

DİFERANSİYEL PULS VOLTAMETRİSİ İLE İLAÇ ANALİZLERİ

1. GİRİŞ

Voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden faydalanılarak analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemi kapsar.

Yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamlardaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım eğrilerinin (voltamogram) karakteristiklerini değerlendiren analiz tekniğidir.

Tam derişim polarizasyonu şartları altında bir elektrokimyasal hücrede oluşan bir akımın ölçülmesi esasına dayanır. Voltametri kullanılarak yapılan çalışmalarda, yüzey alanları çoğunlukla birkaç milimetre kare ve bazı uygulamalarda ise birkaç mikrometre kare veya daha küçük olmaktadır.

Tarihsel olarak voltametri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1922 yılında voltametrimin özel bir tipi olan polarografiden geliştirilmiştir. Polarografi, diğer voltametri tiplerinden çalışma mikroelektrodu olarak damlayan civa elektrodu (DCE) kullanılması bakımından farklılık gösterir. (Bockris ve ark., 1970; Yıldız ve Genç, 1993)

Voltametri kullanılarak yapılan çalışmalarda, mikroelektrot iç çapı 0,03-0,05 mm olan cam bir kapiler borudan akarak büyüyen ve belli bir büyüklüğe geldiği zaman koparak düşen bir civa damlası ise yöntemin adı polarografi ve elde edilen akım-gerilim eğrisinin adı ise polarogramdır. Kullanılan elektrot katı elektrot veya asılı civa damla elektrot ise yöntemin adı voltametri olmakta, elde edilen akım-gerilim eğrisine ise voltamogram denilmektedir.

İlaç analizlerinde kromatografik ve fotometrik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendirilen modern voltametri bu yöntemlerle yarışmalı olmaktan çok onları tamamlayıcı niteliktedir. Ayrıca yöntemin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) ile birleştirilmesiyle, kompleks karışımların analizinde de başarıyla uygulanması sağlanmıştır. (Wang, 1985; Özkan ve ark., 1998)

Voltametri ve polarografi ilaç analizlerinde ilk kez 1954 Çekoslovak farmakopesinde kullanılmıştır. Polarografi ile saf etkin maddenin yanında çok kompleks bir karışım olsa bile (çözünmeyen ilaç katkı maddeleri, serum yada plazmada bulunan endojen maddeler v.b.) aktif maddelerin analizi duyarlılıkla ve herhangi bir girişim olmaksızın yapılabilmektedir. (Patriarche ve ark., 1979; Willard ve ark., 1981)

Pekçok ilaç etkin maddesi ve vücutta bulunan fizyolojik aktif maddeler polarografik veya voltametrik yöntemlere cevap vermektedir.

Bu yöntemlerin diğer analitik yöntemlere üstünlüğü ise; az miktarda maddenin analiz için yeterli olması, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları, analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması, fazla çözücü gerektirmemeleri ve hassas birer yöntem olmalarıdır. (Zuman ve Brezina, 1962; Kissinger ve Heineman, 1996)

1960'lı yılların ortalarında klasik voltametrik tekniklerde yapılan pek çok değişiklik, yöntemin duyarlılığını ve seçiciliğini büyük ölçüde arttırmış ve özellikle tıp, eczacılık, biyokimya ve çevre çalışmalarında yöntem geniş ve giderek artan bir uygulama alanı sağlamıştır. (Patriarche, 1979; Brezina ve ark., 1996; Özkan ve ark., 1997; Şentürk ve ark., 1996)

Voltametrik ve polarografik yöntemlerin, eczacılık alanında ve klinik çalışmalarda dönüşümlü kullanılmasının nedeni düşük derişimlerde farmasötik analizlerin yapılabilmesi, numunelerin kolayca ve çok kısa bir sürede

hazırlanabilmesi, analiz süresinin kısa olması, ortamda bulunan katkı maddelerinin veya safsızlıkların analiz sonucunu etkilememesi, bu tekniklerin ürün kalite kontrolünde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. (Doğan, 2005)

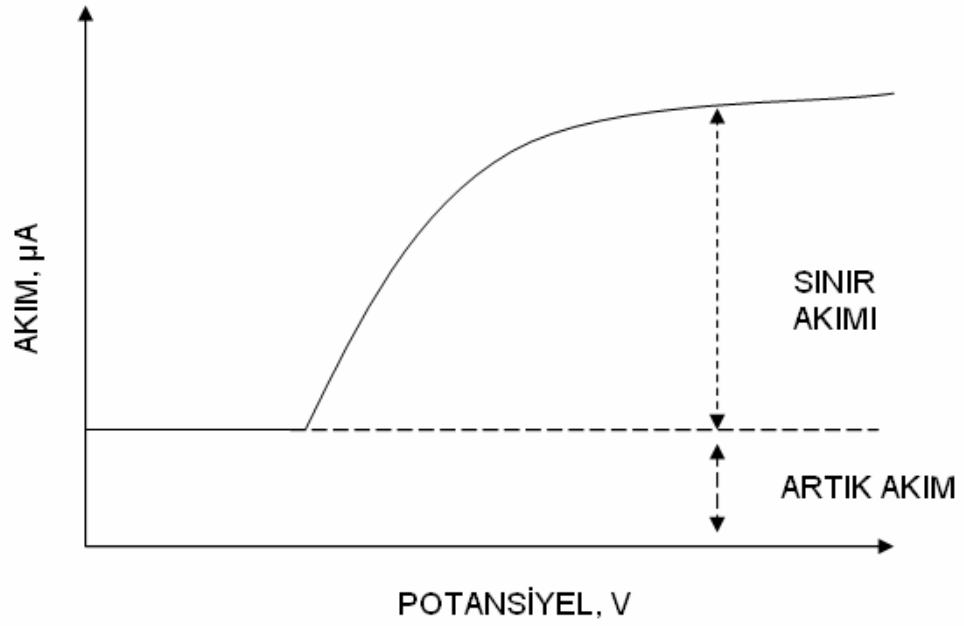
Tablet, kapsül, süspansiyon, şurup v.b. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya katkı maddelerinin genelde elektroaktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerin diğer bir üstünlüğü de pahalı ve az miktardaki ilaçların analizinde de çok az miktarda numuneyle çalışma imkanı verdiği için kullanılabilmesidir. (Brezina ve Zuman, 1958; Zuman ve Brezina, 1962)

1.1. Voltamogramlar

Bu çalışma yönteminde genel prensip, elektrokimyasal hücrede bulunan, polarize olabilen bir çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen gerilim uyarma sinyali uygulanarak üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki akımın ölçülmesine dayanır. (Yıldız ve Genç, 1993; Bond, 1980)

Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine “voltamogram” denir. Analizi yapılacak çözelti içindeki elektroaktif maddelerin yükseltgenbilme, indirgenbilme özelliklerine göre elektroliz tepkimesi, çalışma elektroduna ait gerilim aralığının belirli bir noktasında olur. Bu yüzden voltamogram, çözeltideki elektroaktif maddelerin nitel ve nicel özelliklerini yansıtır.

Voltametri en çok kullanılan gerilim uyarma sinyallerinden biri, elektrokimyasal hücreye uygulanan gerilim zamanın bir fonksiyonu olarak doğrusal biçimde arttığı Şekil 1.1’ de gösterilen bir doğrusal tarama olup, hücrede oluşan akım uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Bu yönteme doğrusal taramalı voltametri denir. (Yıldız ve Genç, 1993)



Şekil 1.1.: Yavaş Potansiyel Değişiminde Katı Elektrot Voltamogramı.

1.1.1. Sınır Akımı

Doğrusal taramalı voltamogramlar genellikle voltametrik dalga adı verilen sigmoidal şekilli eğrilerdir. Dik artıştan sonra gelen sabit akıma “difüzyon kontrollü akım” veya “sınır akımı” (i_1) denir.

Çünkü bu akım, analitin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızındaki sınırlamadan kaynaklanır. Sınır akımları genellikle analitin derişimi ile doğru orantılıdır. Bu yüzden;

$$i_1 = k c_A$$

Burada; c_A : Analit derişimi,

k : Bir sabittir.

Kantitatif doğrusal taramalı voltametri bu ilişkiye dayanır. Bunun dışında, hızlı bir şekilde sınır akımları elde etmek için çözelti veya mikroelektrot sürekli ve tekrarlanabilir bir hareket halinde olmalı ya da damlayan civa elektrot gibi bir damlayan elektrot kullanılmalıdır. (Kılıç ve ark., 1997)

1.1.2. Göç Akımı

Eğer incelenecek olan elektroaktif madde iyonik yapıda ise bu iyonlarla elektrot arasında elektrostatik etkileşim söz konusudur. Herhangi bir elektrostatik etkinin olmadığı koşullarda ölçülen sınır ile bu koşullarda elde edilen sınır akımı arasındaki farka “göç akımı” denir.

Polarografide elektroaktif türün göç akımı istenmediğinden ortama yüksek derişimde destek elektrolit eklenerek, incelenecek türün göç akımı önlenir. Bu durumda incelenecek türün taşıma sayısı minimuma düşürülerek elektrostatik göç elektroaktif olan elektrolit tarafından sağlanır. (Greef ve ark., 1990)

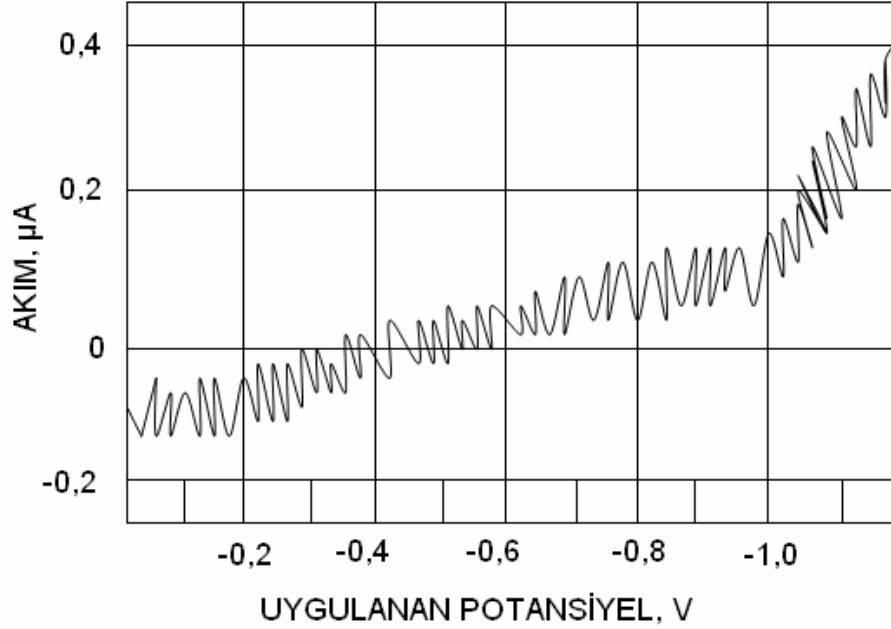
1.1.3. Yarı Dalga Potansiyeli

Akımın, sınır akımının yarısına eşit olduğu potansiyele ‘yarı dalga potansiyeli’ denir ve $E_{1/2}$ sembolü ile gösterilir. Referans elektrot potansiyeline göre düzeltildikten sonra yarı dalga potansiyeli reaksiyonun potansiyeli ile yakından ilgilidir. Yarı dalga potansiyelleri bazen bir çözeltideki bileşenlerin belirlenmesinde faydalıdır.

1.1.4. Artık Akım

Elektrot ile elektroaktif madde reaksiyona girmeden önce küçük bir akım gözlenmektedir. Çözeltideki safsızlıklar ve elektriksel çift tabakanın yüklenmesi gibi

nedenlerden oluşan bu akım büyüklüğüne artık akım denilir. Şekil 1.2' de 0,1M HCl çözeltisi için bir artık akım eğrisi gözlenmektedir.



Şekil 1.2.: 0,1M HCl Çözeltisi İçin Bir Artık Akım Eğrisi.

Bu akımın iki sebebi vardır. Bunlardan birincisi, hemen hemen bütün çözeltilerde bulunan eser miktarlardaki safsızlıkların indirgenmesidir; bu safsızlıklar içinde az miktarda çözülmüş oksijen, damıtık sudan gelen ağır metal iyonları ve destek elektrolit olarak kullanılan tuzdaki safsızlıklar sayılabilir. (Greef ve ark., 1990)

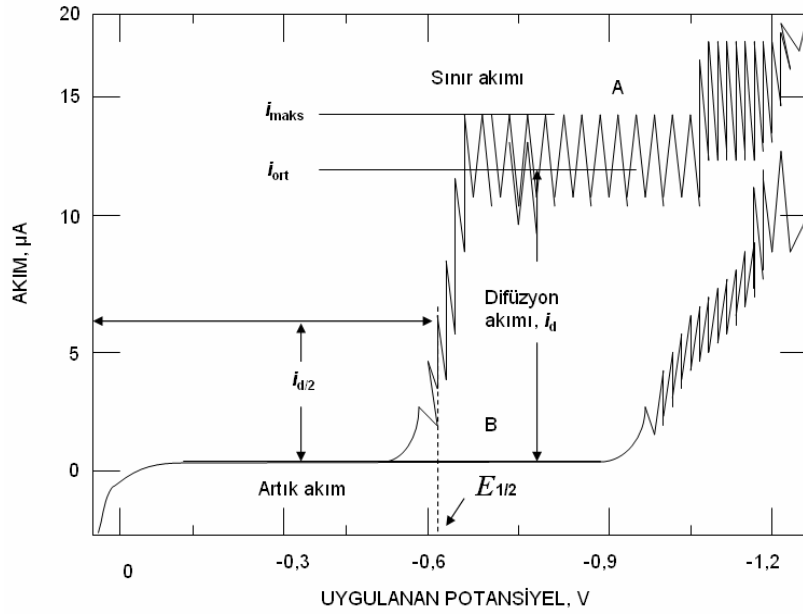
1.1.5. Difüzyon Akımı

Polarografide dalga yüksekliğinin en önemli bileşeni difüzyon akımıdır. Polarografik şartlar dalga yüksekliğinin sadece difüzyon akımından dolayı olması için ayarlanır. Yani madde aktarımının sadece difüzyonla olması istenir. Plato bölgesinde elektroaktif tür elektrot yüzeyine gelir-gelmez indirgenir veya yükseltgenir. Bu durumda elektrot yüzeyinin hemen yanındaki tabakada derişimi sıfır olur. Elektrot yüzeyi ile ana çözelti arasında derişim farkı olacağından difüzyon kuvveti oluşur.

Polarografide elektroaktif türün sadece bu derişim farkından dolayı elektrot yüzeyine gelmesi istenir.

Polarografideki tek kütle aktarım şekli difüzyondur. İşte bu sebepten polarografik sınır akımlarına genellikle “difüzyon akımları (\dot{I}_d)” denir. Yani; akımın büyüklüğü, analitin damlayan civa elektrot yüzeyine sadece difüzyon hızı ile sınırlandığı zaman, polarografide gözlenen sınır akımıdır. Difüzyon akımı, analit derişimiyle orantılıdır.

Şekil 1.3’de gösterildiği gibi difüzyon akımı; sınır akımı ile artık akımlar arasındaki farktır.



Şekil 1.3.: Cd^{+2} yönünden 5×10^{-4} M olan (A) 1M HCl çözeltisi için Polarogramlar (Sawyer ve Roberts, Jr. Experimental Electrochemistry for Chemist. New York: Wiley, 1974).

Genellikle sınır akımının şu akımlardan oluştuğu söylenebilir: \dot{I}_d -difüzyon akımı, \dot{I}_k -civa damlası etrafındaki çift tabakanın yüklenme veya boşalmasından oluşan kapasitif akımı, \dot{I}_f -elektrottaki önceki elektrolitik proseslere bağlı Faraday

akımı, \dot{I}_m -elektroliz olabilen maddenin transfer sayısının yeterince büyük olması halinde ilettiği taşıma, \dot{I}_a -çözelti-elektrot ortak yüzeyinde çözeltinin karıştırılmasında indirgenebilir maddelerin adsorbsiyonundan ve diğer olaylardan meydana gelen akımdır. Böylece şu eşitlik yazılabilir;

$$\dot{I}_i = \dot{I}_d + \dot{I}_k + \dot{I}_f + \dot{I}_a + \dot{I}_m$$

1.1.6. Difüzyon Kontrollü Sınır Akımı

Eğer damlayan civa elektrotuna uygulanan potansiyel durgun çözeltide destek elektrolitli ortamda ve sınır akımı bölgesinde ise, elektrot yüzeyine ulaşan elektroaktif tür hemen indirgeniyorsa, sınır akımının difüzyon akımı tarafından kontrol edildiği söylenebilir. Sınır akımı bölgesinde uygulanan potansiyelde elektroaktif tür elektrot yüzeyine gelir-gelmez indirgeneceğinden, elektroaktif türün hemen elektrot yanındaki derişimi ile ana çözeltideki derişimi arasındaki fark çok büyük olacağından elektrot yüzeyine doğru difüzlenme olacaktır. Çözeltiden geçen akım elektrot yüzeyine difüzlenip, burada indirgenen madde miktarıyla orantılıdır. Bu koşullarda sınır akımı “difüzyon kontrollü sınır akımı” olarak adlandırılır. (\dot{I}_d).

Difüzyon akımı elektrot yüzeyinde derişim gradyanı ile tayin edilir ve $(\delta C / \delta X)_x = 0$ şeklinde gösterilir.

Fick'in I. kanununa göre birim yüzeye difüzlenen madde miktarı;

$$\dot{I} = n F A D \left[\frac{\delta c}{\delta X} \right]_x = 0 \text{ şeklindedir.}$$

Burada n-yük transfer basamağındaki elektron sayısı, F-Faraday sabiti, A-elektrot yüzey alanı, D-difüzyon katsayısıdır. Doğrusal difüzyon için Fick'in II. Kanunu;

$$[\delta c / \delta t] = D \delta^2 C / \delta X^2 \text{ şeklindedir.}$$

Elektrot yüzeyinde oluşan akım birim yüzeye gelen madde miktarı ile orantılıdır ve akım şöyle ifade edilir;

$$\dot{I} = n F A q (0,t)$$

Burada, (0,t) – elektrotun birim yüzeyine t anında gelen madde miktarıdır. Fick kanunlarında gösterilen diferansiyel denklemlerin büyüyen küresel elektrot için çözülüp, q değerinin de yerine konmasıyla aşağıdaki eşitlik elde edilir; (Guliyeva, 2001)

$$\dot{I} = 0,732 n F (C - C_{X=0}) D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6}$$

Burada;

\dot{I} - damla ömrü sonundaki akım, (A)

n - aktarılan elektron sayısı, (mol, e)

F - Faraday sabiti, (C / eq)

C - ana çözeltideki elektroaktif türün derişimi, (mol / cm³)

$C_{X=0}$ - elektrot yüzeyindeki elektroaktif türün derişimi, (mol / cm³)

D - difüzyon katsayısı, (cm² / s)

m - civanın akış hızı, (g/s)

t - damlama ömrü, (s)

Eşitlik polarogramın her bölgesinde geçerli olup, sınır akımı bölgesinde $C_{x=0}$ sıfır olduğundan aşağıdaki eşitliğe indirgenir;

$$\dot{I} = 0,732 n F C D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6}$$

Bu eşitlik İlkoviç eşitliği olarak bilinir. Buradaki akım, damla ömrünün sonundaki difüzyon akımıdır. Damla ömrü sabit bir değere sahipken damlanın büyümesi boyunca akım artar. Bu artış $t^{1/6}$ ile orantılıdır. Ortalama akım damla ömrünün sonundaki maksimum akımın $6/7$ 'si kadardır. İlkoviç eşitliği ortalama akım için yazılırsa katsayı 0,627 olarak değişir;

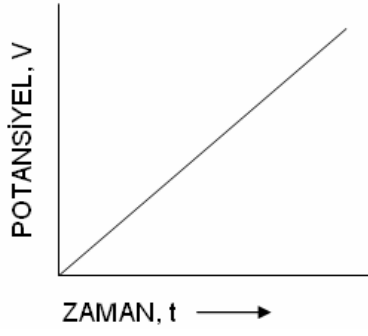
$$\dot{I} = 0,627 n F C D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6}$$

Eğer polarografi sisteminde kolon yüksekliği sabit tutularak civa akış hızı (m) ve damlama ömrü (z)'de sabit kalırsa deney sabit sıcaklıkta yapıldığında diferansiyel katsayısı da sabit kalacağından;

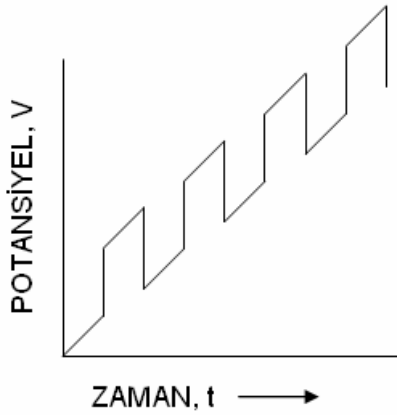
$$\dot{I}_d = k C$$

C; ana çözeltideki elektroaktif türün derişimi olduğundan ve bu derişimle diffüzyon akımı doğru orantılı olarak arttığından polarografi kantitatif analizlerde kullanılabilir.

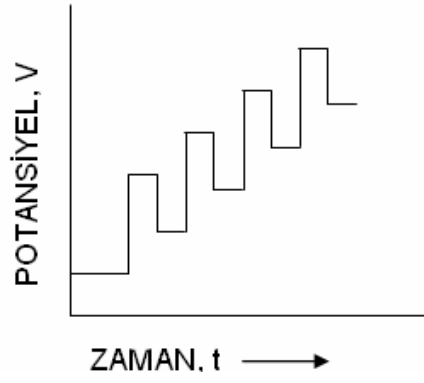
Voltametrde, bir mikroelektrot içeren elektrokimyasal hücreye değiştirilebilir bir potansiyel “uyarma sinyali” uygulanır. Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyallerinden dördü Şekil 1.4’de verilmiştir. (Bond, 1980)



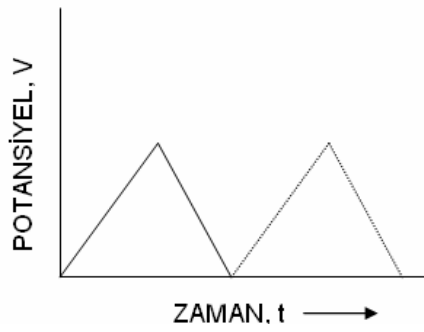
a. Doğrusal Taramalı Voltametri.



b. Diferansiyel Puls Voltametri.



c. Kare Dalga Voltametri.



d. Dönüşümlü Voltametri.

Şekil 1.4.: Voltametriye En Çok Kullanılan Uyarma Sinyalleri.

1.2. Puls Tekniklerinin Teorisi

Doğru akım voltametrisi tekniği kinetik çalışmalarda önemli bir yer tutmaktadır. Bu teknikle birçok elementin yanı sıra, yükseltgenebilir veya indirgenebilir fonksiyonel grubu bulunan organik bileşiklerin de analizi yapılabilmektedir. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV), Diferansiyel Puls Anodik Sıyırma Voltametrisi (DPASV), Diferansiyel Puls Katodik Sıyırma Voltametrisi (DPKSV) gibi voltametrik teknikler oldukça ucuz cihazlarla yapılabilmekte ve eser elementler için oldukça düşük derişimde tayinlere imkan vermektedir. Normal puls tekniği ile 1×10^{-7} M, Diferansiyel puls tekniği ile 1×10^{-8} M' a kadar tayin yapılabilmektedir.

1960'larda, doğrusal taramalı polarografi (DTP), birçok laboratuvarda analitik bir araç olarak önemini kaybetti. Bunun en önemli sebebi, çok daha kullanışlı spektroskopik tekniklerin ortaya çıkmasının yanı sıra bu yöntemin yavaş, kullanımı zor ve en önemlisi tayin sınırının oldukça düşük olmasıydı.

Bu sınırlamalar, puls yöntemleri ve daha önce bahsedilen elektrotların gelişmesiyle büyük lde aşılmıştır. Puls polarografisi yöntemleri Barker (Barker ,1960) tarafından geliştirilmiştir. Doğru akım (DC) polarografisinde hücreye sabit bir potansiyel uygulayıp oluşan akım llrken puls polarografisinde potansiyel periyodik olarak kısa zaman aralıklarında uygulanmaktadır. İki tür puls tekniği vardır;

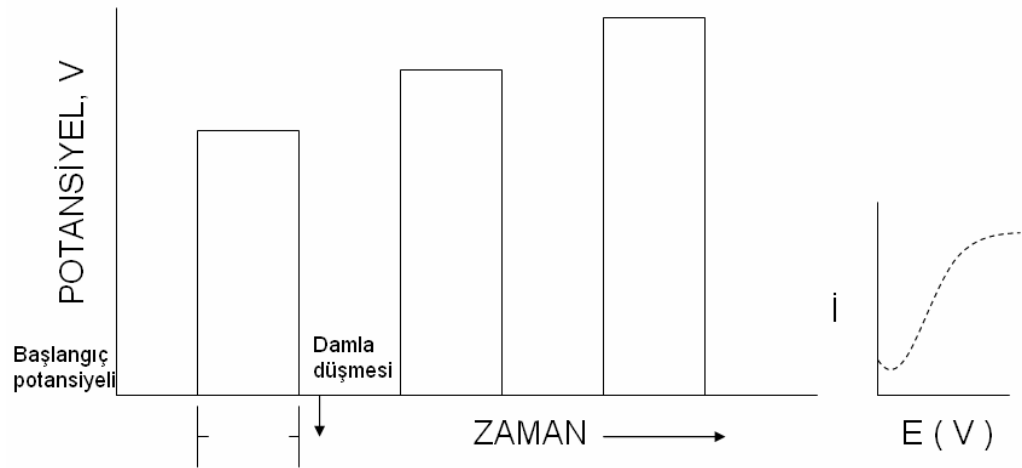
- Normal puls tekniği,
- Diferansiyel puls tekniği.

Normal puls tekniğinde zamanla genliği artan pulslar verir. Uygulanan potansiyel pulsları yaklaşık 40-60s srılıdır, fakat pulslar arasındaki potansiyel daima başlangıç değerine döner. Damlayan civa elektrodunda elektrot yüzeyi damlama sresinde değişmesine rağmen, pulslar daima damla sonunda uygulandığından sabit elektrot yüzeyi korunmuş olur. Akım lm her puls

süresinin sonuna doğru yapıldığından kapasitif akımın etkisi minimumdur. (Ünal, 2003)

Burada elde edilen voltamogram/polarogram normal puls tekniğinde elde edilenler gibi dalga şeklindedir. Bunun sebebi ise plato bölgesindeki akımın $i = 0$ ile $i = i_d$ arasında değişmesi yani alternatif akımın sabit değerler almasıdır.

Potansiyel bu bölgede DC potansiyeli ile pulsla verilen potansiyel arasında değiştiğinden ve uygulanan DC potansiyelinde indirgenme olmadığından akım sıfır ve i_d değerleri arasında değişir.



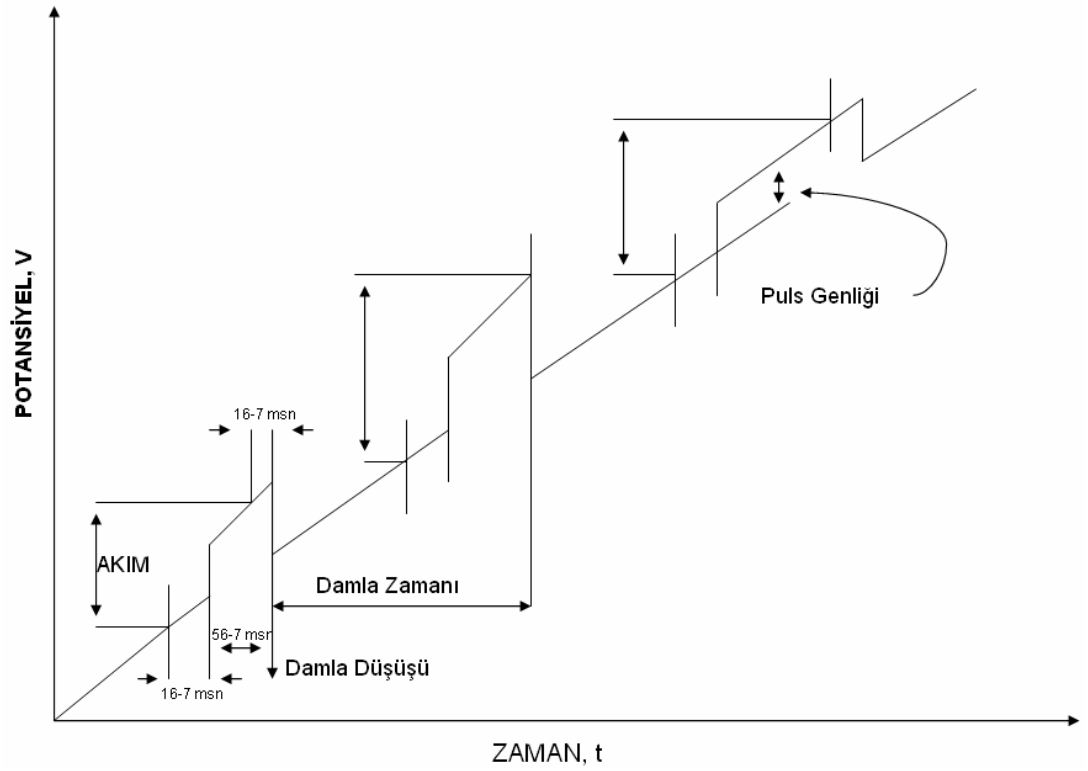
Şekil 1.5.: Normal Puls Tekniğinde Artan Genlikteki Pulsları İçeren Uygulama Potansiyelinin Zamanla Değişimi ve Elde Edilen Polarogram.

1.3. Diferansiyel Puls Teknikleri Teorisi

Normal puls ve diferansiyel puls polarografisi teorileri damlayan civa elektrot için geliştirilmiş olmakla birlikte puls deneylerinde puls belli zaman aralıklarında uygulandığından sabit elektrotlara da bu teori uygulanmaktadır. (Bond, 1980)

Puls akımının ölçüldüğü referans düzey, puls uygulamasından önceki akımdır. Pulsun başlangıcından akımın ölçülmesine kadar geçen süre (örneğin 50 ms) içerisinde yük akımı çok küçük bir değere düşer. Kalan faradayik akım kısa bir zaman periyoduna entegre edilerek ölçülür ve fark doğru akım potansiyeline karşı grafiğe alınır.

Puls uygulama süresi (≈ 50 ms) hızlı DC polarografisi veya voltametrideki süreye eşdeğer olduğundan puls yöntemleri analitik amaçlarla kullanıldığında elektrot kinetiğine kuvvetle bağlı olması beklenmez. Sonuç olarak puls polarografisi elektrokimyasal olarak tersinmez olan sistemler için de yüksek bir duyarlılığa sahiptir. (Bond, 1980; Greef ve ark., 1990) Diferansiyel puls polarografisinde potansiyel-zaman profili şekil 1.6' da gösterilmiştir.



Şekil 1.6.: Diferansiyel Puls Polarografisinde Uygulanan Potansiyel Dalgası.

Normal de DPV'si için yazılmış olan Heyrovsky-Ilkovich denkleminin diferansiyel alınıp bundan limit difüzyon akımı değeri çıkarılırsa;

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

Burada;

Δ_i =Diferansiyel puls akımı,

ΔE =Puls genliğidir.

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

$$\Delta_i = n F A C [\sqrt{(D/\pi t_m)}] \cdot [(P_A \sigma^2 - P_A) / (\sigma + P_A \sigma^2 + P_A + P_A \sigma^2)]$$

denkleminde ulaşılır. Burada;

$$P_A = \exp [(n F)/(R T)] \cdot [\{(E_1 + E_2) / 2\} - E^F_{1/2}]$$

$$\sigma = \exp [(n F)/(R T)] [(E_1 + E_2) / 2]$$

$E_2 - E_1$: ΔE puls genliği.

E_2 : Puls uygulandıktan sonraki i_2 akımının ölçüldüğü potansiyel.

E_1 : Puls uygulanmadan önceki i_1 akımının ölçüldüğü potansiyel.

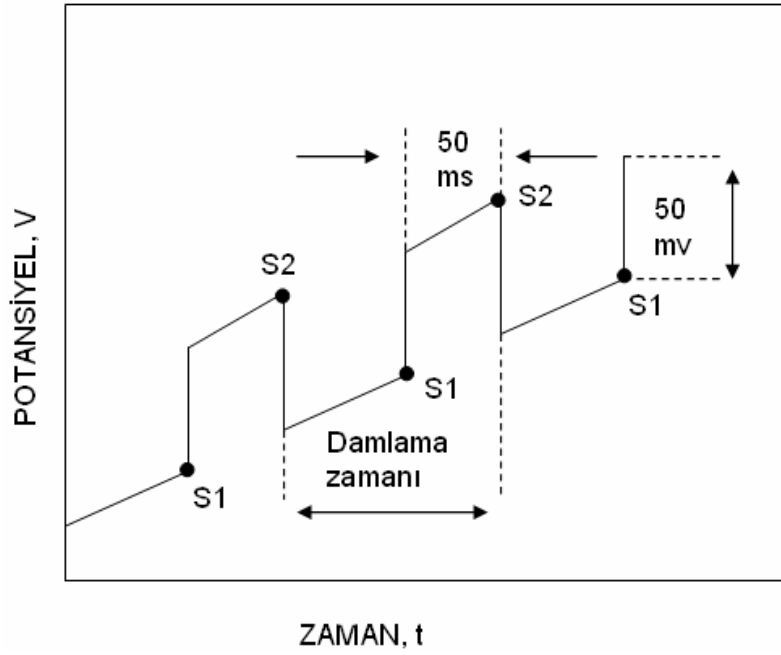
İndirgenme için $\Delta E < 0$ ' dir. Δ_i maksimum olduğunda $P_A = 1$ 'dir.

$$(\Delta_i)_{\max} = n F A C [\sqrt{(D/\pi t_m)}] \cdot [(\sigma - 1) / (\sigma + 1)]$$

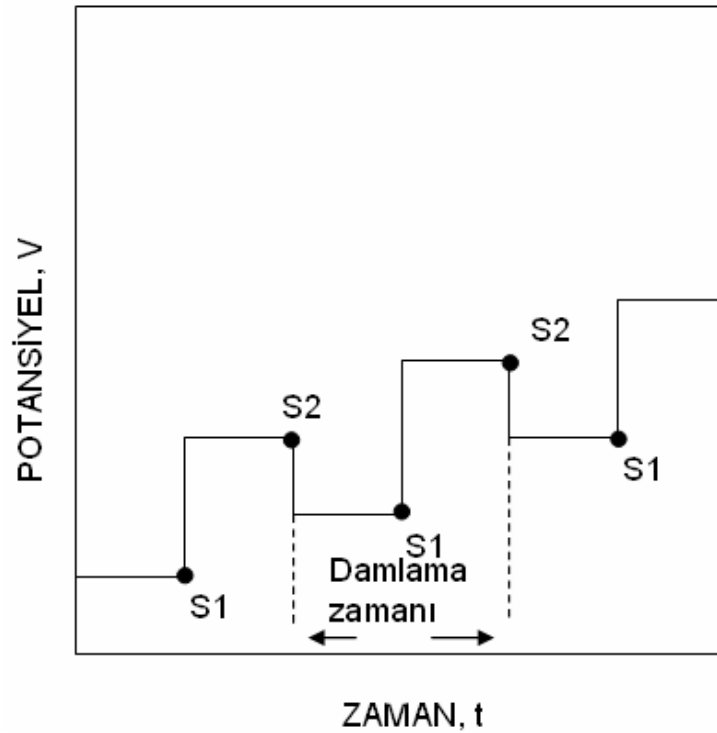
Eğer $(-\Delta E / 2) < RT/nF$ ise bu denklem küçük genlik şeklini alır ve

$$(\Delta_i)_{\max} = [(n^2 F^2) / (4RT)] \cdot AC \cdot (-\Delta E) \cdot [\sqrt{(D/\pi t_m)}] \text{ olur.}$$

$-\Delta E$ değeri büyüdükçe $(\Delta_i)_{\max}$ büyür. Fakat puls genliği büyüdükçe elde edilen pik yayvanlaşır, buda ayırım gücünü azaltır. Denklemlerden anlaşılacağı gibi, $(\Delta_i)_{\max}$ derişimle doğru orantılıdır. Bu tersinir olmayan haller için de geçerlidir. Ancak katalitik reaksiyonlarda ve benzeri karmaşık reaksiyonlarda bu doğrusal ilişki bozulur. Yarı tersinir veya tamamen tersinmez hallerde birim derişim başına düşen $(\Delta_i)_{\max}$ değeri tersinir halden daha küçüktür.



Şekil 1.7.: Ticari Diferansiyel Puls Polarografi Cihazlarında Kullanılan En Yaygın İki Uyarma Sinyali.

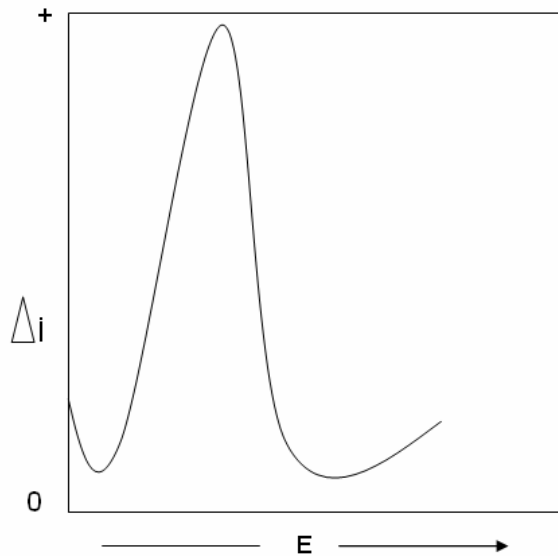


Şekil 1.8.: Ticari Diferansiyel Puls Polarografi Cihazlarında Kullanılan En Yaygın İki Uyarma Sinyali.

Şekil 1.7. ve 1.8. ticari diferansiyel puls polarografi cihazlarında kullanılan en yaygın iki uyarma sinyali göstermektedir. Analog cihazlarda kullanılan birinci sinyal periyodik bir pulsun doğrusal bir tarama sırasında oluşturulmasıyla elde edilir. Şekil 1.7’de ise, genellikle dijital sistemlerde kullanılır. Burada da bir puls ile basamaklı sinyal üst üste bindirilir. Her iki durumda da, civa damlasının ömrünün son 50 ms’si içinde 50 mV’luk bir puls uygulanır. Burada damla ile puls uygulanır. Burada damla ile puls arasında uyum sağlamak için, damla belli bir anda mekanik olarak düşürülür. (Greef ve ark, 1990)

Şekil 1.8’de görüldüğü gibi iki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan birinci dc pulstundan 16,7 ms önce (S_1), diğeri ise pulsun sonundan 16,7 ms sonra (S_2) yapılır. Puls başına akımdaki fark (Δ_i) doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle doğru orantılıdır. (Şekil 1.9’ a bakınız).

Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı reaksiyonun standart potansiyeline yaklaşık eşittir. (Greef ve ark., 1990)

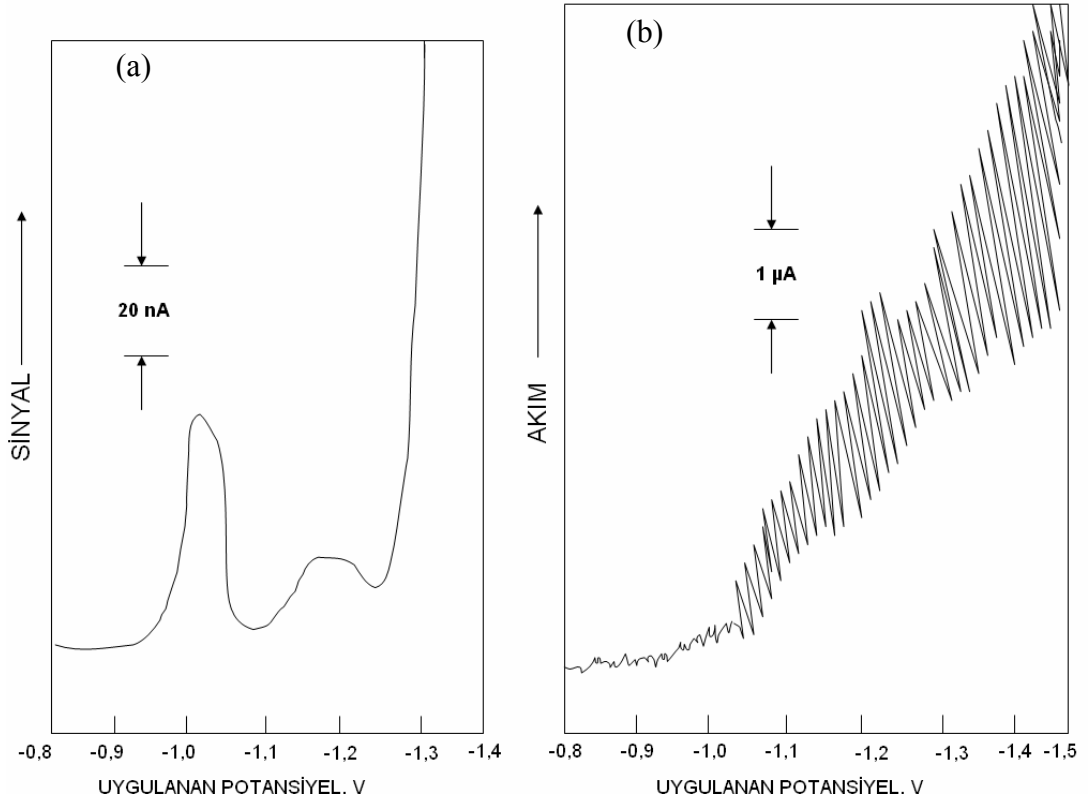


Şekil 1.9: Bir Diferansiyel Puls Polarografisi Deneyinde Elde Edilen Voltamogram.

Burada $\Delta_i = E_{S_2} - E_{S_1}$

Diferansiyel tip polarogramın bir üstünlüğü, yarı-dalga potansiyelleri 0,04 ile 0,05 V kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilmesidir. Halbuki klasik ve normal puls polarografisi için, yarı-dalga potansiyel farkı en az yaklaşık 0,2 V olmalıdır, aksi takdirde dalgalarda iyi bir çözüm elde edilemez.

Ancak daha da önemlisi, diferansiyel puls polarografisi polarografik yöntemin duyarlılığını arttırır. Bu artış şekil 1.10'da gösterilmiştir. Görüldüğü gibi 180 ppm antibiyotik tetrasiklin içeren bir çözeltinin klasik voltamogramı iki tane zor fark edilen dalga içerirken, 2×10^{-3} M veya 0,36 ppm antibiyotik içeren bir çözeltinin diferansiyel puls polarografisi çok iyi tanımlanmış pikler verir. Ayrıca, görüldüğü gibi Δ_i için akım nA (nanoamper) olarak verilmektedir. Genellikle diferansiyel puls polarografisinin tayin sınırı klasik polarografinin sınırlarından 100-1000 kat daha düşük olup $10^{-7} - 10^{-8}$ M arasındadır. (Flato, 1972)



Şekil 1.10.: (a) Diferansiyel Puls Polarografisi:0,1M asetat tamponunda (pH=4) 0,36 ppm Tetrasiklin HCl, (b) DC Polarografisi: 0,1M asetat tamponunda (pH=4) 180 ppm Tetrasiklin HCl.

Diferansiyel puls polarografisinin yüksek duyarlılığı iki sebebe bağlanabilir. Bunlardan birincisi, faradayik akımın artması ikincisi ise faradayik olmayan yükleme akımının azalmasıdır. Birincisini açıklamak için, potansiyel aniden 50 mV artırıldığında elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında cereyan eden olayları incelemek gerekir. Bu tabakada elektroaktif bir tür varsa, analit derişimini yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Fakat bu potansiyel için gerekli olan denge derişimine erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki buna difüzyon-kontrollü akım denir. Klasik polarografide başlangıçtaki bu akım artışı gözlenmez, çünkü ölçümün yapıldığı süre, bu anlık akımın süresinden büyüktür. Diğer taraftan puls polarografisinde akım ölçümü, bu akım artışı tamamen sona ermeden önce yapılır. Böylece ölçülen akım hem difüzyon kontrollü bir bileşeni ve hem de yüzey tabakasındaki derişimi Nernst eşitliğinin

gerektirdiği bir değere indirecek bir bileşeni içerir, yani toplam akım difüzyon akımından birkaç kat daha büyüktür. Damla düşünce, çözeltilinin yeniden analit yönünden homojen hale geldiğine dikkat edilmelidir. Dolayısı ile, verilen herhangi bir potansiyel değerinde, her bir potansiyel pulsuna eşlik eden benzer bir akım artışı oluşur.

Elektroda potansiyel pulsı ilk uygulandığında, damla üzerindeki yük arttığı için faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur.

Bu akım zamanla üstel olarak azalır ve yüzey alanının çok az değiştii damla ömrünün sonuna doğru sifıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek suretiyle faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal / gürültü oranı artar. Bunun sonucunda duyarlılık artar.

Diferansiyel puls polarografi cihazları günümüzde uygun fiyatlarla satılmaktadır. Son zamanlarda bu yöntem en yaygın kullanılan analitik polarografik yöntem haline gelmiştir.

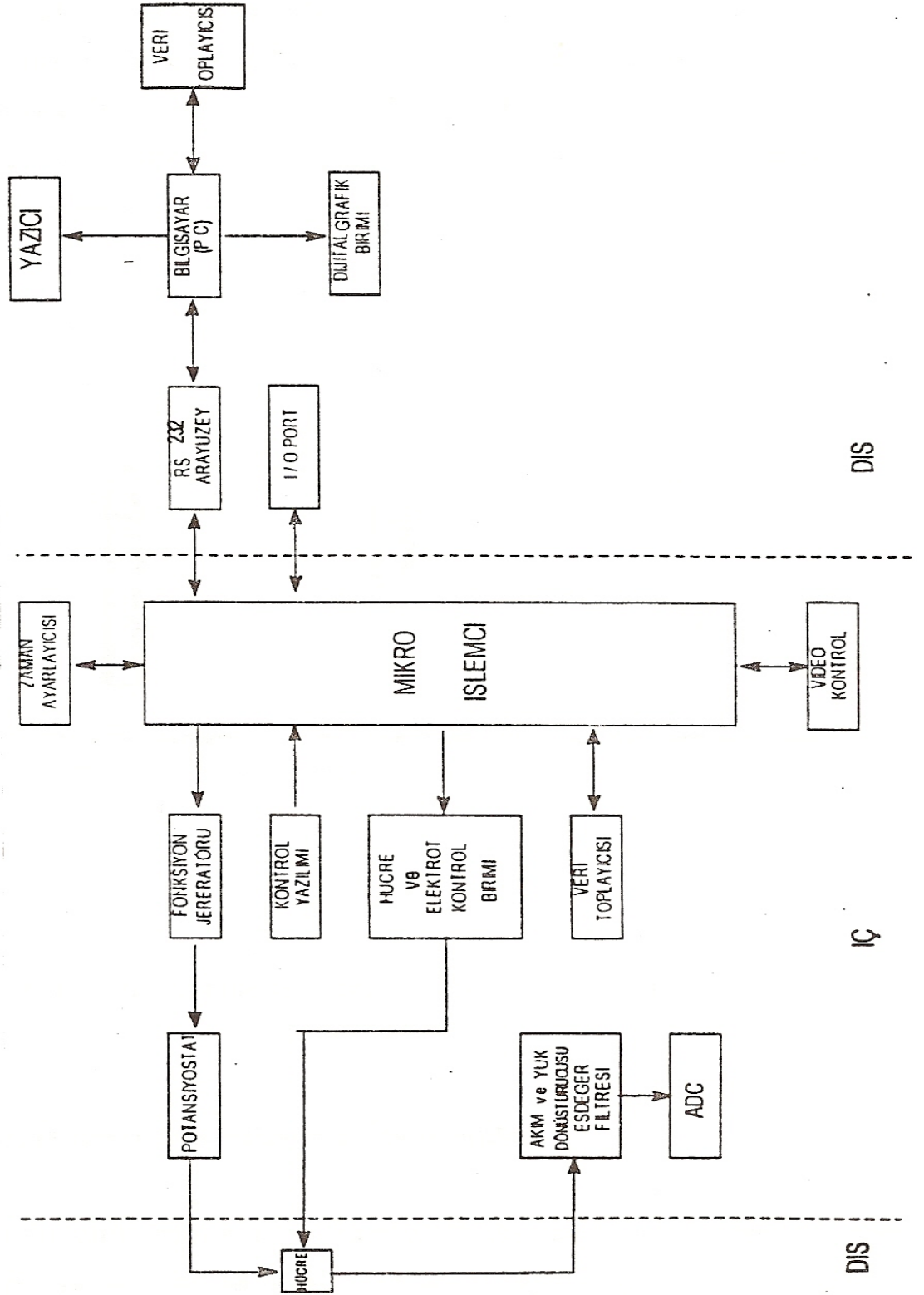
2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Elektrokimyasal Analizörün Kısımları

Bütün deneylerde Bioanalytical System Inc.'nin BAS 100 W elektrokimyasal analizörü kullanılmıştır. Burada potansiyostat ve fonksiyon jeneratörü genel olarak polarograflarda olduğu gibi esas kısımlardır. Bilgisayar teknolojisi ile desteklenerek verim ve kullanım kolaylığı artırılmıştır. Microsoft Windows® ile uyumlu sistem yazılımı sayesinde cihazın kontrolü, veri toplanması ve bu verilerin değerlendirilmesi kolaylıkla yapılmaktadır (Şekil 2.1.). Bu cihaz, aşağıdaki tekniklerin kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

- a) Dönüşümlü Voltametri,
- b) Doğrusal Taramalı Voltametri,
- c) Kronoamperometri,
- d) Kronokulometri,
- e) Normal Puls Voltametri ve Polarografisi,
- f) Diferansiyel Puls Voltametri ve Polarografisi,
- g) TAST Polarografisi,
- h) Barker Kare Dalga Voltametri ve Polarografisi,
- i) Osteryoung Kare Dalga Voltametri ve Polarografisi,
- j) Alternatif akım (ac) Voltametri ve Polarografisi,
- k) Faz Selektif ac Voltametri ve Polarografisi,
- l) 2. Harmoni ac Voltametri ve Polarografisi,

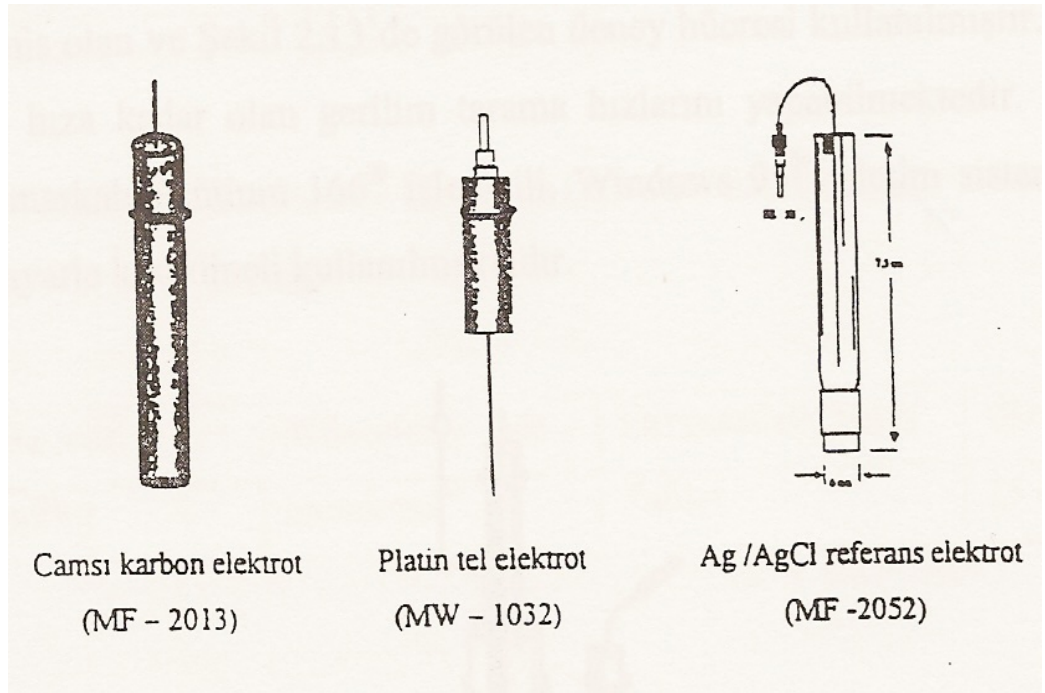
- m) Üçgen Dalga ac Voltmetri ve Polarografisi,
- n) Diferansiyel Üçgen Dalga ac Voltmetri ve Polarografisi,
- o) AC Direnci,
- p) Döner Disk Elektrotla DTV,
- q) Hidrodinamik Modülasyon Voltmetrisi,
- r) Barker Kare Dalga Sıyırma Voltmetrisi,
- s) Diferansiyel Puls Sıyırma Voltmetrisi,
- t) Doğrusal Taramalı Sıyırma Voltmetrisi,
- u) Osteryoung Kare Dalga Sıyırma Voltmetrisi,
- v) Elektrokapiler Eğri Ölçümleri.



Şekil 2.1.: BAS 100 W Elektrokimyasal Analizörün Şeması.

2.2. Kullanılan Elektrotlar

Tüm deneylerde çalışma elektrodu olarak camsı karbon disk (MF 2013) elektrot kullanılmıştır. Bu elektrodun çapı 6 mm, yüzey alanı ise $28,27 \text{ mm}^2$ 'dir. Yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot (MW - 1032) ve karşılaştırma elektrodu olarak da Ag/AgCl (MF 2052 BAS) elektrot kullanılmıştır. Bu elektrotların görünümü Şekil 2.2' de verilmiştir.



Şekil 2.2.: Kullanılan deney elektrotları.

2.3. Deney Elektrotlarına Uygulanan Ön İşlemler

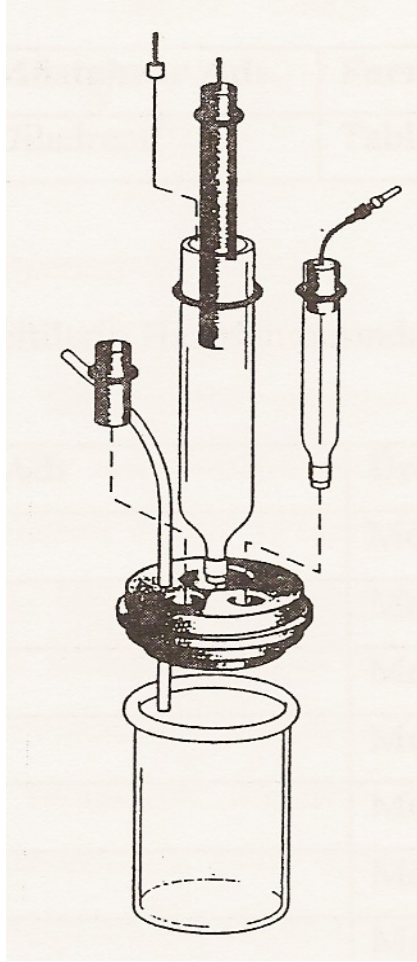
Elektro yükseltgenme olayları, elektro indirgenme olaylarına oranla daha az incelenmiştir. Bunun nedeni polarografide damlayan civanın daima yenilenerek temiz bir yüzey sağlaması ve bu nedenle de tekraredilebilir sonuçlar elde edilebilmesidir. Ancak bu elektrot pozitif potansiyellerde yükselttiği için elektro yükseltgenme olaylarının incelenmesi için uygun değildir. Katı elektrotlar elektro

yükseltgenme de kullanılabilmelerine karşın yüzey, adsorplanabilen maddelerle kaplandığından veya elektrotların kendileri yükseltgendiklerinden ve oksitle kaplandıklarından tekrar edilebilirliğin sağlanması için her deneyden önce aynı yüzey halinin oluşturulması gerekmektedir. Bu işleme ön işlem denilmektedir. Ön işlem hem elektrotun cinsine, hem deney çözeltisinin bileşimine bağlıdır. Kimyasal (Adams ve ark., 1958 ; Eggretsen ve Weiss, 1956; Fagan ve ark., 1985; Hershenhard ve ark., 1984; Kabasakalian ve Mc Glotten, 1958), elektrokimyasal (Ferret ve Philips, 1955; Dermiş ve Biryol, 1990; Özkan ve ark., 1994) ve hem kimyasal hem de elektrokimyasal (Kolthoff ve Tanaka, 1954; Biryol ve ark., 1989; Özkan ve ark., 1994) ön işlemler olabilir.

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

2.4. Deney Hücreleri

Yapılan tüm deneylerde BAS 100 W elektrokimyasal analizöre ait özel olarak üretilmiş olan ve Şekil 2.3.'de görülen deney hücresi kullanılmıştır. Bu sistem 2000 mVs^{-1} hıza kadar olan gerilim tarama hızlarını yapabilmektedir. Cihaz; Gateway 2000 markalı Pentium 166® işlemcili, Windows 95® işletim sistemiyle çalışan bir bilgisayarla koordineli kullanılmaktadır.



Şekil 2.3.: BAS 100 W Elektrokimyasal Analizör Deney Hücresi.

2.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

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

Tablo 2.1. Kullanılan Standart Madde.

Standart Madde Adı	Üretici Firma Adı
Atorvastatin kalsiyum	Aset İlaç San. Ve Tic. A.Ş.

Tablo 2.2. Çözeltilerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler.

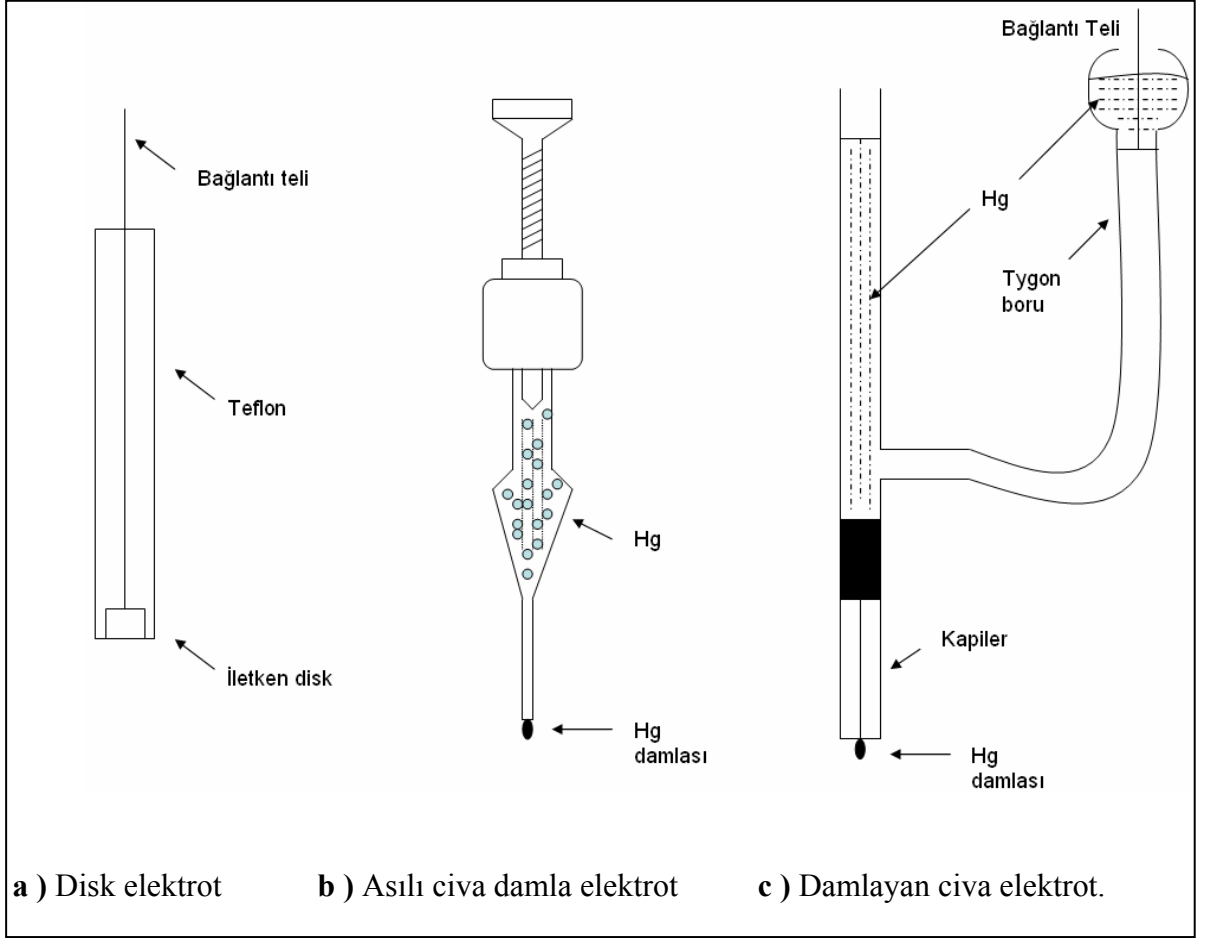
Kimyasal Maddenin Adı	Üretici Firma Adı
Sülfürik Asit	Merck
Sodyum Hidroksit	Merck
Borik Asit	Merck
Fosforik Asit	Merck
Glasiyel Asetik Asit	Merck
Metanol	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat	Merck
Disodyum hidrojen fosfat	Merck
Alüminyum Oksit	Merck

Voltametik çalışmalarda kullanılan mikroelektrotlar; platin, altın, rutenyum gibi inert metaller, pirolitik grafit ve camı karbon, çinko oksit, iridyum oksit gibi yarı iletken elektrotlardır. Tel, levha, disk biçiminde olan katı elektrotların sabit, döner veya titreşen tipleri vardır. (Bishop ve ark., 1984, Biryol ve ark.,1989 ;Panzer 1972; Shearer ve ark., 1972)

Bu iletken platin veya altın gibi bir inert metal; pirolitik grafit veya camı karbon; kalay veya iridiyum oksit gibi yarı iletken; veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal olabilir. (Tjaden ve ark., 1976; Özkan ve ark., 1998; Şentürk ve ark., 1998)

Yaygın kullanılan bazı mikroelektrot tipleri şekil 2.4' de gösterilmiştir.

- a) Disk elektrot,
- b) Asılı civa damla elektrot,
- c) Damlayan civa elektrot.



Şekil 2.4.: Yaygın Kullanılan Mikroelektrot Tipleri.

Civa mikroelektrotlar bir kaç sebepten dolayı voltametrde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sebepler;

- Nispeten büyük, negatif potansiyel aralığında çalışma olanağı sağlarlar.
- Oluşan yeni bir damla ile kolayca taze bir metalik yüzey oluşturulabilir. Taze bir yüzey hazırlanabilmesi, voltametrde ölçülen akımların temizliğe ve düzensizliklerin olmamasına duyarlı oldukları için çok büyük önem arz etmektedir.
- Birçok metal iyonunun civa elektrot yüzeyinde indirgenmesi kimyasal reaksiyonları basitleştirir. (Greef ve ark., 1990)

Katı elektrot yüzeyinin deneye hazırlanması tekrar edilebilirlik açısından büyük önem taşımaktadır. Deney süresince elektrot yüzeyine adsorblanmış veya birikmiş

safsızlıklardan dolayı katı elektrotlar son derece düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, civa elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekir. Ön işlem adı verilen bu işlemler her metal için kendine özgü olmaktadır. (Wang ve Ark., 1985; Fagen ve ark., Özkan ve Ark., 1994)

Voltametriye değişik tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Soy metal elektrotlar, modifiye elektrotlar bunlardan sadece iki tanesidir. Yeni elektrot şekil ve tasarımı amacı ile geliştirilen modifiye elektrotlar, yeni yüzey temizleme teknikleri, elektroanaliz yöntemleri (puls dalga formları, adsorptif teknikler, sıyırma) sayesinde, farmasötik preparatlardaki ve vücut sıvılarındaki aktif bileşenler, safsızlıklar, ana ürünler ve metabolitler oldukça geniş tayin sınırlarıyla ($\sim 10^{-11}M$) seçicilikte ve hızlı bir biçimde doğrudan analiz edilebilmektedirler. (Wang ve ark., Özkan ve ark., 1994)

Katı elektrotların kullanıldığı voltametri, özellikle indirgenme olaylarına oranla az incelenmiş olan yükseltgenme tepkimelerindeki rolü ile biyoloji alanında ve dolayısıyla fizyolojik önemi olan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında başarıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla geliştirilen **ultramikroelektrotlar** canlı organizmada *invivo* çalışmaların yapılmasına olanak sağlamaktadırlar. (Lane ve ark., 1976; Tunçel ve ark., 1984)

Son yıllarda boyutları daha önce anlatılan mikroelektrotların boyutlarının onda biri veya daha küçük olan mikroelektrotlarla birçok voltametrik çalışma yapılmıştır. Bu ince elektrotların elektrokimyasal davranışları klasik mikroelektrotlardan önemli ölçüde farklıdır ve bazı analitik uygulamalarda üstünlükleri olduğu görülmüştür. Bu tip elektrotlar, onları klasik mikroelektrotlardan ayırt etmek için mikroskopik elektrotlar veya ultramikroelektrotlar olarak adlandırılırlar. Bu elektrotların boyutları genellikle yaklaşık 20 mikronmetre den daha küçüktür ve bazen bir mikrometrenin onda birkaçı kadar olabilir.

Bu minyatür mikroelektrotların şekli birkaç çeşittir. En yaygın tipi ince bir kapiler boru içine 5 mikron metre çapında bir karbon fiberin veya 0,3-20 mikron metre boyutlarına sahip altın veya platin telin yerleştirilip kapatılması ile oluşturulan bir düzlemsel elektrottur; elektrot yapılırken fiber veya teller daha sonra borunun uçları ile birlikte düz bir şekilde kesilir. Telin küçük bir kısmının kapiler borunun ucundan çıktığı silindirik elektrotlar da kullanılır. Ayrıca bu elektrotların birkaç başka tipi da bulunmaktadır.

Genellikle, ultramikroelektrotların kullanıldığı voltametri diğerlerine nispeten daha basit bir yapıya sahiptir. Çünkü bir üçlü elektrot sistemini kullanmak gerekmez. Referans elektrodun gerekmemesinin sebebi, akımların çok küçük (pikoamper-nanoamper aralığında) olması ve böylece oluşan IR düşüşünün mikroamper büyüklüğündeki akımlarla çalışıldığında gözlenen şekilde voltametrik dalgaların bozulmasına yol açmamasıdır. (Bond, 1980)

Mikroskobik mikroelektrotların kullanılmasına gösterilen ilk ilginin sebeplerinden birisi, memelilerin beyinlerindeki gibi canlıların iç organlarında oluşan kimyasal olayları incelemek arzusuuydu. Organın işlevinde önemli bir değişikliğe yol açmayacak kadar küçük elektrotların kullanılması, bu amaç için uygun olabilirdi.

2.6. Çözeltilerin Hazırlanması

2.6.1. Standart Maddenin Stok Çözeltisi

Deneylede kullanılan atorvastatin kalsiyumdan gerekli olan miktar hassas şekilde tartılıp, metanol içerisinde 10^{-2} M veya 10^{-3} M derişimde stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan değişik derişimlerde ve değişik destek elektrolitleri içerisindeki atorvastatin çözeltilerinde % 10 metanol oranı sürekli sabit tutulmuştur.

2.6.2. Destek Elektrolitleri

Elektrokimyasal olaylarda elektroaktif olan maddenin elektrot yüzeyine taşınma basamaklarının aynı anda olmaması olayı basitleştirmektedir. Bu taşıma sistemleri arasında engellenmesi en kolay olanı göç (migrasyon) olayıdır. Bunun için çalışılan ortama kolayca iyonlaşan bir tuz, elektrokimyasal özellikleri incelenen maddeninkinden çok daha yüksek derişimlerde ilave edilir. Bu tuza ya da bu tuzu içeren çözeltiliye “*destek elektroliti*” adı verilir. Destek elektrolitinin derişimi incelenen maddenin derişiminden 100 kat daha fazla olmalıdır. Miktar tayini çalışmaları 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 %10 sabit metanollü ortamda 0,1 M H_2SO_4 ; 0,2 M H_2SO_4 ; 0,3 M H_2SO_4 ; 0,5 M H_2SO_4 , ile değişik yapıda asidik ve bazik tampon çözeltileri kullanılmıştır.

2.6.3. Tampon Çözeltiler ve Hazırlanışları

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

Asetat tamponu için 1 M asetik asit çözeltilisi hazırlanmış ve 5 M NaOH ile istenen pH değerlerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 3,5 – 5,99 aralığında çalışılmıştır.

Fosfat tamponu için 0,2 M NaH_2PO_4 , 2 H_2O çözeltilisine 5,0 M NaOH çözeltilisi eklenerek istenen pH'a ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 2 – 12 aralığında çalışılmıştır.

Britton – Robinson tamponu için 0,04 M H_3BO_3 , 0,04 M H_3PO_4 ve 0,04 M CH_3COOH içeren 1000 mL çözeltili bidistile su kullanılarak hazırlanmış ve 5,0 M

NaOH çzeltisi ile istenen pH değerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 2,10 – 12,06 aralığında çalışılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Atorvastatin Kalsiyum Üzerindeki İncelemeler

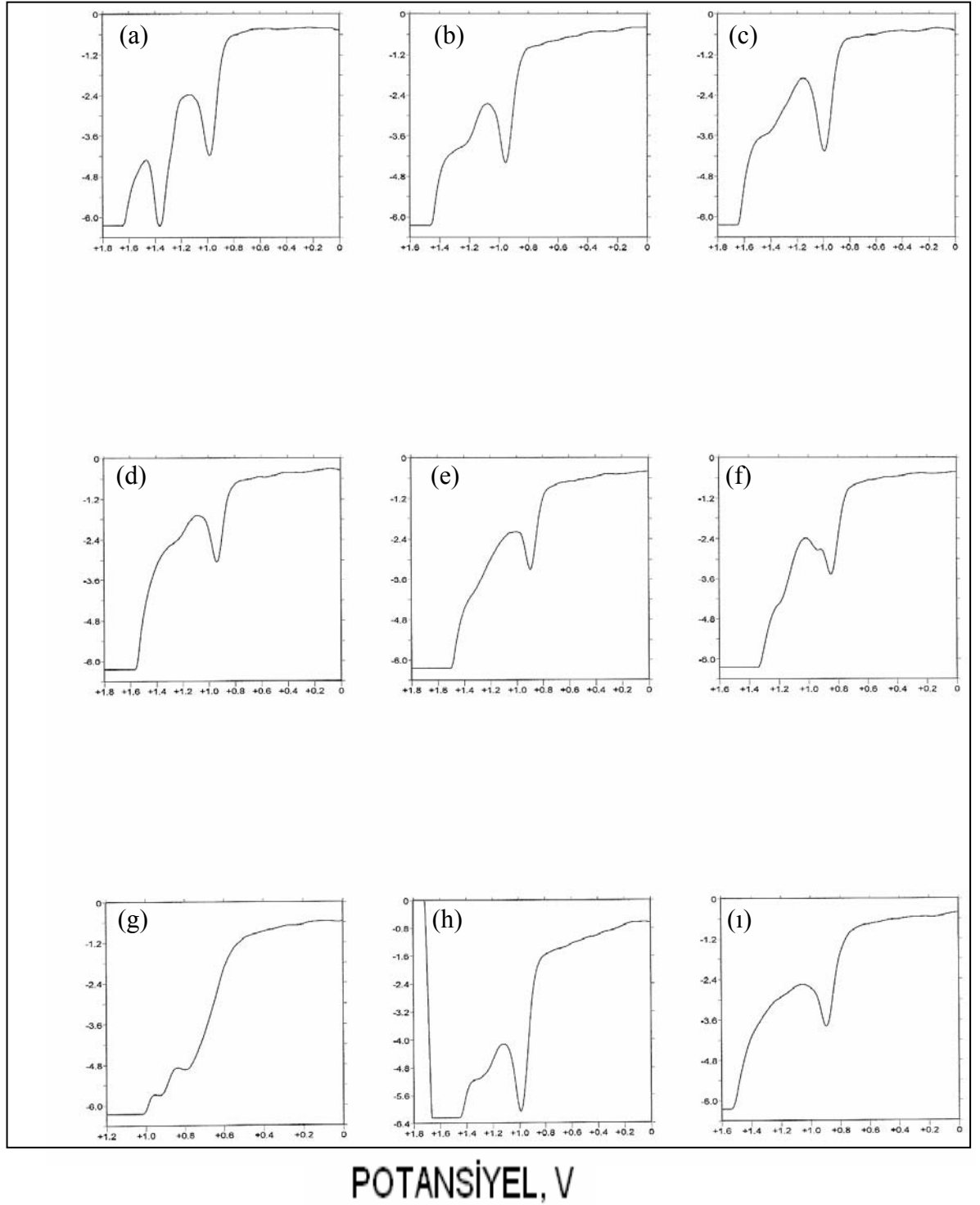
Çalışma maddesi olarak seçilen atorvastatin kalsiyum üzerinde DPV tekniği kullanılarak değişik ortamlarda ve pH değerlerinde çalışmalar yapılmıştır.

BAS 100W elektrokimyasal analizörü, camsı karbon disk (MF 2013) çalışma elektrodu, platin tel (MW 1032), yardımcı elektrot ve Ag/AgCl referans elektrot (MF 2052) deneylerin tamamında kullanılmıştır.

DPV tekniğinde en uygun ortamı seçebilmek ve anlayabilmek için değişik destek elektrolitleri, değişik tamponlar ve farklı pH ortamları içerisinde atorvastatin kalsiyumun elektrokimyasal davranışı yükseltgenme yönünde incelenmiştir.

Yapılan çalışmada atorvastatin kalsiyumun farklı pH'lardaki elektrokimyasal davranışlarını incelemek için destek elektroliti olarak 0,1M H₂SO₄, pH 2,00-12,00 arasındaki Britton-Robinson tamponları pH 2,00-12,00 arasındaki fosfat tamponları ve pH 3,7-5,7 arasındaki asetat tamponları kullanılmıştır. Deneylerde analitik amaçlar için en uygun ortam olarak 0,1 M sülfürik asit ve pH 3,0 BR tamponu bulunmuştur.

Yukarıdaki ortamlarda ve pH'larda saf maddenin davranışı incelendikten sonra kalibrasyon doğrusu elde edilmiş ve elektrot reaksiyonun mekanizması incelenmiştir. Şekil 3.1'de farklı pH'larda atorvastatin kalsiyuma ait diferansiyel puls voltamogramları görülmektedir.

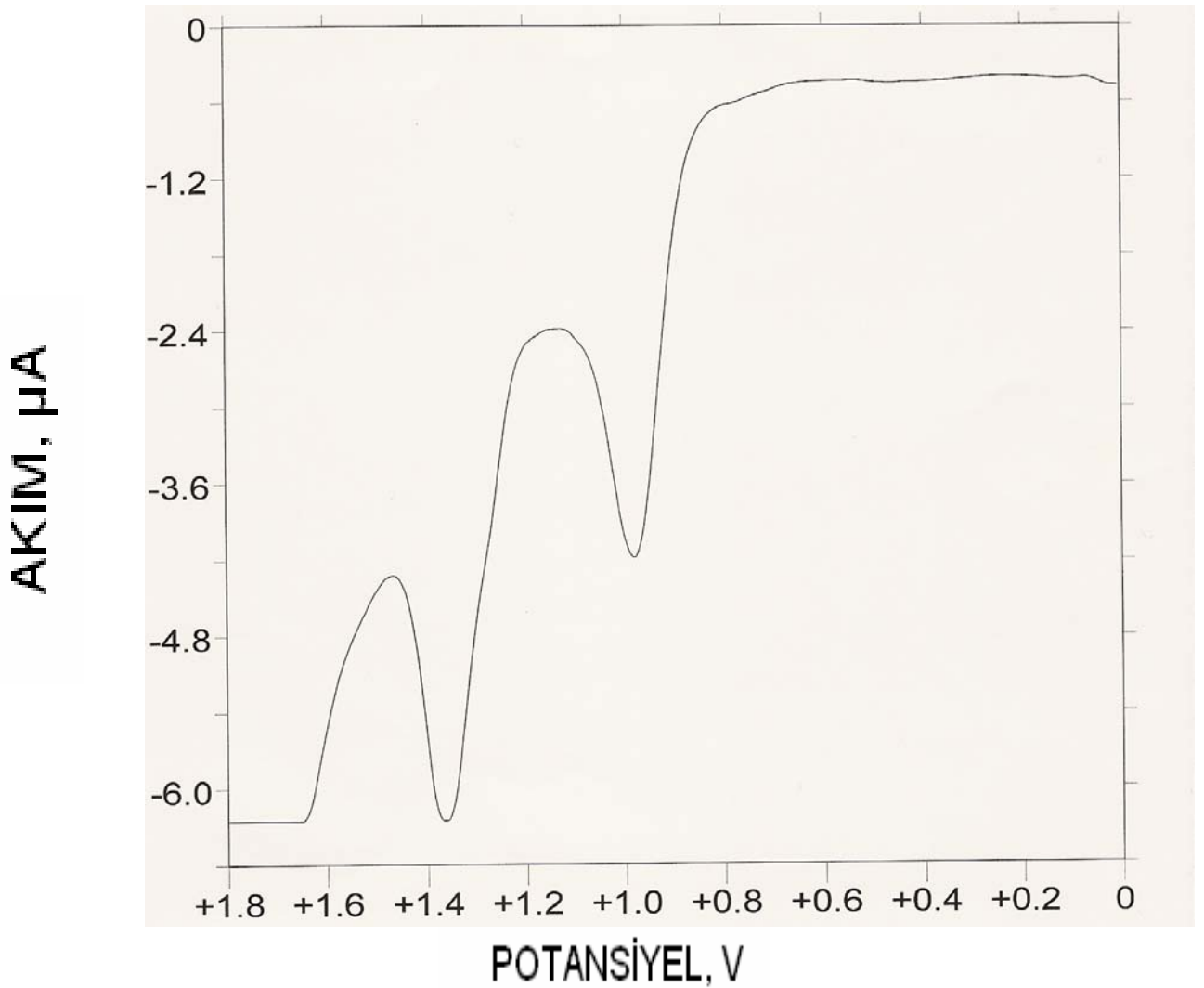
AKIM, μA 

POTANSİYEL, V

Şekil 3.1.: Farklı pH'larda 1×10^{-4} M (% 10 metanollü ortam) Atorvastatin kalsiyuma ait voltamogramlar; **a)** 0,1M H_2SO_4 **b)** pH 4,5 asetat tamponu **c)** pH 3 BR tamponu **d)** pH 5,07 BR tamponu **e)** pH 7 BR tamponu **f)** pH 9 BR tamponu **g)** pH 12 BR tamponu **h)** pH 4,03 fosfat tamponu **i)** pH 7 fosfat tamponu ile elde edilen voltamogramlar.

3.1.1. 0,1 M H₂SO₄ İçerisindeki Çalışmalar

Atorvastatin kalsiyumun elektrokimyasal davranışı 0,1M H₂SO₄ içerisinde DPV tekniği ile incelenmiştir. pH incelemelerinde 1×10^{-4} M derişimde, %10 metanollü ortamda çalışılmıştır. Bu ortamda atorvastatin kalsiyumun +1060 mV ve +1300 mV'da iki belirgin anodik pik verdiği bulunmuştur. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2.: 0,1M H₂SO₄ (%10 metanollü ortamda) 1×10^{-4} M Atorvastatin Kalsiyuma Ait Voltamogram.

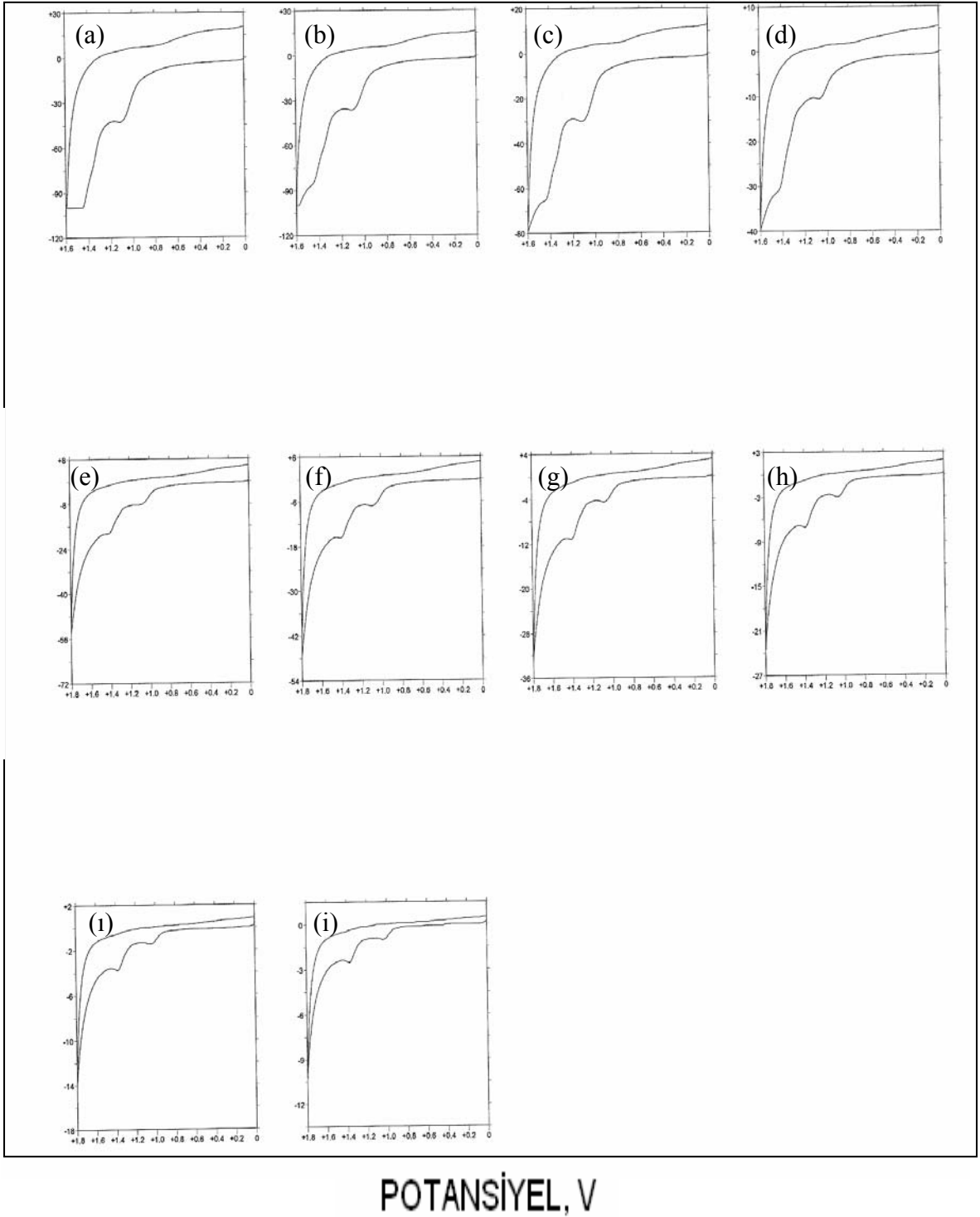
0,1 M H₂SO₄ içerisinde 1×10^{-4} M atorvastatin kalsiyumun değişik tarama hızlarındaki eğrileri $5 - 1000 \text{ mVs}^{-1}$ aralığında kaydedilmiştir. Bu deneylerden elde

edilen sonuçlara bakıldığı zaman 5 - 1000 mVs^{-1} aralığında hızın akım ile doğrusal olarak arttığı ve potansiyelin 60 mV kaydığı saptanmıştır.

Bu deneylerden elde edilen veriler Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Bu deneylere ait voltamogramlar Şekil 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.1.: $1 \times 10^{-4} \text{M}$ Atorvastatin Kalsiyumun 0.1 M H_2SO_4 Çözeltisi İçerisinde 5-1000 mVs^{-1} Tarama Hızları Arasında Elde Edilen Potansiyel (E_p) ve Akım (i_p) Değerleri.

Tarama Hızı (mVs^{-1})	$\psi^{1/2}$	I_p (μA)	E_p (mV)	$\text{Log}\psi$	$\text{Log } i_p$
5	2,24	0,854	1025	0,7	0,069
10	3,16	1,085	1029	1	0,04
25	5	2,103	1050	1,4	0,32
50	7,07	3,231	1058	1,7	0,51
75	8,66	5,038	1062	1,88	0,7
100	10	5,307	1068	2	0,73
500	22,36	19,71	1075	2,7	1,30
750	27,39	23,42	1077	2,88	1,37
1000	31,62	25,23	1085	3	1,40

AKIM, μA 

Şekil 3.3.: 1×10^{-4} M atorvastatin kalsiyumun 0.1 M H_2SO_4 (%10 metanollü ortam) çözeltisi içerisinde $5\text{--}1000 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızlarında elde edilen voltamogramlar **a)** 1000 mVs^{-1} ; **b)** 750 mVs^{-1} ; **c)** 500 mVs^{-1} ; **d)** 250 mVs^{-1} ; **e)** 100 mVs^{-1} ; **f)** 75 mVs^{-1} ; **g)** 50 mVs^{-1} ; **h)** 25 mVs^{-1} ; **i)** 10 mVs^{-1} ; **j)** 5 mVs^{-1}

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

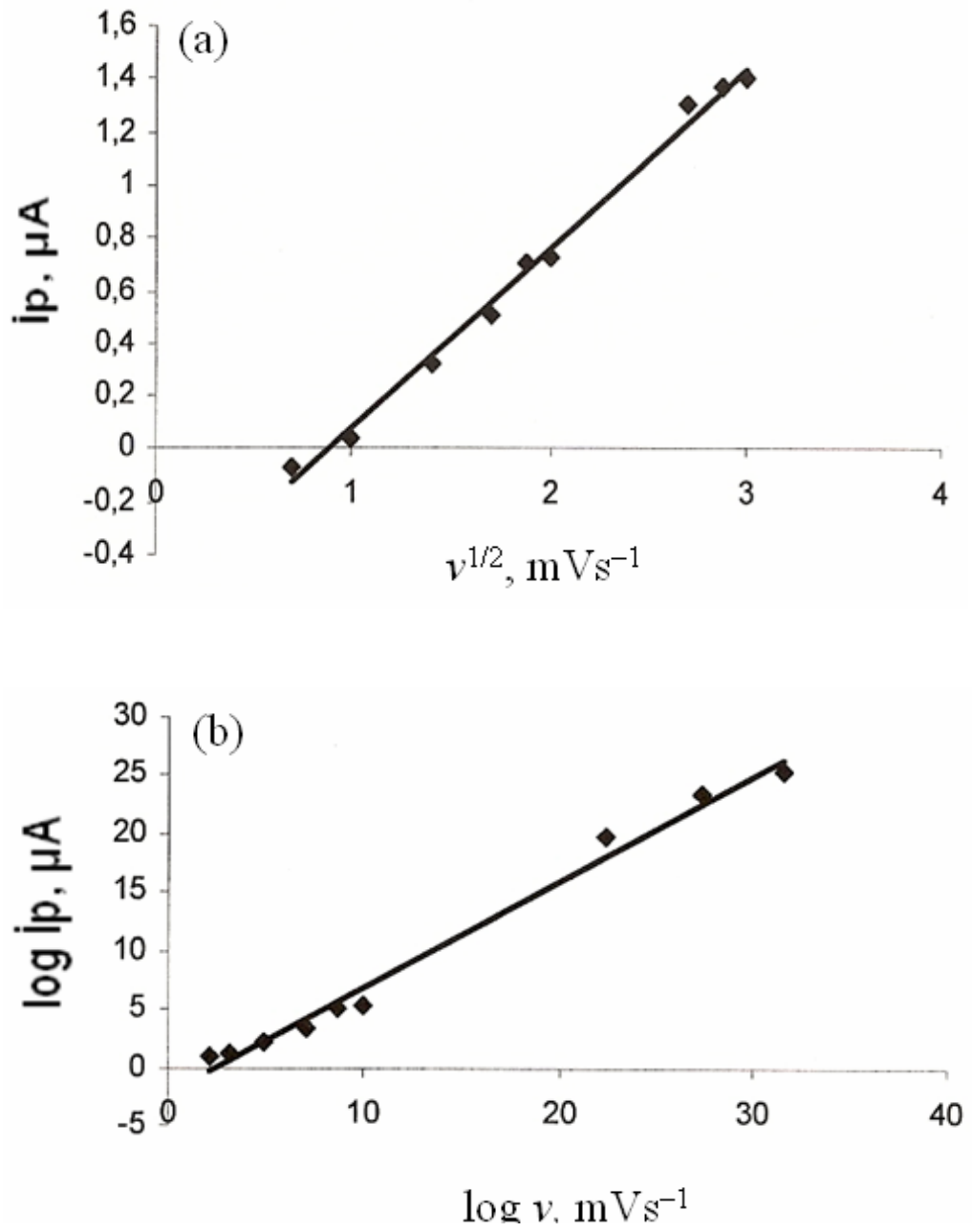
Akımın hızın karekökü ile doğrusal olarak değiştiği 5-1000 mVs⁻¹ tarama hızlarında gerekli hesaplamalar yapıldığı zaman doğru denklemi;

$$I_p (\mu A) = 0,910 \nu^{1/2} (mVs^{-1}) - 2,33 \quad (r = 0,99 ; n = 10) \text{ olarak bulunmuştur.}$$

Şekil 3.4.a., 3.4.b. ve denklemi incelenince eğim değerinin 0,68 olması reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu ancak adsorpsiyonun da etkisinde kaldığını göstermektedir. (Laviron ve ark., 1980; Greef ve ark., 1990). (Saf difüzyon kontrollü olduğu zaman ve çözeltinin bu madde için ideal olduğu durumlarda eğim 0,5, saf adsorpsiyon kontrollü olduğu zaman ve kullanılan elektrodun o olay için ideal olduğu durumlarda 1 olur.) (Laviron, 1980)

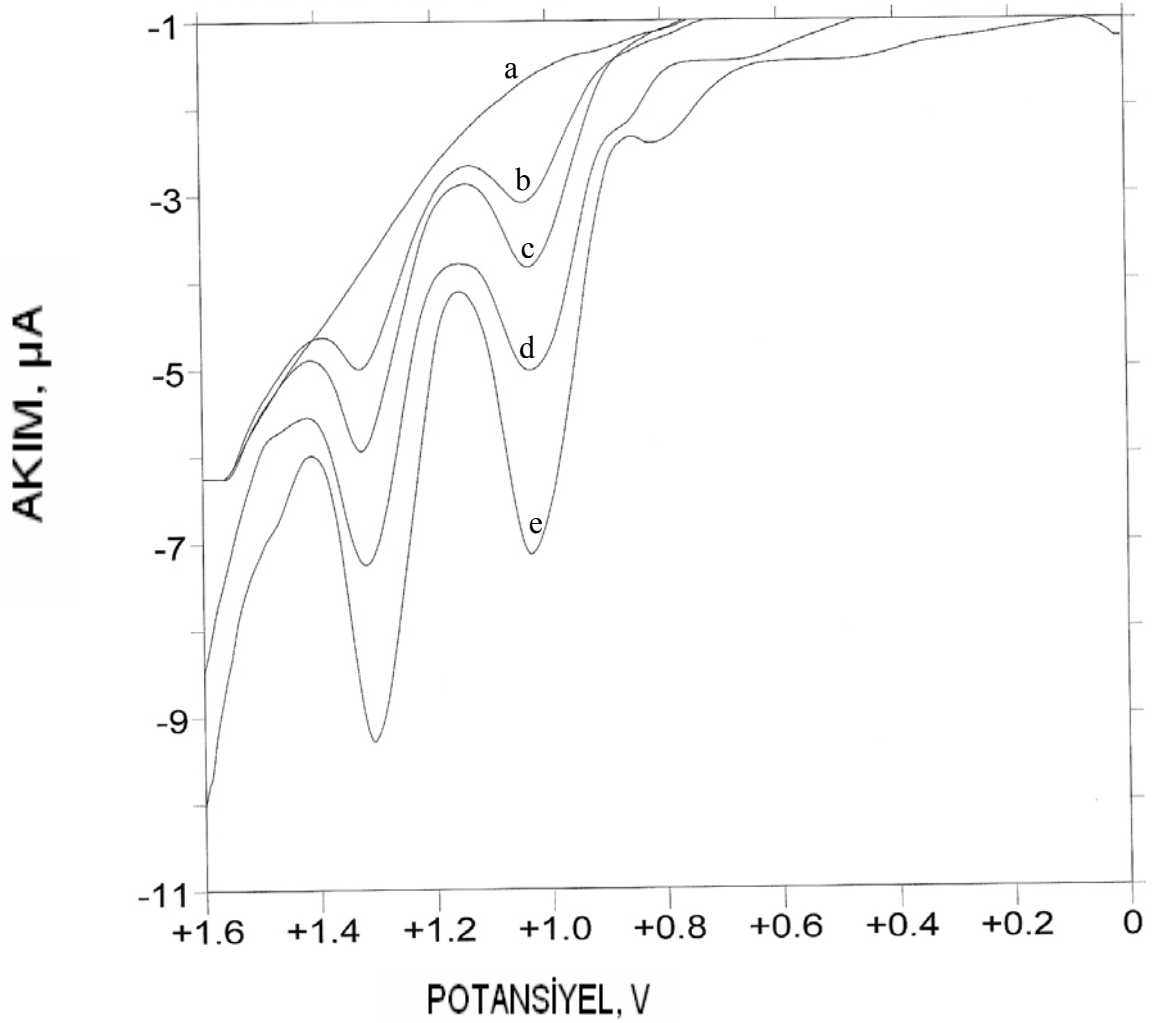
Elde edilen doğru denklemi;

$$\log I_p (\mu A) = 0,68 \log \nu (mVs^{-1}) - 0,61 \quad (r: 0,994 ; n: 10)$$



Şekil 3.4.: $1 \times 10^{-4} M$ Atorvastatin Kalsiyumun $0,1 M H_2SO_4$ Çözeltisi İçerisinde $5-1000 mvs^{-1}$ Tarama Hızlarında Elde Edilen DV'lara Ait a) $v^{1/2} - i_p$ ve b) $\log v - \log i$ grafikleri.

$0,1 M H_2SO_4$ içerisinde $2 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5} M$ derişim aralığında $25 mVs^{-1}$ tarama hızı ile elde edilen DPV eğrilerinden bazı seçilmiş derişimler Şekil 3.5'de verilmiştir. Deney şartları daha önceki bölümde verilen şartlarla aynıdır.

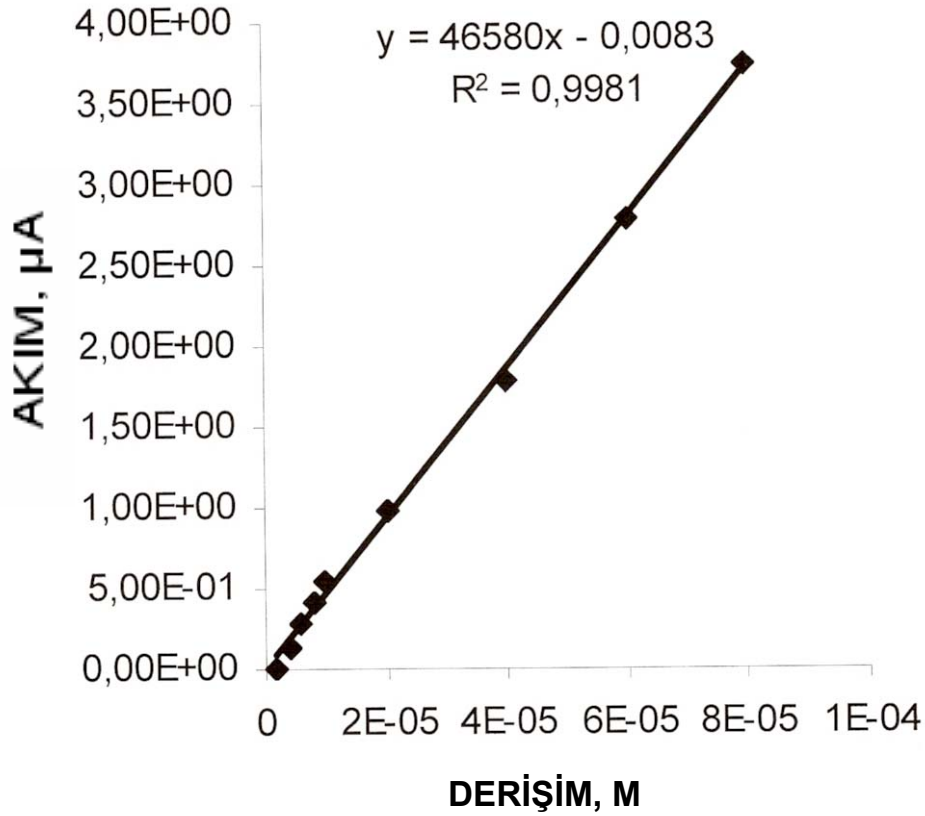


Şekil 3.5.: 0.1 M H₂SO₄ Çözeltisi İçerisinde 10⁻⁴ M Atorvastatin Kalsiyumun Seçilen Derişimlerdeki DP Voltamogramları **a**) 0,1 M H₂SO₄ (destek) **b**) 2x10⁻⁵ M **c**) 4x10⁻⁵ M **d**) 6x10⁻⁵ M **e**) 8x10⁻⁵ M .

Atorvastatin kalsiyumun pik akımı üzerine etkisi için optimum koşullar %10 metanollü ortamda 0,1 H₂SO₄ destek elektroliti içeren ortamda DPV tekniği kullanılarak elde edilmiştir. Tablo 3.2’de atorvastatin derişimleri (C) ve DPV için +1.02 V da bunlara karşılık gelen pik akımı değerleri (ip) verilmiştir. Bu değerlere göre 2x10⁻⁶–8x10⁻⁵ M derişim aralığında derişim-pik akımı arasında $r = 0,999$ korelasyon kat sayısı ile $ip (\mu A) = 4.66 \times 10^4 C (M) - 0,0083$ eşitliğine uyan doğrusal ilişki bulunmaktadır. (Şekil 3.6)

Tablo 3.2: Atorvastatin Kalsiyumun % 10 Metanollü Ortamda 0,1 M H₂SO₄ Destek Elektroliti İçerisinde Elde Edilen Derişim-Pik Akımı İlişisine Ait Analiz Sonuçları.

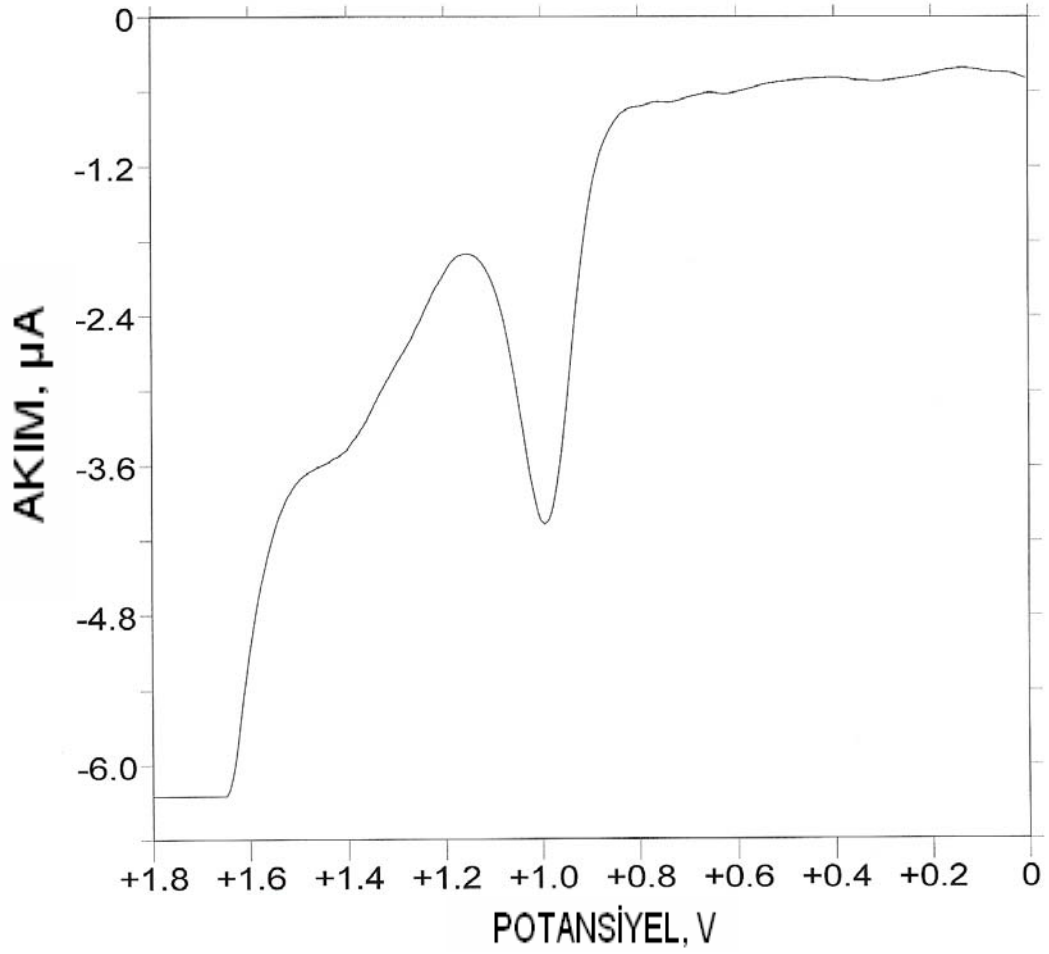
Derişim (M)	Pik akımı (µA)
2×10^{-6}	0,0039
4×10^{-6}	0,129
6×10^{-6}	0,280
8×10^{-6}	0,419
1×10^{-5}	0,537
2×10^{-5}	0,969
4×10^{-5}	1,78
6×10^{-5}	2,79
8×10^{-5}	3,73



Şekil 3.6.: 2×10^{-6} – 8×10^{-5} M Derişim Aralığında Atorvastatin'in 0,1 M H₂SO₄ Destek Elektroliti İçerisinde (% 10 Metanollü ortam) DPV Tekniği İle Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği.

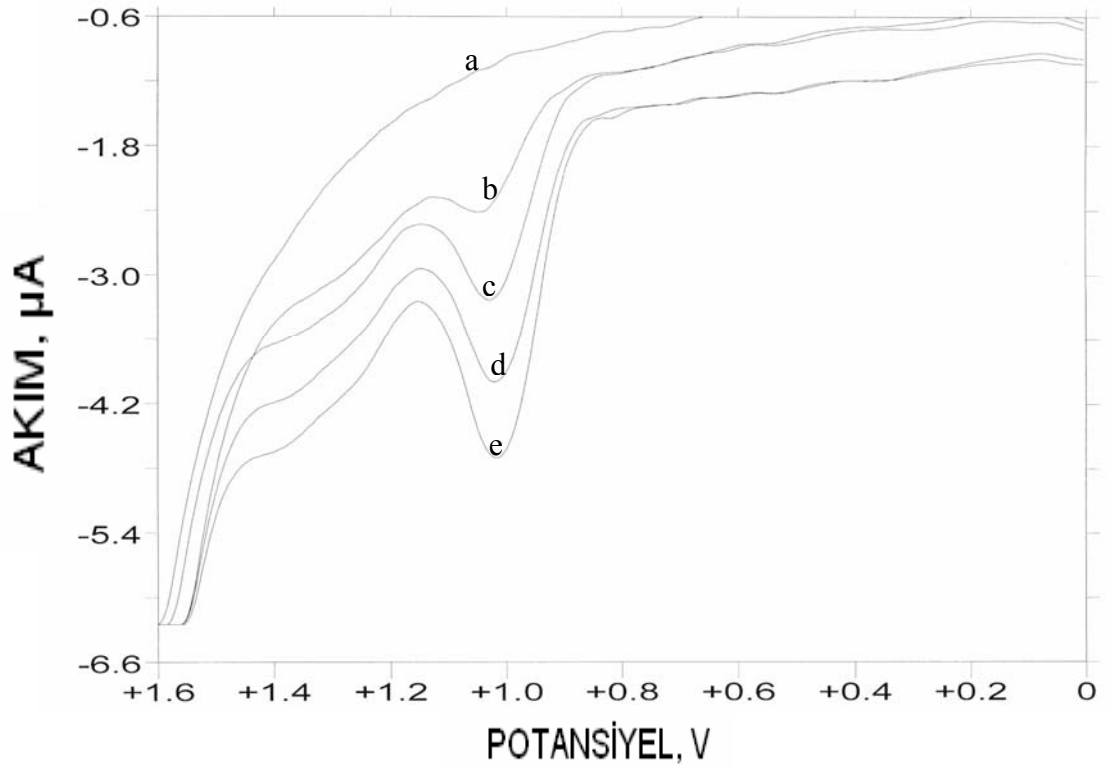
3.1.2. Atorvastatin Kalsiyum'un pH =3 BR Tamponu Çözeltisi ile Yapılan Voltametri Çalışmaları

Atorvastatin kalsiyumun elektrokimyasal yükseltgenmesi pH=3 BR tamponu ortamında da yapılmıştır. Atorvastatin kalsiyumun pH>2 de tek bir anodik pik verdiği gözlenmiştir. Şekil 3.7'de pH=3 BR tamponunda ise 1,00V'da tek bir anodik pik verdiği görülmüştür.



Şekil 3.7.: pH 3 BR Tamponunda (%10 metanollü ortam içerisinde) 1×10^{-4} M Atorvastatin Kalsiyuma Ait Voltamogram.

Bu ortamda 2×10^{-6} – 8×10^{-5} M derişim aralığında DPV eğrilerinden bazı seçilmiş derişimler Şekil 3.8’de verilmiştir.

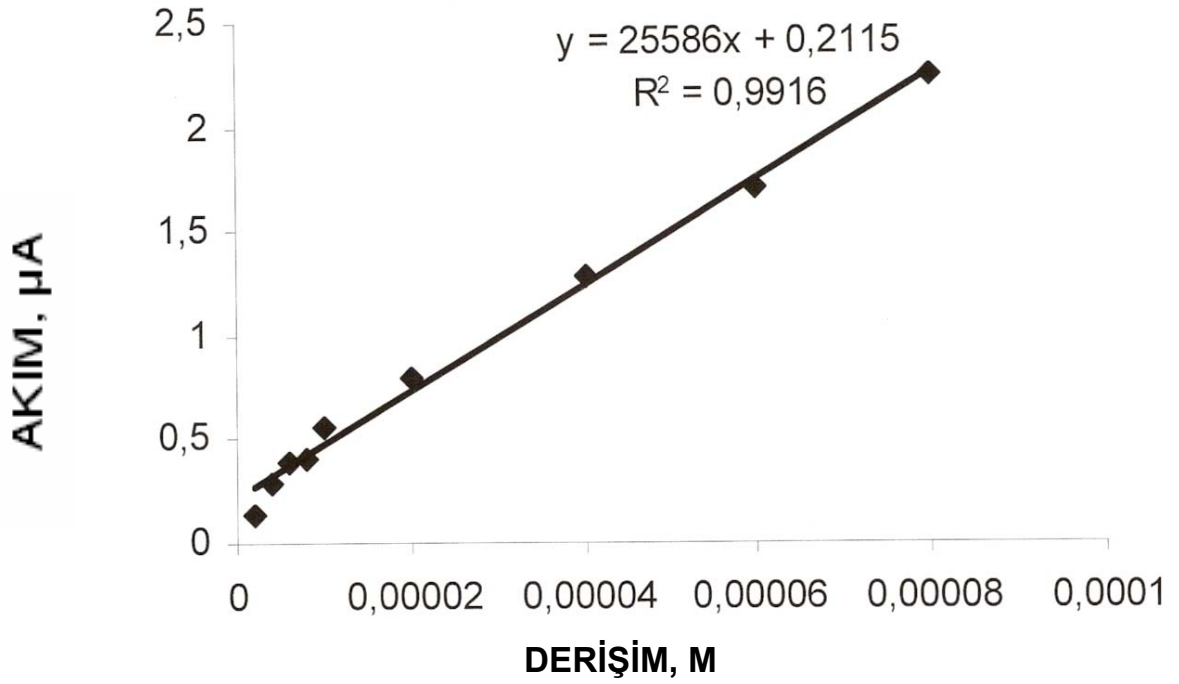


Şekil 3.8.: pH 3 BR Tamponu İçerisinde (%10 metanollü ortam) 1×10^{-4} M Atorvastatin Kalsiyumun Seçilen Derişimlerdeki DP Voltamogramları **a)** pH 3 BR Tamponu (destek) **b)** 2×10^{-5} M **c)** 4×10^{-5} M **d)** 6×10^{-5} M **e)** 8×10^{-5} M.

Tablo 3.3'de atorvastatin kalsiyum derişimleri (C) ve DPV için +1,0V'da bunlara karşılık gelen pik akımı değerleri (i_p) verilmiştir. Bu değerlere göre 2×10^{-6} – 8×10^{-5} M derişim aralığında derişim-pik akımı arasında $r = 0,999$ korelasyon kat sayısı ile $i_p(\mu A) = 2,56 \times 10^4 C(M) + 0,212$ eşitliğine uyan doğrusal ilişki bulunmaktadır.(Şekil 3.9)

Tablo 3.3.: Atorvastatin Kalsiyumun pH=3 Britton-Robinson Tamponu İçerisinde % 10 Metanollü Ortamda Elde Edilen Derişim-Pik Akımı İlişkinine Ait Analiz Sonuçları.

Derişim (M)	Pik akımı (μA)
2×10^{-6}	0,134
4×10^{-6}	0,284
6×10^{-6}	0,382
8×10^{-6}	0,407
1×10^{-5}	0,558
2×10^{-5}	0,795
4×10^{-5}	1,281
6×10^{-5}	1,706
8×10^{-5}	2,241



Şekil 3.9.: 2×10^{-6} – 8×10^{-5} M Derişim Aralığında Atorvastatin'in pH=3 BRT Destek Elektroliti İçerisinde (%10 Metanollü ortam) DPV Tekniği İle Elde Edilen Kalibrasyon Grafiği.

Bu sonuçlara dayanarak camsı karbon elektrot ile DPV tekniği kullanılarak atorvastatin kalsiyumun ticari tabletlerden miktar tayininin yapılabileceğine karar verilmiştir.

3.2. Diferansiyel Puls Voltametrisinin Kullanım Alanları

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

Squella ve Ark., (1996) tarafından yapılan bir araştırmada farmasötik preparatlarda loratadin'in polarografik yöntemlerle miktar tayini yapılmıştır. Bir antihistaminik olan Loratadin, civa elektrot kullanılarak indirgenebilen bir madde değildir. Ama nitratasyona uğratıldıktan sonra oluşan nitro-loratadin bileşiği bir karboksilik asit etil esteri olup, bu ürün üzerinde değişik pH ve derişimlerde polarografi ve dönüşümlü voltametri yöntemleri uygulanarak elektrokimyasal indirgenme yapılmıştır. Eldeki nitrolu ürünün diferansiyel puls polarografik pikine sahip olduğu tayin edilmiştir. Nitro grubunun indirgenmesinden dolayı bu pik farmasötik dozaj formlarındaki loratadinin tayin edilmesinde kullanılan analitik prosedürün keşfedilmesine kullanılmıştır.

Hernández ve ark., (1996) Sabit camsı karbon ve platin elektrotlarla dönüşümlü, doğrusal taramalı ve diferansiyel puls voltametri ve döner disk voltametri kullanarak etamivanın (N,N – dietil – 4- hidroksi – 3- metoksi – benzamid) elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerinde çalışmışlardır. Potansiyometrik ve spektrofotometrik metotlarla sırasıyla 8,98 ve 9,03 olarak pK_a değerlerini elde etmişlerdir. Bileşik elektrokimyasal olarak geri dönüşümlü iki elektronlu yükseltgenme pikini takip eden geri dönüşümsüz kimyasal reaksiyon vermiş ve yeni bir redoks çifti üretmiştir. 0,87 - 0,55 ve 0,61 V da (Ag / AgCl / 3 mol KCl) 0,05 M sülfürik asit veya 0,1 M hidroklorik asitte en iyi ölçülen pikler elde edildi. Dönüşümlü voltametrideki pik akımları ve döner disk elektrotundaki sınır akımı difüzyon kontrollü bulunmuştur. Döner disk elektrot voltammetrisi kullanıldığında 20,34 Hz rotasyon frekansı için kütle – aktarım oranı sabiti $5,26 \times 10^{-3}$ cm/sn, difüzyon katsayısı $6,5 \times 10^{-6}$ cm² / sn, yük – transferi bağlı oran sabiti $1,2 \times 10^{-3}$ cm/sn ve yük – transfer katsayısı (β) 0.91 idi. Doğrusal taramalı voltametri de kalibrasyon eğrileri platin elektrotunda $7,0 \times 10^{-5}$ – $8,0 \times 10^{-4}$ aralığında ve 50 mV / sn'de 0,05 M sülfürik asitteki camsı karbon elektrotta ise 4.0×10^{-5} – 1.0×10^{-3} M aralığında doğrusallık saptanmıştır. C₁₈ kartuşları ile ilacın ön ayrımıyla (Sep-Pak, Waters) diferansiyel puls voltammetri kullanılarak insan idrarında elektrokimyasal etamivan tayinine yönelik bir yöntem geliştirilmiştir. Ortalama geri kazanım değeri % 92 ± 6 bulunmuştur (n=8). Standart ekleme metodu uygulanmıştır.

Bağıl standart sapma %9 dan daha düşük bulunmuştur. (15 mg / mL etamivan içeren örnekler için). Belirleme alt sınırı her bir mL idrar için 4 µg saptanmıştır.

Fdez ve ark., (1996) yaptığı çalışmada antihipertansif bir ilaç olan Doksazosin'in voltametrik davranışı incelemişler. Diferansiyel puls polarografisi (DPP) ve kare dalga polarografisi (KDP) olmak üzere iki yöntem kullanılmıştır. Söz konusu yöntemlerde civa elektrot kullanılmıştır. Her iki yöntemde de sırasıyla 1,33 ve 1,41 V' ta polarografik pik gözlenmiştir. Bu pik, Britton-Robinson tamponundaki azometin grubunun pH=5,75'de, kısa ön derişim aralığı ve 0,24 V'luk biriktirme potansiyeline karşılık gelmektedir. İndirgenme davranışını keşfedebilmek amacıyla çeşitli elektroanalitik teknikler kullanılmıştır. Sonuç olarak sistemin geri dönüşümsüz ve adsorpsiyon kontrollü olduğu bulunmuştur. Saptama limit derişimleri sırasıyla $6,4 \times 10^{-10}$ M (KDP) ve $2,2 \times 10^{-11}$ M (DPP) olarak bulunmuştur. Doksazosin'in diferansiyel puls polarografisi ile derişim aralığı 8×10^{-11} M ve 5×10^{-10} M olarak bulunmuştur. Minimum saptama derişimi olan 0,01 mikrogram / ml⁻¹, kromatografik teknikler ile saptanabilen en düşük derişimden 50 kat daha küçüktür.

Farmasötik tabletlerdeki ve intestinal sıvılardaki seknidazol'ün diferansiyel puls polarografisi ile tayini için J. Lichtig ve ark., (1996) tarafından yapılan çalışmada seknidazol'ün 0,04 M borat tamponu kullanılarak diferansiyel puls polarografisi ile tayini yapılmıştır. Ayrıca mekanizma çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. İndirgenme olayının geri dönüşümsüz ve difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. Geliştirilen yöntem yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile kıyaslanmış ve aralarında önemli fark olmadığı bulunmuştur.

Sturm ve ark., (1997) ketorolak üzerinde DPV tekniği kullanarak çalışmışlardır. Ketorolak civa elektrot yardımıyla elektrokimyasal olarak indirgenebilen bir analjezik-antienflamatuvar bir ajandır. Ketorolak molekülünün indirgenebilmesi için, yapıdaki benzoilin indirgenmesi gereklidir. Analitik çalışmalar için pH=9' da çok net fark edilebilen difüzyon kontrollü indirgenme piki kullanılmıştır. Elde edilen bu pik ilaç etken maddesinin farmasötik dozaj formlarından tayini için yöntem geliştirilmesinde kullanılmıştır. Sonuç olarak kontrol çalışmaları göstermiştir ki

uygulanan yöntem ticari amaçla kullanılan tabletlerin incelenmesinde son derece hızlı ve pratiktir.

Özkan ve ark., (1998) tarafından metonidazol'un camısı karbon elektrot kullanılarak elektrokimyasal olarak indirgenmesi ve farmasötik dozaj formlarındaki miktarının saptanması amacıyla yapılan çalışmada pH etkisi, derişim, tayin aralığı ve tarama hızı, kullanılan organik çözücünün ve yüzey etkin maddenin cinsi incelenmiştir. pH=10'da Britton-Robinson tamponunda $2 \times 10^{-6} \text{ M} - 6 \times 10^{-4} \text{ M}$ derişim aralığında tayin yapılabildiği belirlenmiştir. Ayrıca sonuçlar USP XXIII göre YPSK (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile karşılaştırılmıştır ve sonuçların benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Arranz ve ark., (1999) prazosin'in voltametrik ve spektrofotometrik teknikler yardımıyla idarar numunesi ve farmasötik dozaj formlarından tayini amacıyla yaptıkları çalışmada; prazosin'i Britton-Robinson tamponunda pH=6,0'da 750 mV'ta biriktirmişler ve meydana gelen katodik pikin potansiyelinin sıfır volta yakın olduğunu tayin etmişlerdir. Yapılan dönüşümlü voltametri çalışmaları, sistemin adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermiştir. Daha hassas sonuçlar elde edebilmek amacıyla diferansiyel puls voltametri kullanılmıştır. Adsorptif voltametrik pik akımları ile derişim arasında, $4 \times 10^{-11} \text{ M} - 4 \times 10^{-8} \text{ M}$ derişim aralığında doğrusallık olduğu ve saptama limit derişiminin $3,1 \times 10^{-11} \text{ M}$ olduğu tayin edilmiştir. $8 \times 10^{-10} \text{ M}$ derişimde hazırlanmış bir sistemin varyansı (n=10 için) % 4,08 bulunmuştur. Prazosin üzerinde yapılan spektrofotometrik çalışmalarda 246 ve 329 nm'de (pH=1,8) iki pik belirlenmiştir. 329 nm'deki pikin yüksekliği ve pozisyonunun pH'ya bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Ultraviyole (UV) spektrofotometrisi ile yapılan ölçümlerde $0,9 \times 10^{-7} \text{ M} - 1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 'lık prazosin çözeltileri kullanılarak yapılan analizlerde (n=10) elde edilen varyans % 1,14 çıkmıştır. Bu sonuçlara göre adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisinin, UV spektrofotometrisine oranla daha hassas olduğu bulunmuştur.

Zuhri ve ark., (1999) ise tabletlerdeki tinidazol'un tayini üzerine yaptıkları çalışmada tinidazol'un elektrokimyasal olarak indirgenmesini $pH= 1,8-11,3$ aralığında diferansiyel puls polarografisi kullanılarak yapılmışlardır. Tinidazol'un pH 'ya bağlı olarak bir veya iki tane indirgenme piki verdiği bulunmuştur. $pH=3$ BR tamponu içerisinde belirme alt sınırı $0,03 - 7,30$ mikrogram/ml olarak bulunmuştur. Yöntem tabletlerdeki tinidazol'un miktar tayininde kullanılmış, geri kazanımı %98,7 standart sapması ise $0,03$ olarak belirlenmiştir.

Bermejo ve ark., (2000) camsı karbon elektrotta dönüşümlü, doğrusal taramalı ve döner disk voltametri kullanılarak mefeksamid *N*- [2-(dietilamino) etil] -2 - (4-metoksifenoksi) asetamidin elektrokimyasal yükseltgenmesini araştırmışlar. Potansiyometrik yöntemle pK_a değeri (9,01) bulunmuştur. Nötr çalışma ortamında, dönüşümlü voltametricde bileşik iki elektrokimyasal geri dönüşümsüz yükseltgenme piki göstermektedir. Pikin yükseltgenmesi sonucu ortaya çıkan yeni bir redoks çifti, Red_3 / O_{x3} geri yönlü negatif temizlik süreci üzerinde gözükmemektedir ve geri dönüşümsüz bir kimyasal reaksiyonu takip etmiştir. Asit ortamda sadece O_{x1} piki gözlenmiştir. En iyi belirlenen pikler $0,040$ mol Britton-Robinson tamponunda ($pH 6,0$) ve $0,10$ mol sodyum sülfat bulunan $0,010$ mol sülfürik asitte elde edilmiş ve kalibrasyon eğrileri 20 mV / sn değerinde $5,0 \times 10^{-5} - 5,0 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında doğrusal bulunmuştur. Ayrıca diklorometanla ekstrakte edilen $0,040$ M Britton – Robinson tamponunda ($pH 6,0$) diferansiyel puls voltametri kullanılarak insan idrarında elektrokimyasal olarak mefeksamid tayinine yönelik bir yöntem geliştirilmiştir. Her bir ml idrar için mefeksamidin tayin sınırı $0,8$ mg olarak bulunmuştur.

Anh ve Sharp, (2000) seyreltik çözeltilerdeki siyanür derişimini döner gümüş elektrot yüzeyi üzerinde eş zamanlı Ag_2S ve $AgCN$ çökmesiyle çalışmışlardır. Örneklerde sülfid bulunmayan durumlarda hiçbir $AgCN$ çökmesi gözlenmedi. Bunu takiben hem puls voltametri hem de kare-dalga voltametri ile katodik sıyırma işlemi uygulandı. Bu iki yöntemdeki siyanür tayin sınırları sırasıyla $0,35$ ve $1,2$ μm olarak bulunmuştur.

Bir başka çalışmada ise Ramipril'in voltametik davranışı, dönüşümlü voltametri, direkt akım polarografisi, diferansiyel puls polarografisi ve alternatif akım polarografisi kullanılarak A.Majed ve Ark., (2000) tarafından incelenmiştir. Ramipril'in pH=6-12 aralığında Britton-Robinson tamponunda çok iyi tanımlanabilen katodik dalgalara sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen dalgaların difüzyon kontrollü ve geri dönüşümsüz karakterde oldukları saptanmıştır. Akım-derişim ilişkisinin direk akım polarografisinde 10 - 50 mikrogram/ml aralığında, diferansiyel puls polarografisinde 4 - 40 mikrogram/ml ve alternatif akım polarografisinde 0,16 - 12 mikrogram / ml aralığında doğrusal olduğu bulunmuştur. Alternatif akım polarografisi kullanılarak elde edilen minimum tayin derişimi 0,02 mikrogram/ml olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemler ramipril'in ticari tabletlerindeki miktar tayinlerinin yapılmasında başarıyla uygulanabilmiştir. Ayrıca ramiprilin plazma ve idrar numunelerinden tayinleri alternatif akım polarografisi kullanılarak yapılabilmıştır.

Vılchez ve ark., (2000) eser miktarlardaki antibakteriyel lomefloksasin tayini için adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi (adSDPV) yöntemini ileri sürmüşlerdir. -0.30 V birikme potansiyeli ve 2 dakikalık birikme zamanı kullanıldığında uygulamanın doğrusal derişim aralığı 1,0 - 10,0 ng/mL lomefloksasin iken bağıl standart sapması % 3,8 (5,0 ng/mL seviyesi için) ve tayin sınırı 0,3 ng/mL olarak bulunmuştur. Bu yöntem insan idrar ve serum örneklerinde lomefloksasin tayinine uygulanmıştır. Kıyas metodu olarak YPSK kullanıldığında geçerlilik sağlanmıştır.

Radi, (2000) dönüşümlü ve diferansiyel puls voltametri ile karbon pasta elektrotları üzerinde voltametik olarak diüretik ilaç indamapidin analizini gerçekleştirmişlerdir. Eser miktardaki indamapid tayini için hint yağı ile modifiye edilen karbon pasta elektrotunda adsorptif sıyırma yöntemi kullanılmıştır. pH, iyonik şiddet, indamapid derişimi, muhtemel etkileşimler gibi solüsyon değişkenleri ve tarama oranı, puls amplitüdü, ön-derişim zamanı, birikme potansiyeli, pasta bileşimi gibi enstrümental değişkenlere bağıl pik akım değişiklikleri çalışması analitik amaçlara uygun yükseltgenme sinyalinin optimum hale getirilmesi ile

sonuçlanmıştır. Anodik sıyırma diferansiyel puls voltametrinde kalibrasyon eğrisi pH 4,0 hint yağıyla modifiye edilen karbon pasta elektrotunda 5×10^{-9} M tayin sınırıyla $5 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-7}$ M derişim aralığında doğrusallık saptanmıştır. 3 dakikalık birikme ve ortam değişimi işleminden sonra seyreltilmiş olan serum örneğinde tayin sınırı 15 ng/mL olarak elde edilmiştir.

Özkan ve ark., (2000) cefadroksil monohidratın elektro yükseltgenmesi için DPV yöntemini kullanmışlar ve bu yöntemi spektrofotometrik yöntemlerle kıyaslamışlardır. Yöntem farmasötik dozaj şekillerine uygulanmıştır.

Sayın ve Kır, (2001) diflunisal'in elektrokimyasal yöntemlerle analizi konusunda yaptığı araştırmada; diflunisal'in elektrokimyasal davranışı ve kantitatif olarak tayini için diferansiyel puls polarografisi (DPP) ve adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisini kullanmışlardır. Söz konusu voltametrik yöntemlerle yapılan analizler sonucunda, Britton-Robinson tamponu kullanılarak, pH= 7,8 değerinde diflunisal'in -0,31 V'da pik verdiği bulunmuştur. Pik akımı ile derişim arasındaki ilişki DPP için 9,0-40,0 mikrogram/ ml^{-1} aralığında doğrusal, adSDPV için 4,0-30,0 mikrogram/ ml^{-1} aralığında doğrusal olarak bulunmuştur. Belirleme alt sınırı DPP için 5,0 mikrogram/ ml^{-1} , adSDPV için 0,1 mikrogram/ ml^{-1} olarak saptanmıştır. Geliştirilen bu yöntemler diflunisal'in ticari tabletlerdeki miktarının hızlı tayini için kullanılmaktadır. Validasyon çalışmaları sonucunda DPP için %99,92 tekrarlanabilirlik, %0,29 standart sapma, adSDPV için % 100,02 tekrarlanabilirlik, %0,24 standart sapma değerleri elde edilmiştir.

Uslu ve ark., (2001) bir başka çalışmada ise olsalazin'in DPV tekniği kullanılarak elektro yükseltgenmesini incelemiştir. pH 7,0 fosfat tamponunda 2×10^{-6} M – 2×10^{-4} M aralığında doğrusallık elde edilmiş ve yöntem ticari kapsül formuna başarı ile uygulanmıştır. UV spektrofotometrik yöntemle karşılaştırma çalışması yapılmıştır.

Özkan ve ark., (2001) pimoziid'in yükseltgenme davranışını karbon bazlı elektrotlarda hidroalkolik ortamda (10-90, metanol-H₂O; pH aralığı 2-7,5) çalışmışlardır. Pimoziid yüksek pozitif potansiyellerde geri dönüşümsüz şekilde yükseltgenmiş ve çok daha düşük potansiyellerdeki indirgenme ve tekrar yükseltgenme piki ile bir çift oluşumuyla sonuçlanmıştır. pH, tarama hızı, yüzey aktif madde ilavesi ve diğer değişkenler göz önüne alınarak elde edilen cevap değerlendirildi. Diferansiyel puls voltametri (DPV) kullanıldığında ilaç camısı karbon elektrot üzerinde +1,1 V'da (Ag/AgCl karşısında) pH 2,1 Britton-Robinson tamponunda iyi belirlenmiş bir voltametrik cevap vermiştir. Bu işlem $8 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4}$ M pimoziid derişimlerini belirlemek için kullanılabilir. Tabletler ve insan serum analizlerindeki uygulamalar gösterildi. Ayrıca, $2,7 \times 10^{-10}$ M (0.25 ppb) seviyesine kadar pimoziid tayinine imkan veren bir elektrokimyasal tayin yapan yüksek performanslı sıvı kromatografi metodu (YPSK-EC) geliştirildi.

Meloksikam'ın, civa elektrot kullanılarak tablet formlarından elektrokimyasal indirgenme ile tayini amacıyla Beltagi ve Ark., (2001) tarafından yapılan çalışmada; çeşitli elektrokimyasal yöntemler kullanılarak akışkan çözeltiler ile geniş pH aralığında çalışılmıştır. Asidik ortamda ilacın indirgenmesi tek basamakta gerçekleşirken, hafif asidik ve nötral ortamda iki basamak üzerinden yürüdüğü bulunmuştur. Bazik ortamda meloksikam tek basamaklı olarak indirgenmiştir. 1×10^{-8} M – $5,0 \times 10^{-6}$ M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiş ve tablet analizi başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Uslu ve ark., (2001) melatonin ve piridoksin'in tablet formlarından aynı anda tayini için DPV yöntemini geliştirmişlerdir. pH etkisi, tampon yapısı, potansiyel tarama hızı ve derişim etkileri incelenmiş ve 0,5M H₂SO₄ 'li ortam analiz çalışmaları için uygun bulunmuştur. Melatonin için 2×10^{-5} M – 8×10^{-5} M aralığında, Piridoksin için ise 2×10^{-5} M – 4×10^{-4} M aralığında doğrusallık bulunmuştur. Geliştirilen yöntem tablet formlarına uygulanmış ve tablet katkı maddelerinin bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Wang ve ark., (2001) tarafından $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ tampon çözeltisinde (pH 6,88 , 25 °C) % 6 (mol/mol) ponza taşıyla modifiye edilen karbon pasta elektrotu kullanılarak diferansiyel puls voltametri ile (DPV) prokain hidroklorür miktarı tayin edildi. Kullanılan anodik pik potansiyeli + 0.980 V (DKE karşısında) olarak bulunmuştur. Anodik pik akımı ile $9,0 \times 10^{-7} - 2,6 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ prokain derişim aralığında doğrusallık saptandı ve tayin sınırı $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol / l}$ olarak bulunmuştur. % 3,2 bağıl standart sapma ile geri kazanım % 95,2 – 104,8 (n=10) olarak bulundu. Farmasötik preparatlarda, prokain hidroklorür enjeksiyonu ve idrar örneklerinde arzu edilen sonuçlarla istenilen tayinler yapılabildi.

Yılmaz ve ark., (2001) tarafından etodolak'ın farmasötikler ve insan serumundan kare dalga ve diferansiyel puls voltametri kullanılarak tayini amacıyla yapılan araştırmada; Etodolak'ın anodik yükseltgenmesi ve camısı karbon elektrotta voltametik analizi gerçekleştirilmiştir. Etodolak'ın elektrokimyasal yükseltgenmesi dönüşümlü, diferansiyel puls ve kare dalga voltametri kullanılarak camısı karbon elektrotta gerçekleştirilmiştir. Etodolak'ın tayini için gerekli koşulların optimize edilmesi amacıyla çeşitli parametreler test edilmiştir. Akım ve potansiyellerin pH'ya bağılıkları, derişim, tarama hızı, tamponun yapısı gibi koşullar üzerindeki değişiklikler incelenmiştir. Analitik amaçlar için kullanılacak pik pH=2,15 BR tamponunda elde edilmiştir. DPV kullanılarak $2 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$ aralığında, kare dalga voltametri kullanılarak $6 \times 10^{-6} \text{ M} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$ doğrusallık elde edilmiştir. Belirme alt sınırı diferansiyel puls voltametri için $6,8 \times 10^{-7} \text{ M}$, kare dalga voltametri için $1,1 \times 10^{-6} \text{ M}$ olarak bulunmuştur. Bütün bunlara dayanarak tabletlerdeki ve insan serumundaki etodolak'ın saptanmasında basit, hızlı, selektif ve hassas iki yöntem geliştirilmiştir.

El-Ries ve Ark., (2002) tarafından yapılan araştırmada farmasötik preparatlardaki propranolol'ün polarografik olarak tayini amaçlanmıştır. Propranolol nitrik asit ile nitrolanarak nitropropranolol elde edilmiş ve Britton-Robinson tamponunda pH=2 - 12 aralığında diferansiyel puls polarografisi kullanılarak tayini yapılmıştır. Elde edilen kalibrasyon grafiğinde $5,0 \times 10^{-7} \text{ M} - 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ aralığında

doğrusallık görülmüştür. 5×10^{-6} M derişimde bağıl standart sapma % 1,95 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak uygulanan yöntem pratik, ucuz ve hızlı olarak nitelendirilmiştir.

Uslu ve ark., (2002) ise bir çalışmada S-adenosil metionin'nin pH= 1,5 - 11 aralığında yükseltgenmesini dönüşümlü voltametri, DPV ve kare dalga voltametrisi ile incelemiştir. pH= 2,04 de difüzyon kontrollü dönüşümlü yükseltgenme piki elde edilmiş ve analitik amaçlarla kullanılmıştır. DPV ve kare dalga voltametrisi kullanılarak 2×10^{-5} M – 6×10^{-4} M aralığında doğrusallık saptanmış ve DPV için belirme alt sınırı $2,6 \times 10^{-6}$ M, kare dalga voltametrisi için ise $2,4 \times 10^{-6}$ M olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem tablet dozaj şekillerine uygulanabilmiştir.

Tamer ve ark., (2002) 0,04 M Britton – Robinson tampon (pH 9,0) çözeltisinde silazapril'i adsorptif sıyırma voltametrisi ile analiz etmişlerdir. Bu yöntem asılı civa damlası elektrotunda ilacın adsorptif birikiminden sonra diferansiyel puls voltametrisi ile tayinine dayanmaktadır. Ön-derişim zamanı, pH etkisi, birikme potansiyeli, birikme zamanı ve tarama hızı göz önüne alınarak elde edilen pik değerlendirilmiştir. Pik potansiyeli -0.60 V'dur. (Ag / AgCl karşısında). Pik akımı 10 saniye birikme zamanında $17,6 \text{ ng.ml}^{-1}$ tayin sınırıyla silazapril derişimiyle doğru orantılıdır. İndirgenme süreci geri dönüşümsüz ve dalga adsorptif özellikler göstermiştir. Elde edilen sonuçlar YPSK yöntemi kullanılarak elde edilenlerle karşılaştırıldı. İç standart olarak benazopril, ters faz kolonu ve hareketli faz olarak fosfat tamponu (pH 3,5; 0,125 M) – asetonitril (67:33, v/v) kullanıldı. UV dedektörü 254 nm'ye ayarlandı. YPSK'dan elde edilen sonuçlar adsorptif sıyırma voltametri yöntemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve sonuçların benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Salcı ve Biryol, (2002) tarafından dönüşümlü voltametri (DV) ve diferansiyel puls voltametriyle (DPV) camısı karbon elektrot kullanılarak β -estradiol'ün elektro yükseltgenmesi araştırılmıştır. Derişim ile pik akımı arasındaki doğrusal ilişkilerin istatistiksel analizi 4×10^{-5} – 10^{-3} M derişim aralığında hem DV hem de DPV ile

yeterli doğruluk ve keskinlikte β -estradiol miktarının belirlenmesine imkan vermiştir. Bu bileşiğin elektro yükseltgenmesine ilişkin bir mekanizma ileri sürülmüştür. Bu yöntemler tablet ve transdermal terapotik sistem (TTS) formundaki ilaca uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar resmi yüksek performanslı sıvı kromatografi (YPSK) yönteminde elde edilenlerle istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve farklılıkların anlamlı olmadığı bulundu.

Fluvastatin Sodyum'un elektrokimyasal çalışmasını yine Özkan ve Uslu, (2002) DPV ve kare dalga voltametri tekniğini kullanarak yapmışlar, analiz ortamı olarak pH 10,04 BR tamponunu seçmişlerdir. Kalibrasyon aralığı $8 \times 10^{-6} \text{M} - 6 \times 10^{-4} \text{M}$ olarak bulunmuş ve yöntem kapsül dozaj şekillerine ve biyolojik sıvılara uygulanabilmiştir.

Reddy ve ark., (2002) Britton-Robinson tampon sisteminde farklı voltametik teknikler kullanılarak sefalosporinlerin (sefiksine [CF] ve sefpodoksime proksetil [CP]) elektrokimyasal indirgenme davranışları üzerinde çalışmışlardır. Tüm pH aralığında her iki bileşik için de iki iyi belirlenmiş katot dalgası gözlenmiştir. İndirgenme sürecinde transfer edilen elektron sayısı hesaplanmış ve indirgenme mekanizması ileri sürülmüştür. Elde edilen sonuçlar her iki bileşikle yapılan işlemin geri dönüşümlü olmadığını ve difüzyon kontrollü olduğuna işaret etmiştir. CF ve CP'in pik akımlarının sırasıyla $6,0 \times 10^{-8} - 1,2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ ve $8,8 \times 10^{-8} - 1,1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ derişim arasında doğrusal olduğu bulunmuştur. Her iki bileşiğin alt tayin sınırı sırasıyla $4,6 \times 10^{-8}$ ve $8,52 \times 10^{-8}$ olarak saptanmıştır. Farmasötik formülasyonlar ile idrar örneklerinde bu ilaçların tayinine yönelik bir diferansiyel puls voltametri yöntemi geliştirildi.

Ghoneim ve ark., (2002) Prazikuantel'in polarografik ve dönüşümlü voltametik davranışını farklı pH değerlerindeki BR tamponlarında araştırmışlardır. Prazikuantel polarogramı pH 5 BR tamponunda tek 2-elektronlu geri dönüşümsüz indirgenme göstermiş ve dalga yüksekliği çözelti pH'sı 7 nin üzerine çıktığında dalga formu kaybolana dek pH değeri arttırıldıkça azalmıştır. Bu dalganın oluşum nedeni C=O çift bağının indirgenmesine bağlanmıştır. Prazikuantel'in kantitatif eser miktar

taini katodik adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametri ile asılı civa damlası elektrotunda çalışıldı. Madde türevleri oluşmaksızın direkt prazikuantel tayini için ilacın kontrollü adsorptif olarak ACDE üzerinde birikmesine dayalı yöntem geliştirilmiştir. Prazikuantel birikimini aşağıdaki şartlar altında destek elektrolit olarak 0.1 mol Na₂SO₄ çözeltisinde optimum olduğu tayin edildi: birikme potansiyeli -1.2 V (Ag / AgCl / KCl_s karşısında); birikme zamanı 30 saniye; tarama hızı 10 mV/sn ve puls yüksekliği 100 mV'dur. Önerilen yöntem farmasötik dozaj formları ile insan plazmasında prazikuantel tayininde başarılı şekilde uygulanmıştır. İlacın ortalama geri kazanım değerleri farmasötik dozaj şekilleri ile insan plazmasında sırasıyla % 0,49 - % 0,95 ve % 0,45 - % 0,52 bağıl standart sapmayla birlikte % 98,85 – 99,42 ile % 99,12 - 100,47 olarak bulunmuştur.

Şatana ve ark., (2002) sisaprid adlı etkin maddenin yükseltgenmesini DPV ve kare dalga voltametrisi yöntemlerini kullanarak geniş pH aralığında incelemişlerdir. En iyi sonuçlar pH= 3,5 asetat tamponu içerisinde elde edilmiş ve 1×10^{-6} M– 1×10^{-4} M aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Gerekli validasyon çalışmaları yapılmış ve yöntemi tablet formülasyonuna uygulamıştır.

Uslu, (2002) alfuzosin adlı etkin maddenin elektrokimyasal olarak yükseltgenmesini dönüşümlü voltametri, DPV ve kare dalga voltametrisini kullanarak incelemiştir. Alfuzosin'in pH= 2 - 7,5 aralığında anodik pik verdiği ve bunun da difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. DPV ve kare dalga voltametrisi ile 6×10^{-7} M – 1×10^{-4} M aralığında doğrusallık elde edilmiş belirme alt sınırı DPV için $1,56 \times 10^{-7}$ M, kare dalga voltametrisi için $6,2 \times 10^{-8}$ M, olarak saptanmıştır. Önerilen yöntem tablet dozaj şekillerine, insan serumu ve suni mide sıvısına uygulanmış, gerekli validasyon çalışmaları yapılmıştır.

Nigovic ve Simuni, (2002) tarafından azitromisin'in yükseltgenme davranışını dönüşümlü, doğrusal taramalı ve diferansiyel puls voltametrisi kullanarak farklı tampon sistemlerinde camı karbon elektrotla çalışmışlardır. Yükseltgenme sürecinin çalışılan tüm pH aralığında (5-11) geri dönüşümlü olduğu ve difüzyon – adsorpsiyon

kontrolünde bulunduğu gösterildi. Yeterli keskinliğe ve kesinliğe sahip olan analitik yöntem % 10 metanol ve 0,05 M amonyum asetat içeren destek elektroliti olarak pH 7 fosfat tamponunda azitromisin için doğrusal bulunmuştur. Pik akımı 1 - 15 µg/ml derişim aralığındaki azitromisin doğrusal (düzlemsel) şekilde farklılık gösterdi. Bu yöntem farmasötik dozaj formlarında yapılan ilaç çalışmalarına başarılı şekilde uygulandı. % 2,18 değerinde bağıl standart sapma (n=5) elde edildi.

Demircigil ve ark., (2002) ise DPV tekniğı ile ambroksol'ün yükseltgenme mekanizmasını incelemişler ve farmasötik preparatlardan başarıyla tayinini yapmışlardır.

Özkan ve ark., (2003) tamsulosin HCl 'in hem elektro yükseltgenme davranışlarının incelenebilmesi hem de farmasötik preparatlardan tayini için DPV ve kare dalga yöntemini geliştirmişlerdir. 2×10^{-7} M – 4×10^{-4} M aralığında bir doğrusallık bulunmuş ve belirme alt sınırı $3,04 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplanmıştır. Önerilen yöntem için validasyon çalışmaları da yapılmış ve serum numunesine başarıyla uygulanmıştır.

Nigovic ve Simunic, (2003) farklı tampon sistemlerinde camsı karbon elektrot kullanılan diferansiyel puls voltametri ile 5-aminosalisilik asidin (5-ASA) yükseltgenme davranışını araştırmışlardır. Analitik çalışmalar için uygun analitik ortam olarak pH 1,81 Britton-Robinson tamponu seçildi ve 5-ASA bu tampon içerisinde 0,564 V (Ag/AgCl karşısında) difüzyon kontrollü oksidatif pik göstermiştir. Pik akımı – derişim grafiğinde 1×10^{-4} ile 2×10^{-6} M aralığında doğrusallık bulunmuştur. Önerilen voltametrik yöntem ticari geç-salınımlı tablet formlarında ilaç tayinine uygulanmıştır. % 1,35 bağıl standart sapma değeri ile ortalama % 101,23 geri kazanım elde edildi.

Arguelho ve ark., (2003) tarafından hidrosiklorokin (HCQ) üzerinde DPV'ni kullanarak çalışmışlardır. Hidrosiklorokin sıklıkla antimalaryal (sıtma) ilacı olarak kullanılan, geniş bir biyolojik aktivite sunan bir halojenli aminokuinolin olup, çok

yüksek biyolojik aktivite gösterir. Hidroksiklorokin'in dönüşümlü voltametri ve kronoamperometri yöntemleri ile camı karbon elektrot kullanılarak elektrokimyasal olarak indirgenmesi araştırılmıştır. Orta derece asitle yapılan dönüşümlü voltametri sonucunda sadece katodik bir pik gözlemlenmiştir. Söz konusu pikin elektrokimyasal davranışı pH'ya bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Saptama alt limiti derişimi 11,1 mikrogram/ml⁻¹ ve yöntemin standart sapması % 0,46 olarak belirlenmiştir. Elektrokimyasal teknikler sayesinde düşük derişimde hidroksiklorokin analizi kolay ve pratik hale gelmiş ve düşük miktardaki ilacın rutin laboratuvar analizinde kullanılmaya başlanılmıştır.

Arranz ve ark., (2003) Ketokonazol'un Britton-Robinson tamponundaki elektro-analitik davranışını incelemiştir. Asılı civa damlası elektrotu (ACDE) üzerindeki indirgeme işlemi çalışılan pH aralığı içerisinde (4,7 – 9,6) –1,6 V üzerinde (Ag/AgCl/Doymuş KCl karşısında) bir pik vermiştir. Elde edilen sonuçlar ketakonazol indirgenmesinin geri dönüşümsüz olduğunu ve sınır akımının adsorpsiyon kontrolünde bulunduğunu göstermiştir. Pik akımının derişime bağımlılığı farklı polarografik ve voltametrik teknikler kullanılarak çalışıldı. Adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltammetrisi kullanıldığında (AdS-DPV) tayin sınırı 5,3 x 10⁻¹¹ mol/L olarak bulunmuştur. Sulu ortamdaki diferansiyel puls polarografi (DPP) ve AdSDPV'a dayanan iki yöntem sırasıyla jel formüllerde ve depolanmış idrar örneklerinde ketakonazol tayini için geliştirildi.

Adhoum ve ark., (2003) tarafından naproksen'in anodik yükseltgenmesi diferansiyel puls voltametri kullanılarak platin elektrotta gerçekleştirilmiştir. Naproksen Ag/AgCl'dekine kıyasla Asetonitril/0,1 M LiClO₄' de tek ve kolay ayırt edilebilen, 1146 mV potansiyelde pik verir. Bu yöntem sayesinde diferansiyel puls voltametri kullanılarak farmasötik dozaj formlarındaki naproksen'in basit, hassas ve seçici bir şekilde saptanması sağlanmıştır. Kalibrasyon 1-25 mikrogram/ ml⁻¹ arasında doğrusallık göstermiştir. (r²=0,998). Maddenin belirme alt sınırı 0,24 mikrogram/ ml⁻¹ olarak bulunmuştur ve alınan ölçümlerin bağıl standart sapması n=6 için % 1,2 bulunmuştur. Naproksen'e benzer yapıda olan 2-metoksi-6-etilnaftalen (MEN) ve 2-asetil-6-metoksinaftalen de aynı yöntemle tayin edilmişlerdir. Bu

maddelerin 1096 mV ve 1316 mV da pik verdikleri bulunmuştur. Dolayısıyla naproksen'in tayin edilmesinde kullanılan bu yöntemin yapıcı benzer bileşiklerde benzer sayısal değer sonuçları ve pikleri vermediği anlaşılmıştır. Sonuç olarak kullanılan bu yöntemin ayırt edici, hassas ve basit olduğu bulunmuştur. Söz konusu yöntem piyasa preparatlarına da uygulanmış ve % 99,8-101,2 arasında doğrulukta sonuçlar elde edilmiştir.

Erk, (2003) yaptığı çalışmada, mide parietal hücrelerinde H^+ , K^+ - adenozin 5-trifosfotaz inhibisyonu yoluyla anti-ülser ilacı olarak kullanılan pantoprazol adlı etkin maddeyi incelemiştir. Farmasötik dozaj formlarında ve insan plazmasında camısı karbon elektrot kullanılarak pantoprazol tayininde diferansiyel voltametrik puls yöntemi kullanılmış, 20,0 mV/sn tarama hızı ve 50,0 mV puls amplitüdü uygulanan pH 5,0 Britton-Robinson tampon çözeltisinde camısı karbon elektrot için en iyi voltametrik cevaba ulaşılmıştır. Pantoprazol için $6,0 \times 10^{-6} - 8,0 \times 10^{-4}$ M derişim aralığındaki doğrusallık bulunmuştur. Geliştirilen yöntemin kesinliği ve doğruluğu geliştirme çalışmalarıyla kontrol edilmiş, belirme alt sınırı (BSA) ve tayin alt sınırı (TAS) sırasıyla $4,0 \times 10^{-7}$ ve $9,0 \times 10^{-7}$ M olarak bulunmuştur. Farmasötik dozaj formlarında ve insan plazmasında pantoprazol tayininde hızlı, kesin ve seçici bir yöntem geliştirilmiştir. Karşılaştırma amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile tayin işlemi de geliştirilmiştir.

Uslu ve Özkan, (2003) pirişpedil adlı ilaç etkin maddesinin analizini DPV ve kare dalga voltametrisi (KDV) tekniğini kullanarak yapmışlardır. 0,1M H_2SO_4 ve pH= 5,7 asetat tamponunda analitik açıdan iyi sonuçlar alınmış ve difüzyon kontrollü voltametrik pik elde edilmiştir. Asitli ortamda 2×10^{-6} M – 1×10^{-3} M, pH= 5,7 asetat ortamında ise 2×10^{-6} M – 8×10^{-4} M aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Teknik tablet dozaj şekillerine ve insan serum numunelerine uygulanmıştır.

Radi ve ark., (2003) rabeprazol'un yükseltgenme davranışını dönüştürücü, doğrusal taramalı ve diferansiyel puls voltametri kullanılarak Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisinde camısı karbon elektrotta çalışmışlardır. 6,0 – 11,0 pH aralığında

yükseltgenme sürecinin geri dönüşümlü olmadığı ve difüzyon – adsorpsiyon kontrolünde olduğunu göstermişler, destek elektroliti olan pH 8,0 BR tampon çözeltisinde rabeprazol tayinine yönelik bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Anodik pik akımı $4,0 \times 10^{-7}$ M tayin sınırıyla $1,0 \times 10^{-6}$ ile $2,0 \times 10^{-5}$ M rabeprazol derişimi aralığında doğrusallık göstermiştir. Duyarlık, doğruluk, kesinlik ve geri kazanım gibi geçerlilik parametreleri değerlendirilmiştir. İleri sürülen yöntem tablet dozaj formunda rabeprazol tayininde uygulanmış, elde edilen sonuçlar yüksek-performanslı sıvı kromatografi yönteminden elde edilenlerle karşılaştırılmış, istatistiksel olarak hiçbir farklılık bulunamamıştır.

Amilsülpirid adlı ilaç etken maddesinin elektrokimyasal yükseltgenmesi DPV tekniği kullanılarak Özkan ve ark., (2004) tarafından pH 1,8 - 11 aralığında camısı karbon elektrot kullanılarak incelenmiş ve iki farklı yükseltgenme piki verdiği görülmüştür. Analiz serum, idrar ve suni mide sıvılarına uygulanıp, gerekli validasyon çalışmaları yapılmıştır.

Uslu ve Özkan, (2004) abakavir adlı maddenin yükseltgenmesini DPV tekniği kullanılarak incelemişlerdir. En iyi analitik cevap pH= 2,0 BR tamponunda elde edilmiş ve elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. Doğrusallık 8×10^{-7} M – 2×10^{-4} M aralığında bulunmuş, yöntem serum ve idrar numunelerine de uygulanabilmiştir.

Özkan ve ark., (2004) tarafından sildenafil sitrat'ın elektro kimyasal yükseltgenmesi üzerine yapılan çalışmada, % 30 (h/h) asetonitril içeren çözeltide, pH=2-8 aralığında camısı karbon elektrot kullanılarak, sildenafil'in yapısındaki piperazin halkasının yükseltgendiği bulunmuştur. Bu yükseltgenme sonrasında elde edilen pikler sildenafil'in hızlı ve kolay tayinine imkan vermiştir

El-Hefnawey ve ark., (2004) tarafından bir sedatif hipnotik ilaç olan klordiazepoksit'in, farmasötik formülasyon halinden ve insan serumundan civa elektrot kullanılarak voltametrik davranışının ve kantitatif olarak tayininin yapıldığı çalışmada; ilacın pH= 2 - 11 aralığında civa elektrot yardımıyla Britton-Robinson

tamponunda dc polarografisi, dönüşümlü voltametri ve kontrollü potansiyel kullanılarak elektrokimyasal davranışını incelemişlerdir. Elde edilen dalgalar molekülün yapısındaki “N oksit, C=N, C-N'nin” indirgenmesinden kaynaklanmaktadır. İlacın civa elektrot yüzeyleri arası adsorpsiyonuna dayanan validasyonu sağlanmış, adsorptif katodik sıyırma kare dalga voltametri kullanılarak maddenin, tabletlerindeki ve insan serumundaki miktarı saptanmıştır. Deney için biriktirme potansiyeli -0,9 V, biriktirme zamanı 30 saniye, frekans 120 kHz olarak tayin edilmiştir.

Shahrokhian ve ark., (2004) schiff baz kompleksi olarak kobalt salofenle (CoSal) kimyasal olarak modifiye edilen karbon pasta elektrotunda elektrokatalitik penisilamin (PA) yükseltgenmesini kapsamlı şekilde araştırmışlardır. Modifiye edilen elektrot yüzeyindeki CoSal ile düzenlenen elektrokimyasal PA yükseltgenme mekanizmasının tahmini için dönüşümlü voltametri (CV) ve polarizasyon çalışmalarının sonuçlarını kullanmışlardır. CoSal ile modifiye edilen elektrot kullanılarak yapılan diferansiyel puls voltametrisinin (DPV) sonuçları ilaç ve insan sentetik serum örneklerinde yüksek derecede duyarlı PA tayini işleminde uygulanmıştır. Tamponlanmış pH 3,0 çözeltilerde (0,1 M fosfat tamponu) DPV'si PA tayininde $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-7}$ M aralığı elde edilmiş, modifiye edilen elektrot, modifiye edilen karbon bazlı elektrotlarla yapılan PA tayinlerinde bugüne kadar bildirilen en düşük anodik aşırı potansiyeli sergilemiştir.

Torriero ve ark., (2004) elektrokimyasal salisilik asit (SA) yükseltgenmesini dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi kullanılarak camı karbon elektrotta çalışmışlardır. Çalışılan geniş pH aralığında, SA tek bir geri dönüşümsüz yükseltgenme dalgası vermiştir. Elektrot işleminin geri dönüşümlü olmaması farklı kriterlerle teyit edilmiş, yükseltgenme mekanizması tartışılarak, DPV kullanıldığında, SA 1,088 V değerinde pH 2,37 Britton-Robinson tampon çözeltilerinde iyi tanımlanmış bir voltametrik cevap verdiği gözlenmiştir. (Ag/AgCl karşısında). Bu yöntemde 1 - 60 µg/ml SA derişim aralığında doğrusallık saptanmıştır. Bu yöntem asetilsalisilik asit (ASA) içeren katı farmasötik

formülasyonlarda hidroliz ürünü olarak SA'nın analiz edilmesinde başarılı şekilde uygulanmıştır.

Wang ve Du, (2004) yaptıkları çalışmada Ferrocene (Fc) içeren supramoleküler film elektrostatik adsorpsiyon yoluyla L-sisteinin kendisinin toplandığı tek tabakalı filmle modifiye edilen altın elektrotu üzerine monte etmişlerdir. Supramoleküler filmin elektrokimyasal özelliklerini belirlemek için ATR-FTIR, SEM, dönüşümlü voltametri (CV) ve kronokulometri (CC) kullanmışlar, 5,1 – 9,5 pH aralığında tek bir geri dönüşümlü redoks çifti gözlenmiştir. Supramoleküler film askorbik asit (AA) yükseltgenmesinde iyi katalitik aktive göstermiştir. Askorbik asidin derişimi akıma karşı grafiğe geçirildiğinde 0,9986 korelasyon katsayısı, $2,0 \times 10^{-7} \text{ ml}^{-1}$ tayin seviyesi ve $1,0 \times 10^{-6} - 5,0 \times 10^{-4} \text{ ml}^{-1}$ aralığında doğrusallık elde edilmiş, bu yöntem tıpta, eczacılıkta hassas ve kesin sonuca sahip AA tayininde kullanılmıştır.

Aleksić ve ark., (2004) Cefpodoksim proksetil (CP) molekülündeki indirgenmenin adsorpsiyondan güçlü şekilde etkilendiği bulmuşlardır. Madde miktarını belirleme hassasiyetini arttırmak amacıyla CP'nın adsorptif özellikleri araştırılmış, geçerli diferansiyel puls voltametri yöntemi pH 3,5 ve pH 9,0'da düşük CP derişimlerinin tayininde uygulanmıştır. Bahsedilen pH değerlerinde en belirgin adsorpsiyon etkileri gözlenmiştir. Her iki ortamda da $1,0 \times 10^{-8} \text{ M} - 1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$ aralığında doğrusallık bulunmuştur. pH 3,5 ortamında belirme alt sınırı $6,3 \times 10^{-9} \text{ M}$, tayin alt sınırı $2,9 \times 10^{-8} \text{ M}$ olarak, pH 9 ortamında ise belirme alt sınırı $7,1 \times 10^{-9} \text{ M}$ ve tayin alt sınırı $2,3 \times 10^{-8} \text{ M}$ olarak saptanmıştır.

Qu ve ark., (2004) pridoksin (Vitamin B₆) tayini için özgün bir karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camısı karbon elektrodu tanımlanmıştır. Pridoksin'in elektrokimyasal davranışı araştırılmış ve modifiye edilen elektrotta iyi belirlenmiş pik gözlenmiştir. Multi-duvarlı karbon nanotüpün özgün yapısı ve olağanüstü özelliklerine bağlı olarak multi-duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilen camısı karbon elektrot pridoksin yükseltgenmesine karşı açık bir elektrokatalitik aktivite gösterir; çünkü pridoksin'in yükseltgenme pik akımını büyük oranda arttırırken, aşırı

yükseltgenme potansiyelini azaltır. Bu bulguya bağılı olarak pridoksin ölçümü için oldukça hassas ve basit bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Diferansiyel puls voltametri kullanıldığında 5×10^{-7} ile 1×10^{-4} mol/L, aralığındaki derişimde ve 2×10^{-7} mol/L, tayin sınırında duyarlı doğrusal voltametrik cevap elde edildi. Diğer voltametrik yöntemlerle karşılaştırıldığında, ileri sürülen bu yöntem son derece düşük tayin sınırı, hızlı cevap vermesi, düşük maliyeti ve basitliğı gibi birçok üstünlükler sunmaktadır. Bu yeni analitik yöntemin pratik uygulaması pridoksin ilaçlarında yapılmıştır.

Yang ve Ark., (2005) tarafından B₁₂ vitamini üzerinde yapılan çalışmada; vitamin B₁₂ vitamininin merkaptto asetik asit ile modifiye edilmiş altın elektrot kullanılarak indirgenmesi sonucu 0,21 , 0,16 ve -0,41 V olmak üzere üç tane katodik pik elde edilmiştir. 0,21 V değerindeki pikin derişimle doğru orantılı olduğu bulunmuştur. Bundan yararlanılarak B₁₂ vitaminin $4,0 \times 10^{-9}$ M – $4,0 \times 10^{-5}$ M aralığında tayininin hassas olarak gerçekleştirilebildiğı anlaşılmıştır. Sonuç olarak denenen voltametrik yöntem son derece kullanışlı ve duyarlı bulunmuştur.

Barthus ve ark., (2005) camısı karbon elektrot ve diferansiyel akım voltametrisi kullanarak farmasötik preparatlardaki Vitamin C, B₆ ve PP (pirodoksal fosfat)' nin tayini üzerinde çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmada sentetik ve farmasötik örneklerde vitamin tayini için puls voltametrisi ile elde edilen verilere göre en düşük değerleri uygulamışlardır. Kalibrasyon amacıyla hem sentetik hem de ticari örnekler standart olarak kullanmışlar, elde edilen sonuçlara göre camısı karbon elektrot üzerinde doğrusal olmayan cevapla sonuçlanan elektro-aktif bileşenler arasındaki etkileşim gerçeğine bağılı olarak verinin modellenmesi için suni nöral ağ yönteminin en iyi yöntem olduğunu belirlemişlerdir. Suni nöral ağ yöntemi kullanılarak farmasötik örneklerde bulunan vitamin miktarının belirlenmesinde sonuçlar maksimum bağılı hata değeri % 0,40, VPP için % 8,3 ve VB6 için % 9,1 değerini sağlamıştır. Önerilen bu yöntem basit ve hızlıdır. Kalite kontrol laboratuvarlarının kontrolünde alternatif analiz yöntemi olarak kolaylıkla kullanılabilir.

Radi ve Elmogy, (2005) karvedilol isimli antihipertansif ilacın elektrokimyasal yükseltgenmesini dönüşümlü ve diferansiyel puls voltametri kullanılarak camı karbon elektrotta 2,0 - 11,0 aralığındaki pH'da çalışmışlardır. Farklı destek elektrolit ortamında, iki yükseltgenme süreci üretilmiş, her iki yükseltgenme süreci de geri dönüşümlü olmadığı ve difüzyon kontrollü olduğu gözlenmiştir. Karvedilol analizi için birinci yükseltgenme süreci seçilmiş, diferansiyel puls modu kullanılarak pH 8,0'daki Britton-Robinson tamponunda oldukça iyi, belirlenmiş voltametri elde edilmiştir. 0,25 - 10,00 µg/ml aralığında doğrusal cevap elde edilerek, tayin sınırı 0.10 µg/ml olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem tablet formunda karvedilol miktarı tayini için kullanılmıştır.

Radi ve ark., (2005) tarafından bir dopaminerjik agonist olan bromokriptinin dönüşümlü, doğrusal taramalı ve diferansiyel puls voltametri kullanılarak 2,0 - 11,0 pH aralığındaki Britton-Robinson tampon çözeltisi içerisindeki camı karbon elektrotta elektrokimyasal yükseltgenmesini gerçekleştirmişlerdir. Camı karbon elektrot kullanılarak diferansiyel puls voltametri ile analizi yapılmıştır. Bromokriptin'in elektrokimyasal yükseltgenmesi camı karbon elektrot kullanılarak, Bromokriptin çok iyi fark edilen bir yükseltgenme piki verir. 0,1 µg/ml seviyesinde % 1,44 değerinde bağıl standart sapma elde edilmiş olup, yükseltgenme olayı geri dönüşümsüzdür. pH=5'de elde edilen difüzyon kontrollü voltametrik pik analitik açıdan önemlidir. Pik yüksekliği ile derişim arasındaki doğrusal ilişki sayesinde diferansiyel puls voltametri kullanılarak bromokriptinin çok geniş derişim aralığında (0,04 - 5,00 mikrogram/ml⁻¹) ve miktar tayini yapılabilmektedir. Saptama alt limit derişimi 0,01 mikrogram/ml⁻¹ olarak belirlenmiştir. Söz konusu yöntem ile bromokriptin içeren müstahzarların içindeki bromokriptin miktarı ve teşhisi yapılabilmektedir.

Uslu ve ark., (2005) tarafından gansiklovir, camı karbon elektrot kullanılarak kare dalga voltametri ve DPV teknikleri ile elektrokimyasal olarak incelenmiş ve farmasötik preparatlarda, serumda analizleri gerçekleştirilmiştir. Gansiklovir'in camı karbon elektrot kullanılarak elde edilen +1,15 V'luk anodik pik değeri analizlerde kullanılmıştır. Pik potansiyelinin, pH'ya tarama hızına ve başlangıç

potansiyeline bağılı olarak değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Diferansiyel puls voltametri için $8,1 \times 10^{-8}$ M derişime kadar, kare dalga voltametri için $4,52 \times 10^{-8}$ M da pik verdiği bulunmuştur. Sonuç olarak her iki yöntem de analizi hassas, basit ve hızlı hale getirmişlerdir.

Uslu ve ark., (2005) camsı karbon elektrot kullanılarak verdenafil'in yükseltgenmesini de incelemişlerdir. pH= 1 - 12 aralığında çeşitli tampon çözeltiler içerisinde voltamogramlar alınmış ve geri dönüşümsüz difüzyon kontrollü voltametik pikler elde edilmiştir. Yöntem tablet şekillerine ve serum örneklerine uygulanmış ve önerilen yöntem YPSK ile karşılaştırılmıştır.

Doğan ve ark., (2005) flupentiksol'ün tayini için DPV yöntemini geliştirmişlerdir. Maddenin camsı karbon elektrotla pH=7,02 BR tamponunda geri dönüşümsüz olarak yükseltgendiği ve elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğunu göstermişlerdir. Önerilen yöntemle 8×10^{-7} M– 1×10^{-4} M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiş ve gerekli validasyon çalışmaları yapılmıştır. Yöntem farmasötik dozaj şekillerine ve serum numunelerine uygulanabilmiştir.

Uslu ve ark., (2005) yaptıkları bir başka çalışmada ise meflokin'in asılı civa damla elektrotta indirgenme reaksiyonunu incelemiştir. pH=1,5 - 12,03 aralığında etken maddenin elektrokimyasal davranışı incelenmiş ve elektrot reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. Analitik amaçlarla pH=11,10 BR tamponunda çalışılmış ve yöntem farmasötik preparatlara ve biyolojik ortama uygulanmıştır.

Wahdan ve El-Ghany, (2005) yaptıkları çalışmada, Domperidon belirlenmesine yönelik diferansiyel puls voltametri yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntem pH 2,3 teki Britton-Robinson tampon çözeltisinde DKE karşısında +0,64 V değerindeki camsı karbon elektrot üzerinde anodik domperidon yükseltgenmesine dayanmaktadır. Yükseltgenmenin difüzyon-adsorpsiyon kontrollü olduğu bulunmuştur. $1,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-5}$ M domperidon aralığında kalibrasyon doğrusu

elde edilmiş ve $4,0 \times 10^{-7}$ M belirme alt sınırı olarak bulunmuştur. Bu yöntem tablet katı maddeleri ile herhangi bir etkileşim yaşanmaksızın tablet formundaki ilaçlarda domperidon tayini için uygulanmıştır.

Adhoum ve Monser, (2005) Trimebutin'in (TMB) diferansiyel puls voltametriyle (DPV) belirlenmesi için asetonitril/0,1 M LiClO₄ deki camısı karbon elektrotunda çalışılmıştır. Trimebutin Ag/AgCl referans elektrotu karşısında sırasıyla 740 ve 1318 mV değerinde iki geri dönüşümsüz, difüzyon kontrollü pik vermiştir. İkinci yükseltgenme piki için 1 - 50 µg / ml aralığında doğrusallık saptanmış ve belirme alt sınırı 0.3 µg/ml (3σm) olarak bulunmuştur. 5 µg/ml seviyesinde yapılan altı ölçümde çalışma yapılan günler arası ve çalışma yapılan gün içi tekrar edilebilirlik (RSD, n=6) sırasıyla % 0,7 ve % 1,1 olarak bulunmuştur. Bu yöntem granül toz formundaki TMB'nin (Debridat ®) miktarını belirlemede başarılı şekilde uygulanmış, geri kazanımlar % 98,4 ile % 101 arasında elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar geçmişte YPSK yöntemiyle tanımlanan sonuçlarla son derece uyumlu bulunmuştur.

Goyal ve ark., (2005) pH 7,2'de parasetamol tayini için nanoaltınla modifiye edilen iridium kalay oksit (ITO) elektrodu kullanmışlardır. Bu elektrot iyi tekrarlanabilirlik ve stabilite ile birlikte parasetamol yükseltgenmesine etkili bir katalitik cevap vermiştir. 0,997 korelasyon katsayısı ile birlikte $2,0 \times 10^{-7} - 1,5 \times 10^{-3}$ M aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Belirme alt sınırı $1,8 \times 10^{-7}$ olarak bulunmuştur. Askorbik asit, glukoz ve üre gibi fizyolojik olarak yaygın şekilde müdahale eden faktörler, mevcut parasetamol cevabını ihmal edilebilir seviyede etkilemişlerdir. Yöntemin pratik analitik kullanımı farmasötik preparatlarda parasetamol tayini ile gösterilmiştir.

Özkan ve ark., (2006) atipik antipsikotik ilaç olan ketiapin'in serum ve idrar numunelerinden analizini pH=3,5 asetat tamponu içerisinde DPV tekniği ile yapmışlar ve optimum koşulları sağlamışlardır. 4×10^{-6} M– 2×10^{-4} M aralığında doğrusallık elde edilmiş ve elektrot reaksiyonu difüzyon kontrollü olarak

bulunmuştur. Yöntem tablet şekillerine, insan serum ve idrar numunelerine başarıyla uygulanmıştır.

Lin ve ark., (2006) karışımdaki eş zamanlı kersetin ve rutin belirlemesi için ön birikme basamağına sahip geri yönlü diferansiyel puls voltametri (RDPV) geliştirmişlerdir. Bu amaçla multi-duvarlı karbon-nanotüp pasta elektrodu (CNTPE) kullanmışlar, kersetin DKE (Doygun Kalomel Elektrot) karşısında $0,155 E_m$ ve $0,360 E_{pa}$ 'da iki yükseltgenme basamağı vermiş ve rutin CNTPE'de $0,316$ volt E_m 'da sadece bir yükseltgenme basamağı bulunmuştur. Bu türlere has güçlü adsorpsiyonu ve tercih edilen bağlama işlemi elektrot yüzeyinde gözlemlendi. Bu gözlem belirleme (miktar tayini) işleminde elektrot üzerinde bu türlerin belirgin şekilde önceden toplanmasına dayanıyordu ve bu ön biriktirme süreci iyi hazırlanmış voltametrik pikleri bulunan sinyallerin artmasıyla sonuçlanarak eş zamanlı tayine imkan verdi. İlk kersetin anot pikini seçmek ve piklerin birbirine karışmasını önlemek için belirleme (miktar tayini) yönteminde rutin pikini yeniden indirgemek amacıyla RDPV tekniği kullanılmıştır. Elektrokimyasal sistem adsorpsiyon potansiyeli ve zaman süreci gibi uygun tampon sistemi ve ön biriktirme parametrelerinin seçilmesi için optimum hale getirildi. Son olarak, elektrokimyasal sensör olarak multi-duvarlı CNT pasta elektrotu ($10 \mu M$ rutin varlığında) $0,05 - 5 \mu M$ aralığında doğrusallık ve $4.90 \mu A/(\mu M$ kersetin) gibi tayin alt sınırı ve ($10 \mu M$ kuercetin varlığında) $0.1 - 10 \mu M$ aralığında ve $2.43 \mu A/(\mu M$ rutin) tayin alt sınırı elde edildi. Bu yöntemin gerçek bir örneğin analizine uygulanabilirliği de değerlendirildi.

Goyal ve ark., (2006) yaptıkları çalışmada ilaç formülleriyle idrarda diferansiyel puls voltametri (DPV) atenolol'ü (ATN) tayin etmek için altın nanopartikülleriyle modifiye edilen indiyum kalay oksit (ITO) elektrotu kullanmışlardır. Çıplak (demir) ITO elektrotuyla karşılaştırıldığında nanoaltınla modifiye edilen elektrot pozitif yönlü görünür yükseltgenme potansiyelinde daha az kayma ve mevcut ATN cevabında belirgin ilerleme sergilemiş, 1.0μ fosfat tamponu çözeltisinde (pH 7,2) $0,9965$ korelasyon katsayısıyla $0,5 \mu M$ ile $1,0 M$ aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Standart çözeltideki (pH 7,2) atenolol tayin sınırı $0,13 \mu M$ olarak tahmin edilerek, % geri kazanım % 95,7 - % 105,3 arasında

bulunmuştur. Bu yöntemin pratik analitik kullanımı herhangi bir ön işleme tabi tutulmaksızın çeşitli ticari farmasötik formüller ile idrarda kantitatif ATN belirlenmesiyle gösterilmiştir.

Uslu ve ark., (2006) antiviral ilaç olan valasiklovir'in elektro yükseltgenmesini kare dalga voltametri ve DPV tekniğini kullanarak yapmışlardır. Bu maddenin geri dönüşümsüz olarak camı karbon elektrotta bir veya iki basamaklı olarak yükseltgendiğini ve olayın pH'ya bağımlı olduğunu bulmuşlardır. Analitik açıdan çok iyi belirmiş difüzyon kontrollü voltametrik pik pH=10 BR tamponunda elde edilmiş ve yöntem bu ortamda farmasötik dozaj şekillerine ve biyolojik sıvılara uygulanmıştır.

4. TARTIŞMA

4.1. DPV Tekniğinin Diğer Voltametrik Tekniklerle Karşılaştırılması

Polarografik yöntemlerle nicel analizde 10^{-5} M'dan daha düşük derişimler tayin edilemez. Bunun nedeni yükleme akımının değerinin belli bir derişimden sonra faradayik akımın değerine yaklaşmasıdır. Eğer yükleme akımının ölçülen toplam akım içindeki katkısı azaltılırsa daha küçük değerdeki faradayik akımlar ölçülebilir hale gelebilir ve böylece yöntemin duyarlılığı artar.

Diferansiyel puls polarografisi adını alan bu yöntemde, akım ölçümü bir kez pulsun uygulanmasından hemen önce, bir kez de puls süresinin sonuna doğru seçilen bir zamanda yapılır ve bu iki akımın farkı her pulstan önce uygulanan gerilime karşı grafiğe geçirilir. Akımlar arasında bir fark alındığından bu yöntemde elde edilen polarogram pik şeklinde olur.

Gerek artık akımın gerekse difüzyon sınır akımının ölçüldüğü gerilimlerde pulstan önce ve pulsun sonunda ölçülen akımlar arasındaki fark çok azdır ve bu nedenle diferansiyel puls polarogramında bu gerilimlerde fazla bir akım ölçülemez. Bu tür bir akım ölçümünde en büyük fark dalganın $E_{1/2}$ değerinde ortaya çıktığı için D_1 bu gerilimlerde bir maksimuma ulaşır. Ve bu teknikte gözlenebilme sınırı daha da azalarak 10^{-8} M'a düşer. Yöntemin bir avantajı da oldukça hızlı bir yöntem olması ve zahmetli ön işlemlere gereksinim duyulmamasıdır.

4.2. Atorvastatin'in Elektrokimyasal İncelenmesi

HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinden atorvastatin kandaki kolesterol ve trigliserid seviyelerini düşürücü olarak kullanılmaktadır. Bu dönem ödevi kapsamında literatür

araştırması sırasında atorvastatin'in doğrudan DPV tekniği ile incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmalar tamamen yükseltgenme yönünde gerçekleştirilmiştir. Yapılan literatür incelemelerinde miktar tayini için YPSK (Shen ve ark., (2006); Bahrami ve ark., (2005); Freddy ve Chaudhari, (2005); Zarghi ve ark., (2005); Altuntaş ve ark., (2004); Ertürk ve ark., (2003)), spektrofotometri (Erk, (2003)), ve elektrokimyasal sıyırma voltametri (Erk, (2004)) çalışmalarına rastlanmıştır.

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak çalışmada ilaç analizinde kromatografik ve optik yöntemlere alternatif yöntem olarak nitelendirilen DPV tekniği kullanılarak atorvastatin'in miktar tayininde kullanılabilecek yeni, basit ve duyarlı yöntem geliştirilmiş, elektrot reaksiyonunun mekanizması incelenmiştir.

Atorvastatin'in elektrokimyasal tepkimeleri mekanik ön işleme temizlenmiş camsı karbon disk elektrot kullanılarak incelenmiş ve sonuçların tekrar edilebilirliği bu işlemin yeterli olacağı fikrini vermiştir. Camsı karbon elektrotla değişik pH değerlerinde ve farklı destek elektrolitleri içerisinde yapılan çalışmalar, atorvastatin'in yüksek potansiyel değerlerinde bütün ortamlarda ve pH değerinde tersinmez olarak yükseltgendiğini göstermektedir. Pik akımları ve potansiyelleri %10 metanol içeren destek elektrolitlerle tayin edilmiştir. Böylece değişik elektrokimyasal tekniklerle (dönüşümlü, diferansiyel puls) çeşitli destek elektrolit ve tamponlarıyla birçok kez ölçüm alınmıştır. Atorvastatin'in camsı karbon elektrot kullanarak pH 1,8 - 12,0 aralığında yükseltgendiği görülmüştür.

Atorvastatin için DPV tekniği ile 1M H₂SO₄, pH 2,00 - 12,02 fosfat tamponu ve pH 3,5-5,63 asetat tampon çözeltileri ile çalışmalar yapılmıştır. Bütün çalışmalarda % 10 metanollü ortam sabit tutulmuştur. Pik akımı – pH eğrileri incelendiği zaman en yüksek pik akımı değerine 0,1M H₂SO₄ 'li ve pH 3 BR tamponu (%10 metanollü ortam) içerisinde ulaşılmıştır. Olayın özelliğini anlayabilmek için seçilmiş 0,1M H₂SO₄ ortamında hız taraması deneylerini değerlendirmek için $v^{1/2} - i_p$, $i_p - v$ ve $\log v - \log i_p$ ilişkileri incelenmiştir. Bunun

için dönüşümlü voltametri (DV) tekniği kullanılmış, 5 - 1000 mVs⁻¹ hız tarama aralığında incelemeler yapılmıştır.

+ 1,02 V' daki pik difüzyon kontrollü bulunmuştur. 0,1M H₂SO₄ içerisinde atorvastatin' in 1 x 10⁻⁴ M derişimde yapılan hız taraması sonucunda; pik akımı ve $\nu^{1/2}$ arasında doğrusal bir ilişki olduğu saptanmıştır.

$$\log \dot{I}_p (\mu A) = 0,910 \nu^{1/2} (mVs^{-1}) - 2,33 (r: 0,990 ; n: 10)$$

Hız taraması 5 - 1000 mVs⁻¹ arasında yapıldı. Pik potansiyelinin hız arttıkça 60 mV daha pozitif değerlere kayması ve katodik pikin olmayışı olayın geri dönüşümsüz olduğunu gösterir. Potansiyel tarama hızının logaritması ile pik akımının logaritması arasındaki doğru denkleminin eğim değeri 0,68 olarak bulunmuştur. Bu değerin difüzyon kontrollü teorik değer olan 0,5 'e yakın olması (Laviron E, 1980) yükseltgenme olayının adsorptifliğinin etkisinde daha çok difüzyon karakterli olduğunu kanıtlamaktadır.

$$\log \dot{I}_p (\mu A) = 0,68 \log \nu (mVs^{-1}) - 0,61 (r: 0,994 ; n: 10)$$

Atorvastatin'in tayini için duyarlı ve seçici voltametrik yöntem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada pikler keskin ve iyi belirdiğinden dolayı DPV tekniği seçilmiştir. Analitik açıdan en iyi atorvastatin pikleri ve tekrar edilebilir sonuçlar alındığından dolayı 0,1 M H₂SO₄ destek elektroliti (%10 metanollü) ve pH 3 BR tamponu çalışma ortamı olarak seçilmiştir.

0,1 M H₂SO₄ ve pH 3 BR tamponu destek elektroliti (%10 metanol) içerisinde atorvastatin için 2 x 10⁻⁶ M – 8 x 10⁻⁵ M derişim aralığında doğrusallık bulunmuştur. (Tablo 3.2 ve Tablo 3.3)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diferansiyel puls voltametriyi ilaç analizlerinde ve moleküllerin mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılan son derece duyarlı, basit, seçici bir yöntemdir. Tayin sınırlarının oldukça düşük düzeylere kadar inebilmesi, analizi için herhangi bir ayırma işlemine ihtiyaç duyulmaması ve analizin kısa sürede yapılması gibi pek çok üstünlükleri vardır. Bu nedenlerden dolayı tekniğin ilerideki yıllarda özellikle biyosensor tasarımlarında çok daha fazla tercih edilen yöntemlerden biri olacağı düşünülmektedir. Günümüzde teknik ilaç endüstrisi, klinik analizler, çevre analizleri ve biyosensor tasarımları da dahil olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır. Çalışmanın diğer bölümünde atorvastatin adlı kolesterol düşürücü etkisi olan maddenin camı karbon elektrot üzerindeki elektroanalitik davranışları DPV kullanılarak incelenmiştir. Ortamın pH'nın, destek elektrolitinin ve madde derişimlerinin yükseltgenme olayı üzerine etkileri incelenmiştir. Bunun için 0,1 M H₂SO₄, fosfat tamponu, asetat tamponu ve Britton- Robinson tampon çözeltileri kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda 0,1 M H₂SO₄ ortamında iki tane yükseltgenme piki, pH 3 BR tamponunda ise bir adet yükseltgenme piki elde edilmiştir.

Dönüşümlü voltametri ile atorvastatin'in 0,1 M H₂SO₄ içerisinde 5-1000 mVs⁻¹ tarama hızlarında kinetik incelemeleri yapılmıştır. Bu incelemelerde $v^{1/2} - i_p$, $\log v - \log i_p$ verileri incelenmiştir. Atorvastatin'in geri dönüşümlü (tersinmez) ve difüzyon kontrollü olarak yükseltgendiği bulunmuştur.

Sonuç olarak atorvastatin'in tayini için hızlı, kolay, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan DPV tekniğinin geliştirilebileceğine karar verilmiştir.

ÖZET

Diferansiyel Puls Voltametrisi İle İlaç Analizleri

Diferansiyel puls voltametrisi ile ilaç analizleri ilaç endüstrisinde, klinik analizlerde ve biyosensor tasarımında kullanımı giderek artan oldukça yararlı bir tekniktir. Bu teknik diğer analitik yöntemlere alternatif ve tamamlayıcıdır. Basit, hızlı, duyarlı ve seçici olması, uzun ve zaman alıcı ayırma basamaklarına ihtiyaç duymaması gibi nedenlerle de diğer analitik tekniklerden ayrılmaktadır. Yöntem pek çok endüstriyel, üniversite ve adli tıp laboratuvarlarında rutin olarak kullanılmaktadır.

Çalışmanın deneysel bölümünde atorvastatin kalsiyumun yükseltgenme davranışı camı karbon elektrot üzerinde alkol-su karışımı olan ortamda (10:90 metanol: su, pH aralığı 1,8 - 12,00), DPV tekniği kullanılarak incelenmiştir. Deneysel destek elektroliti yapısının, pH'nın ve potansiyel tarama hızının reaksiyon üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile BR, fosfat, asetat tamponları, 0,1 M H₂SO₄ destek elektrolitleri içerisinde geniş bir potansiyel tarama aralığında gerçekleştirilmiştir. 0,1 M H₂SO₄'lü ortamda molekül iyi belirmiş ve ayrılmış iki voltametrik pik vermiştir. pH 2,0'nin üzerinde sadece tek pik gözlenmiştir. Şartlar optimize edildikten sonra her iki ortamda (0,1 M H₂SO₄ ve pH 3 BR tampon çözeltisi) atorvastatin'in saf maddesinde $2 \times 10^{-6} \text{M} - 8 \times 10^{-5} \text{M}$ derişim aralığında doğrusallık saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diferansiyel Puls Voltametrisi, İlaç Analizi, Atorvastatin Kalsiyum, Miktar Tayini.

SUMMARY

Drug Analysis by Differential Pulse Voltammetry

Differential pulse voltammetric technique is powerful analytical technique which is increasing in utility in the pharmaceutical industry, clinical analysis and design of biosensors. It is used as an alternative or complimentary technique to other analytical methods due to its simple, rapid, sensitive, selective and without the need for sample time – consuming pretreatment compared to other analytical techniques. Method is routinely used by several industrial, university and forensic laboratories.

Experimental section of this study the electrochemical oxidation of atorvastatin calcium was studied in hydroalcoholic media (10:90 methanol: water, pH range 1,8-12,00) using differential pulse voltammetry at the glassy carbon electrode. Experiments were performed in BR, phosphate and acetate buffers and in 0,1 M H₂SO₄ solutions in a broad scan rate interval in order to see the effect of nature of the supporting electrolyte, pH and scan rate on the reactions.

In 0,1 M H₂SO₄ the molecule was characterized by two well defined and separated voltammetric peaks. At above pH 2.0, only one peak was observed. Under optimized conditions the current showed a linear dependence with concentration in the range between 2×10^{-6} M – 8×10^{-5} M in both supporting electrolyte (0,1 M H₂SO₄ and pH 3 BR buffer solution)

Key Words: Differential Pulse Voltammetry, Drug Analysis, Atorvastatin Calcium, Determination.

KAYNAKLAR

ADAMS, R.N., (1958), Carbon pasta electrode, *Anal. Chem.*, **30**: 1576.

ADAMS, R.N., MC CLURE, J.H., MORRIS, J.B., (1958), Chrono – potentiometric studies at solid electrodes, *Anal. Chem.*, **30**: 471.

ADHOUM, N. ve MONSER, L., (2005), Determination of trimebutine in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a glassy carbon electrode, *J.Pharm. Biomed. Anal.*, **38**: 619-623.

ADHOUM, N., MONSER, L., TOUMI, M. ve BOUJLEL, K., (2003), Determination of naproxen in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a platinum electrode. *Anal. Chim. Acta*, **495**: 69-75

ALEKSIĆ, M., ILIĆ, M. ve KAPETANOVIĆ, V., (2004), Adsorptive properties of cefpodoxime proxetil as a tool for a new method of its determination in urine. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**: 899-903

AL- MAJED, A.A., BELAL, F., ABAD, A., AL-OBAID, A.M., (2000), The voltammetric study and determination of ramipril in dosage forms and biological fluids, *Farmaco*, **55**: 233-238.

ALTUNTAŞ, T.G., ERK, N., (2004), Liquid chromatographic determination of atorvastatin in bulk drug, tablets and human plasma, *J. Liq. Chromatogr. & Related Tech.*, **27(1)**: 83-93.

ANH, N.B. ve SHARP, M., (1999), Determination of cyanide by cathodic stripping voltammetry at a rotating silver disk electrode, *Anal. Chim. Acta.*, **405**: 145-152.

ARGUELHO M.L., ANDRADE J., STRADIOTTO N., (2003), Electrochemical study of hydroxychloroquine and its determination in plaqonil by differential pulse voltammetry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**: 269-275.

ARRANZ, A., BETONO, .F., ECHEVARRIA, C., MOREDA, M.J., CID, A., VALENTÍN, J.F., (1999), Voltammetric and spectrophotometric techniques for the determination of the antihypertensive drug Prazosin in urine and formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **21**: 797-807.

ARRANZ, P., ARRANZ, A., MOREDA, J. , M. , CÍD, A. ve ARRANZ, J.F., (2003), Stripping voltammetric and polarographic techniques for the determination of anti-fungal ketoconazole on the mercury electrode, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **33**: 589-596.

BARTHUS, R.C., MAZO, L.H. ve POPPI, R.J., (2005), Simultaneous determination of vitamins C, B6 and PP in pharmaceuticals using differential pulse voltammetry with a glassy carbon electrode and multivariate calibration tools, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **38**: 94-99.

BELTAGI, A.M., GHONEIM, M.M., RADI, A., (2002), Electrochemical reduction of meloxicam at mercury electrode and its determination in tablets, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **27**: 795-801.

BERMEJO, E., ZAPARDÍEL, A., PÉREZ-LÓPEZ, J., A., CHÍCHARRO, M., SÁNCHEZ, A. ve HERNÁNDEZ, L., (2000), Electrochemical study of mefexamide at glassy-carbon electrodes and its determination in urine by differential pulse voltammetry, *J. Electrochem.*, **481**: 52-61.

BISHOP, E., HUSSEIN, W., (1984), Anodic Voltammetry of Dopamine, Noradrenaline and Related Compound at Rotating Disc Electrodes of Platinum and Gold, *Analyst.*, **109**: 627 – 632.

BİRYOL, İ., KABASAKALOĞLU, M., ŞENTÜRK, Z., (1989), Investigation of mechanism of the electrochemical oxidation of bampine hydrochloride by voltammetry, *Analyst.*, **114**: 181 – 184.

BOCKRIS, J.O.M., REDDY, AKN., (1970), Modern Electrochemistry, Vol: 2, London, Mc Donald, Co. Ltd.

BOND, A.M., (1980), Modern polarographic methods in analytical Chemistry, Marcel Dekker Inc. N.Y.

BREZINA, M., ZUMAN, P.,(1958), Polarography in Medicine Biochemistry and Pharmacy, New York, Interscience Publishers.

CHRISTIE, J.H., TURNER, J.A., OSTERYOUNG, R.A., (1997), Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode, Theory. *Anal. Chem.*, **49**: 1899-1913.

DEMİRCİGİL, B.T., ÖZKAN, S.A., ÇORUH, O., YILMAZ, S., (2002), Electrochemical behavior of formoterol fumarate and its determination in capsules for inhalation and human serum using differential – pulse and square – wave voltammetry, *Electroanal.* , **14 (2)**: 122-127.

DOĞAN, B., (2005), “Kervedilol’ün Elektro Kimyasal Yöntemlerle Miktar Tayini “ konulu Yüksek Lisans Tezi.

DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., USLU, B., (2005), Electrochemical characterization of flupenthixol and rapid determination of the drug in human serum and pharmaceuticals by voltammetry, *Anal. Lett.*, **38**: 641-656.

EL-HEFNAWEY, G.B., EL-HALLAG, I.S., GHONEIM, E.M., GHONEIM, M.M., (2004), Voltammetric behavior and quantification of the sedative – hypnotic

drug chlordiazepoxide in bulk form, pharmaceutical formulation and human serum at a mercury electrode, *J.Pharm. Biomed. Anal.*, **34**: 75-86.

EL-MAALI, N.A., (2004), Voltammetric analysis of drugs, *Bioelectrochem.*, **64**: 99-107.

EL-RIES, M.A., ABOU-SEKKINA, M.M., WASSEL, A.A., (2002), Polarographic determination of propranolol in pharmaceutical formulation, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**: 837-842.

ERK, N., (2003), Differential pulse anodic voltammetric determination of pantoprazole in pharmaceutical dosage forms and human plasma using glassy carbon electrode, *Anal. Biochem.*, **323**: 48-53.

FDEZ, S., MOREDA, J.M., ARRANZ, A., ARRANZ, J.F., (1996), Study of the adsorptive stripping voltammetric behaviour of the antihypertensive drug Doxazasin, *Anal. Chim. Acta*, **329**: 25-31.

GHONEIM, M.M., MABROUK, M.M. ve TAWFIK, A., (2002), Direct determination of praziquantel in pharmaceutical formulations and human plasma by cathodic adsorptive stripping differential-pulse voltammetry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**: 1311-1318.

GOYAL, R.N., GUPTA, V.K., OYAMA, M., BACHHETI, N., (2005), Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode, *Electrochemistry Communications*, **7**: 803-807.

GOYAL, R.N., GUPTA, V.K., OYAMA, M., BACHHETI, N., (2005), Differential pulse voltammetric determination of atenolol in pharmaceutical formulations and urine using nanogold modified indium tin oxide electrode, *Electrochem. Comm.*, **8**: 65-70.

GREEF, R.G., PEAT R., PETER, L.M., PLETCHER, D., ROBINSON, J., (1990), *Instrumental Methods in Electro Chemistry*, London, Ellis Horwood series in Physical Chemistry.

GULIYEVA, G., (2001), "Sığır ciğerinde bulunan eser elementlerin diferansiyel puls polarografisi ile tayini, "Yüksek Lisans Tezi",. Gazi Ü. Fen Bil. Enst. Ankara.

HART, J.P., (1990), *Electroanalysis of Biologically Important Compounds*, Ellis Horwood series, *Anal. Chem.*, **P**: 20 – 21.

HERNÁNDEZ, L., ZAPARDÍEL, A., BERMEJO, E., PÉREZ-LÓPEZ, J., A. ve PÉREZ-FERNÁNDEZ, J., C., (1996), Electrochemical studies of ethamivan at glassy-carbon and platinum electrodes and its determination in urine by differential pulse voltammetry, *Anal. Chim. Acta*, **336**: 85-93.

KILIÇ, E., KÖSEOĞLU, F., YILMAZ, H. , (1997), *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık.

KOLTHOF, I.M., TANAKA, N., (1954), Rotated and stationary platinum wire electrode, *Anal. Chem.*, **26**: 632 – 636.

LANE, R.F. , HUBBARD, A.T., (1976), Differential double pulse voltammetry at chemically modified platinum electrodes for in vivo determination catecholamines, *Anal. Chem.*, **48**: 1287 – 1293.

LAVIRON, E., (1980), *J. Electroanal. Chem.*, **112**: 11 – 23.

LICHTIG , J., ANDRADE, R.F., VAZ, J.M., (1996), Determination of secnidazol in pharmaceutical tablets and intestinal fluids by differential pulse polarography, *Anal. Chim. Acta.*, **332**: 161-164.

LIN, X.Q., HE, J.B., ZHAB, Z.G., (2006), Simultaneous determination of quercetin and rutin at a multi-wall carbon-nanotube paste electrodes by reversing differential pulse voltammetry, *Sensors and Act. B: Chem.*

NIGOVIC, B. ve SIMUNIC, B., (2003), Determination of 5-aminosalicylic acid in pharmaceutical formulation by differential pulse voltammetry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **31**: 169-174.

NIGOVIC, B. ve SIMUNIC, B., (2002), Voltammetric assay of azithromycin in pharmaceutical dosage forms, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**: 197-202.

ÖZKAN, S.A., BİRYOL, İ., ŞENTÜRK, Z., (1994), An activation method for glassy carbon electrode, *Tr. J. Chem.*, **18**: 34 – 38.

ÖZKAN, S.A., ÖZKAN, Y., ŞENTÜRK, Z., (1998), Electrochemical reduction of metronidazole at activated glassy carbon electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **17**: 3299- 3305.

ÖZKAN, S.A., ÖZKAN, Y. ve ŞENTÜRK, Z., (2002), Electrooxidation of pimozide and its differential pulse voltammetric and HPLC–EC determination, *Anal.Chim. Acta.*, **453**: 221-229.

ÖZKAN, S.A., USLU, B., ZUMAN, P., (2004), Electrochemical oxidation of sildenafil citrate (Viagra) on carbon electrodes, *Anal. Chim. Acta.*, **501**: 227-233.

ÖZKAN, S.A., ŞENTÜRK, Z., BİRYOL, İ, (1997), Voltammetric determination of ornidazole in pharmaceutical dosage forms based on reduction at an activate glassy carbon electrode, *Int. J. Pharm.*, **157**: 137-144.

ÖZKAN, S.A., BİRYOL, İ., ŞENTÜRK, Z., (1994), An activation method for glassy carbon electrode, *Tr. J. Chem.*, **18**: 34 – 38.

ÖZKAN, S.A., USLU, B., DOĞAN, B., (2005), Voltammetric analysis of the novel antipsychotic drug quetiapine in human serum and urine, *Microchim. Acta.*, **153**: 27-35,

PATRIARCHE, G.J., CHATEAU – GOSSELIM, M., VANDENBALCK, J.L., (1979), Polarography and related electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology, Vol II, Ed. J. A. Bord, New York, Marcel Dekler, *Electroanal.Chem.*, p. 141 – 189.

QU, W., WU, K ve HU, S., (2004), Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B₆) by use of a chemically-modified glassy carbon electrode, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**: 631-635.

RADI, A., ELMOGY, T., (2005), Differential pulse voltammetric determination of carvedilol in tablets dosage form using glassy carbon electrode, *Farmaco*, **60**: 43-46.

RADI, A., (2001), Stripping voltammetric determination of indapamide in serum at castor oil-based carbon paste electrodes, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **24**: 413-419.

RADI, A., EL-GHANY, N.A. ve WAHDAN, T., (2003), Voltammetric behaviour of rabeprazole at a glassy carbon electrode and its determination in tablet dosage form, *Farmaco*, **59**: 515-518.

RADI, A., EL-SHAHAWI, M.S. VE ELMOGY, T., (2005), Differential pulse voltammetric determination of the dopaminergic agonist bromocriptine at glassy carbon electrode, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **37**: 195-198.

REDDY, T.M., SREEDHAR, M. ve REDDY, S.J., (2002), Voltammetric behavior of Cefixime and Cefpodoxime Proxetil and determination in pharmaceutical formulations and urine, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **31**: 811-818.

SALCI, B. ve BİRYOL İ., (2002), Voltammetric investigation of β -estradiol, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **28**: 753-759.

SAYIN, F., KIR, S., (2001), Analysis of diflunisal by electrochemical methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **25**: 153-163.

SHAHROKHIAN, S., SOURI, A. ve KHAJEHSHARIFI, H., (2003), Electrocatalytic oxidation of penicillamine at a carbon paste electrode modified with cobalt salophen, *J. Electrochem.*, **565**: 95-101.

SKOOG – NOLLER – NIEMAN, (2000), Analitik Kimya Temelleri, 7. Baskı, Çeviri Editörü: Esmâ Kılıç ve ark., Bilim Yayıncılık, Ankara, S:460-466.

SMYTH, M.R., VOS, J.G., (1992), Analytical Voltammetry, Volume XXVII Elsevier Publications, N.Y..

SQUELLA, J.A., STURM, J.C., DIAZ, M.A., PESSOA H., NUNEZ, VERGARA, L.J., (1996), Polarographic determination of loratandine in pharmaceutical preparations, *Talanta*, **43**: 2029-2035.

STURM, J.C., CANELO, H., NUNEZ, VERGARA L.J., SQUELLA, J.A., (1997), Voltammetric study of ketorolac and its differential pulse polarographic determination in pharmaceuticals, *Talanta*, **44**: 931-937.

ŞATANA, E., USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2002), Differential pulse and square wave voltammetric determination of cisapride in tablet dosage form, *Die Pharmazie*, **57**: 501-503.

ŞENTURK, Z., ÖZKAN, S.A., USLU, B., BIRYOL, I., (1996), Anodic voltammetry of fluphenazine at different solid electrodes, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15**: 365 – 370.

TAMER, U., ÖZÇİÇEK, N.P., ATAY, O. ve YILDIZ, A., (2002), Voltammetric determination of cilazapril in pharmaceutical formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **29**: 43-50.

TJEDEN, U.R., LANKELMA, J., POPPE, H. , MUUSZE, R. G., (1976), Anodic coloumetric detection with a glassy carbon electrode in combination with reserved phase high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **12**:275–286.

TORRIERO, A.A., J., LUCO J.M., SERENO, L. ve RABA, J., (2004), Voltammetric determination of salicylic acid in pharmaceuticals formulations of acetylsalicylic acid, *Talanta*, **62**: 247-254.

TUNÇE, N., AYRAL, M.N., BIRYOL, I., (1984), İn vivo ve invitro elektro kimyasal oksijen tayini, *Doğa Bilim Dergisi*, **8** : 82 – 89.

TURNER, J.A., CHRISTIE, J.H., VUKOVIC, M., OSTERYOUNG, R.A., (1997), Square wave voltammetry at the dropping mercury electrode, *Exp. Anal. Chem.*, **49(13)**: 1904 – 1908.

USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2002), Electrochemical characterisation of nefazodone hydrochloride and voltammetric determination of the drug pharmaceuticals and human serum, *Anal. Chim. Acta.*, **462**: 49 – 57.

USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2004), Anodic voltammetry of abacavir and its determination in pharmaceuticals and biological fluids. *Electrochim. Acta.*, **49**: 4321-4329.

USLU, B., DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., (2005), Electrochemical studies of ganciclovir at glassy carbon electrodes and its direct determination in serum and pharmaceuticals by square wave and differential pulse voltammetry, *Anal. Chim. Acta.*, **537**: 307-313.

USLU, B., DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., ABOUL-ENEIN, H.Y., (2005). Electrochemical behavior of verdenafil on glassy carbon electrodes, Determination in tablets and human serum, *Anal. Chim. Acta.*, **552**: 127-134.

USLU, B., DOĞAN, B., ÖZKAN, S.A., ABOUL-ENEIN, H.Y., (2005), Voltammetric investigation and determination of mefloquine, *Electroanal.*, **17**: 1563-1570.

USLU, B., ÖZKAN, S.A., ŞENTÜRK, Z., (2006), Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids, *Anal. Chim. Acta.*, **555**: 341-347,

ÜNAL, U., (2002), “Karnı baharda bulunan eser elementlerin diferensiyel puls pol. ile tayini” Yüksek Lisans Tezi, Gazi Ü. Fen. Bil. Enst., Ankara.

VÍLCHEZ, J.L., ARAUJO, L., PRIETO, A. ve NAVALÓN, A., (2000), Differential-pulse adsorptive stripping voltammetric determination of the antibacterial lomefloxacin, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **26**: 23-29.

WAHDAN, T. , ABD EL-GHANY, N., (2005), “Determination of domperidone in tablet dosage form by anodic differential pulse voltammetry”, *Farmaco*, **60**: 830-833.

WANG, J., HUTCHINS, L.D., (1985a), Activation of glassy carbon electrodes by alternating current Electrochemical treatment, *Anal. Chim. Acta.*, **167**: 325 – 334.

WANG, J., LUO, D.B., (1985b), The determination of bilirubine by adsorptive stripping Voltammetry, *J. Electroanal. Chem.*, **185** : 61 – 71.

WANG, J., (1998), *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry on Laboratory Medicine* VCH., *Publishers, N.Y.*

WANG, S. ve DU, D., (2004), Differential pulse voltammetry determination of ascorbic acid with ferrocene-L-cysteine self-assembled supramolecular film modified electrode, *Sensors and Actuators B: Chem.*, **97**: 373-378.

WANG, C.Y., HU, X.Y., JIN, G.D., ve LENG, Z.Z., (2001), Differential pulse adsorption voltammetry for determination of procaine hydrochloride at a pumice modified carbon paste electrode in pharmaceutical preparations and urine, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**: 131-139.

WIGHTMAN, R.M., BEAKIN, M.R., KOVACH, P.M., KUHR, W.G., STUTTS, K.J., (1984), Methods to improve electrochemical reversibility at carbon electrodes, *J. Electrochem. Soc.*, **131**: 1578 – 1583.

WILLIARD, H.H., MERRIT, L.L., DEAN, J.A., SETTLE, F.A., (1981), *Instrumental methods of analysis*, 6 th Ed., New York, Lifton Educational Publishing Inc., **P**: 691 – 734.

YILMAZ, S., USLU, B., ÖZKAN, S.A., (2001), Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltametric determination in pharmaceuticals and human serum, *Talanta*, **54**: 351-360.

YANG, N., WAN, Q., WANG, X., (2005), Voltammetry of Vitamin B12 on a thin self-assembled monolayer modified electrode, *Electrochim. Acta*, **50**: 2175-2180.

YILDIZ, A., GENÇ, Ö., (1993), Enstrumental Analiz. Hacettepe Üniv. Yayınları, 1.Baskı , S: 352.

ZUHRI, A.Z., AL- KHALIL, S., SHUBIETAH, R.M., EL- HROUB, I., (1999), Electrochemical study on the determination of tinidazole in tablets, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **21**: 881-886.