40.7±1.14	102	2.80
	50	49.1±1.94	98	3.95
	60	60.8±2.74	101	4.51
	70	68.9±2.88	98	4.18
	80	79.1±3.12	99	3.94

#### 4.3.3.2.5. Kararlılık (Stabilite)

Kararlılık (stabilite) çalışması, plazma içerisinde metimazolün hangi ortamda ne kadar süreyle kararlı olduğunu kare dalga polarografik yöntemiyle belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bunun için metimazolün üç farklı derişimde hazırlanan çözeltileri oda sıcaklığı, 4 ve  $-20^{\circ}\text{C}$ ’de 24 ve 48 saat süreyle bekletildi. Bu süreler sonunda çözeltilerin pik akımları ölçüldü ve elde edilen değerler standart çözeltilerin hemen okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.12’de verildi.

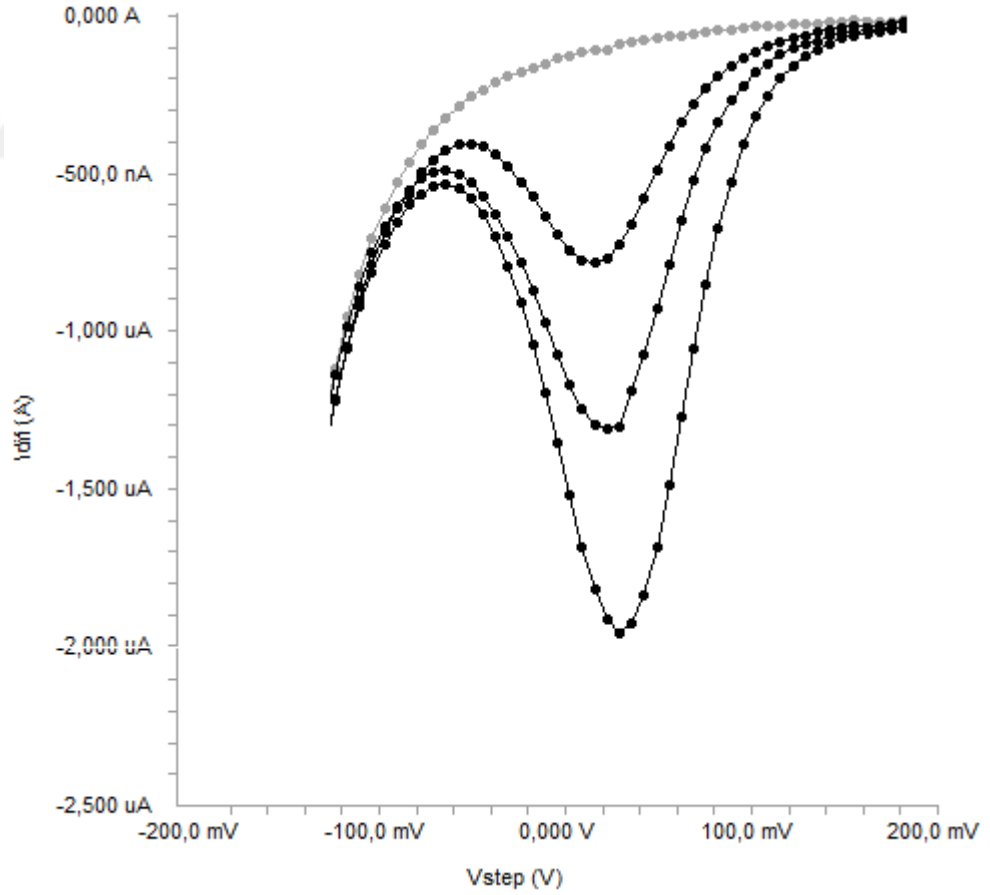
**Tablo 4.12.** Metimazolün kare dalga polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda sıcaklığı		$4^{\circ}\text{C}$		$-20^{\circ}\text{C}$	
	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat
15	98.7±2.65	95.6±3.48	99.2±2.61	96.8±3.57	97.2±3.14	99.9±1.782
25	97.7±3.15	95.5±3.46	98.9±2.82	97.8± 3.79	98.3±2.16	100.6±1.328
50	98.9±2.42	96.7±4.65	98.3±3.49	96.7±4.07	98.3±3.21	99.6±1.541

#### 4.3.4. Diferansiyel Puls Polarografi (DPP) Deneyinin Plazma Çalışması

##### 4.3.4.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Atatürk Üniversitesi, Yakutiye Araştırma Hastanesi Kan Alma Merkezinden temin edilen boş plazmanın 0.50 ml'sine 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimlerde metimazol çözeltilerinden 1 ml olacak şekilde eklendi (spike edildi), 30 saniye karıştırıldı ve 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant kısım dekantasyon (aktarma) ile ayrıldı ve son hacim 3 ml olacak şekilde 0.1 M sülfürik asit ile tamamlandı. Numune çözeltisi hücreye koyuldu ve damlayan civa elektrotlu potansiyostat sisteminde diferansiyel puls polarogramları alındı (Şekil 4.10).

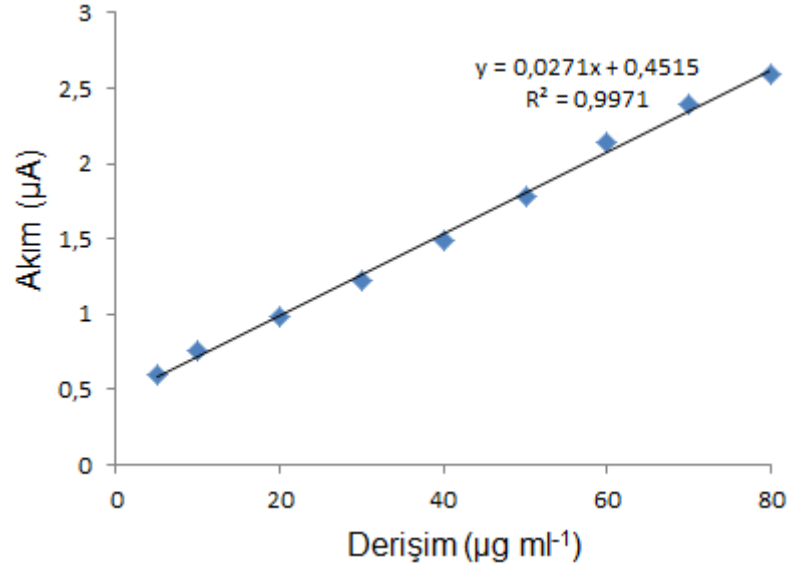


Şekil 4.10. Plazmadan elde edilen metimazol çözeltilerinin diferansiyel puls polarogramları (blank, 10, 40 ve 70  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).

#### 4.3.4.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

##### 4.3.4.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

Plazmaya ekleme sonucunda elde edilen 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığındaki çözeltilerin derişimine karşılık okunan pik akımı değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrisi elde edildi (Şekil 4.11).



Şekil. 4.11. Plazma çalışmasında diferansiyel puls polarografik yöntem kalibrasyon eğrisi

Plazma çalışmasında diferansiyel puls polarografik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrisinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.13’de verildi.

**Tablo 4.13.** Diferansiyel puls polarografik yöntemle plazma çalışmasında metimazole ait kalibrasyon eğrisi ile ilgili istatistiki değerler

Parametreler	Diferansiyel Puls Polaragrafi
Potansiyel (E: mV)	+24
Doğrusal aralık ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5-80
Regresyon doğrusu denklemi	$A=0.0271x+0.4515$
$S_a$	0.013
$S_b$	2.483
Korelasyon katsayısı (r)	0.9971
$S_r$	$1.47 \times 10^{-3}$

$S_a$ : Kaymanın standart sapması,  $S_b$ : Eğimin standart sapması,  $S_r$ : Korelasyon katsayısının standart sapması

#### 4.3.4.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ)

Plazma çalışmasında, metimazol için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Diferansiyel puls polarografik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla 0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 1.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulundu.

#### 4.3.4.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

Plazma çalışmasında, yöntemin doğruluğu ve kesinliği günüçi ve günler arası değışkenlerle belirlendi. Kalibrasyon eğrisi içine düşen üç farklı derişimde hazırlanan metimazol çözeltileri plazmaya eklendi, karıştırıldı ve ekstrakte edildi. Ekstraktların günüçi ve günler arası pik akımları altı kez okundu. Okunan değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları belirlendi. Kesinlik yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk da bağıl hata ile Tablo 4.14'de verildi.

**Tablo 4.14.** Diferansiyel puls polarografik yönteminin plazmadan günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi			Günler arası			
Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS
15	14.96 $\pm$ 0.144	-0.27	0.96	15.16 $\pm$ 0.317	1.07	2.09
25	25.66 $\pm$ 0.279	2.64	1.09	25.98 $\pm$ 0.694	3.92	2.67
50	50.12 $\pm$ 0.962	0.24	1.92	51.06 $\pm$ 1.370	2.12	2.68

#### 4.3.4.2.4. Plazmadan Geri Kazanım

Plazmadan geri kazanım çalışmasında, kalibrasyon eğrisi türetilmesinde kullanılan metimazol çözeltileri plazmaya eklendi, karıştırıldı ve ekstraksiyonları yapıldı. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen çözeltilerin pik akımları altı kez okundu. Okunan değerlerin ortalaması ve standart sapması belirlendi. Bu değerler standart çözeltilerden elde edilen değerlerle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.15’de verildi.

**Tablo 4.15.** Diferansiyel puls polarografik yönteminin plazmadan geri kazanım değerleri

Etkin madde	Eklenen	Bulunan±std. sapma	Geri kazanım	% BSS
Metimazol ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5	4.9±0.14	98	2.86
	10	9.9±0.26	99	2.63
	20	19.3±0.37	97	1.92
	30	29.4±0.49	98	1.67
	40	41.1±1.08	103	2.61
	50	48.9±1.85	98	3.78
	60	61.2±2.69	102	4.39
	70	69.3±2.97	99	4,29
	80	78.4±3.15	98	3.99

#### 4.3.4.2.5. Kararlılık (Stabilite)

Kararlılık (stabilite) çalışması, plazma içerisinde metimazolün hangi ortamda ne kadar süreyle kararlı olduğunu diferansiyel puls polarografik yöntemiyle belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bunun için metimazolün üç farklı derişimde hazırlanan çözeltileri oda sıcaklığı, 4 ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de 24 ve 48 saat süreyle bekletildi. Bu süreler sonunda çözeltilerin pik akımları ölçüldü ve elde edilen değerler standart çözeltilerin hemen okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.16’da verildi.



**Tablo 4.16.** Metimazolün diferansiyel puls polarografik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda sıcaklığı 24 saat	Oda sıcaklığı 48 saat	4 $^{\circ}\text{C}$ 24 saat	4 $^{\circ}\text{C}$ 48 saat	-20 $^{\circ}\text{C}$ 24 saat	-20 $^{\circ}\text{C}$ 48 saat
15	99.2 $\pm$ 2.61	96.8 $\pm$ 3.57	99.2 $\pm$ 2.61	96.8 $\pm$ 3.57	98.4 $\pm$ 2.46	98.2 $\pm$ 0.742
25	98.9 $\pm$ 2.82	97.8 $\pm$ 3.79	98.9 $\pm$ 2.82	97.8 $\pm$ 3.79	99.1 $\pm$ 2.41	101.2 $\pm$ 0.092
50	98.9 $\pm$ 2.42	96.7 $\pm$ 4.65	98.3 $\pm$ 3.49	96.7 $\pm$ 4.07	98.3 $\pm$ 2.28	98.7 $\pm$ 0.264

## 5. TARTIŞMA

Analitik kimya, kimyasal analizle uğraşan bir bilim dalıdır. Analitik kimyada herhangi bir maddeyi analiz etmek için kullanılacak analitik yöntemlerin üstünlükleri ve sınırlamaları hakkında yeteri kadar bir bilgi donanımına ve iyi bir karar verme yetisine sahip olmak gerekir. Ayrıca analizi yapılacak madde ile ilgili iyi bir literatür taramasının yapılmış olması da gerekmektedir. Aslında analitik bir yöntemin nasıl seçileceği konusunda net bir şey söylemek mümkün değildir; çünkü laboratuvar koşullarına bağlı olarak kullanılacak yöntemler değişebildiğinden dolayı her zaman en iyi yol sadece bir tane olamayabilir. Koşullara bağlı olarak kullanılacak yöntemler değişebilmektedir. Bundan dolayı analitik kimya çalışmaları çok büyük bir çeşitlilik arz eder.

İlaç analizlerinde kullanılacak yöntem seçimi analizin gerçekleştirildiği ortama (farmasötik preparat veya biyolojik materyal) ve laboratuvar koşullarına göre yapılmaktadır. Bir analiz için analitik yöntem geliştirildikten sonra bu yöntemin uygulanabilir olduğunu göstermek için doğrusal aralık, doğruluk, kesinlik, gözlenebilirlik sınırı, tayin alt sınırı, geri kazanım ve stabilite parametreleri incelenerek yöntemin geçerlilik testinin (validasyonunun) yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada metimazol ilaç etkin maddesinin öncelikle elektrokimyasal davranışı, dönüşümlü polarografi yöntemi ile tersinirlik ve adsorpsiyon özellikleri gibi özelliklerinin incelenmesi amaçlandı. Bu düşünceyle pH, derişim, tarama hızı gibi deneysel parametreler değiştirilerek, en uygun deneysel koşullar belirlenmiş ve bu koşullarda nicel tayin çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elektroanalitik metotların hepsinde elektrot çözelti sistemine elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği cevap ölçülür. Bu cevap sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Genel olarak bütün elektrokimyasal tekniklerde akım, potansiyel ve zaman parametreleri bulunur ve bu

parametreler tekniğin adını belirler. Mesela, voltametri, kronoamperometri ve kronokulometri gibi tekniklerde sırası ile potansiyel-akım, zaman akım ve zaman-yük parametreleri arasındaki ilişki anlatılmaktadır. Elektroanalitik metotlar genel olarak net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Elektroanalitik tekniklerin çok büyük bir kısmı net akımın sıfır olmadığı dinamik metotlardır ve bunlar da potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür.<sup>26</sup>

Akım kontrollü teknikler kronopotansiyometri ve kulometrik titrasyonlar olmak üzere iki kısımda incelenir. İyon seçici elektrotların kullanıldığı metotlar akımın sıfır olduğu statik elektroanalitik metotlardır. Voltametri de deneyler üçlü elektrot sisteminde gerçekleştirilmektedir. Üç elektrottan birisi zamanla potansiyeli değiştirilen indikatör elektrot veya çalışma elektrotudur.

Voltametri de indikatör elektrot olarak, civa, platin, altın, paladyum, karbon elektrot (grafit, karbon pasta elektrot, camsi karbon elektrot) gibi elektrotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan referans elektrotudur. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrotudur. Elektrot sistemindeki üçüncü elektrot ise karşıt veya yardımcı elektrotudur. Karşıt elektrot olarak ise genellikle Pt tel kullanılır.<sup>27</sup> Voltametri de akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir.

Metimazol etkin maddesi için yapılan literatür araştırmasında miktar tayinine yönelik UV dedektörlü HPLC<sup>10, 11, 15, 16</sup> yöntemlerine ulaşılmıştır. Çalışmalarda tampon sistemi içeren mobil faz kompozisyonları kullanılmıştır. pH'sı bilinen tampon mobil faz sistemi günlük hazırlanması gerekmekte ve bu durum kolon ömrünü azaltmaktadır.

HPLC çalışmasında analizin yapılması, kolonun şartlandırılması, analiz öncesi HPLC sisteminin çalışmaya optimize edilmesi için çok fazla zaman harcanmaktadır. HPLC yöntemi ile farklı etkin maddelerinin farmasötik preparatlarda ve biyolojik materyallerde yöntem geliştirme, yöntem validasyonu ve gerçek numunelerde uygulamasında HPLC sistemi ile çalışmanın zorlukları bilinmektedir.<sup>28-38</sup> Metimazolün farmasötik preparatlarda ve insan plazmasında tayinine yönelik kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri ile ilgili bir çalışmaya da ulaşamamıştır. Bundan dolayı metimazol etkin maddesinin farmasötik preparatlarda ve insan plazmasında tayinine ilişkin kolay, ekonomik ve hızlı yöntemler geliştirilmesi gerekmektedir.

Farmasötik dozaj formlarında metimazol ilaç etkin maddesinin fiziksel ve farmakokinetik yapısındaki değişiklikler, bu moleküllerin yükseltgenme veya indirgenme davranışlarındaki değişikliklere bağlıdır. Bu nedenle bu değişikliklerin izlenmesinde elektrokimyasal yöntemler önem taşımaktadır. Ancak üzerinde çalışılması düşünülen bu ilaç etkin maddesinin oldukça yeni olması nedeniyle literatür araştırmasında polarografik yöntemler ile analizi için bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca bu etkin maddenin elektrokimyasal mekanizması hakkında da literatürde bir bilgiye ulaşamamıştır.

Bu nedenle tez kapsamında yer alan metimazol maddesinin yükseltgenme/indirgenme mekanizmaları üzerinde de çalışmalar yapılarak, analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu tezde kullanılan elektrokimyasal yöntem olan voltametri 1970'li yıllardan bu yana elektronikteki gelişmelerle doğrusal olarak ilaç analizlerinde sağladığı bazı üstünlükler nedeni ile giderek artan bir uygulama alanına yayılmıştır.<sup>39-41</sup> Özellikle sonradan geliştirilen tekniklerle çok düşük derişimlerde bile ( $10^{-10}$ - $10^{-12}$  M) farmasötik analizler yapılabilmektedir.<sup>42-44</sup>

Voltametrik yöntemlerin günümüzde çok sayıda kullanım alanı vardır. Temel olarak en önemli kullanım alanı madde miktar tayinidir. Bu nedenle özellikle klinik amaçla kullanımları çok yaygındır. İlaçların içindeki etkin maddelerin tabletlerden, biyolojik sıvılardan izole edildikten sonra miktarlarının tayininde oldukça hassas tayinler yapılabildiğinden analizlerde tercih edilen yöntemler olmuşlardır.

Modern elektro analiz yöntemler (kare dalga ve diferansiyel puls voltametri) sayesinde biyolojik sıvılardan ilaç etkin maddeleri ve metabolitlerinin direkt olarak analizinin yapılabilmesi sağlanmaktadır.<sup>39,41,45-47</sup> Bu yöntemler diğer pek çok yöntem (HPLC, LC-MS, GC-MS vb.) göre oldukça kolay olup çoğu kez herhangi bir ayırmaya gerek kalmadan gerçekleştirilebilmektedir.

Voltametri yöntemlerinin üstün yanlarından biri de, ilaç etkin maddelerinin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarındaki rolü ile moleküler biyoloji alanında ve dolayısıyla fizyolojik önem taşıyan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında kullanılmasıdır. İlaç etkin maddelerinin elektrot yüzeyindeki oksido-redüktif davranışları, ilaçların vücuda alındığı zaman vücutta uğradıkları *invivo* redoks davranışlarına benzetilmekte ya da başka bir deyişle metabolizmaları hakkında bilgi verebileceği düşünülmektedir.<sup>41,48</sup>

Voltametrik analizde kullanılan katı elektrotlarla yapılan çalışmalardaki en önemli engel elektrot yüzeyinin, maddelerin yüzeyde tutulmaları nedeniyle kolayca temizlenememesi ve bu nedenle tekrar edilebilirliğin sağlanmasının oldukça zahmetli parlatma veya biraz vakit alan elektrokimyasal ön işlemler gerektirmesidir. Bu tekrar edilebilirliğin sağlanabilmesi için son yıllarda bazı kimyasal, elektrokimyasal veya her ikisinin de bir arada kullanıldığı ön işlemlerle elektrot materyalinin aktive edilerek temizlenmesi<sup>49</sup> veya özellikleri değiştirilerek geliştirilmiş elektrot dizayn

çalışmaları<sup>50,51</sup> sayesinde yapılan analizlerde duyarlık ve seçicilik arttırılmış hatta elektroaktif yapıdaki moleküllerin analizlerinin yapılabilmesi sağlanmıştır.<sup>52</sup>

Civa kökenli elektrotlar, civa elektrodunun negatif potansiyellerde kullanılabilmesi, sürekli yeni bir yüzey oluşturabilmesiyle önceki işlemlerden kalan safsızlıkların civa yüzeyinden uzaklaştırılabilmesi, tekrarlanabilir civa damlalarının oluşması sonucu tekrarlanabilir akımların elde edilmesi, geniş bir potansiyel aralığında uygulanabilmesi ve birçok metalin civa yüzeyinde indirgenerek civa ile amalgam oluşturabilmesi gibi avantajlarından dolayı genellikle çalışma elektrodu olarak kullanılırlar.

Civa kökenli elektrotların mahsurları ise civanın kolayca yükseltgenmesinden dolayı anodik sınırın küçük ve civa film elektrodu hariç civanın sağlık üzerine olan etkisidir. Civa kökenli elektrotlar; damlayan civa elektrodu, asılı civa damla elektrodu, durgun civa damla elektrodu ve civa film elektrodudur. Damlayan civa elektrodu (DME), civa haznesinden sürekli olarak civanın akması ile oluşan bir elektrottur. Civa akış hızı, civa haznesinin yüksekliğini değiştirerek yer çekimi etkisi ile veya manyetik etki ile kontrol edilen bir iğne aracılığıyla mekanik olarak ayarlanır. Akış hızı mekanik olarak kontrol edildiğinde civa damlasının düşürülmesi mekanik bir çekiç aracılığıyla yapılır. Damlayan civa elektrodunda akım civa damlasının büyümesinden düşmesine kadar sürekli olarak ölçülür.<sup>53</sup>

Durgun civa damla elektrodu (SDME), civa haznesine bağlı bir kapilerden akan civa damlasının bir vida düzeneği veya bir iğne yardımıyla kapilerin ucunda belirli bir süre tutulduğu elektrottur. Polarogram her damlada bir kez civa damlasının durgun olarak tutulduğu anda ölçüm alınmasıyla elde edilir.<sup>53,54</sup> Asılı civa damla elektrodu (HDME), civa haznesine bağlı bir kapilerden akan civa damlasının bir vida düzeneği veya bir iğne yardımıyla kapilerin ucunda asılı tutulduğu elektrottur. Tüm voltamogram

tek bir civa damlası ile tamamlanır. Bunun sonucunda önceki işlemler sırasında adsorplanan türlerden ve diğer elektrot kirliliklerinden kurtulunur.

Geçmişte, voltametrde damlayan civa elektrodu kendine has birkaç özelliğinden dolayı en yaygın kullanılan elektrottu. Bu özelliklerinden birincisi, civanın hidrojen iyonunun indirgenmesine gösterdiği olağanüstü yüksek aşırı gerilimdir. Bunun sonucunda, termodinamik potansiyeller hidrojen gazı oluşmadan çinko ve kadmiyum gibi metallerin elektrot üzerinde birikmesinin mümkün olmadığını göstermesine rağmen, bu metal iyonlarının asidik çözeltiden kolaylıkla civanın üzerine birikmesi mümkün olur. İkinci üstünlüğü ise, her damla ile yeni bir metal yüzeyi yaratılmasıdır; dolayısıyla, elektrodun davranışı daha önceki durumundan bağımsız olur. Bunun aksine, katı metal elektrotları, adsorplanmış veya birikmiş safsızlıklardan dolayı, son derece düzensiz davranış gösterirler. Damlayan civa elektrodunun üçüncü üstünlüğü ise, herhangi bir potansiyelde, bu potansiyele ister yüksek isterse düşük potansiyellerden gelmiş olsun, anında tekrarlanabilir ortalama akımlar oluşturabilmesidir. Damlayan civa elektrodun en büyük mahsuru, civanın kolayca yükseltgenmesidir; bu özelliğinden dolayı, bu metalin anot olarak kullanılması son derece sınırlıdır. Yaklaşık + 0.4 V'dan yüksek potansiyelerde, civa(I) oluşumu, diğer yükseltgenebilir türlerin dalgalarını kapatan büyük bir dalga verir. Civa(I) ile kompleks veya çökelti oluşturan iyonlar varsa, bu davranış daha düşük potansiyelerde görülür.

Damlayan civa elektrodun bir başka önemli mahsuru ise, klasik yöntemin duyarlılığını yaklaşık  $10^{-5}$  M'a sınırlayan faradayik olmayan artık akım veya yükleme akımıdır. Daha düşük derişimlerde artık akım difüzyon akımını aşabilir ki, bu da difüzyon akımının doğru ölçümünü engeller. Daha sonra gösterilebileceği gibi, günümüzde gözlenebilme sınırları 10-100 kat artırılmış yöntemler mevcuttur. Damlayan civa elektrodunu kullanmak zordur ve tıkanmalar sonucu problemler

çıkılmaktadır. Klasik polarografinin bir başka sorunu da, akım-voltaj eğrilerinde polarografik maksimum denilen piklerin yer almasıdır. Tam bilinmemekle birlikte bu maksimumların civa damlası büyürken çevresinde konveksiyon oluşmasından kaynaklandığı sanılmaktadır. Genelde, ortama jelatin veya Triton X-100 gibi bir yüzey aktif madde katılınca, bu maksimumlar kaybolur. Böyle maddelere, maksimum baskılayıcı denir. Bunların fazlasını kullanmaktan kaçınmak gerekir. Çünkü viskoziteyi değiştirirler ve difüzyon akımını düşürebilirler.<sup>54</sup>

Metimazol ile ilgili yapılan literatür taramasında kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleriyle farmasötik preparatlarda ve insan plazmasında metimazol miktar tayinine yönelik bir çalışmaya ulaşılamadı. Bu sebeple çalışmada, metimazolün farmasötik preparatlarda ve insan plazmasında miktar tayini için yeni bir yöntem olan kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri geliştirildi ve geçerlilik testleri yapıldı. Yöntemlerden elde edilen sonuçların özeti aşağıda verildi.

Metimazolün elektrokimyasal davranışlarını incelemeye önce, 0.1 M sülfürik asit ortamı için potansiyel penceresi belirlendi. Bu amaçla, 0.1 M sülfürik asit ortamında  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak hazırlanan metimazol çözeltisinin dönüşümlü polarogramı alındı ve Şekil 4.1’de verildi. Şekil 4.1’ den de görüleceği gibi -100 ile +150 mV aralığında çözücü sistemine ait herhangi bir indirgenme-yükseltgenme pikine rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel penceresinin -100 ile +150 mV olarak seçilmesine karar verildi. 0.1 M sülfürik asit ile hazırlanan metimazol çözeltilerinin,  $100\text{mVs}^{-1}$  tarama hızında, -100 ile +150 mV potansiyel aralığında damlayan civa elektrot kullanılarak alınan dönüşümlü polarogramı Şekil 4.1’ de görülmektedir.

Şekil 4.1’ de elektrokimyasal davranışı incelenen metimazole ait, asidik bölgede elde edilen voltamogramda, bir anodik pik gözlenirken katodik pike rastlanmadı. Asidik



ortamda anodik pik potansiyeli için +0.22 V'dur. Voltamogramlarda bir katodik pikin gözlenmemesi, metimazolün yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğinin bir göstergesidir. Ancak, katodik pike rastlanmaması mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Çünkü elektron aktarım basamağını takip eden hızlı bir kimyasal reaksiyon gerçekleşirse, katodik pik gözlenemeyebilir. Ayrıca, farklı tarama hızlarında alınan doğrusal taramalı polarografi deneylerinden elde edilen polarogramlardan yararlanılarak da bu düşüncemiz doğrulandı.

Pik potansiyelinin yüksek tarama hızlarında pozitif kayması kriteri de, sistemin tersinmezliğinin bir göstergesidir.<sup>21,23</sup> Ayrıca  $v-I_m$ ,  $v^{1/2}-I_m$  ve  $\log v-\log I_m$  grafiklerinde akım fonksiyonunun tarama hızına bağlı olması da sistemin tersinmez olabileceğini düşündürdü.

Metimazolün elektrot yüzeyine adsorplanıp adsorplanmadığının belirlenmesi için dönüşümlü ve doğrusal taramalı polarografi yöntemi kullanıldı. Metimazolün elektrot yüzeyine adsorbe olup olmadığı farklı tarama hızlarında dönüşümlü polarogramları alınarak pik akımlarının tarama hızıyla değişiminden yararlanıldı. Bu amaçla  $\log i_p-\log v$  grafikleri çizildi. Bilindiği gibi, difüzyon dikkate alınarak türetilen ve dönüşümlü voltamogramdaki pik akımını veren Randles-Sevcik eşitliğinden,  $\log i_p$  ve  $\log v$  arasında, eğimi 0.5 olan bir doğru elde edilir. Maddenin elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu söz konusu ise, bu bağıntıdan ve dolayısıyla 0.5'den sapmalar meydana gelir ve genellikle bu durumda grafiklerin eğimi 0.5'den büyük olur.<sup>21</sup> Yapılan çalışmada çizilen metimazol için  $\log i_p$  ve  $\log v$  arasındaki grafikte eğimin 0.6065 olması difüzyon kontrollü mekanizma yanında metimazolün elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu da söz konusudur.

Polarografik ölçümler kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemi kullanılarak -100 ile +150 mV potansiyel aralığında Gamry Interface 1000 markalı

potansiyostatta gerçekleştirildi. Çalışmada damlayan civa elektrot indikatör elektrot, Ag/AgCl referans elektrot ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. -100 ile +150 mV potansiyel aralığında kör ve metimazol çözeltilerinin dönüşümlü polarografide taraması 100 mV tarama hızında gerçekleştirildi. Voltamogramda +22 mV potansiyelde bir tane oksidasyon piki gözlemlendi. +22 mV potansiyeldeki pik akımlarının değerlerinde doğrusallık sağlandığından +22 mV potansiyelde derişime karşı pik akım değerleri dikkate alındı.

Kare dalga polarografi yönteminde +22 mV potansiyeldeki 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişime sahip metimazol standart çözeltilerinin voltamogramları alındı (Şekil 4.2). Ayrıca yöntemin doğrusal olduğu derişim aralığında (5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) metimazol çözeltisi derişimine karşı okunan pik akımları şiddeti değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi. Polarografi yönteminin kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden regresyon doğrusu denklemi ve korelasyon katsayısı (r) sırasıyla  $A=0.0241x+0.5073$  (A: Pik akım şiddeti, x: derişim) ve 0.9966 olarak, yöntemin gözlenebilirlik sınırı (LOD) değeri 0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve tayin alt sınırı (LOQ) değeri ise 1.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak belirlendi. Güniçi ve günler arası kesinlik belirlenmesinde yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk belirlenmesinde bağıl hata değerleri, sırasıyla % 2.73 ve % 2.28'den küçük olarak tespit edildi. Yöntemin uygulaması metimazol içeren farmasötik preparatlardan Thyramazol tablette miktar analizi yapılarak gerçekleştirildi. Yöntemlerin farmasötik preparatdan geri kazanım değerleri % 98.7 ile % 102 arasında olduğu belirlendi.

Diferansiyel puls polarografi yönteminde +28 mV potansiyeldeki 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişime sahip metimazol standart çözeltilerinin voltamogramları alındı (Şekil 4.3). Ayrıca yöntemin doğrusal olduğu derişim aralığında (5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) metimazol çözeltisi derişimine karşı okunan pik akımları şiddeti değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi. Polarografi yönteminin kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden

regresyon doğrusu denklemi ve korelasyon katsayısı (r) sırasıyla  $A=0.0274x+0.4422$  (A: Pik akım şiddeti, x: derişim) ve 0.9962 olarak, yöntemin gözlenebilme sınırı (LOD) değeri  $0.4 \mu\text{g ml}^{-1}$  ve tayin alt sınırı (LOQ) değeri ise  $1.2 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak belirlendi. Güniçi ve günler arası kesinlik belirlenmesinde yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk belirlenmesinde bağıl hata değerleri, sırasıyla % 2.26 ve % 4.24'den küçük olarak tespit edildi. Yöntemin uygulaması metimazol içeren farmasötik preparatlardan Thyramazol tablette miktar analizi yapılarak gerçekleştirildi. Yöntemlerin farmasötik preparatdan geri kazanım değerleri % 96.2 ile % 97.8 arasında olduğu belirlendi.

Farmasötik preparatlarda metimazol için geliştirilen kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yönteminin güniçi ve günler arası yüzde bağıl standart sapma ve bağıl hata değerleri yaklaşık olarak % 5.0'dan küçük olduğundan dolayı oldukça iyi bir değerdedir. Bu sebeple geliştirilen ve geçerlilik testleri yapılan her iki yöntemin yüzde bağıl standart sapma ve bağıl hata değerlerine göre yöntemlerin kesinliği, doğruluğu ve tekrarlanabilirliğinin oldukça yüksek olduğu söylenebilir. Ayrıca her iki yöntemin farmasötik preparatlardan geri kazanım değerleri de oldukça yüksektir. Farmasötik preparatlarda metimazolün miktar tayini için uygulanan kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemlerinin birbiriyle karşılaştırılması amacıyla da t-testi yapıldı. Bu test sonucunda her iki yöntemin arasında herhangi bir farkın olmadığı görülmektedir ( $t_{\text{hesap}}: 2.047$  ve  $t_{\text{cetvel}}: 0.05 (2, 18): 3.55$ ;  $t_{\text{hesap}} < t_{\text{cetvel}}$  olduğundan  $P > 0.05$ ).

Ayrıca geliştirilen yöntemlerin farmasötik preparatlardan geri kazanım değerleri de oldukça yüksektir. Bu yöntemlerin başka bir avantajı da herhangi bir ön zenginleştirme, ekstraksiyon veya uzun bir numune hazırlama işlemine gerek duyulmadan doğrudan ölçüm yapılabilmesine izin vermesidir. Bu nedenle ilaç endüstrisinde kalite kontrol çalışmalarında kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemi başarıyla uygulanabilir.

Kare dalga polarografi yöntemi ile plazma çalışmasında, 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında hazırlanan bir seri standart metimazol çözeltilerinden uygun miktarlarda 0.50 ml plazma üzerine eklenip (spike edilip) karıştırıldı. Ekstraksiyon işleminde elde edilen çözeltilerin -100 ile +150 mV potansiyel aralığında polarogramları alındı. Polarogramlardan pik akımları kaydedildi. Yöntemin doğrusal olduğu derişim aralığında (5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) metimazol çözeltilerine karşı okunan pik akımları değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi. Kare dalga polarografi yönteminin kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden regresyon doğrusu denklemi ve korelasyon katsayısı (r) sırasıyla  $A=0.0243x+0.4988$  (A: pik akımı, x: derişim) ve 0.995 olarak, yöntemin gözlenebilirlik sınırı (LOD) değeri 0.6  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve tayin alt sınırı (LOQ) değeri ise 1.80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak belirlendi. Güniçi ve günler arası kesinlik belirlenmesinde yüzde bağıl standart sapma (%BSS) ve doğruluk belirlenmesinde bağıl hata değerleri, sırasıyla % 3.21 ve % 2.96'den küçük olarak tespit edildi. Yöntemin plazmadan ortalama geri kazanım değeri % 98.9 olarak tespit edildi.

Diferansiyel puls polarografi yöntemi ile plazma çalışmasında, 5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında hazırlanan bir seri standart metimazol çözeltilerinden uygun miktarlarda 0.50 ml plazma üzerine eklenip (spike edilip) karıştırıldı. Ekstraksiyon işleminde elde edilen çözeltilerin -100 ile +150 mV potansiyel aralığında polarogramları alındı. Polarogramlardan pik akımları kaydedildi. Yöntemin doğrusal olduğu derişim aralığında (5-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) metimazol çözeltilerine karşı okunan pik akımları değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi. Diferansiyel puls polarografi yönteminin kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden regresyon doğrusu denklemi ve korelasyon katsayısı (r) sırasıyla  $A=0.0271x+0.4515$  (A: pik akımı, x: derişim) ve 0.9971 olarak, yöntemin gözlenebilirlik sınırı (LOD) değeri 0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve tayin alt sınırı (LOQ) değeri ise 1.50  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak belirlendi. Güniçi ve günler

arası kesinlik belirlenmesinde yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk belirlenmesinde bağıl hata değerleri, sırasıyla % 2.68 ve % 3.92'den küçük olarak tespit edildi. Yöntemin plazmadan ortalama geri kazanım değeri % 98.7 olarak tespit edildi.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, metimazol etkin maddesinin standart çözeltilerde, farmasötik preparatlarda ve insan plazmasında miktar tayini için literatürdeki yöntemlere alternatif olacak kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri geliştirilip geçerlilik testleri yapıldı.

Geliştirilen bu yöntemler hassas, duyarlı, seçici, doğru ve kesin olduğu geçerlilik testleri ile gösterildiğinden dolayı yöntemlerin farmasötik preparatlarda metimazolün miktar tayini için uygulanabilir olduğu sonucuna varıldı. Bu çalışmadan elde edilen verilerin ileriki çalışmalara da yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Bunlar;

Önerilen kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri troid hastalıklarında ülkemizde ve bölgemizde yaygın olarak kullanılan metimazol etkin maddesinin insan plazmasında duyarlı ve ekonomik tayinlerinin gerçekleştirilmesine imkan verebilir.

Troid hastalıklarında kullanılan ilaçların analizleri için kromatografik sistemler pahalı organik solvanları kullanırken, geliştirilen yöntemlerde minimum solvan sarfiyatı bulunmaktadır. Bunun için ön zenginleştirme, ekstraksiyon veya türevlendirme gibi basamaklara ihtiyaç duyulmadan kare dalga ve diferansiyel puls polarografi yöntemleri ile direkt ölçüm yapılmasıyla literatürdeki diğer yöntemlere alternatif olabilir. Bu anlamda yapılan tez özgün bir çalışmadır.

Ayrıca yürütülen araştırmanın bilimsel katkısı ve pratik sonuçları şunlardır:

- Seçilen metimazol etkin maddesinin yükseltgenme ve indirgenme mekanizması aydınlatılmış, böylece bu etkin maddenin vücutta nasıl bir mekanizma ile metabolize olduğu hakkında in vitro olarak bilgi sahibi olunmaya çalışılmıştır.

- Metimazol etkin maddesinin ileride insan plazmasında tayini için önerilecek ekonomik ve rutin analizlere uygulanabilecek özgün iki yöntem geliştirilmiş oldu. Bu nedenle özellikle tıp alanında rutin analizlerin yapılması kolaylaşmakta ve çok sayıda analiz kısa sürede ve az numune ihtiyacı ile yapılabilecektir.



## KAYNAKLAR

1. Aletrari M, Kanari P, Partassides D, Loizou E. Study of the British Pharmacopeia method on methimazole (thiamazole) content in carbimazole tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1998, 16:785-792.
2. Reynolds JEF. Antithyroidagents, Martindale, *The ExtraPharmacopoeia*, 29th ed, The Pharmaceutical Press, London, 1989, pp.682-688.
3. Aboul-Enein HY and Al-Badr AA, in: Forey K. (Ed.), Analytical Profiles of Drug Substance, *Academic Press, NewYork*, 1979, 18:351-371.
4. Weetman AP, McGregor AM, Hall RE. Evidence for an effect of antithyroid drugs on the natural history of Graves disease. *Clinical Endocrinology*, 1984, 21:163-172.
5. Nikolic K, Velasevic K. Conductometric determination of captopril. *Pharmazie*, 1987, 42:698-700.
6. Berka A, Velasevic K, Nikolic K. Conductometric determination of methimazole. *Pharmazie*, 1989, 44:490-499
7. Moretti G, Betto P, Cammarata P, Fracassi F, Giambenedetti M, Borghese A. Determination of thyreostatic residues in cattle plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, 1993, 616:291-296.
8. Elbardicy MG, Elsharty YS, Tawakkol MS. Determination of carbimazole and methimazole by first and third derivative spectrophotometry. *Spectroscopy Letters*, 1991, 24:1079-1095.
9. Sanchezpedreno C, Albero MI, Garcia MS, Rodenas V. Flow-injection spectrophotometric determination of carbimazole and methimazole. *Analytica Chimica Acta*, 1995, 308:457-461.



10. Zhang S, Sun W, Zhang W, Qi W, Jin L, Yamamoto K, Tao S, Jin J. Determination of thiocompounds by liquid chromatography with amperometric detection at a nafion/indium hexacyanoferrate film modified electrode. *Analytica Chimica Acta*, 1999, 386:21-30.
11. Aslanoglu M, Peker N. Determination of methimazole in pharmaceutical preparations using an HPLC method coupled with an iodine-azide post-column reaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 33:1143-1147.
12. Pinzauti S, Papeschi G, La Porta E. Potentiometric titration of thiols, cationic surfactants and halides using a solid-state silver-silver sulphide electrode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1983, 1:47-53.
13. Ciesielski W. Coulometric titration of 6-mercaptopurine, methylthioimidazole and methylthiouracil with iodine in alkaline medium. *Chemical Analysis*, 1991, 36:555-563.
14. Moretti G, Cammarata P, Francassi F, Giambenedetti, M, Borghese A. Determination of thyreostatic residues in cattle plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1993, 616:291-296.
15. Zakrzewski R. Determination of methimazole in urine with the iodine-azide detection system following its separation by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2008, 869:67-74
16. Kuśmierk K, Bald E. Determination of methimazole in urine by liquid chromatography. *Talanta*, 2007, 71:2121-2125.
17. Kutluay A, Aslanoglu M. Multi-walled carbon nanotubes/electro-copolymerized cobalt nanoparticles-poly(pivalic acid) composite film coated

- glassy carbon electrode for the determination of methimazole. *Sensors and Actuators B*, 2012, 171:1216-1221.
18. Molero L, Faundez M, Del Valle MA, Del Río R, Armijo F. Electrochemistry of methimazole on fluorine-doped tin oxide electrodes and its square-wave voltammetric determination in pharmaceutical formulations. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 88:871–876.
  19. Aslanoglu M, Peker N. Potentiometric and voltammetric determination of methimazole. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 33:1143-1147.
  20. Izutsu K. Electrochemistry in nonaqueous solutions. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002.
  21. Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2nd edition. New York, John Wiley and Sons. Inc., 2001.
  22. Wang J. *Analytical Electrochemistry*. 2nd edition. New York, John Wiley and Sons. Inc., 2000.
  23. Nicholson RS, Shain I. Theory of stationary electrode polarography: Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Journal of Analytical Chemistry*, 1964, 36(4):706-724
  24. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). <http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.htm>. (15 Nisan 2012).
  25. Validation of Analytical Procedures. Proceedings of the International Conference on Harmonisation (ICH). *Commission of the European Communities*, 1996.

26. Uslu B, Özkan SA, Şentürk Z. Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 555:341-347.
27. Zuhri AZ, Al- Khalil S, Shubietah RM, El- Hroub I. Electrochemical study on the determination of tinidazole in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1999, 21:881-886.
28. Yılmaz B, Kadioğlu YY, Aksoy Y. Simultaneous determination of gemcitabine and its metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2003, 791:103-109.
29. Yılmaz B, Kadioğlu Y, Aksoy Y. Investigation of the pharmacokinetics of gemcitabine and 2',2'-difluorodeoxyuridine in human plasma by liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 2004, 332:234-237.
30. Yılmaz B, Asci A, Arslan S, Determination of metoprolol in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Separation Science*, 2010, 33:1904-1908.
31. Yılmaz B, Asci A, Palabiyik SS. Determination of ibuprofen in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi*, 2010, 16:1005-1010.
32. Yılmaz B, Asci A, Palabiyik SS. HPLC method for determination of diclofenac in human plasma and its application to a pharmacokinetic study in Turkey. *Journal of Chromatography Science*, 2011, 49:422-427.
33. Yılmaz B, Meral K, Asci A, Onganer Y. Determination of metoprolol in pure and pharmaceutical dosage forms by spectrofluorometry and high performance

- liquid chromatography. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 2011, 17:25-31.
- 34.** Yilmaz B, Kadioglu Y. Determination of insulin in rabbit plasma using high-performance liquid chromatography. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi*, 2012, 18:31-36.
- 35.** Yilmaz B, Kadioglu Y, Capoglu I. Determination of insulin in humans with insulin-dependent diabetes mellitus patients by HPLC with diode array detection. *Journal of Chromatography Science*, 2012, 50:586-590.
- 36.** Yilmaz B, Kadioglu Y, Meral K, Onganer Y. Determination of human growth hormone in pure and pharmaceutical dosage form by spectrofluorometry and high performance liquid chromatography. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 2012, 18:399-405.
- 37.** Yilmaz B, Arslan S, Asci A. HPLC method for determination of atenolol in human plasma and its application to a pharmacokinetic study in Turkey. *Journal of Chromatography Science*, 2012, 50:914-919.
- 38.** Yilmaz B, Kadioglu Y. Quantitation of 17  $\beta$ -estradiol in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 2013, 36:1126-1137.
- 39.** Bramer SL, Tata PNV, Vengurlekar SS, Brisson JH. Method for the quantitative analysis of cilostazol and its metabolites in human plasma using LC/MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001, 26:637-650.
- 40.** Kanthi KVS, Varanasi V, Sridhar SPR, Shraddha SPN, Sivakumar S, Kanaga Sabapathi TRS, Satheeshmanikandan VVS, Swaroop K. Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the simultaneous determination of nateglinide, cilostazol and its active metabolite

3,4-dehydro-cilostazol in Wistar rat plasma and its application to pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, 2008, 865:91-98.

41. Wassel AA, Amin AS, Ahmed IS, Dessouki HA, Hendawy HAM. Electrochemical behavior and determination of cilostazol in pure, urine and in pharmaceutical formulations. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, 2012, 4:197-211.
42. Bersier PM. Application of polarography and voltammetry to drug analysis in industry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1983, 1:475-490.
43. Bersier PM, Bersier J. Polarographic, voltammetric and HPLC-EC of pharmaceutically relevant cyclic compounds. *Electroanalysis*, 1994, 6(14):171-191.
44. Kauffmann JM, Vire JC. Pharmaceutical and biomedical applications of electroanalysis. *Analytica Chimica Acta*, 1993, 273:329-336.
45. Tuzhi P, Zhongping Y, Rongshan L. Voltammetric measurement of haloperidol following adsorptive accumulation at glassy-carbon electrodes. *Talanta*, 1991, 38:741-745.
46. Vire JC, Zhang H, Quarin G, Patriarche GJ, Şentürk Z, Christian GD. Electrochemical behavior of zopiclone. *Talanta*, 1993, 40:313-323.
47. Şentürk Z. Analysis of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): An overview of modern electroanalytical techniques and their applications. *Current Drug Delivery Journal*, 2013, 10:76-91.
48. Yilmaz S, Uslu B, Ozkan SA. Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum. *Talanta*, 2001, 54:351-360.

49. Ozkan SA, Ozkan Y, Senturk Z. Electrooxidation of pimozide and its differential pulse voltammetric and HPLC-EC determination. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 453:221-229.
50. Vilchez JL, Araujo L, Prieto A, Navalon A. Differential-pulse adsorptive stripping voltammetric determination of the antibacterial lomefloxacin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2001, 26:23-29.
51. Wang J. (Ed.) *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, VCH Publishers, Inc. New York, 1988.
52. Ozkan S, Biryol I, Senturk Z. An activation method for glassy carbon electrode. *Turkish Journal of Chemistry*, 1994, 18:34-40.
53. Tural H, Gökçel H.İ, Ertaş F.N. Enstrümental Analiz I *Elektroanalitik Yöntemler*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları No:186, Bornova-İzmir, 2003, p.131.
54. Skoog D.A, West D.M, Holler F.J, Crouch S.R. *Analitik Kimya Temel İlkeler*, 8.Baskı, Cilt 1, Çeviri Ed. Kılıç E, Yılmaz H. Bilim Yayıncılık, 2007, 665-666.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı:</b> Haluk Yaşar <b>Doğum tarihi:</b> 02.07.1989 <b>Doğum yeri:</b> Fatih <b>Medeni hali:</b> Bekâr <b>Uyruğu:</b> T.C. <b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM <b>Tel:</b> 04423425040 <b>Faks:</b> 04423425040 <b>E-mail:</b> halukyasar32@gmail.com</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> Erzurum Nevzat Karabağ Anadolu Öğretmen Lisesi (2003-2007) <b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2008-2013) <b>Yüksek lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı (2014-2016)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce: Orta</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>Erzurum Eczacı Odası(2013)</p>
Sürücü Belgesi
<p>B Sınıfı</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>Tenis</p>

## EK-2. ETİK KURUL ONAYI



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı  
Etik Alt Kurulu



Sayı : 93722986.12/ 647  
Konu: Etik Alt Kurul Kararı


11/11/2015

Sayın Doç. Dr. Bilal YILMAZ

İlgi: 10.11.2015 tarih ve 756 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Etik Alt Kurulunun 11.11.2015 tarihinde almış olduğu 10' nolu kararı ile "Metimazol Etkin Maddesinin Farmasötik Preparatlarda ve İnsan Plazmasında Kare Dalga ve Diferansiyel Puls Polarografi Yöntemleri ile Miktar Tayini" başlıklı Yüksek Lisans öğrenciniz Haluk YAŞAR ile beraber yürüteceğiniz çalışmanızın etik kurulumuz tarafından kabulüne karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

  
Doç. Dr. Meltem ÇETİN  
Etik Alt Kurul Başkanı

**Karar-10-** Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Bilal YILMAZ 'ın Danışmanı olduğu Yüksek Lisans Öğrencisi Haluk YAŞAR'ın Fakültemiz Analitik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yürütülecek olan "Metimazol Etkin Maddesinin Farmasötik Preparatlarda ve İnsan Plazmasında Kare Dalga ve Diferansiyel Puls Polarografi Yöntemleri ile Miktar Tayini" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 10.11.2015 tarih ve 756 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğunun mevcut oybirliği ile kabulüne (Doç. Dr. Bilal YILMAZ oylamaya katılmadı) karar verildi.