



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



# **DİHİDROKSİPROPİLTEOFİLİN' İN ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE MİKTAR TAYİNİ**

**DİLAY SUBAŞI**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Burcu DOĞAN TOPAL**

**ANKARA  
2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİHİDROKSİPROPİLTEOFİLİN' İN**  
**ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERLE**  
**MİKTAR TAYİNİ**

**Dilay SUBAŞI**

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

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Burcu DOĞAN TOPAL**

**ANKARA**  
**2019**

## Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü' ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Dihidroksipropilteofilin’ in Elektrokimyasal Yöntemlerle Miktar Tayini’’ başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikri tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/ araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: *Dilay SUBAŞI*

Tarih: *17.07.2019*

İmza:



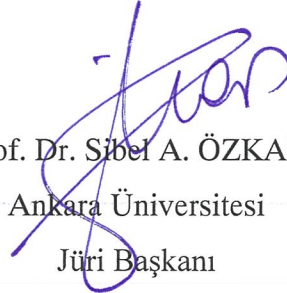
## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda Dilay SUBAŞI tarafından hazırlanan

“Dihidroksipropilteofilin’ in Elektrokimyasal Yöntemlerle Miktar Tayini” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.07.2019

  
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Hayriye Eda ŞATANA KARA

Gazi Üniversitesi

ÜYE

  
Doç. Dr. Burcu DOĞAN TOPAL

Ankara Üniversitesi

ÜYE

Tez hakkında alınan jüri kararı Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

|                         |      |
|-------------------------|------|
| Etik Beyan              | ii   |
| Kabul ve Onay           | iii  |
| İçindekiler             | iv   |
| Önsöz                   | ix   |
| Simgeler ve Kısaltmalar | x    |
| Şekiller                | xiii |
| Çizelgeler              | xvii |

## 1. GİRİŞ 1

|        |                                                  |    |
|--------|--------------------------------------------------|----|
| 1.1.   | Tedavi Yöntemleri                                | 3  |
| 1.2.   | Dihidroksipropilteofilin Hakkında Bilgi          | 4  |
| 1.2.1. | Fiziksel Özellikleri                             | 4  |
| 1.2.2. | Kimyasal Özellikleri                             | 5  |
| 1.2.3. | Farmakodinamik Özellikleri                       | 5  |
| 1.2.4. | Farmakokinetik Özellikleri                       | 6  |
| 1.2.5. | Terapötik Kullanımları                           | 7  |
| 1.3.   | Tez Maddesi ile Yapılmış Literatür Çalışmaları   | 7  |
| 1.3.1. | Kromatografik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar     | 7  |
| 1.3.2. | Spektrofotometrik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar | 10 |

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM 12

|          |                                 |    |
|----------|---------------------------------|----|
| 2.1.     | Elektrokimya                    | 12 |
| 2.1.1.   | Elektrokimyasal Hücreler        | 13 |
| 2.1.2.   | Elektrokimya' da Kütle Aktarımı | 14 |
| 2.1.2.1. | Difüzyon (Yayılma)              | 14 |
| 2.1.2.2. | Migrasyon (Göç)                 | 15 |
| 2.1.2.3. | Konveksiyon                     | 15 |
| 2.1.3.   | Elektroanalitik Yöntemler       | 17 |

|                |                                                |    |
|----------------|------------------------------------------------|----|
| 2.1.3.1.       | Polarografi                                    | 17 |
| 2.1.3.2.       | Voltametri                                     | 20 |
| 2.1.3.3.       | Elektrokimyasal Hücrede Kullanılan Elektrotlar | 22 |
| 2.1.3.3.1.     | Referans Elektrot                              | 22 |
| 2.1.3.3.2.     | Yardımcı Elektrot                              | 23 |
| 2.1.3.3.3.     | Çalışma Elektrodu                              | 23 |
| 2.1.3.3.3.1.   | Çalışma Elektrodu Çeşitleri                    | 24 |
| 2.1.3.3.3.1.1. | Camsı Karbon Elektrot (CKE)                    | 25 |
| 2.1.3.3.3.1.2. | Bor Katkılı Elmas Elektrot (BKEE)              | 25 |
| 2.1.4.         | Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler             | 26 |
| 2.1.5.         | Voltametricide Kullanılan Uyarma Sinyalleri    | 27 |
| 2.1.5.1.       | Dönüşümlü (Devirli) Voltametri                 | 27 |
| 2.1.5.2.       | Diferansiyel Puls Voltametrisi                 | 28 |
| 2.1.5.3.       | Kare Dalga Voltametrisi                        | 29 |
| 2.2.           | Elektrokimyasal Yöntemlerde Validasyon         | 31 |
| 2.2.1.         | Validasyon (Yöntem Geçerlilik Testleri)        | 31 |
| 2.2.2.         | Validasyonun Gerekli Olduğu Durumlar           | 31 |
| 2.2.3.         | Validasyon Strateji Planı                      | 32 |
| 2.2.4.         | Validasyon Parametreleri                       | 32 |
| 2.2.4.1.       | Seçicilik                                      | 32 |
| 2.2.4.2.       | Doğrusallık ve Aralık                          | 33 |
| 2.2.4.3.       | Teşhis Sınırı ve Tayin Alt Sınırı              | 33 |
| 2.2.4.4.       | Kesinlik                                       | 34 |
| 2.2.4.5.       | Doğruluk                                       | 35 |
| 2.2.4.6.       | Sağlamlık                                      | 36 |
| 2.2.4.7.       | Tutarlılık                                     | 36 |

|            |                                                                                 |           |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.4.8.   | Çözelti Stabilitesi                                                             | 37        |
| 2.2.4.9.   | Hassasiyet (Duyarlılık)                                                         | 38        |
| 2.3.       | Kullanılan Araç ve Gereçler                                                     | 38        |
| 2.3.1.     | Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler                                          | 38        |
| 2.3.2.     | Deneylerde Kullanılan Kimyasal Malzemeler                                       | 39        |
| 2.3.3.     | Deneylerde Kullanılan Çözeltiler                                                | 40        |
| 2.3.3.1.   | Deneylerde Kullanılan Tampon Çözeltiler                                         | 40        |
| 2.3.3.2.   | Dihidroksipropilteofilin Stok Çözeltisi                                         | 43        |
| 2.3.3.3.   | Model İlaç (Kafein) Stok Çözeltisi                                              | 43        |
| 2.3.3.4.   | Serum Stok Çözeltisi                                                            | 44        |
| 2.3.3.5.   | İdrar Stok Çözeltisi                                                            | 44        |
| 2.3.4.     | Dihidroksipropilteofilin' in Safılık Kontrolleri                                | 45        |
| 2.3.5.     | Voltametik Yöntemin Ampullere Uygulanması                                       | 45        |
| 2.3.6.     | Dihidroksipropilteofilin' in Geri Kazanım Çalışmaları                           | 46        |
| <b>3.</b>  | <b>BULGULAR</b>                                                                 | <b>47</b> |
| 3.1.       | Dihidroksipropilteofilin' in Voltametik Yöntemlerle İncelenmesi                 | 47        |
| 3.1.1.     | DPT' nin Farklı pH' lardaki Voltametik İncelenmesi                              | 48        |
| 3.1.1.1.   | DPT' nin Bor Katkılı Elmas Elektrot(BKEE) ile İncelenmesi                       | 48        |
| 3.1.1.1.1. | DPT' nin BKEE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi            | 48        |
| 3.1.1.1.2. | DPT' nin BKEE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) ile İncelenmesi | 52        |
| 3.1.1.1.3. | DPT' nin BKKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi        | 56        |
| 3.1.2.     | DPT' nin Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması                     | 60        |
| 3.2.       | DPT' nin Miktar Tayini İçin Geliştirilen Metodla Yapılan Analiz Çalışması       | 65        |

|            |                                                                                   |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1.     | Geliştirilen Yöntemin Ticari Preparatlara Uygulanması ve Geri Kazanım Çalışmaları | 70 |
| 3.3.       | İnsan İdrarında Dihidroksipropilteofilin Tayini                                   | 71 |
| 3.3.1.     | DPT' nin İnsan İdrarından Geri Kazanımı                                           | 75 |
| 3.4.       | İnsan Serumunda Dihidroksipropilteofilin Tayini                                   | 75 |
| 3.4.1.     | DPT' nin İnsan Serumundan Geri Kazanımı                                           | 79 |
| 3.5.       | DPT' nin Camsı Karbon Elektrot (CKE) İle Voltametrik İncelenmesi                  | 79 |
| 3.5.1.     | DPT' nin CKE ile Farklı pH' lardaki Voltametrik İncelenmesi                       | 79 |
| 3.5.1.1.   | DPT' nin CKE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi               | 80 |
| 3.5.1.2.   | DPT' nin CKE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) ile İncelenmesi    | 81 |
| 3.5.1.3.   | DPT' nin CKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi           | 85 |
| 3.5.2.     | DPT' nin Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması                       | 88 |
| 3.6.       | Model İlaç İncelemeleri                                                           | 90 |
| 3.6.1.     | Kafein' in Farklı pH' lardaki Voltametrik İncelenmesi                             | 91 |
| 3.6.1.1.   | Kafein' in Camsı Karbon Elektrot (CKE) ile İncelenmesi                            | 92 |
| 3.6.1.1.1. | Kafein' in CKE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi             | 92 |
| 3.6.1.1.2. | Kafein' in CKE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) ile İncelenmesi  | 92 |
| 3.6.1.1.3. | Kafein' in CKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi         | 92 |
| 3.6.1.2.   | Kafein' in Bor Katkılı Elmas Elektrot (BKEE) ile İncelenmesi                      | 93 |
| 3.6.1.2.1. | Kafein' in BKEE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi            | 93 |
| 3.6.1.2.2. | Kafein' in BKEE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) ile İncelenmesi | 94 |
| 3.6.1.2.3. | Kafein' in BKEE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi        | 96 |

|           |                                                                       |            |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.6.2.    | Kafein' in BKEE ve Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması | 99         |
| <b>4.</b> | <b>TARTIŞMA</b>                                                       | <b>104</b> |
| <b>5.</b> | <b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                                              | <b>108</b> |
|           | <b>ÖZET</b>                                                           | <b>109</b> |
|           | <b>SUMMARY</b>                                                        | <b>110</b> |
|           | <b>KAYNAKLAR</b>                                                      | <b>111</b> |
|           | <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                                                       | <b>115</b> |

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim, tez konum hakkındaki deneysel çalışmalarım ve tez yazımım süresince, bilimsel esaslara uygun çalışmalar yapmamı sağlayan, akademik ve manevi açıdan hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, tüm hoşgörüsüyle her zaman bana cesaret veren hocam Doç. Dr. Burcu DOĞAN TOPAL' a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile her konuda bana destek olan, Prof. Dr. Feyyaz ONUR'a, Doç Dr. İ. Murat PALABIYIK' a, Dr. Gökhan Çağlayan' a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgilerinden yaralandığım Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN' a, Prof. Dr. Bengi USLU' ya ve diğer Anabilim Dalımız hocalarıma çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimi almam konusunda beni yönlendiren ve yüreklendiren Dr. Tuğba NEMLİOĞLU' na, ders dönemlerim boyunca birlikte çalıştığım Yük. Kimyager Berk TOKER' e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime başlarken ve eğitimimi tamamlarken manevi desteğini eksik etmeyen arkadaşlarım Merve YALÇIN' a, Müge KORKMAZ' a, Nesli ÖZKAYA' ya, Tuğba KAHRAMAN' a ve Ümmügülsüm KAÇMAZ' a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca hiçbir konuda maddi manevi desteğini esirgemeyen aileme ve her zaman ilham kaynağım olan anneanneme çok teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|           |                                |
|-----------|--------------------------------|
| A         | Amper                          |
| ACO       | Astım- KOAH Örtüşmesi          |
| BH        | Bağlı Hata                     |
| BKEE      | Bor Katkılı Elmas Elektrot     |
| BSS       | Bağlı Standart Sapma           |
| C         | Derişim                        |
| cAMP      | Sıklık Adenozin Monofosfat     |
| cm        | Santimetre                     |
| D         | Difüzyon katsayısı             |
| dk        | Dakika                         |
| DA        | Doğru Akım                     |
| DPT       | Dihidroksipropilteofilin       |
| DPV       | Diferansiyel Puls Voltametrisi |
| DTV       | Doğrusal Tarama Voltametrisi   |
| DV        | Dönüşümlü voltametri           |
| $E^0$     | Standart Potansiyel            |
| $E_{1/2}$ | Yarı dalga potansiyeli         |
| $E_p$     | Pik potansiyeli                |
| $f_d$     | Kimyasal kuvvet                |
| g         | Gram                           |
| CKE       | Camsı Karbon Elektrot          |

|                               |                                     |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| HCl                           | Hidroklorik asit                    |
| HHb                           | Hemoglobin                          |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit                   |
| I                             | Akım                                |
| ICS                           | Inhale kortikosteroidler            |
| IR                            | İnfrared                            |
| <i>i</i>                      | Pik akımı                           |
| iR                            | Ohmik direnç                        |
| J                             | Ak1                                 |
| J <sub>o</sub> (x,t)          | O parçacığının akısı                |
| KDV                           | Kare dalga voltametrisi             |
| KOAH                          | Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı |
| KPE                           | Karbon pasta elektrot               |
| L                             | Litre                               |
| m                             | Eğim                                |
| M                             | Molar                               |
| mg                            | Miligram                            |
| mL                            | Mililitre                           |
| mm                            | Milimetre                           |
| mM                            | Milimolar                           |
| mV                            | milivolt                            |
| n                             | Elektron sayısı/ Veri sayısı        |
| NaOH                          | Sodyum Hidroksit                    |
| nm                            | Nanometre                           |

|                 |                                         |
|-----------------|-----------------------------------------|
| $r$             | Korelasyon katsayısı                    |
| $s$             | Sapma                                   |
| SDS             | Sodyum dodesil sülfat                   |
| ss              | Standart sapma                          |
| SV              | Sıyırma Voltametrisi                    |
| $s^2$           | Varyans                                 |
| $t$             | Zaman                                   |
| $T$             | Kelvin cinsinden sıcaklık               |
| TAS             | Tayin alt sınırı                        |
| TS              | Teşhis sınırı                           |
| $t_{sq}$        | Dalga döngüsünün süresi                 |
| TÜRKAK          | Türk Akreditasyon Kurumu                |
| UV              | Ultraviyole                             |
| $v$             | Tarama hızı                             |
| $v_x$           | Hidrodinamik hız                        |
| V               | Volt                                    |
| WHO             | Dünya Sağlık Örgütü                     |
| YPSK            | Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| $\Delta E_{sq}$ | Gerilim şiddetindeki değişim            |
| $\Phi$          | Elektrostatik potansiyel                |
| $\mu A$         | Mikroamper                              |
| $\mu g$         | Mikrogram                               |
| $\mu L$         | Mikrolitre                              |
| $\mu m$         | Mikrometre                              |

## ŞEKİLLER

|                     |                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.1.</b>   | Bronşların iç yüzey görünümü. (a), normal bronş; (b), bronşit                                                                                                                                                                   | 2  |
| <b>Şekil 1.2.</b>   | DPT' nin açık formülü                                                                                                                                                                                                           | 5  |
| <b>Şekil 2.1.</b>   | Elektrokimyasal hücre şeması (Doğan Topal. 2011)                                                                                                                                                                                | 13 |
| <b>Şekil 2.2.</b>   | Derişim farkı nedeniyle moleküllerin rasgele hareketi (Difüzyon)                                                                                                                                                                | 14 |
| <b>Şekil 2.3.</b>   | Katı bir elektrotta uygulanan potansiyel değişimi sonucu yük göçü                                                                                                                                                               | 15 |
| <b>Şekil 2.4.</b>   | Bir çözeltinin karıştırılmasının etkisi                                                                                                                                                                                         | 16 |
| <b>Şekil 2.5.</b>   | Civa damlalı elektrot içeren elektrokimyasal hücre yapısı                                                                                                                                                                       | 18 |
| <b>Şekil 2.6.</b>   | Bazı polarografik, voltametrik yöntemlere ait dalga şekilleri ve akım/ gerilim eğrileri                                                                                                                                         | 21 |
| <b>Şekil 2.7.</b>   | Dönüşümlü (devirli) voltamogram örneği                                                                                                                                                                                          | 28 |
| <b>Şekil 2.8.</b>   | Dönüşümlü (devirli) voltametri de uyarma sinyali görüntüsü                                                                                                                                                                      | 28 |
| <b>Şekil 2.9.</b>   | (a) Sabit genlikli puls uygulanması (b) diferansiyel puls voltametrisi tekniğinde meydana gelen akım potansiyel eğrisi                                                                                                          | 29 |
| <b>Şekil 2.10.</b>  | (a)' daki basamak sinyaline, (b)' deki pulsun binmesiyle, (c)' de oluşan kare-dalga voltametrisine ait uyarma sinyalinin oluşumu gösterilmektedir                                                                               | 30 |
| <b>Şekil 3.1.a.</b> | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58                                                | 49 |
| <b>Şekil 3.1.b.</b> | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81                                                            | 50 |
| <b>Şekil 3.2.</b>   | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu | 52 |
| <b>Şekil 3.3.a.</b> | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58                                               | 53 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.3.b.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81                                                                                  | 54 |
| <b>Şekil 3.4.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu)                        | 55 |
| <b>Şekil 3.5.a.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58                                                                      | 57 |
| <b>Şekil 3.5.b.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81                                                                                  | 58 |
| <b>Şekil 3.6.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyelleri (A) ve akımları (B) üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu) | 60 |
| <b>Şekil 3.7.a.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. Tarama hızı $v$ ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 750; 2) 500; 3) 250                                                               | 61 |
| <b>Şekil 3.7.b.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar. Tarama hızı $v$ ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 75; 2) 50; 3) 25; 4) 10                                                           | 62 |
| <b>Şekil 3.8.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $v$ - $i_p$ grafiği                                                                                                                          | 63 |
| <b>Şekil 3.9.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $v^{1/2}$ - $i_p$ grafiği                                                                                                                    | 63 |
| <b>Şekil 3.10.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $\log v$ - $\log i_p$ grafiği                                                                                                               | 64 |
| <b>Şekil 3.11.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,02 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $E_p$ - $\log v$ grafiği                                                                                                                    | 65 |
| <b>Şekil 3.12.</b> KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar (standart DPT çözeltisi ortamında)                                                                                                                         | 67 |
| <b>Şekil 3.13.</b> Standart DPT çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği                                                                                                                                                                                              | 68 |
| <b>Şekil 3.14.</b> KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar (insan idrarı ortamında)                                                                                                                                   | 72 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.15.</b> İnsan idrarından DPT miktar tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği                                                                                                                                                                                        | 73 |
| <b>Şekil 3.16.</b> KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar (insan serumu ortamında)                                                                                                                                          | 76 |
| <b>Şekil 3.17.</b> İnsan serumundan DPT miktar tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği                                                                                                                                                                                        | 77 |
| <b>Şekil 3.18.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09                                                                                                                    | 80 |
| <b>Şekil 3.19.a.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH: 1,80; 2) pH: 2,19; 3) pH: 3,09; 4) pH: 3,56; 5) pH: 4,56                                                                                    | 82 |
| <b>Şekil 3.19.b.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH 5,58; 2) pH 5,85; 3) pH 6,99; 4) pH 8,04; 5) pH 8,80                                                                                         | 83 |
| <b>Şekil 3.20.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu, ( $\Delta$ ): Borat Tamponu) | 84 |
| <b>Şekil 3.21.a.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH: 1,80; 2) pH: 2,19; 3) pH: 3,09; 4) pH: 3,56; 5) pH: 4,56                                                                                    | 85 |
| <b>Şekil 3.21.b.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH 5,58; 2) pH 5,85; 3) pH 6,99; 4) pH 8,04                                                                                                     | 86 |
| <b>Şekil 3.22.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeline (A), akımına (B) etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu)                   | 87 |
| <b>Şekil 3.23.a.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar                                                                                                                                    | 88 |
| <b>Şekil 3.23.b.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar. Tarama hızı v (mVs-1) 1) 75; 2) 50; 3) 25                                                                                         | 89 |
| <b>Şekil 3.24.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen Ep- log v grafiği                                                                                                                                   | 90 |
| <b>Şekil 3.25.</b> Kafein' in açık formülü                                                                                                                                                                                                                                        | 91 |
| <b>Şekil 3.26.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04                                                                                                        | 93 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.27.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu)                             | 94  |
| <b>Şekil 3.28.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04                                                                                                      | 95  |
| <b>Şekil 3.29.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu)                            | 96  |
| <b>Şekil 3.30.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04                                                                                                      | 97  |
| <b>Şekil 3.31.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin (A) pik potansiyeli üzerine, (B) pik akımı üzerine etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu) | 98  |
| <b>Şekil 3.32.a.</b> $1 \times 10^{-4}$ M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04                                                                                | 99  |
| <b>Şekil 3.32.b.</b> $1 \times 10^{-4}$ M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. Tarama hızı $v$ ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 75; 2) 50; 3) 25; 4) 10; 5) 5                                                        | 100 |
| <b>Şekil 3.33.</b> $1 \times 10^{-4}$ M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $v$ - ip grafiği                                                                                                                                  | 101 |
| <b>Şekil 3.34.</b> $1 \times 10^{-4}$ M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $v^{1/2}$ - ip grafiği                                                                                                                            | 101 |
| <b>Şekil 3.35.</b> $1 \times 10^{-4}$ M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $\log v$ - $\log ip$ grafiği                                                                                                                      | 102 |
| <b>Şekil 3.36.</b> $1 \times 10^{-4}$ M Kafein' in pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen $E_p$ - $\log v$ grafiği                                                                                                                        | 103 |

## ÇİZELGELER

|                      |                                                                                                                                                           |    |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 2.1.</b>  | Deneylerde Kullanılan Kimyasal Malzemeler                                                                                                                 | 40 |
| <b>Çizelge 2.2.</b>  | Deneylerde Kullanılan Standart Madde Bilgileri                                                                                                            | 40 |
| <b>Çizelge 2.3.</b>  | Deneylerde Kullanılan İlaç Bilgileri                                                                                                                      | 40 |
| <b>Çizelge 2.4.</b>  | Tampon Çözeltilerin Bileşimler                                                                                                                            | 42 |
| <b>Çizelge 3.1.</b>  | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri        | 51 |
| <b>Çizelge 3.2.</b>  | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri       | 55 |
| <b>Çizelge 3.3.</b>  | $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri       | 59 |
| <b>Çizelge 3.4.</b>  | $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen veriler                                       | 62 |
| <b>Çizelge 3.5.</b>  | Basamak potansiyeli değişiminin potansiyele ve akıma etkisi                                                                                               | 66 |
| <b>Çizelge 3.6.</b>  | Puls yüksekliği değişiminin potansiyele ve akıma etkisi                                                                                                   | 66 |
| <b>Çizelge 3.7.</b>  | Frekans değişiminin potansiyele ve akıma etkisi                                                                                                           | 66 |
| <b>Çizelge 3.8.</b>  | DPT standart çözeltisinin KDV tekniği ile derişimine karşı pik akımı değişimi                                                                             | 67 |
| <b>Çizelge 3.9.</b>  | BKEE ile DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında KDV tekniği ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi sonuçları                          | 69 |
| <b>Çizelge 3.10.</b> | BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirlik sonuçları                                                             | 69 |
| <b>Çizelge 3.11.</b> | $4,0 \times 10^{-5}$ M DPT içeren ticari ilacın (DİFİLİN®), BKEE kullanılarak kare dalga voltametri (KDV) tekniğiyle elde edilen % geri kazanım değerleri | 71 |
| <b>Çizelge 3.12.</b> | Ticari ilaca (DİFİLİN®) enjekte edilen DPT' nin BKEE kullanılarak kare dalga voltametri (KDV) tekniğiyle elde edilen % geri kazanım değerleri             | 71 |
| <b>Çizelge 3.13.</b> | İnsan idrarındaki DPT miktar tayininde KDV tekniği ile derişimine karşı pik akımı değişimi                                                                | 73 |

|                                                                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 3.14.</b> BKEE ile insan idrarındaki DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında KDV tekniği ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi sonuçları                  | 74  |
| <b>Çizelge 3.15.</b> İnsan idrarı ortamında BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirlik sonuçları                                                | 74  |
| <b>Çizelge 3.16.</b> İnsan idrarındaki DPT' nin ve enjekte edilen $4,0 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE kullanılarak kare dalga voltametri (KDV) tekniğiyle elde edilen derişim değerleri | 75  |
| <b>Çizelge 3.17.</b> İnsan serumundaki DPT miktar tayininde KDV tekniği ile derişimine karşı pik akımı değışimi                                                                          | 76  |
| <b>Çizelge 3.18.</b> BKEE ile insan serumundaki DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında oluşturulan kalibrasyon eğrisi regresyon analizi sonuçları                                     | 78  |
| <b>Çizelge 3.19.</b> İnsan serumu ortamında BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günler arasındaki tekrarlanabilirlik sonuçları                                         | 78  |
| <b>Çizelge 3.20.</b> İnsan serumundaki DPT' nin ve enjekte edilen $8,0 \times 10^{-5}$ M DPT' nin BKEE kullanılarak kare dalga voltametri (KDV) tekniğiyle elde edilen akım değerleri    | 79  |
| <b>Çizelge 3.21.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri                   | 81  |
| <b>Çizelge 3.22.</b> $5 \times 10^{-5}$ M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri                  | 84  |
| <b>Çizelge 3.23.</b> $5 \times 10^{-5}$ DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri                    | 86  |
| <b>Çizelge 3.24.</b> $1 \times 10^{-4}$ M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen veriler                                                  | 89  |
| <b>Çizelge 3.25.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri                     | 93  |
| <b>Çizelge 3.26.</b> $5 \times 10^{-5}$ M kafeinin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri                    | 95  |
| <b>Çizelge 3.27.</b> $5 \times 10^{-5}$ M Kafein' in BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri                  | 97  |
| <b>Çizelge 3.28.</b> $1 \times 10^{-4}$ M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniğ ile Hız Taramasından Elde Edilen Veriler                                                | 100 |

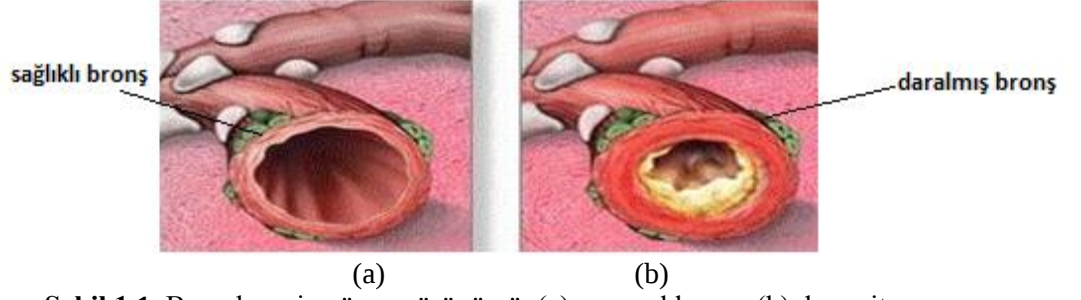
## 1. GİRİŞ

Astım, solunum yollarının çevresel faktörlerle birlikte daha duyarlı hale gelmesi sonucunda mukoza tabakasında meydana gelen şişkinlik durumudur. Bu şişkinlik, hava akımını engeller ve solunum güçlüğü oluşturur. Böyle atakların yaşandığı evrelere astım nöbetleri denir.

Alerjik astımın görüldüğü dönemler, bahar ve yaz aylarıdır. Alerjik astım, toplumun ortalama yüzde 20- 25’ inde görülmektedir. Kadınlarda alerjik nezle tedavisinin tamamlanmadığı durumda astım görülebilir. Alerjiler, havadaki partiküllerin burun tarafından hassas bir şekilde algılanıp tepki vermesi sonucu oluşur. Söz konusu partiküller akciğerde alerjik astıma, gözde ise alerjik konjonktivitaya yol açabilir. Alerjik durumlar, çevresel etkenlere ve genetiğe bağlı olarak meydana gelebilir.

Astım hastalarında öksürme, nefesin göğüste sıkışması ve nefes alıp verirken hırıltı görülür. Bu belirtiler alerjik durumlarla, spor sonrasında veya dinlenme halinde tekrarlı hale geldiğinde astım tanısı kesinleşir. Belirtiler, iki atak arasında görülmez. Astım tanısı, solunum fonksiyon testleri ve diğer tıbbi kontrol sonuçları ile netleştirilmektedir.

Bronşit, akciğerlere hava geçişini sağlayan bronşların iç çeperinin iltihaplanmasıdır. Akut ve kronik olmak üzere çeşitleri mevcuttur. Kronik bronşitin akut bronşite göre daha ciddi bir iltihaplanma olduğu bilinmektedir. Kronik bronşit tedavi gerektirir. Akut bronşit ise grip seviyesindeki bir iltihaplanmadır.



Şekil 1.1. Bronşların iç yüzey görünümü. (a), normal bronş; (b), bronşit

Bronşit genellikle grip, kızamık gibi hastalıklarda görülür. Sisli ve soğuk havada nüksetmektedir. Bronşitin ilk evrelerinde kuru ve ağrılı öksürük, az yapışkan balgam görülür. Daha sonraki evrelerde ise irinli balgam, hafif ateş ve halsizlik görülür. Şekil 1.1’ de bronşların normal ve bronşit hali gösterilmiştir.

Soğuk algınlığından sonra öksürükle beraber ateş görülmektedir. Soluk borusunda ve bronşların içinde iltihap oluşur. Bronşlarda iltihaba karşı ortaya çıkan savunma tepkisi öksürüktür. Bronşit durumunda ise bronştaki mukoza iltihaplandığından iç çeperdeki mukus salgısı artar. Damarlarda aşırı miktarda kan toplanır. Kanın sıvı kısmı bronş boşluğuna sızar. Bu sızıntıya eksüda denir. Sızıntı bronşlarda yabancı madde etkisi oluşturur.

Bronşitin ikinci belirtisi balgam çıkarmadır. Bu durum, damarın dış kısmına sıvının sızması ve artan mukus salgısı sonucu ortaya çıkar.

Kronik bronşit için tam ve açık nedenler saptanamamıştır. Sebebiyet veren durumların başında sigara, kirli hava ve solunum yolu enfeksiyonları bulunmaktadır. Bu üç etken bir araya geldiğinde bronş mukozasının iltihaplanması kolaylaşır. <http://www.renklinot.com/saglik/hastalik-ve-tedavi/bronsit-nedir-bronsit-belirtileri-ve-bronsit-tedavisi.html> (Erişim Tarihi: 06/03/2019).

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), sigaranın ve benzer maddelerin sebep olduğu bir hastalıktır. Mikrobik değildir. İltihaplı bir solunum yolu hastalığıdır. ‘‘Kronik’’ devamlılık gösteren; ‘‘obstrüktif’’ ise tıkayan anlamına gelir. Dolayısıyla KOAH, uzun süre devamlılık gösteren tıkaçıcı ve iltihaplı bir solunum yolu sorunudur. Hastalık ilerleyicidir ve tam olarak hastalığın tedavi edilerek ortada kaldırılması mümkün değildir. Sadece kontrol altında tutularak ilerlememesi

sağlanabilir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün yaptığı araştırmalardan elde edilen sonuçlar, hastalığın dünyadaki ölüm sebeplerinden dördüncüsü olduğunu göstermektedir. Dünyada yılda yaklaşık üç milyon kişi 3 milyona yakın kişinin ölü sebebi KOAH' dır. Türkiye' de ise yaklaşık beş milyon KOAH hastası mevcuttur. Bunların sadece 400 binine KOAH hastalığı teşhisi konulmuştur. Dünyadaki KOAH hastalarından yaklaşık % 80' lik bir bölümü hastalığından haberdar değildir.

KOAH erken teşhisi durumunda ilerlemeden kontrol altına alınabilen bir hastalıktır. Belirtiler öncelikle öksürme ile görülür. Solum güçlüğü, balgam ve kronik öksürme de diğer belirtilerdir. Nefes darlığı sebebiyle göğsün sıkışması, nefeste hırıltı, uyku problemleri, beslenme bozuklukları da gözlenen belirtilerdendir. Kilo verme, morarma, yoğun yorulma hali, bacakların şişmesi ve kalp yetmezliği de görülebilir. ( <http://saglikloji.com/koah-hastaligi-nedir-belirtileri-tedavisi/> )

### **1.1. Tedavi Yöntemleri**

İnhaler steroidler günümüzde persistan astım tedavisi için kullanılmakta olan en etkin antiinflamatuvardır. Çalışmalar bu ilaçlar ile astım belirtilerinin ve astım sürecinde meydana gelen atakların, astım şiddetinin, soluk yolu hassasiyetinin, soluk yolu inflamasyonunun azaldığını göstermiştir. İlaçlar, astım mortalitesinin azalmasını, akciğer fonksiyonlarının artmasını, dolayısıyla astım hastalığının kontrol altında tutulabilmesini sağlamıştır. Ancak söz konusu ilaçların kullanımının sürekliliği şarttır. Aksi halde klinik kontrolün bozulması durumu ile karşılaşılır.

Ksantinler ailesine üye olan teofilin ve teofilin türevi ilaçlar, astım tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar için, plazma seviyeleri, etkinlik ve toksisite arasında güçlü bir ilişki vardır. Bütün bu faktörler, bu ilaç sınıfını dozaj protokollerinin modifikasyonlarına dayandırmaktadır. Doğru terapötik kullanımları için uyulması gereken kurallar, kan örnekleme zamanını ve dozlama gerekçesini belirleyen ilkeleri dikkate almayı gerektirmektedir (Erdociain ve ark., 1998).

KOAH astımdan ayrı bir hastalıktır ve bazı KOAH hastaları, astım- KOAH örtüşmesi (ACO) olarak tanımlanan birkaç hava yolu hastalığı formunda bulunabilmektedir. Bronkodilatörler ve inhale kortikosteroidler (ICS), KOAH ve astımın standart tedavisinde önemli bir yere sahiptir. KOAH hastalarında uzun etkili bronkodilatörler ilk monoterapi tedavisinde etkilidir, astımlı hastalarda ise ilk tedavi olarak ICS monoterapi önerilmektedir (Anzueto ve ark., 2018).

Kronik bronşit tedavisi için öncelikle nedenlerin ortadan kaldırılması gerekir. Sigara kullanımından veya sigara dumanından uzak durulmalıdır. Bu durum sağlandığı takdirde, yaklaşık dört hafta içinde öksürme azalma başlar. KOAH için ise benzer şekilde sigaradan uzak durulmalıdır. Takiben obstrüksiyon mertebesine uygun bir bronkodilatör tedavisi uygulanmalıdır. (Argüder, 2012).

## **1.2. Dihidroksipropilteofilin Hakkında Bilgi**

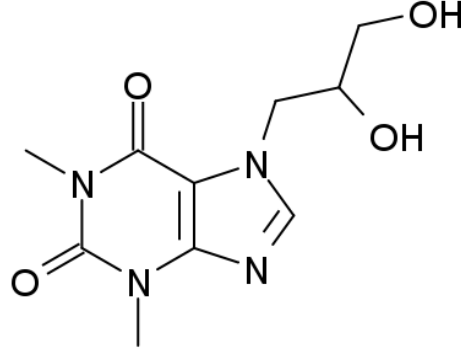
Dihidroksipropilteofilin (diprofilin, difilin, 7-(2,3-Dihydroxypropyl)theophylline), teofilin türevi bir ksantindir. Dihidroksipropilteofilin (DPT) farmakodinamik açıdan, bronkodilatör etkiye ve ona oranla daha az miktardaki vazodilatör ve diüretik özelliklere sahiptir. Fosfodiesteraz inhibisyonu ile bronkodilatasyon sağlamaktadır. DPT, hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP)'ta artışa yol açan bir fosfodiesteraz inhibitörü olarak görev yapar. Bu, bronşiyal düz kasın ve diğer düz kasların gevşemesine neden olarak akciğerleri genişletir ve soluk almayı kolaylaştırır. DPT, adenosin reseptörlerini de antagonize edebilmektedir.

Astım, bronşit, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) gibi solunum yetmezliği yaşanan hastalıkların tedavisinde rol alan bazı ilaçlarda (ASTMADİN, DİFİLİN, DİLOR, vb.) etken madde olarak yer almaktadır.

### **1.2.1. Fiziksel Özellikleri**

Dihidroksipropilteofilin, beyaz veya sarı renkteki kristal toz şeklindedir. Aşırı acı tattadır (The Merck Index, 1976).

### 1.2.2. Kimyasal Özellikleri



Şekil 1.2. DPT' nin açık formülü.

**Molekül Kütlesi:** 254, 246 g/mol' dür.

**Kapalı Formül:** C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>

**Erime Noktası:** 155 °C – 157 °C (Jones ve Maney, 1951).

**Çözünürlük:** 25 °C' ta; 3 ml suda 1 g, 100 ml alkolde 2 g, 100 ml kloroformda 1 g çözünmektedir (The Merck Index. 9th ed., 460).

### 1.2.3. Farmakodinamik Özellikleri

DPT, su içerisinde nötr reaksiyonla eriyen bir çeşit teofilindir. Fosfodiesteraz inhibitörü olarak görev yapar. Etki yönünden aminofilin' e benzemektedir. Ancak, aminofilinden daha iyi absorbe ve tolere edilebilmekte, daha az bulantı ve mide irritasyonuna sebep olmaktadır.

DPT, koroner damarlarda sağladığı vazodilatasyon ile miyokardın daha iyi beslenmesini sağlamaktadır. İskelet kasları ve diyafram açısından uyarıcı özellik taşır. Ayrıca, bronkodilatör, diüretik ve pulmoner damarlarda bulunan düz kasların üzerinde miyorelaksan etkiler oluşturur.

DPT' nin etken madde olarak kullanıldığı ilaçlar, angina pectoris, miyokard enfarktüsü, Cheyne-Stokes solunumu, safra yolu spazmları, bronşit, astım ve KOAH gibi nefes darlığı içeren hastalıklarda etkilidir.

#### 1.2.4. Farmakokinetik Özellikleri

DPT gastrointestinal sistemden ve kas içine olacak şekilde uygulandığında enjeksiyonun yapıldığı noktadan hızlıca emilmektedir. Plazma içerisinde ortalama % 40' ı albümine bağlı olarak taşınmaktadır. Terapötik kullanımlarda uygulanan serum seviyeleri 10- 20 µg/ml' dir. Eliminasyon yarı ömrü iki saat civarındadır. İdrar yolu ile büyük ölçüde değişmemiş formda dışarı atılmaktadır. Plazma yarı ömrü, çocuklarda ve sigara kullanan bireylerde % 30 ile % 50 arasında olacak şekilde kısalmaktadır.

**Gastrointestinal Yan Etkileri:** İritasyon, mide bulanması, kusma, epigastrik ağrılar, baş ağrısı, diyare.,

**Merkezi Sinir Sistemi Yan Etkileri:** Stimülasyon, iritasyon, huzursuzluk, uykusuzluk.

**Kardiyovasküler Yan Etkiler:** Palpitasyon, taşikardi, ekstrasistol, flaş hal, hipotansiyon, dolaşımda bozukluk.

**Solunum Sistemi Yan Etkileri:** Takipne, solunum durması.

**Renal Yan Etkiler:** Albüminüri, renal tübüllerde itrah artması, hematüri.

Ateş ve dehidrasyon gibi yan etkiler de vardır.

Diğer ksantin bileşikleri ile kullanıldığında zehirleyici etki görülebilmektedir.

DPT, furosemid ve reserpinin etkisini güçlendirmekte ve lityum, propranolol ve fenitoinin etkisini azaltmaktadır.

DPT, diğer ksantin bileşikleri ve oral antikoagulanlar ile birlikte verilmemelidir. Metotreksat teofilin klirensini azaltabilmektedir. Metotreksat alan hastalarda serum teofilin derişimi ölçülmelidir. Teofilin, serum ürik asit ölçümlerini bozabilmekte; plazma serbest yağ asidi ve serum bilirubin değerlerini yükseltebilmektedir.

### **1.2.5. Terapötik Kullanımları**

DPT, bronkodilatör etkilerini doğrudan uygular ve teofilinin aksine karaciğer tarafından metabolize edilmeden böbrekler tarafından değişmeden atılır. Tek bir oral dozun yaklaşık % 88' i idrardan geri kazanılabilmektedir. (Miller ve Greenblatt, 1979).

### **1.3. Tez Maddesi ile Yapılmış Literatür Çalışmaları**

DPT miktar tayini için analitik yöntemler kullanılarak yapılan bilimsel çalışmalar incelendiğinde, spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerin kullanıldığı, elektrokimyasal yöntemlerin kullanılmadığı tespit edilmiştir. Bu incelemenin sonucunda, çalışmanın orijinalliği saptanmıştır.

#### **1.3.1. Kromatografik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar**

John ve ark. (1980) tarafından, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) kullanılarak, dihidroksipropilteofilin ve dihidroksipropilteofilin' in diğer ürünlerle kombinasyon halinde olduğu dozaj formları analiz edilmiştir. Sıvı dozaj formları seyreltilerek enjeksiyon yapılmıştır. Tabletler, mobil faz veya bazı durumlarda farklı bir mobil faz kullanılarak basit bir ekstraksiyon işlemi gerektirmiştir. Efedrin ve fenobarbital içeren ürünler için analiz süresini hızlandırmak için akış programlama kullanılmıştır. Kromatografik koşullar, 20/ 10 asetonitril ve % 10 asetik asit içeren 80 kısım sudan oluşan 20 kısım asetonitrilden oluşan bir mobil fazı içermiştir. Akış hızı, ilk 4,5 dakika boyunca 2 ml/ dakika ve sonra kalan 5 dakika boyunca 5 ml / dakika olacak şekilde analiz uygulanmıştır. İç standart olarak sodyum barbital kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem, dihidroksipropilteofilin, guaifenesin, efedrin ve fenobarbital analizlerine olanak sağlamıştır. Dihidroksipropilteofilin için elde edilen YPSK sonuçları, ultraviyole spektrofotometrisi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Boyalardan veya koruyucu maddelerden kaynaklanan herhangi bir girişim etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Kirth ve ark. (1980), astım tedavisinde klinik olarak bronkodilatörler olarak

kullanılan ve terapötik etkileri kandaki derişimlerine bağı olan dyphylline [7- (2,3- & hidroksipropil) teofilin] ve teofil ile çalışmalar yapmışlardır. Teofilin ve dihidroksipropilteofilin için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) kullanarak çeşitli analiz yöntemleri oluşturmuşlardır. Ancak sadece Maijub ve Stafford 1131 yöntemleri ile her iki ilacı aynı anda tayin edebilmişlerdir. Bu prosedürler silika kolonu gerektirmektedir. Dihidroksipropilteofilin için % 65 iyileşme ile plazmadan deaktivasyon ve ekstraksiyon sağlandığı görülmüştür. İnsan plazma örneklerinin otomatik YPSK analizi için uygun olan kafein ve teobromin varlığında dihidroksipropilteofilin ve teofilinin eş zamanlı belirlenmesi için hızlı, kesin ve doğru bir yöntem geliştirmişlerdir.

Kester ve ark. (1987), serumda teofilin ve dihidroksipropilteofilin eşzamanlı tayini için geliştirilmiş ve basitleştirilmiş bir yüksek performanslı sıvı kromatografik yöntem sunmuşlardır. İç standart olarak 50 l  $\beta$ -hidroksietilteofilin (100 g / 20 ml) seruma eklenmiştir. Serum proteinleri, % 30- % 40 trikloroasetik asit çözeltisi ilavesiyle çöktürülmüştür. Mobil faz, % 6 asetonitril içeren bir sodyum asetat tamponundan oluşturulmuştur. Kromatogramın ayırma süresi 6 dakikadır. Her iki bileşik için duyarlılık sınırı 0,25 g / ml'dir. Bu yöntemin, teofilinin ve genellikle teofilinle birlikte kullanılan diğer ilaçların ana metabolitlerinden etkilenmediği tespit edilmiştir.

Straughn ve ark. (1985), tarafından, dyphylline içeren üç tablet formülasyonunun ve dyphylline-guaifenesin içeren üç tablet formülasyonunun nispi biyoyararlanımını değerlendirmek için on iki sağlıklı erkek gönüllü ile altı yollu bir biyoyararlanım çalışması yapılmıştır. Her deneye, her dozu birbirinden ayıran 3 gün olacak şekilde her bir üründen iki tablet uygulanmıştır. Her bir dozdan hemen önce ve her bir dozu takiben 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0 ve 10,0 saatlerinde kan örnekleri alınmıştır. Serumdaki dyphylline etken maddesini test etmek için bir YPSK yöntemi kullanılmıştır. Altı rn için, ortalama maksimum 0,6 ila 1,0 saat arasında değişmiştir.  $C_{max}$  için ortalama değerler % 29, AUC değerleri ise < % 8 farklılık göstermiştir. Dyphylline-guaifenesin ürünlerinin, sadece dyphylline içeren ürünlerden daha düşük bir biyoyararlanım sergilediği kaydedilmiştir.  kombinasyon ürününün,  dyphylline ürünü gibi biyoeşdeğer olduğu sonucuna

varılmıştır.

Wenk ve ark. (1983), diprofilin, proxyfilin ve teofilinin etken maddelerinin eş zamanlı tayini için, yüksek performanslı sıvı kromatografi (YPSK) kullanarak seçici ve güvenilir bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, tek bir özütleme prosedürünü ve ardından üçlü bir çözücü sistemi kullanarak bir ODS ters faz kolonunda ayrılmayı içermektedir. Yöntem, farmakokinetik çalışmalar için ve ayrıca kombine preparasyonun terapötik dozlarından sonra hastanın serumunun rutin izlenmesi için uygulanacak kadar hızlı ve hassastır. Önerilen yöntemin uygulanabilirliği ve faydası, dört sağlıklı gönüllü üzerindeki farmakokinetik bir çalışmada gösterilmiştir.

Paterson N. (1982), bronkospazm tedavisinde teofilinin olası bir yedeği olarak yıllarca mevcut olan bir ksantin türevi olan diprofilin' in [<sup>3</sup>H]- (2,3-dihidroksipropil) teofilin, dyfilin], teofilinle karşılaştırıldığında daha düşük yan etki görülme sıklığı gösterebileceğini öne sürmüştür. Diprofilin tedavisinin etkinliği kan düzeyi ölçümleri ile tespit edilmiştir. Ksantin türevlerinin ilk çalışmaları UV absorpsiyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Uygulamada gönüllü denekler üzerinde farmakokinetik çalışmalar yapılmıştır. Ancak hazırlık işlemleri uzun ve karmaşık olduğundan, sonuçların bu metot ile belirlenmesi zor olmuştur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) ise, serum teofilin düzeylerinin ölçülmesinde geniş kabul görmüştür. İnsan serumunda ve idrarında diprofilinin ölçülmesinde uygulanmıştır. Çeşitli hastalardan ve absorpsiyon çalışmalarına katılan gönüllülerden alınan küçük serum örneklerinden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Huang ve ark. (2003), teofilin, dyfilin ve kafeinin iyi ayrımı için basit bir misel elektrokinetik kromatografi yöntemi geliştirmişlerdir. Ayırma 25 ° C' ta, pH 9' da 10 mM borat tampondan oluşan bir çalışma elektroliti ve 40 mM sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılarak yapılmıştır. Bu şart altında, yüksek verimlilikle iyi bir ayırma ve gerekli kısa analiz süresi sağlanmıştır. Borat tamponunun ve sodyum dodesil sülfatın pH' ı ve derişimleri dahil olmak üzere ilaçların ayrılmasını etkileyen çeşitli parametreler incelenmiştir. Kafein bir iç standart olarak kullanıldığında, teofilin ve dyfilinin tespiti için kullanılan yöntemin doğrusal aralığı 0,03-1 mmol/ml ; tespit sınırı sırasıyla 0,01 ve 0,02 µmol/ ml olarak elde edilmiştir.

Gindy, A. (2005), diprofilin (DP), fenobarbiton (PH) ve papaverin hidroklorürün (PP) aynı anda belirlenmesi için üç yöntem geliştirmiştir. Yöntem, 0,02 M potasyum dihidrojen fosfat, pH 3,5-asetonitrilden (55:45 h/ h) oluşan bir mobil faz ile ters fazlı bir C18 kolonunda yüksek performanslı bir sıvı kromatografik (YPSK) yöntemi ile ayrılmasına dayanmaktadır. 210 nm'de UV tespiti ile miktar tayini sağlanmıştır. Uygulanan diğer iki kemometrik yöntemden birincisi temel bileşen regresyonu (PCR) ikincisi kısmi en küçük kareler yöntemidir (PLS-1). Bu yaklaşımlar, 215 ile 245 nm aralığında uygun çözeltilerin UV absorpsiyon spektrumunda  $\lambda = 0,2$  nm aralıklarla içeren bilgileri kullanarak karışımdaki üç ilacı ölçmek için başarıyla uygulanmıştır. Laboratuarda hazırlanan karışımlar ve farmasötik preparatlar üzeinden kalibrasyon grafiği çizilerek PCR ve PLS-1 modelleri, dahili validasyon, çapraz validasyon ve harici validasyon çalışmaları ile değerlendirilmiştir. PCR ve PLS-1 metotları, herhangi bir ayırma basamağı veya bir karışımdaki üç ilacın örtüşen spektrumlarının önceden hazırlanmış herhangi bir grafiksel işlemini gerektirmemektedir. PCR ve PLS-1 yöntemlerinin sonuçları, farmasötik formülasyonda elde edilen YPSK yöntemiyle karşılaştırılmış ve uyum sağladığı tespit edilmiştir.

### **1.3.2. Spektrofotometrik Yöntemlerle Yapılan Çalışmalar**

He ve ark. (2014), insan hemoglobininin (HHb) aminofilin, asefilin, kafein, teofilin ve diprofilinin, sistematik olarak UV-absorpsiyon spektroskopisi ve floresan spektroskopisi ile moleküler modelleme ile etkileşimini incelemişlerdir. Alkaloit-HHb kompleksinin oluşması HHb'nin floresan sönümlenmesine sebep olmuştur. Bağlanma sabitleri ve termodinamik parametreler elde edilmiştir. Termodinamik analiz ve moleküler modelleme sonuçları, aminofilinin en güçlü sönümleyici ve diprofilinin en zayıf sönümleyici olduğunu göstermiştir.

Bu tez kapsamında, çalışmanın ilk aşamasında, camısı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak dihidroksipropilteofilin'in elektrokimyasal davranışı üzerine pH, madde derişimi, destek elektroliti cinsi, gerilim tarama hızı ve gerilim tarama yönünün etkilerinin; dönüşümlü, diferansiyel puls ve kare dalga voltametrisi ile incelenmesi amaçlanmıştır.

İkinci aşamada ise, bu çalışmalar sonucunda geliştirilecek olan voltametrik yöntemin tamamen valide edilmesi ve dihidroksipropilteofilin' in ticari preparatlarından etken madde miktar tayininin duyarlı, hızlı ve seçici olarak yapılması ve biyolojik numunelere (insan idrar ve serumuna) uygulanması planlanmıştır.



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Elektrokimya

Genellikle çözeltiler gibi sıvı ortamlarda yük ayrımıyla ilişkili kimyasal olaylarla ilgilidir. Yükün ayrılması, genellikle farklı kimyasal türler arasındaki çözeltide homojen olarak veya elektrot yüzeylerinde heterojen olarak meydana gelebilecek yük transferiyle ilişkilidir. Böylece, elektrokimya uygulamaları son derece geniş bir çalışma alanına yayılmıştır.

Elektronötrallik sağlamak için, iki veya daha fazla yük transferi yarı reaksiyonu aynı anda gerçekleşir: yükseltgenme (elektron kaybı) ve indirgenme (elektron kazancı).

Elektrot yüzeylerinde, yükseltgenme ve indirgenme yarı reaksiyonları, genellikle tek bir hücrede veya ayrı hücre bölmelerinde çözeltiliye batırılmış farklı elektrotlarda meydana gelmektedir. Elektrotlar, hem çözeltide (iyonik taşıma yoluyla) hem de dışarıdan (elektrik telleri vb.) ileterek bağlanır, böylece elektrik devresi tamamlanır. Gibbs enerjisinin toplamı her iki elektrotta da değiştiğinde, salınan elektrik enerjisi pillerde ve yakıt hücrelerinde kullanılabilir. Pozitif ise, pozitif enerji farkının üstesinden gelmek, elektrot reaksiyonlarını meydana getirmek ve kimyasal maddeleri dönüştürmek için harici bir elektrik enerjisi sağlanabilir. Böylece, hücre konfigürasyonu izin verirse, iki elektrot reaksiyonunun ürünleri ayrılabilir.

Elektrokimyasal işlemler elektrokimyasal hücrelerde gerçekleşir (Kelter ve ark., 2009) . Bu tepkimeler; kimyasal reaksiyonlar sonucunda elektrik akımı meydana gelen galvanik hücreleri ve dışarıdan elektrik enerjisi uygulanması sonucunda kimyasal reaksiyonların meydana geldiği elektroliz hücrelerini oluşturmaktadır.

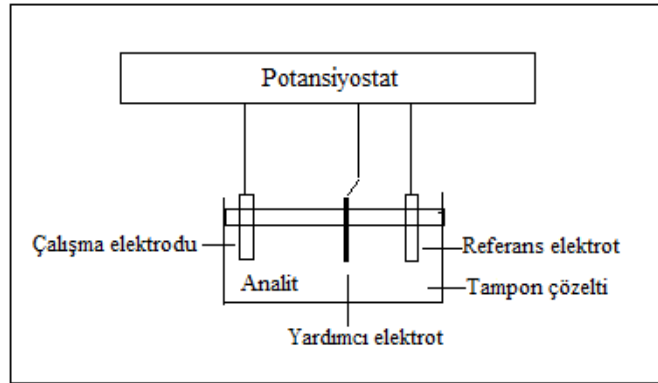
Bir elektrolit çözeltisine batırılmış bir çift elektrot, 1737- 1798 yılları arasında yaşamış olan elektrokimyacı L. Galvani' den sonra Galvanik hücre olarak da adlandırılmaktadır.

İlk olarak sülfürik asit içindeki bakır-çinko yığınlarına atanan Voltaik hücre terimi ise elektrokimyacı A. Volta tarafından icat edilmiştir, zaman zaman elektrik üreten hücreler için kullanılmaktadır (Sato, 1998).

### 2.1.1. Elektrokimyasal Hücreler

Bir elektrokimyasal hücre içerisinde öncelikle, analit içeren tuz çözeltisi bulunmaktadır. Bunun yanı sıra analitin kimyasal dönüşümüne destek olan elektrotlar bulunmaktadır. Elektrokimyasal hücrede son olarak bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devre yer almaktadır.

Elektrokimyasal hücreler, genellikle iki veya üç elektrotlu hücrelerden oluşmaktadır. İki elektrotlu hücrelerde, çalışma elektrodu ve referans elektrot bulunmaktadır.



Şekil 2.1. Elektrokimyasal hücre şeması (Doğan Topal. 2011).

Akım okumalarında yalnızca çalışma ve referans elektrodundan oluşan sistemler özellikle yüksek dirençli çözeltilerde ohmik direnç ( $iR$ ) nedeniyle sağlıklı cevap vermez, bu sebeple akım geçişi sırasında daha güvenilir olması için üçüncü bir elektrota gereksinim vardır. Bu amaçla karşıt elektrot kullanılır. Elektrokimyasal hücrede 3 elektrot bulunması durumunda, referans elektrot çalışma elektroduna yakın tutulur; böylece çözelti direnci azaltılmış olmaktadır (Özçelikay, 2016).

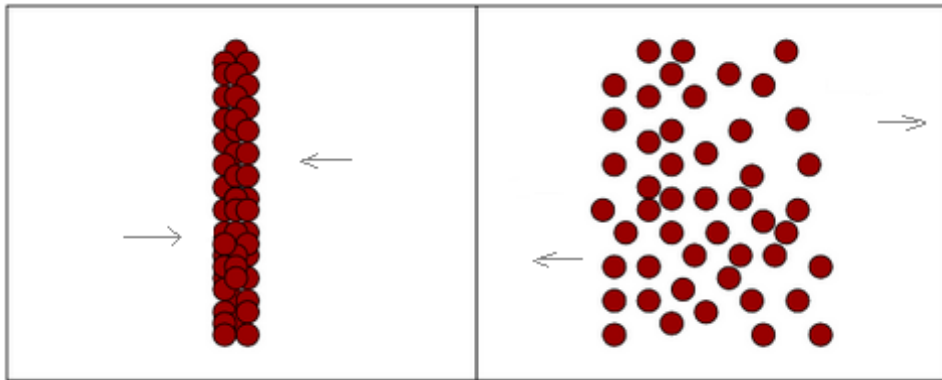
### 2.1.2. Elektrokimya’ da K t le Aktarımı

Herhangi bir zamanda akan faradaik akım, elektrotta gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon hızının doğrudan bir ölçümüdür. Ayrıca akım; malzemenin çözelti kütlesinden elektrotta k t le taşınması olarak bilinen orana ve elektronların ara yüz boyunca transfer edilebildiği ya da transfer kinetiğini y kleven orana bağlıdır. Bu iki işlem, akım esnasında i  içe geçmiş durumdadır. K t le taşınmasının    temel sebebi vardır:

- Difüzyon (Yayılma)
- Migrasyon (G  )
- Konveksiyon

#### 2.1.2.1. Difüzyon (Yayılma)

Moleküllerin yüksek deri imli bir bölgeden, düşük deri imli bölgelere rastgele hareketine difüzyon denir. Bir molekülün dağılma hızı, çözelti içindeki iki nokta arasındaki derişim farkına (derişim gradyanı) ve difüzyon katsayısına (D) bağlıdır. Difüzyon katsayısı, sabit sıcaklıkta belirli bir çözelti türü için karakteristik bir değere sahiptir.



**Şekil 2.2.** Deri im farkı nedeniyle moleküllerin rasgele hareketi (Difüzyon).

Kimyasal türlerin derişim gradyanı etkisi altındaki bu hareketi Fick’ in ilk yasası ile açıklanmıştır. Bir i parçacığı, seçilen alan boyunca derişim gradyanının bir

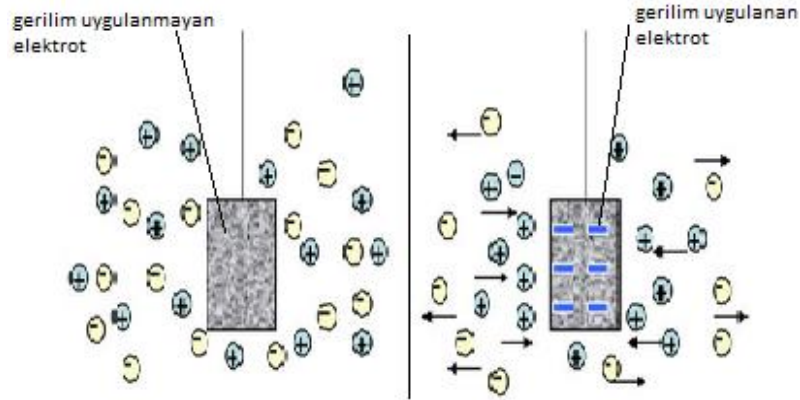
fonksiyonu olarak enine kesitsel bir alan boyunca yayılır. Belirli bir segment boyunca birim zamandaki parçacıklar olarak akı,  $J_i$  olarak ifade edilir.

$$J_i = -D_i \frac{\partial C_i}{\partial x}$$

$\partial C_i / \partial x$  derişim gradyanını ve  $D_i$ , i parçacığı için difüzyon katsayısını ifade etmektedir.

#### 2.1.2.2. Migrasyon (Göç)

Yüklü parçacıkların bir elektriksel alana yanıt olarak hareketine göç denir. Göçün toplam akıma katkısı, iyon yükü, iyon derişim, difüzyon katsayısı ve elektrik alanı gradyanının büyüklüğü ile orantılıdır. İyon içeren bir çözeltide katı bir elektroda uygulanan potansiyeldeki bir değişiklik, elektrot yüzeyindeki negatif yükün artırılması için Şekil 2.3' deki gibi yük göçünü etkilemektedir.

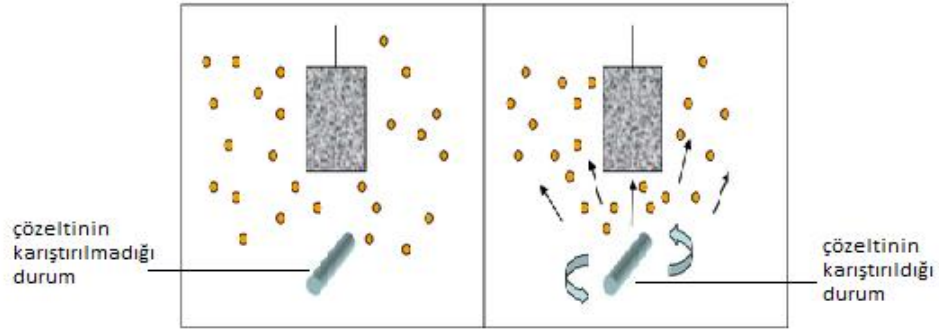


Şekil 2.3. Katı bir elektroda uygulanan potansiyel değişimi sonucu yük göçü.

#### 2.1.2.3. Konveksiyon

Akışkanların hareketi hidrodinamik ile tanımlanmaktadır. Hidrodinamiğin elektrokimyasal yansıması olan konveksiyon, çözelti türlerinin mekanik (karıştırma)

veya başka yollarla hareket ettirilmesidir. Bir çözeltinin karıştırılma hızı genellikle hidrodinamik hızı  $v_x$  cinsinden açıklanan bir türün toplam akısına konvektif bir boyut ile kontrol edilebilir.



Şekil 2.4. Bir çözeltinin karıştırılmasının etkisi.

Bir elektrot için malzemenin veya akının toplam kütle taşınması, bir boyut için Nernst- Planck denklemi ile tanımlanmaktadır:

$$J_{(x,t)} = -[D(\partial C_{(x,t)}/\partial x)] - [(zF/RT) D C_{(x,t)}](\partial \phi_{(x,t)}/\partial x) + C_{(x,t)} v_x(x,t)$$

**J:** akı ( $\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

**D:**çözelti türünün difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2 / \text{s}$ )

**C:** türün derişimidir ( $\text{mol} / \text{cm}^3$ )

**$\phi$ :** elektrostatik potansiyel

**$v_x$ :** hidrodinamik hız

Nernst-Planck denklemi, difüzyon (derişim gradyanı), göç (elektrik alanı) ve konveksiyondan (hidrodinamik hız) gelen bireysel katkıları birleştirir. Bu denklem, elektrot yüzeyine doğru olan kütle akışının, elektrot yüzeyine olan mesafenin bir fonksiyonu olarak, derişim, elektrostatik potansiyel ve hidrodinamik hız ile orantılı olduğunu göstermektedir.

Elektrokimyasal deneyler, elektrostatik potansiyel ve hidrodinamik hızın toplam elektroaktif tür akısına olan katkılarını ortadan kaldırmak ve kütle taşınmasını

sınırlamak için tasarlanabilir. Bu deneylerdeki akımlar difüzyon kontrollü olarak sınıflandırılabilir.

Göçten gelen katkılar, söz konusu redoks çiftine göre 10- 100 kat fazla bir çözeltiye inert bir elektrolit eklenerek etkili bir şekilde elimine edilebilir. Ölçümde yer alan iki elektrot arasındaki elektrik alanı, sadece elektroaktif madde değil çözelti içindeki tüm iyonların üzerine yayılır. Bu koşullar altında, göçün gözlemlenen akıma katkısı  $< \% 1$ 'dir. Titreşim ve sıcaklığın dikkatli bir şekilde kontrol edilmesiyle, önemli konvektif etkiler olmadan 20 saniyeye kadar difüzyon kontrollü ölçümler yapılabilmektedir.

### **2.1.3. Elektroanalitik Yöntemler**

Elektroanalitik yöntemler, farmasötik ve biyomedikal analizde rutin olarak kullanılmaktadır. Nispeten düşük maliyetli enstrümanlar ile doğruluk ve yüksek hassasiyetin yanı sıra geniş bir doğrusal dinamik aralık sunan güçlü ve çok yönlü analitik tekniklerdir. Modern farmasötik ve biyolojik analizde, ilaçların hassas miktarlarını belirlemek için farklı tekniklerle çok sayıda elektroanalitik uygulama mevcuttur.

Çoğunlukla laboratuvarındaki temel araştırmalar için geliştirilmiş yöntemlerdir ve biyolojik maddelerdeki farmasötik deneylerde de elektrokimyasal tekniklerin uygulanması son birkaç yılda büyük ölçüde artmıştır. Hızlı ve etkili yöntem geliştirmek ve optimizasyon sırasında optimize edilmiş birçok değişkeni teyit etmek için sağlam bir temel oluşturan elektrokimya, teori ve elektroanalitik tekniklerin prensiplerinin kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını gerektirmektedir (Özkan ve ark., 2016).

#### **2.1.3.1. Polarografi**

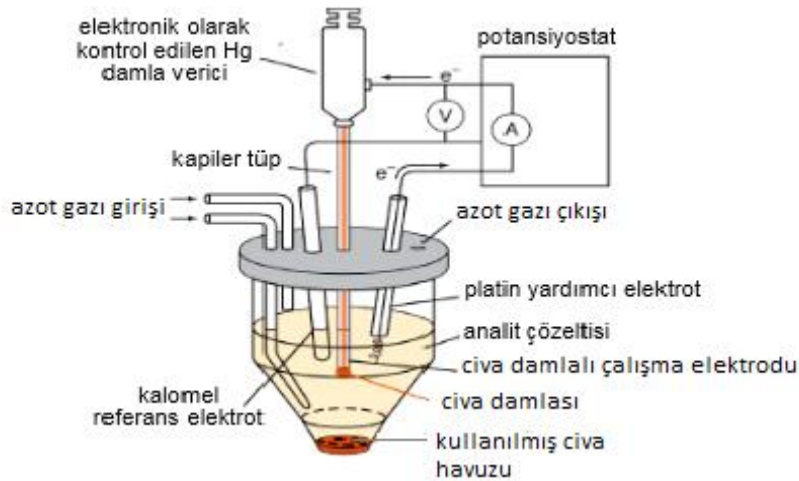
Polarografi, 1922'de, Profesör Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilen bir

yöntemdir. Elektrokimyanın başlangıç noktası olarak kabul edilmektedir. Potansiyometri ve kontrollü akım elektroliziyle sınırlı olan elektroanalitik kimyada kalitatif bir değişimi temsil etmiştir. Bu çalışmaları ile Jaroslav Heyrovsky, 1959'da Nobel Ödülü'nü kazanmıştır. Profesör Heyrovsky'nin öncü çalışmalarından kaynaklanan modern elektroanalitik yöntemler, kimya, biyoloji, tıp, malzeme bilimi ve çevre çalışmaları ve koruma başta olmak üzere birçok bilimsel ve teknolojik alanın uygulanmasında önemli bir etkiye sahip olmuştur.

1950'lerde ve 1960'larda, DA (doğru akım) polarografi en sık kullanılan analitik tekniklerden biri olmuştur.

DA polarografide, kendiliğinden yenilenen saf elektrot yüzeyi, bilim adamlarının yeterli teori ve kapsamlı analitik uygulamalar üzerinde çalışmasını sağlayan tekrarlanabilir elektrokimyasal sonuçlar vermiştir. Orijinal yöntem daha sonra çeşitli şekillerde araçsal olarak değiştirilmiştir. Cıva elektrotlarının kullanımına dayanan ve yavaş yavaş gelişmeye devam eden polarografi, böylece geniş bir elektrolitik yöntem alanı kaplamıştır.

Yaklaşık  $10^{-5}$  M'ye kadar derişimlerde elektroaktif türlerin belirlenmesini sağlayan polarografik analiz yöntemlerinin duyarlılığı, diğer birçok çağdaş teknikten daha üstün olmuştur (Özkan ve ark., 2016).



**Şekil 2.5.** Cıva damlalı elektrot içeren elektrokimyasal hücre yapısı.

Polarografide, kullanılan cıva elektrot yerine katı elektrot kullanıldığı durumda,

yöntem voltametri adını almıştır.

Civa damlalı elektrodun iki dezavantajı, kimyacıları bunun yerine koyulabilecek başka bir yöntem bulmaya itmiştir. Bu dezavantajlardan biri, civanın kolayca oksitlenmesi (yükseltgenmesi) olmuştur. Bu durum, yükseltgenmenin + 0,4 V' tan daha büyük potansiyelerde olduğu durumlarda çalışmaların yapılamamasına sebep olmaktadır. Çalışma matriksinde halojenlerin veya bazı iyonların bulunduğu durumda ise, negatif potansiyel uygulanması gerekmektedir.

Damla elektrotun bir diğer dezavantajı ise duyarlılığıdır.  $10^{-5}$  M' dan daha seyreltik derişimlerde çalışmaya olanak vermemektedir.

Damla elektrotların yerine genellikle platin, altın ve grafit türü katı elektrotlar geçmiştir. Katı elektrotlarla yapılan iki tür uygulama bulunmaktadır:

- Elektrot sabit tutulmaktadır, titreşim ve konveksiyondan (karıştırmadan) kaçınılmaktadır.
- Elektrot sabit hızla döndürülmekte veya elektrota belli bir titreşim uygulanmaktadır. Başka bir seçenek olarak elektrot sabit tutularak, çözelti bilinen koşullarda, düzenli olarak karıştırılmaktadır (Skoog ve ark., 1981).

Polarografinin olumsuz özelliklerinden yola çıkılarak geliştirilen bir yöntem olan voltametrinin de aralarında bulunduğu elektroanalitik yöntemler aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır:

#### **a-Sabit Yöntemler:**

- Potansiyometri,
- Potansiyometrik Titrasyonlar,
- Potansiyelin Sabit Tutulduğu Yöntemler

#### **b- Dinamik Yöntemler:**

- *Yük Kontrollü Yöntemler*
- *Akım Kontrollü Yöntemler:* (Kulometrik Titrasyonlar, Kronopotansiyometri)

- **Potansiyel Kontrollü Yöntemler:** (Voltametri, Kronokulometri, Potansiyel Kontrollü Kulometri)

Potansiyel kontrollü yöntemlerden biri olan voltametri ise kendi içerisinde;

- ✓ **Sabit Elektrot Voltametrisi** (Dönüşümlü ve Doğrusal Taramalı Voltametri)
- ✓ **Hidrokinamik Voltametri** (Çözelti karıştırılır veya dönen disk elektrotlar kullanılır.)
- ✓ **Puls Voltametrisi** (Diferansiyel Puls Voltametrisi, Kare Dalga Voltametrisi, Sıyırma Voltametrisi)

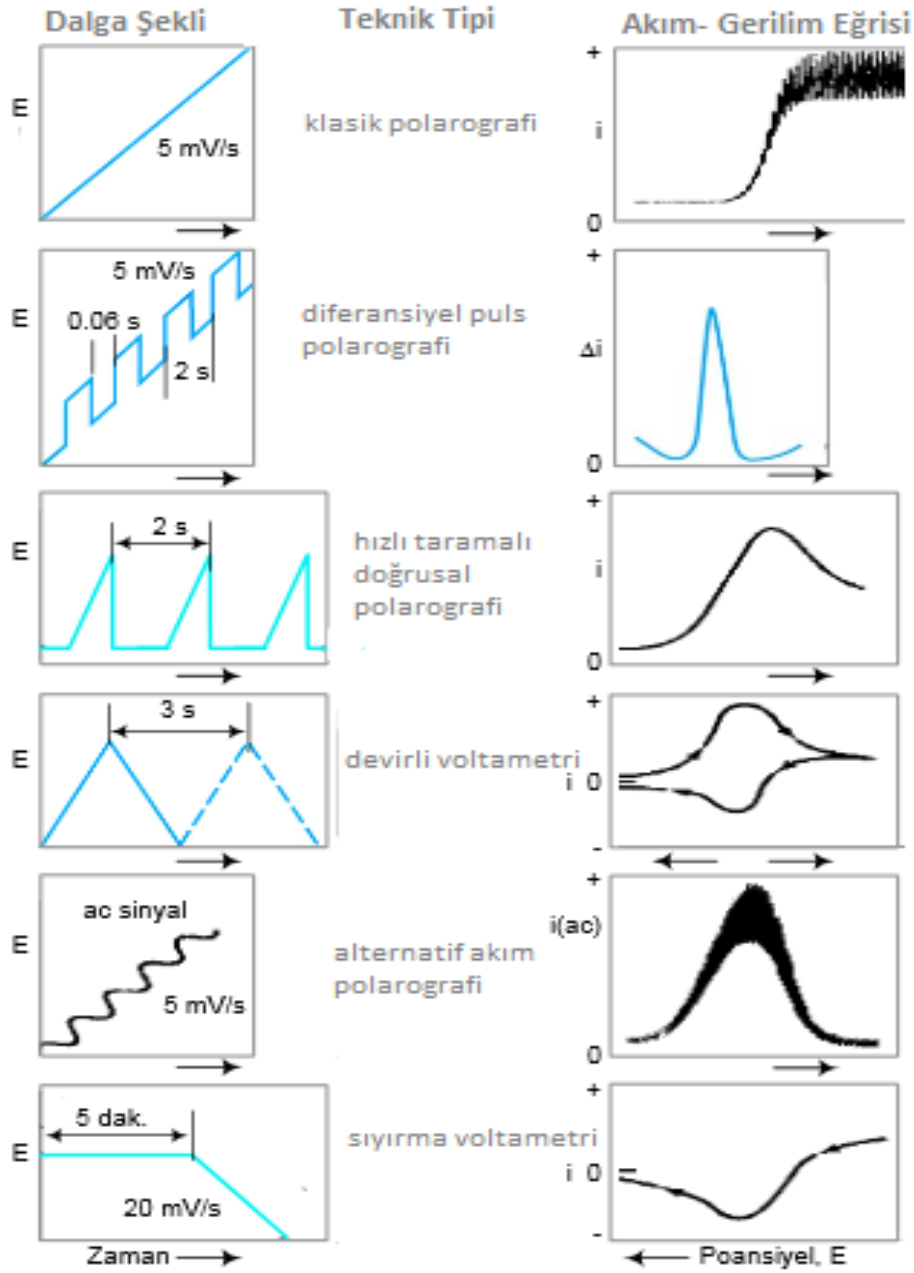
şeklinde üç alt türe ayrılmaktadır.

### 2.1.3.2. Voltametri

Voltametri, farklı potansiyeller ile akımı değerlendirmek için kullanılan elektrokimyasal bir analitik yöntemdir. İyi hassasiyete ve uygulanabilirliğe sahiptir. Voltammetrik teknik tabanı, sistemden geçen akımın elektrotlar boyunca uygulanan potansiyelin bir işlevi olduğu gerçeğine dayanmaktadır. Özetle, voltametrik yöntemlerde artarak uygulanan potansiyel ile oluşan akım, numunede bulunan elektroaktif türlerin derişimiyle doğrudan orantılı olarak taranmaktadır. Elektrokimyasal incelemeler için en sık kullanılan voltametrik yöntemler (puls voltametrisi ve sabit elektrot voltametrisi) aşağıda belirtilmektedir:

- Dönüşümlü Voltametri (DV)
- Doğrusal Tarama Voltametrisi (DTV)
- Kare Dalga Voltametrisi (KDV)
- Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)
- Sıyırma Voltametrisi (SV)

Bu yöntemlerden DV, DPV ve DTV sıklıkla kullanılmaktadır. Bu voltametrik yöntemler, mükemmel hassasiyet ( $< \% 1$ ) ve imkan tanıdığı geniş doğrusal aralık ile hem nitel hem de nicel bilgi vermektedir (Mahato ve ark., 2018).



**Şekil 2.6.** Bazı polarografik, voltametrik yöntemlere ait dalga şekilleri ve akım/ gerilim eğrileri.

Voltametri, redoks özelliklerine dayalı olarak bileşik derişimini ölçmenin bir yoludur. Yükseltgenme, kimyasal anlamda elektronların bir molekülden çıkarılmasıdır, indirgenme ise tam tersidir. Voltametrde elektronlar, bileşiklere elektrik alanlarla eklenir veya çıkarılır. Bu alan, bir elektrot/ çözelti ara yüzüne voltaj uygulanarak üretilir. Kritik (bileşiğe, elektrot ve elektrolite uygun) bir voltajda elektrot yüzeyinde bulunan kimyasal, elektronları elektrotlara ileterek bir akım

sağlamaktadır. Alanın polaritesi ters ise, elektronlar elektrottan oksitlenmiş bileşiğe geri döndürülerek orjinal durumuna geri döndürülebilmektedir.

Bir karışımdaki farklı bileşikler oksitlenmek için farklı seviyelerde alan gerektirebilmektedir. Bu nedenle, alan kuvvetini kademeli olarak artırarak (voltajı tarayarak), birkaç bileşik ayrı ayrı oksitlenebilir. Elektrottan ortaya çıkan akım daha sonra her biri tek bir kimyasalın oksidasyonu olan farklı piklere sahip olabilmektedir (Jonathan, 1991).

### **2.1.3.3. Elektrokimyasal Hücrede Kullanılan Elektrotlar**

#### **2.1.3.3.1. Referans Elektrot**

Referans elektrot, elektrokimyasal ölçümler için bir standart sağlamaktadır. Potansiyometrik sensörler için, ölçüm devresinde yarım hücre görevi gören doğru ve kararlı bir referans elektrotu, kararlı bir referans potansiyeli sağlamak için kritik öneme sahiptir (Zhou, 2008).

Referans elektrotlar tersinir özellikte, sabit bir potansiyele sahip olan, sıcaklık farkından etkilenmeyen ve hazırlanması açısından pratik olan elektrotlardır (Özçelikay, 2016).

Bir referans elektrodu için üç ana gereksinim, tersinirlik (polarize olmama), tekrarlanabilirlik ve stabildedir. Hidrojen elektrotları, mükemmel tekrarlanabilirlikleri nedeniyle birincil referans elektrotu olarak kabul edilmektedir.

Hidrojen elektron transfer reaksiyonunu katalize etmek için platinden oluşmaktadır. Hidrojen elektrodunun standart potansiyeli geleneksel olarak tüm sıcaklıklarda sıfıra ayarlanmaktadır, böylece referans elektrotun standart potansiyel ölçeği oluşturulur. Ancak, hidrojen elektrot rutin kullanımlarda pratik değildir, bu nedenle kalomel veya gümüş / gümüş klorür ( $\text{Ag} / \text{AgCl}$ ), sekonder referans elektrot tercih edilmektedir.

Sekonder bir referans elektrotu olarak Ag / AgCl elektrotu basitliği, kararlılığı nedeniyle en yaygın olanıdır. Geleneksel bir Ag / AgCl referans elektrodu, elektrolizle veya erimiş gümüş klorürün içine daldırılarak ince bir gümüş klorür tabakası ile kaplanmış bir gümüş teldir.

Nernst denkleminde tanımlandığı gibi potansiyel iç çözeltinin klorür derişimi ile belirlenmektedir. Buradan anlaşılacağı gibi, klorür derişimi sabit kaldığı sürece elektrotun potansiyeli sabit kalmaktadır. Potasyum klorür, iç çözelti için yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü genel olarak pH ölçümlerine girişim yapmaz. Potasyum ve klorür iyonlarının mobilitesi neredeyse eşittir. Böylece, sıvı bağlantı potansiyellerini en aza indirmektedir

Gümüş klorür, güçlü potasyum klorür çözeltilerinde hafifçe çözünmektedir (25 ° C'de yaklaşık  $6 \times 10^{-3}$  mol / L). Gümüş klorürün gümüş telden sıyrılmasını en aza indirmek için potasyum klorürün AgCl tuzu ile doyurulması yaygın bir uygulamadır. İnce film biçiminde mikro referans elektrot olarak kullanıldığında, bu AgCl çözünmesi ömrünü sınırlamaktadır (Zhou, 2008).

#### **2.1.3.3.2. Yardımcı Elektrot**

Yardımcı (karşıt) elektrotlar, elektrokimyasal hücrede çözeltilerden geçen elektrik akımını çalışma elektroduna aktarmaktadır. İletken ve inerttirler. Yardımcı elektrot yüzeyindeki maddelerin çalışma elektroduna etki etmesini engellemek adına, elektrokimyasal hücre içerisinde çalışma elektrodu ile uzak mesafede yerleştirilmelidir. Yardımcı elektrot olarak platin tel veya civa havuzu kullanılmaktadır. Yardımcı elektrot yüzeyi, çalışma elektrodu yüzeyinden daha büyüktür. (Bard ve ark., 2008).

#### **2.1.3.3.3. Çalışma Elektrodu**

Bu elektrodun özellikleri, iyi bir sinyal- gürültü oranı, tekrarlanabilir cevap, düşük maliyet, düşük toksisite ve uzun vadeli stabilite olmalıdır. Bu faktörlerden

dolayı, çalışma elektrodu Au, Ag, Pt veya Hg ve C gibi metallerden karbon macunu veya grafit formunda yapılmaktadır. (Hoeychurch, 2012).

Çalışma (indikatör) elektrodu, analit derişiminde gözlenen değışimlere bağı olacak şekilde, potansiyeli zamanla doğrusal olarak değışen bir mikro elektrottur.

#### 2.1.3.3.1. Çalışma Elektrodu Çeşitleri

**Katı elektrot:** Karbon elektrotlar ve metalik elektrotlar olarak sınıflandırılmaktadır.

Metalik elektrot olarak Pt, Au, Pd veya diğer soymetallerden yapılan elektrotlar yükseltgenme/indirgenme sistemleri için kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2006).

Karbon elektrot olarak camısı karbon elektrot ve karbon pasta elektrot ilk akla gelenlerdir. Bor ile işlem görmüş elmas elektrot, kalem grafit elektrot, perde baskılı karbon (grafit) elektrotlar da diğer karbon elektrotlardır.

**Modifiye Elektrot:** Elektrodun cinsine, uygulanan potansiyele, çözelti ortamına göre en uygun şekilde tasarlanarak, analitin elektrot yüzeyince daha iyi absorplanmasını sağlayan, elektrotun katalitik kimliğini arttıran, çalışma matriksinin girişimini azaltan spesifik elektrotlardır. (Gooding ve ark., 2009). Modifiye elektrotlar kimyasal modifiye ve kompozit elektrot olarak ikiye ayrılır.

**Mikroelektrot:** Aynı zamanda ultra mikroelektrotlar olarak da adlandırılan mikroelektrotlar, çok özel bazı difüzyon özelliklerine sahiptir. Elektrot, ultra ince bir metal teli bir cam çubuğa eriterek hazırlanabilir. Telin sadece birkaç mikrometre olan yarıçapı, elektrolitin elektrotun radyal direncinin, difüzyon tabakası tarafından difüzyon sınırlamasının yerini aldığı bir duruma yol açmaktadır (Plieth, 2008).

Çalışmamızda kullandığımız çalışma elektrotları olarak camısı karbon ve bor ile dope edilmiş elmas elektrotlar hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

#### **2.1.3.3.1.1. Camsı Karbon Elektrot (CKE)**

CKE, camın bazı özellikleri ile karbonun kombinasyonundan oluşmaktadır. Camsı karbon, voltametrik yöntemlerde sıkça kullanılan bir elektrot çeşididir. Camsı karbon elektrot, C-O fonksiyonlu gruplarına dayanan, mekanik ve elektriksel özellikleri son derece etkin olan bir elektrottur. Potansiyel aralığı geniş ve kimyasal inertliği iyi seviyededir. Termal genişleme seviyesi düşük olduğundan ve gaz geçirgenliği olmamasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektriki iletir ve yoğunluğu yüksektir. Ayrıca oldukça tekrar edilebilir performansa sahiptir. Asit korozyonuna karşı yüksek direnç göstermektedir. Oksijen, karbondioksit ve su buharının camsı karbondaki oksidasyon oranları diğer karbonlara göre daha düşüktür (Uslu ve Özkan, 2007).

Aktivasyonu ve tekrar edilebilir sonuç almayı sağlamak üzere, diğer katı elektrotlardaki gibi camsı karbon elektrotlar için de bazı ön işlemler uygulanmaktadır. Bu ön işlemlerden en sık kullanılan elektrotun parlatılmasıdır. Camsı karbon elektrodun performansı, parlatma materyaline ve uygulanan prosedüre bağlıdır. Camsı karbon elektrotlar yaklaşık 0,05 µm boyutundaki sulandırılmış alumina partikülleri ile düz bir parlatma yüzeyinde parlatılabilir. Parlatma işlemi, genel aktivasyon seviyesinin yanında, parlatılmış camsı karbon yüzeyi ile elektron transfer aktivitesi arasındaki ilişkinin artması ile ilgilidir (Uslu ve Özkan, 2007).

#### **2.1.3.3.1.2. Bor Katkılı Elmas Elektrot (BKEE)**

Elmas, karbon elementinin bir polimorfudur ve bilinen en sert mineraldir. Elmas, yüksek atomik yoğunluğu, kimyasal inertliği, sertliği, optik özellikleri, termal iletkenliği ve elektriksel karakteristiklerinden dolayı yüksek performanslı bir materyal olarak özel bir yer tutmaktadır. Elmasın yalıtkanlığı mükemmeldir (Pleskov, 2002).

Elmasta her bir karbon atomu diğer dört tanesi ile  $sp^3$  hibrit orbitalini kullanarak tetrahedral yapı oluşturacak şekilde bağlanmıştır. Elmas iskelet yapısında karbon atomları iki boyutlu grafitin aksine üç boyutlu olacak şekilde bağlıdır. Kübik (yaygın) ve hegzagonal olmak üzere iki tip elmas vardır. Elmas elektrot sayesinde,

yüksek anodik potansiyelde ve oldukça agresif kimyasal matrislerde (örneğin kuvvetli asit) çalışma ortamı sağlanmıştır. (Uslu ve Özkan, 2007).

Elmas elektrotlar özellikle  $sp^2$  bağlı karbon atomu içeren diğer elektrotlara göre, doğrusal dinamik aralık, tayin limiti, cevap zamanı, cevap kesinliği ve cevap stabilitesi gibi bazı parametrelerde avantajlar sunmaktadır. Elmas elektrotların dezavantajı ise elektro katalitik aktiflikleri ve seçiciliklerinin düşük olmasıdır. Bu dezavantajları kaldırmak için elmas yüzeyi çeşitli prosedürlerle modifiye edilebilir. Bu modifikasyonlardan biri bor ile yapılmaktadır. Elmas elektrot bor ile işlem gördüğünde elektriksel iletkenlik değişir. Böylece yeni bir elektrot çeşidi elde edilmiş olur. Bu elektrot bor katkılı elmas elektrot olarak adlandırılmaktadır. Boron katkılı elmas elektrotlar oksijen değişimine karşı hassas değildir. Suda veya organik çözücü ortamında daha iyi bir elektrokimyasal aralık imkanı verirler. (Xu ve ark., 1997).

Bor katkılı elmas elektrodun karakteristik özellikleri diğer elektrotlarla karşılaştırıldığında, elektrokimyasal aralıklarının geniş; gürültü-sinyal oranının oldukça düşük ve zemin-sinyal oranları ile de elektrokimyasal uygulamalarda mekanik sağlamlığa sahip olduğu görülmektedir.

#### **2.1.4. Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler**

Ölçüm sinyallerinin tekrarlanabilirliği, elektrot kalitesi, temizliği, cinsi ile önemli ölçüde bağlantılıdır. Katı elektrotlarda özellikle temizlik açısından ölçümler arası bulaşımalar meydana gelebilmektedir. Ölçümden ölçüme geçerken, bir önceki ölçümden kalan kalıntılar, ölçüm sinyaline girişim yapmakta ve sapmalara neden olmaktadır. Bu durumda, elektrot yüzeyi aktifliğini kaybetmektedir. Bu nedenle ölçüm öncesinde, kullanılan çalışma elektrodu temizlenmelidir (Zoski, 2007).

Katı elektrotların temizlenmesi işleminde, alüminyum oksit çözeltisi ve keçe yapıdaki poolish pad kullanılmaktadır. Elektrot yüzeyi, keçe üzerine 1- 2 damla alüminyum oksit çözeltisi damlatılarak, dikey şekilde tutulmalı ve pad üzerinde dairesel hareketlerle gezdirilmelidir (Swain, 2007) .

### 2.1.5. Voltametrizde Kullanılan Uyarma Sinyalleri

‘‘Dihidroksipropilteofilin’ in Elektrokimyasal Yöntemlerle Miktar Tayini’’ konulu tez çalışması kapsamında kullanılan voltametrik yöntemler aşağıda belirtilmektedir:

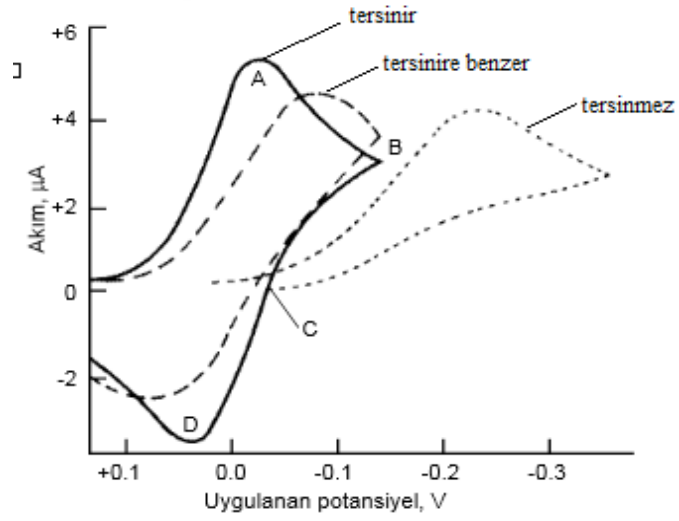
#### 2.1.5.1. Dönüşümlü (Devirli) Voltametri

Yöntem 1960’ larda Nicholson ve Shain tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemin kullanılmasıyla, heterojen elektron transferinin, yük aktarımı basamağı veya homojen kimyasal süreçlerin hızı ile pik gerilimi ve pik akımının ölçülmesi amaçlanmıştır (Özçelikay, 2016).

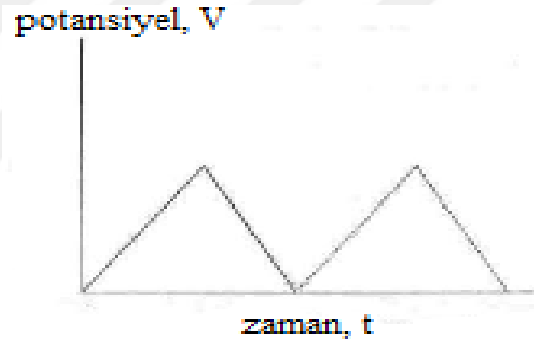
Bu teknik, diğer voltametrik teknikler gibi analitik duyarlılığı artırmaya yönelik çalışmalarda değil, daha çok elektrokimyasal mekanizmanın aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda kullanılır. Küçük ve durağan yöndeki potansiyel taraması belli bir değerde durdurularak, ters yönde taramaya devam edilmektedir. Potansiyelin ileri yönde bir değerden geriye döndürülmesinden hareketle bu tekniğe dönüşümlü voltametri adı verilmektedir.

Dönüşümlü voltametri, hızlı taramalı polarografiye benzer. Dönüşümlü voltametri yönteminde tarama Şekil 2.8’ de gösterildiği gibi üçgen şeklindedir. Potansiyelin miktarı, pik oluşumuna kadar doğrusal olacak şekilde artırılır. Aynı hız ile başlangıçtaki seviyeye düşürülmektedir.

Şekil 2.7’ de üç adet voltamogram bulunmaktadır. Katodik A pikinin meydana gelmesi hızlı-taramalı polarografidekine benzer. Potansiyel tersine çevrildiğinde (B) akım pozitif kalır. Çoğu zaman bu durumun sebebi indirgenmenin difüzyon kontrollü olmasıdır. Analit indirgenemeyecek duruma geldiğinde ise C pikine ulaşılmaktadır. Akım sıfır olur. Potansiyelde pozitif değerler arttıkça daha önce indirgenen tanecikler yükseltgenmeye başlar. Yükseltgenme, derişim sıfırlanana kadar devam eder. Böylece D piki oluşmaktadır. Elektrot potansiyelinin yavaş olması durumunda ya da daha az dönüşümlü olması durumunda potansiyeldeki fark büyür. Eğri, kesikli olan eğrilere benzer. (Skoog ve ark., 2004).



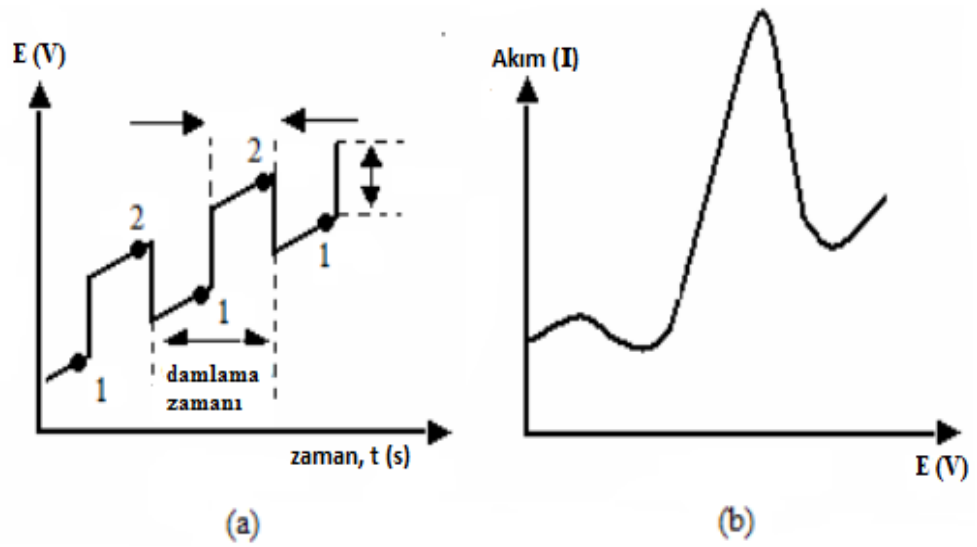
Şekil 2.7. Dönüşümlü (devirli) voltamogram örneği.



Şekil 2.8. Dönüşümlü (devirli) voltametriye uyarma sinyali görüntüsü.

#### 2.1.5.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi

Normal puls voltametrisi tekniğinde, puls sonunda belirlenen akımın az miktarda kapasitif bileşen içerdiği bilinmektedir. Kapasitif bileşene ait akım miktarını azaltmak ve dolayısıyla seçiciliği arttırmak gerekmektedir. Bunun için puls başındaki ve sonundaki akım farkı alınır. Bu yöntemle, diferansiyel puls voltametrisi denir. Gittikçe artan doğru akım potansiyeline uygulanan sabit genlikli pulsalar Şekil 2.9’ da gösterilmektedir. Diferansiyel puls voltametrisi tekniğinde meydana gelen  $\mu\text{A/V}$  eğrisi Şekil 2.9’ da gösterilmektedir.

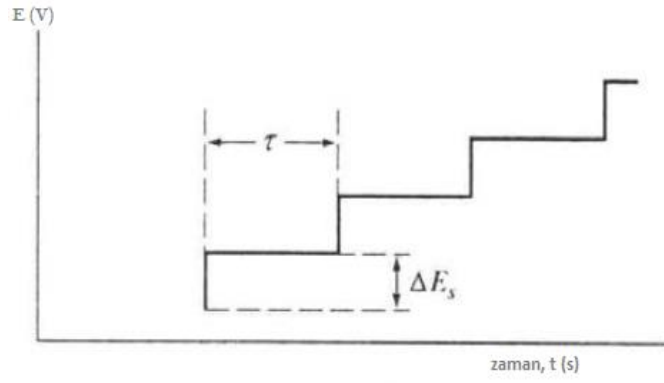


**Şekil 2.9.** (a) Sabit genlikli puls uygulanması. (b) diferansiyel puls voltametrisi tekniğinde meydana gelen akım potansiyel eğrisi.

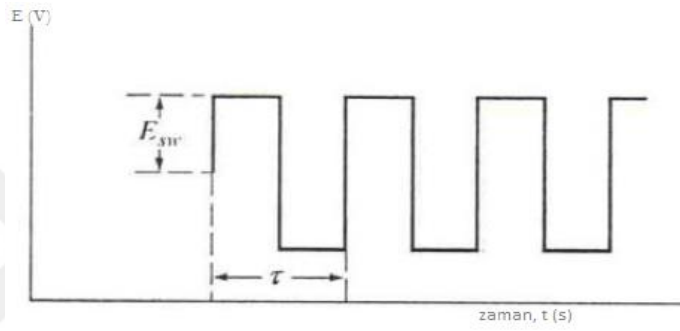
Elektrota potansiyel puls uygulanır. Damladaki yük artar. Dolayısıyla faradayik olmayan akım dalgalanır. Bu akım zamanla üstel olarak azalmaktadır. Damla ömrünün sonuna doğru sıfıra yaklaşmaktadır. Dolayısıyla sinyal/ gürültü oranı artmaktadır. Böylece hassasiyet de artmaktadır. Bu teknikle, tersinir reaksiyonlarda  $1 \times 10^{-8}$  M, tersinmez reaksiyonlarda ise  $5 \times 10^{-8}$  M' a kadar tayin imkanı bulunabilmektedir (Aydoğan, 2014).

### 2.1.5.3. Kare Dalga Voltametrisi

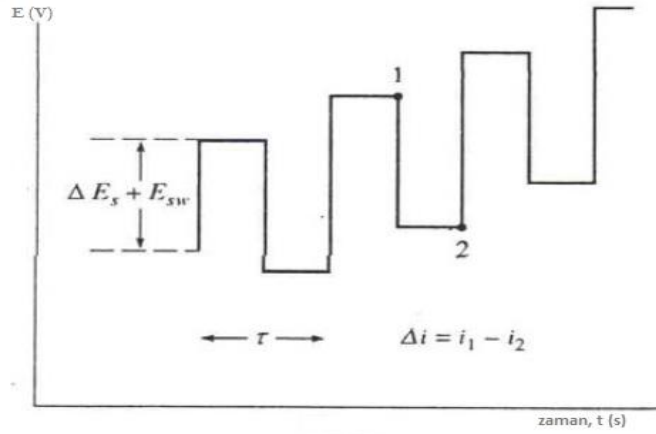
Kare dalga voltametrisi hız ve duyarlılık açısından üstün olan bir tekniktir. Voltamogram en fazla 10 ms' de oluşmaktadır. Kare dalga voltametrisi, civa damla elektrot ve kromatografik dedektör ile kullanılabilmektedir (Ayazlı, 2007).



(a)



(b)



(c)

**Şekil 2.10.** (a)'daki basamak sinyaline, (b)'deki pulsun binmesiyle, (c)'de oluşan kare-dalga voltametrisine ait uyarma sinyalinin oluşumu gösterilmektedir.

Basamaklı sinyal için basamak boyları ve pulsların periyotları eşittir. Ortalama 5 ms' dir. Sinyal potansiyel basamağı ( $E_s$ ) genelde 10 mV' tur. Puls büyüklüğü  $2E_{sw}$  ise, ortalama 50 mV' tur. Sistem bu koşullarda çalıştığında 200 Hz puls frekansı ile denktir. Bu koşullarda 1V olan tarama 0,5 saniyede yapılmaktadır.

Şekil 2.10' da gösterildiği gibi, tersinir indirgenmedeki bir puls boyu, ileri yöndeki ürünün, geri yönde yükseltgenebileceği kadar büyük olur. Dolayısıyla ileri puls katodik ( $i_1$ ), geri puls ise anodik akım ( $i_2$ ) oluşturmaktadır. Aradaki fark kullanılarak, voltamogramı meydana getirmek için çoğunlukla grafik oluşturulmaktadır. Aradaki akım farkı ve derişim doğru orantılıdır. Pik potansiyeli polarografik yarı-dalga potansiyeline denk gelmektedir. Ölçümler oldukça hızla tamamlanır. Birkaç tarama sinyalinin ortalama değeri hesaplanarak kesinlik artırılabilir. Bu tekniğin tayin sınırı  $10^{-7}$ -  $10^{-8}$  M arasındadır.

## **2.2. Elektrokimyasal Yöntemlerde Validasyon**

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

Validasyon, özel amaçlı bir kullanım için gerekli şartların yerine getirildiğinin, yapılan ön incelemeler sonunda doğrulanması ve objektif kanıtların elde edilmesi işlemidir. Validasyon işlemi, yöntem performansının kontrol edilmesi için yapılmaktadır (TÜRKAK, 2016).

Yöntem validasyonu, kullanılan yöntemin hedeflenen amaca uygun sonuç verdiğini belirli parametreleri (validasyon parametreleri) inceleyerek gösterme işlemidir (Özkan, 2012).

### **2.2.2. Validasyonun Gerekli Olduğu Durumlar**

Validasyon (yöntem geçerlilik) işlemi,

- Bir analizin yapılması için yeni bir metot geliştirildiği durumda
- Kullanılan metodun içerisinde herhangi bir farklılık yapıldığında (işlem ekleme veya işlem çıkarma)
- Kalite kontrol çalışmaları sonucu metot performansının değişmiş olduğu

tespit edildiğinde (kabul edilebilir sapmaların dışına çıkma) olduğu anlaşıldığında yapılmaktadır.

### **2.2.3. Validasyon Strateji Planı**

- Metodu uygulamanın amacı belirlenerek, metot kapsam sınırları tanımlanır,
- Metot performansının ölçülebileceği parametre ve kriterler belirlenir,
- Kullanılacak malzemeler (standartlar, sarf malzemeler) belirlenir,
- Metot uygulaması esnasında kullanımda olacak cihazlara ait performans, metodun gerektirdiği performans ile kıyaslanarak cihazın metot için uygunluğu kontrol edilir.
- Validasyon analizleri tamamlanır,
- İstatistiksel değerlendirmeler yapılır,
- Validasyon raporu hazırlanır (Uygun, 2016).

### **2.2.4. Validasyon Parametreleri**

Validasyon işlemi için, yöntemin performansının amaca uygun olup olmadığının kontrolü işlemi, genellikle aşağıdaki parametreleri içermektedir:

#### **2.2.4.1. Seçicilik**

Seçicilik, bir metodun ilgilenilen analiti, bilinen girişim kaynakları arasından belirleme yeteneğidir. Başka bir deyişle, metodun matriks içinde bulunan sadece belirli bir tür analiti ölçme özelliğidir. Ortamda girişime neden olabilecek maddeler

standart maddeye ilave edilir. Böylece girişime yol açıp açmadığı belirlenir. (Uygun, 2016).

#### **2.2.4.2. Doğrusallık ve Aralık**

Ölçüm aralığı, metodun uygulama aralığını belirlemektedir. Metot validasyonu, bu aralık göz önüne alınarak yapılır. Doğrusal aralık ise, ölçüm aralığından daha dar olabilmekle birlikte, kalibrasyon aralığının oluşturduğu aralıktır (TÜRKAK, 2016).

Doğrusallık ölçüm aralığında sinyal/ derişim bağıntısının doğrusal olması anlamına gelir ve ölçüm sinyalinin analit derişiminin bir fonksiyonu olarak belirlendiği bir kalibrasyon grafiği ile gösterilir. Derişime karşı cihazdan alınan sinyaller arasında çizilen kalibrasyon grafiğinden elde edilen eğrinin determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) en az 0,995 olmalıdır (Uygun, 2016).

Bir ölçüm cihazının gösterdiği sinyal miktarı ile, sinyal miktarı bilinerek ölçülen büyüklük arasında bağlantı kurabilmek üzere uygulanan işlemlere kalibrasyon denir (Akdağ, 2014).

Hazırlanacak ölçüm çözeltilerinin sayısı en az 6 olmalı ve her bir ölçüm çözeltisi en az 3 kez analiz edilmelidir (Eurochem, 2011).

#### **2.2.4.3. Teşhis Sınırı ve Tayin Alt Sınırı**

Analitin belirlenebildiği ancak, nicel sınırlar içerisine girmediği en düşük derişimine teşhis sınırı (TS) denir. Üç şekilde hesaplanır;

- Görerek değerlendirmeye dayalı yöntem ile belli derişimde seyreltik bir seri analit çözeltisinin sinyalleri ölçülür ve analit sinyalinin görülebildiği en küçük derişim teşhis sınırı kabul edilir.
- Sinyal/ Gürültü oranına dayanarak, belli ve düşük derişimdeki analit çözeltileri ve kör çözeltilerin sinyalleri ölçülerek karşılaştırılır ve sinyal/gürültü oranı 3

esas alınarak bu oranı sağlayan analit derişimi teşhis sınırı olarak kabul edilir. Bu yaklaşım yalnızca pik şeklindeki sinyaller için uygulanır.

- Standart sapma ve eğiminden giderek hesaplamaya dayalı yaklaşımlarda,  $TS = 3 \cdot ss/m$  (ss: standart sapma; m: kalibrasyon eğri denkleminin eğimi) formülü ile teşhis sınırı hesaplanır.

Tayin alt sınırı (TAS), kabul edilebilir bir doğrulukla tayin edilebilecek en düşük analit derişimidir. TAS değerinin bulunmasında da TS değerinde olduğu gibi üç farklı yöntem kullanılır (Eurochem, 2011).

- Analitin belli miktarlardaki seyreltilmiş derişimleri ile yapılan analizleri sonucunda yeterli doğruluk ve kesinlikle analit tayini yapılabilen derişim değeri "TAS" hesaplanır.
- TAS değeri, sinyal/ gürültü oranı değerinin 10 olduğu derişimdir.
- Cevabın standart sapması ve eğiminden yola çıkılarak teşhis sınırı (TS) değerinin hesaplanmasında kullanılan formüldeki 3 teorik değerin yerine TAS değerini bulmak için kullanılan formülde 10 değeri yazılarak hesaplanır (Özçelikay, 2016).

$$TAS = 10 \cdot ss/m$$

#### 2.2.4.4. Kesinlik

Bir numuneye, aynı yöntemin birden fazla kez uygulanması sonucunda elde edilen sonuçların birbirine yakınlığının bir ölçütüdür. Tekrarlanabilirlik, orta kesinlik ve tekrar edilebilirlik olarak tanımlanmaktadır.

**Tekrarlanabilirlik:** Aynı laboratuvarında, aynı çözeltilerle, aynı cihaz ya da düzenekle, aynı kişi tarafından küçük bir zaman dilimi içerisinde yapılan tekrarlı ölçümlerin uyumudur. En az 10 ölçüm alınmalıdır. Kesinlik çalışması ile elde edilen sonuçların yüzde bağıl standart sapması ( $\% BSS$ )  $\leq 1$  olmalıdır.

✓ **Orta Kesinlik:** Farklı gün, analizci ve aletlerle laboratuvar içi değişimlerden elde edilen sonuçlardır. Bu kesinlik parametresini sağlayan sonuçlar, diğer parametreleri de doğrudan sağlamış olurlar. Hazırlanan çözeltilerden en az 3 tekrar ölçüm alınmalıdır. Elde edilen sonuçların % BSS değeri hesaplanır, bu değer  $\leq 2$  olması gerekir.

✓ **Tekrar Edilebilirlik:** Farklı laboratuvar, çözeltiler, cihazlar, analizciler tarafından farklı zamanlarda yapılan ölçümler ile elde edilen sonuçların yakınlık ölçütüdür. Çözeltilerden en az 3 tekrar ölçümü alınmalıdır. Elde edilen sonuçların 2' den küçük ya da eşit olması gerekmektedir.

Kesinliğin ölçütleri standart sapma(s), varyans( $s^2$ ), aralık(R), bağıl standart sapma(BSS) ve ortalamanın standart hatasıdır (Özçelikay, 2016).

#### 2.2.4.5. Doğruluk

Ölçümlenen sonucunun gerçek değere veya referans olarak kabul edilen değere olan yakınlığıdır. Doğruluk parametresi, geri kazanım çalışması ile belirlenebilir. (TÜRKAK, 2016).

Geri kazanım için 3 farklı yöntem mevcuttur:

- Referans bir standart ile karşılaştırma;

Farklı derişimlerde en az 6 noktada ölçüm yapılır. Elde edilen sonuçlar sertifika değeri ile karşılaştırılır.

- Kör matriks ortamında analiz edilen maddeyi ilave etmek;

Analit matrikse farklı derişimlerde eklenir ve safsızlıklardan, yardımcı maddelerden etkilenip etkilenmediği incelenir.

- Standart ekleme yöntemi ile saf madde eklenmesi;

Analit miktar tayini daha önce yapılmış olan bir matriks içerisine, bilinen miktarda saf analitten ilave edilir. 3' er tekrarlı ölçüm yapılır. Elde edilen geri kazanım

değerleri, ilave edilen ve ölçülen analit miktarları üzerinden belirtilir. (Özkan,2012).

#### **2.2.4.6. Sağlamlık**

Sağlamlık, deney şartlarında meydana gelen sapmalar karşısında yöntem hassasiyetini göstermektedir. Genel olarak aşağıdaki parametreler kontrol edilir:

- Matriksi oluşturan bileşenler,
- Kimyasal maddelerin partilerinin ve/ veya markalarının değiştirilmesi,
- Özütleme süresi
- Sıcaklık,
- Akış hızı,
- Analite has uçuculuk gibi.

Sağlamlık testlerinin sonuçları, yöntemin uygulanabileceği koşulların tanımlanmasını sağlamaktadır.

Metot performansını etkileyen parametreler belirlenir. Her bir parametrenin ölçüm sonucu doğruluğuna, kesinliğine etkisi sistematik olarak belirlenir. Her parametrenin ölçüm sonucu ortalamasına etkisi hesaplanır. Elde edilen sonuçlara göre metodu rutin uygulama sırasında kontrol altında tutmak için uygun “kalite kontrol” örneği belirlenir ve metodu kullanım sırasında bu madde analiz edilir (Uygun, 2016).

Bir başka ifade ile yöntemin optimum parametrelerinden uzaklaşıldığında gerçekliğin ve kesinliğin ne kadar etkilendiğinin bir ölçütüdür (ICH Rehberi, 2005).

#### **2.2.4.7. Tutarlılık**

Değişik koşullar altında elde edilen sonuçların birbiri arasındaki uyumdur ve %BSS değeri ile gösterilir. Orta kesinlik ile ilişkilidir. ICH e göre yapılması gereken zorunlu bir parametre değildir (ICH Rehberi, 2005).

- Farklı analizciler tarafından aynı yöntemi kullanarak,

- Aynı olmayıp benzer cihazları kullanarak,
- Farklı markaların reaktif ve çözücülerini kullanarak,
- Farklı sıcaklıkta ve farklı günlerde aynı yöntem ile çalışarak tutarlılık parametresi değerlendirilir ve % BSS olarak ifade edilir.

#### 2.2.4.8. Çözelti Stabilitesi

Stabilite, numunelerin, standart malzemelerin veya çözeltilerin (analiz sonucuna etki eden faktörlerin), analiz sonucunun güvenilirliğini ve kesinliğini değiştirmeden ne kadar süreyle kullanılabileceğinin ölçütüdür. Aynı numune çözeltisi kullanılarak kısa süreli aralıklarla ve uzun süreli aralıklarla yapılan tekrarlar sonucunda, stabilite süreleri tespit edilir (TÜRKAK, 2016).

Stabilite çalışmaları dört farklı yöntem ile yapılabilir;

- **Dondurma- çözme stabilitesi:** Üç farklı derişimde (çok düşük ve çok yüksek derişimlerdeki noktaları içerecek şekilde) çözelti hazırlanır. 24 saat dondurularak oda sıcaklığına getirilir, tekrar 12- 24 saat olacak şekilde dondurulur, bu işlem 3 kere uygulanır ve analizler yapılır. Sonuçlar taze stok çözelti ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur.

- **Uzun süreli stabilite:** Üç farklı derişimde (çok düşük ve çok yüksek derişimlerdeki noktaları içerecek şekilde) çözelti hazırlanır, Analizde kullanılan malzemelerin ilk kullanım/ son kullanım arasındaki süreye bağlıdır. İlk ve son kullanımdan elde edilen sonuçlarda karşılaştırma yapılır. Sonuçlar taze stok çözelti ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur.

- **Kısa süreli stabilite:** Üç farklı derişimde (çok düşük ve çok yüksek derişimlerdeki noktaları içerecek şekilde) çözelti hazırlanır. Oda sıcaklığına getirilerek 4- 24 saat arasında tutulur, analiz edilir. Sonuçlar taze stok çözelti ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur (Özkan, 2012; Swartz ve Krull, 2012).

**Bozunma Çalışmaları:** Çevre koşulları değiştirilerek üç farklı derişimdeki (çok düşük ve çok yüksek noktaları içerecek şekilde) numune çözeltisi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Numunedeki tayin sonucuna her 10 °C'lık sıcaklık artışının etkisi, nem değerin  $\geq \% 75$  olması durumunda analite etkisi, hidroliz etkisi (Analit 8 saat süreyle ayrı ayrı 0,1 N hidroklorik asit ve 0,1 N sodyum hidroksit çözeltilerinde bekletilerek analiz edilmesi), oksidasyon etkisi (% 3- 30 arasında  $H_2O_2$  ile) ve ışığın etkisi (UV, floresan veya beyaz ışığa maruz bırakma işlemi) belirlenir (Özçelikay, 2016).

#### 2.2.4.9. Hassasiyet (Duyarlılık)

Analit derişiminin değışimine bağı olarak analitik sinyalin değışme miktarına bağı olarak cevabın ne kadar değıştiğini gösteren bir parametredir. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğru denkleminin eğimi hassasiyeti verir (Özçelikay, 2016).

Hassasiyet yükseldikçe seçicilik azalmaktadır. Tayin alt sınırı ne kadar küçülürse hassasiyet o kadar artar (Aboul-Enein ve ark., 2000).

### 2.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

#### 2.3.1. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler

- **Potansiyostat:** AUTOLAB 30 (Eco Chemie, Hollanda)
- **Deney Hücresi:** Tek bölümlü voltametrik hücre
- ✓ **Elektrotlar:** Çalışma elektrodu, yardımcı elektrot ve referans elektrot kullanılmıştır.
- ✓ **Çalışma elektrodu:** Camsı karbon elektrot (BAS MF 2013), Bor katkılı elmas elektrot (Windsor Scientific, England)
- ✓ **Yardımcı elektrot:** Pt elektrot (BAS MW 1032)
- ✓ **Referans elektrot:** Ag/AgCl (BAS MF 2052)

- **Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı:** Ikamag RH
- **Hassas Terazı:** Labor Alliance ve Shimadzu Libror AEG –220
- **pH Metre:** Model 538 (WTW, Austria)
- **Parlatma Pedi:** BAS (Microcloth pads, MF 1040)
- Santrifüj
- Degaser
- Farklı boyda Pyrex® balonjoje,
- 10 ml' lik deney tüpü
- Beher
- Farklı hacimlerde otomatik pipet ve mikro pipet (İnterlab)

### 2.3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Deney işlemlerinde kullanılan kimyasal madde, standart madde (dihidroksipropilteofilin) ve ticari ilaç (DIFILIN®) bilgileri aşağıdaki tablolarda verilmektedir ((Tablo 2.1., Tablo 2.2, Tablo 2.3). Deney sonuçlarına herhangi bir girişimin yansımaması amacıyla, kullanılan tüm kimyasal malzemeler ve standart maddeler kromatografik ve/ veya UV saflıktadır.

**Çizelge 2.1.** Deneylerde Kullanılan Kimyasal Malzemeler

| Kimyasal Madde İsmi                                                                       | Üretici Firma İsmi           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Alüminyum oksit ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )                                               | Merck                        |
| Asetik asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )                                                  | Merck                        |
| Asetonitril (ACN)                                                                         | Merck                        |
| Borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )                                                    | Merck                        |
| Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )                                    | Merck                        |
| Fosforik asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )                                                 | Merck                        |
| Sodyum Hidroksit ( $\text{NaOH}$ )                                                        | Merck                        |
| Sodyum asetat trihidrat ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )           | Merck                        |
| Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) | Merck                        |
| Sodyum fosfat dodekahidrat ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )        | Merck                        |
| Kafein                                                                                    | BI Reference Standart        |
| Serum                                                                                     | Sigma (Human Serum)          |
| İdrar                                                                                     | Sağlıklı kişiden alınmıştır. |

**Çizelge 2.2.** Deneylerde Kullanılan Standart Madde Bilgileri

| Standart Madde İsmi      | Üretici Firma İsmi |
|--------------------------|--------------------|
| Dihidroksipropilteofilin | DEVA               |

**Çizelge 2.3.** Deneylerde Kullanılan İlaç Bilgileri

| Madde İsmi               | Müstahzar İsmi       | Farmasötik Şekil | Birim Dozdaki İçerik |
|--------------------------|----------------------|------------------|----------------------|
| Dihidroksipropilteofilin | Difilin <sup>®</sup> | Ampul            | 300 mg/ 3 ml         |

### 2.3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler

Deneylerde tampon çözeltiler, dihidroksipropilteofilin stok çözeltisi, model ilaç (kafein) stok çözeltisi, serum stok çözeltisi ve idrar stok çözeltisi kullanılmıştır.

#### 2.3.3.1. Deneylerde Kullanılan Tampon Çözeltiler

Deneylerde; fosfat tampon çözeltileri, asetat tampon çözeltileri ve borat

tampon çözeltileri (destek elektrolitleri) kullanılmıştır.

Destek elektrolit, elektroorganik reaksiyon için çok önemlidir. Destekleyici elektrolitlerin seçimi için aşağıdaki noktalar önemlidir:

- ✓ Elektroliz için yaygın olarak kullanılan çözücüde çözünürlük;
- ✓ Elektrokimyasal stabilite;
- ✓ Reaksiyon ara maddesi ile etkileşim;
- ✓ Hazırlama kolaylığı (Shono, 1991).

pH noktaları 1,80; 2,19; 3,09; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80; 9,81; 11,24; 12,28 olarak seçilmiştir ve hazırlanmıştır. Tablo 2.4' te her bir tampon çözeltinin bileşiminde kullanılan kimyasal malzemeler hakkında gerekli bilgiler verilmiştir.

Tampon çözeltiler saf su ile 100 mL'lik balonjojelerde hazırlanmıştır. Ultrasonik banyoda homojen hale getirilmiştir. Ölçüm öncesinde pH metre kalibe edilmiş ve doğrulanmıştır. Hazırlanan her bir tampon çözeltinin pH değerleri ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

**Çizelge 2.4.** Tampon Çözeltilerin Bileşimleri

| <b>pH Değeri</b> | <b>Tampon Cinsi</b> | <b>Kimyasal Malzeme (I)</b>       | <b>Kimyasal Malzeme (II)</b>      | <b>Madde Miktarı (I)</b> | <b>Madde Miktarı (II)</b> | <b>Elde Edilen pH Değeri</b> | <b>Sıcaklık (°C)</b> |
|------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------|
| <b>1,5</b>       | Fosfat              | fosforik asit                     | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | 1,816 ml                 | 1,56 g                    | 1,80                         | 21,5                 |
| <b>2,0</b>       | Fosfat              | fosforik asit                     | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | 0,576 ml                 | 1,56 g                    | 2,19                         | 21,1                 |
| <b>3,0</b>       | Fosfat              | fosforik asit                     | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | 0,058 ml                 | 1,56 g                    | 3,09                         | 21,0                 |
| <b>3,7</b>       | Asetat              | asetik asit                       | sodyum asetat trihidrat           | 1,425 ml                 | 0,34 g                    | 3,56                         | 21,2                 |
| <b>4,7</b>       | Asetat              | asetik asit                       | sodyum asetat trihidrat           | 0,570 ml                 | 1,36 g                    | 4,56                         | 20,9                 |
| <b>5,7</b>       | Asetat              | asetik asit                       | sodyum asetat trihidrat           | 0,142 ml                 | 3,40 g                    | 5,58                         | 21,1                 |
| <b>6,0</b>       | Fosfat              | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | disodyum hidrojen fosfat          | 4,68 g                   | 0,71 g                    | 5,85                         | 21,4                 |
| <b>7,0</b>       | Fosfat              | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | disodyum hidrojen fosfat          | 0,94 g                   | 1,42 g                    | 6,99                         | 22                   |
| <b>8,0</b>       | Fosfat              | sodyum dihidrojen fosfat dihidrat | disodyum hidrojen fosfat          | 0,16 g                   | 2,27 g                    | 8,04                         | 21,7                 |
| <b>9,0</b>       | Borat               | borik asit                        | sodyum hidroksit                  | 0,93 g                   | 0,20 g                    | 8,80                         | 21,0                 |
| <b>10,0</b>      | Borat               | borik asit                        | sodyum hidroksit                  | 0,93 g                   | 0,50 g                    | 9,81                         | 21,0                 |
| <b>11,0</b>      | Fosfat              | disodyum hidrojen fosfat          | sodyum fosfat dodekahidrat        | 2,84 g                   | 2,39 g                    | 11,24                        | 21,4                 |
| <b>12,0</b>      | Fosfat              | disodyum hidrojen fosfat          | sodyum fosfat dodekahidrat        | 0,71 g                   | 6,0 g                     | 12,28                        | 21,3                 |

### 2.3.3.2. Dihidroksipropilteofilin Stok Çözeltisi

Dihidroksipropilteofilin standardının stok çözeltisinin hazırlanması için hassas terazi kullanılmıştır. Tartım işlemi öncesinde hassas terazi temizlenir, dengede olup olmadığını tespit etmek üzere düzesi kontrol edilir ve otokalıbrasyonu yapılır. 25,4 mg dihidroksipropilteofilin standardı tartılır. 100 ml hacimli cam balon jojeye koyularak az bir hacimde saf su ilave edilir. Çözünmesi için çalkalanır, ardından tamamen çözündüğünden emin olmak için 15 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Saf su ile hacim çizgisine tamamlanarak, homojen hale gelmesi için birkaç dk el ile çalkalanır.

Elde edilen stok dihidroksipropilteofilin çözeltisi derişimi  $1 \times 10^{-3}$  M' dir.

### 2.3.3.3. Model İlaç (Kafein) Stok Çözeltisi

Model ilaç kullanımının amacı, çalışılan maddeye ait mekanizma aydınlatırken, kendisine benzer referans bir maddenin ışığında değerlendirmeler yapabilmektir. Dihidroksipropilteofilin yükseltgenme mekanizması incelenirken, model ilaç olarak kafein kullanılmıştır.

Dihidroksipropilteofilin etken maddesinin mekanizmasının aydınlatılması esnasında model ilaç olarak kafein kullanılmasının sebebi, moleküler yapılarının benzerliği ve karakter özellikleri birbirine yakın olduğu bilinen "ksantinler" olarak adlandırılan grupta yer almalarıdır.

Kafein' in voltametrik tepkileri ile dihidroksipropilteofilin' in voltametrik tepkileri karşılaştırılarak, analitik yaklaşımlar ile dihidroksipropilteofilin mekanizması hakkında bilimsel ip uçları elde edilmiştir.

19,4 mg kafein model ilaç standardı tartılır. 100 ml hacimdeki balon jojeye koyulur. Bir kısım saf su ilave edilir. Çözünmesi için çalkalanır, ardından tamamen çözündüğünden emin olmak için 15 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Saf su ile hacim çizgisine tamamlanarak, homojen hale gelmesi için birkaç dk el ile çalkalanır.

Elde edilen stok kafein çözeltisi derişimi  $1 \times 10^{-3}$  M' dir.

#### 2.3.3.4. Serum Stok Çözeltisi

Dihidroksipropilteofilin' in miktar tayini için geliştirilen voltametrik yöntem, biyolojik numune olarak serum matriksinde uygulanmıştır. Bunun için serum matriksinde, gerekli yöntem geçerlilik çalışmaları (doğrusallık, aralık, TS, TAS, gün içi tekrarlanabilirlik, günler arası tekrarlanabilirlik, geri kazanım) yapılmıştır.

$10^{-2}$  M' lık dihidroksipropilteofilin stok çözeltisi hazırlanır. 25,4 mg standart tartılarak saf su ile 10 ml' ye seyreltilir ve ultrasonik banyoda çözülmesi sağlandıktan sonra birkaç dk el ile çalkalanır.

Serum matriksindeki çalışmalar için stok çözelti hazırlanırken, 10 ml'lik plastik santrifüj tüpü içerisine 3,6 ml serum alınarak,  $10^{-2}$  M standart madde stok çözeltisi içerisinden, toplam hacim içerisinde  $10^{-3}$  M olacak şekilde (1 ml dihidroksipropilteofilin) eklenir. Daha sonra 5,4 ml asetonitril eklenir.

Kör serum çözeltisi için ise, 10 ml hacimdeki plastik santrifüj tüpüne 3,6 ml serum alınarak 1 ml saf su eklenir. Üzerine 5,4 ml asetonitril eklenir.

Her iki çözelti ultrasonik banyoda 15 dk karıştırılır. Ardından 3000 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüjlenir. Bu şekilde serumdaki proteinlerin çöktürülmesi sağlanmış olur.

Dihidroksipropilteofilin içeren serum çözeltisinin üzerindeki berrak kısım kullanılarak, kalibrasyon standartları ve diğer yöntem geçerlilik çalışmaları için gerekli olan ölçüm çözeltileri hazırlanır.

Ölçüm çözeltileri hazırlanırken analitik çalışmalar için seçilen pH 8,04 fosfat tamponu ile seyreltmeler yapılmıştır.

#### 2.3.3.5. İdrar Stok Çözeltisi

Dihidroksipropilteofilin' in miktar tayini için geliştirilen voltametrik yöntem, biyolojik numune olarak, herhangi bir ilaç kullanmayan, sağlıklı bir insandan alınan idrar matriksinde uygulanmıştır. Bunun için idrar matriksinde, gerekli yöntem

geçerlilik çalışmaları (doğrusallık, aralık, TS, TAS, gün içi tekrarlanabilirlik, günler arası tekrarlanabilirlik, geri kazanım) yapılmıştır.

$10^{-2}$  M'lık dihidroksipropilteofilin stok çözeltisi hazırlanır. 25,4 mg standart tartılarak saf su ile 10 ml'ye seyreltilir ve ultrasonik banyoda çözülmesi sağlandıktan sonra birkaç dk el ile çalkalanır.

İdrar matrisindeki çalışmalar için stok çözelti hazırlanırken, 10 ml hacimdeki plastik santrifüj tüpü içerisine 3,6 ml idrar alınır.  $10^{-2}$  M standart madde stok çözeltisinden toplam hacmin içerisinde  $10^{-3}$  M olacak şekilde (1 ml dihidroksipropilteofilin) eklenir. Üzerine 5,4 ml asetonitril eklenir.

Kör idrar çözeltisi için ise, 10 ml hacimdeki plastik santrifüj tüpüne 3,6 ml serum alınır. 1 ml saf su eklenir. Üzerine 5,4 ml asetonitril eklenir.

Her iki çözelti ultrasonik banyoda 15 dk karıştırılır. Ardından 3000 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüjlenir. Böylece idrarın çöktürülmesi sağlanmış olur.

Dihidroksipropilteofilin içeren idrar çözeltisinin üzerindeki berrak kısım kullanılarak, kalibrasyon standartları ve diğer yöntem geçerlilik çalışmaları için gerekli olan ölçüm standartları hazırlanır.

Ölçüm çözeltileri hazırlanırken analitik çalışmalar için seçilen pH 8,04 fosfat tamponu ile seyreltmeler yapılmıştır.

#### **2.3.4. Dihidroksipropilteofilin' in Saflık Kontrolleri**

DeneySEL çalışmalarda kullanılan dihidroksipropilteofilin saflığı, standart malzeme sertifikası içeriğinde belirtilmiştir.

#### **2.3.5. Voltametrik Yöntemin Ampullere Uygulanması**

3 adet ampul kırılarak, içerisinden  $1 \times 10^{-3}$  M dihidroksipropilteofilin elde edilebilecek miktarda hacim alınmış ve 100 ml'lik balonjojede saf su ile

tamamlanmıştır. Ultrasonik banyoda 15 dk karıştırıldıktan sonra  $4 \times 10^{-5}$  M dihidroksipropilteofilin ölçüm çözeltisi elde edecek şekilde uygun miktarda alınarak, pH 8,04 fosfat tamponu ile 5 ml' ye tamamlanmıştır.

### **2.3.6. Dihidroksipropilteofilin' in Geri Kazanım Çalışmaları**

Dihidroksipropilteofilin' in ampul formu içerisindeki katkı maddelerinin, insan serum ve idrar matriksinin miktar tayinine girişim yapabilecek herhangi bir etkisinin olup olmadığını tespit etmek amacıyla geri kazanım ölçümleri alınmıştır. (Madde 3.2).

Bu sebeple, dihidroksipropilteofilin içeriği bilinen ve homojen hale getirilmiş olan ampul çözeltisi içerisine, toplam madde miktarı doğrusal aralık içerisine girecek şekilde dihidroksipropilteofilin' in belli miktarda saf standardı ilave edilmiştir. Bu karışım pH 8,04 fosfat tamponu ile seyreltilerek analiz edilmiştir.

Voltamogramlardan yola çıkılarak, elde edilen toplam dihidroksipropilteofilin miktarından, ampul içeriğindeki bilinen miktar çıkarılmış ve ilave edilen saf standart miktarının geri alınma yüzdesi hesaplanmıştır.

İnsan serumu ve idrarından geri kazanım çalışmalarında da benzer prosedür uygulanmıştır. Dihidroksipropilteofilin ile hazırlanmış serum ve idrar stoğundan bilinen miktarda seyreltilmiş çözeltilerine belli miktarda saf dihidroksipropilteofilin standardı ilave edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Dihidroksipropilteofilin' in Voltametrik Yöntemlerle İncelenmesi

Farklı pH değerlerine sahip olan farklı ortamlarda yapılan dihidroksipropilteofilin etken maddesinin voltametrik inceleme çalışmaları için DV, DPV ve KDV teknikleri kullanılmıştır.

Çalışmaların tümünde AUTOLAB 30 elektrokimyasal analizörü, bor katkılı elmas elektrot, Pt elektrot ve Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. pH taramaları, hız taramaları ve model ilaç ile yapılan çalışmalar bölümünde camı karbon elektrot (CKE) da çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır.

Dihidroksipropilteofilin' in yükseltgenme mekanizması, farklı tampon çözeltiler ve farklı pH' larda CKE ve BKEE elektrotlar kullanılarak incelenmiş olmakla birlikte; model ilaç olarak kafein standart maddesi ile karşılaştırılarak aydınlatılmıştır.

Çalışmalarda, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,09; 5,85; 6,99; 8,04 olan fosfat tampon çözeltileri, 3,56; 4,56; 5,58 olan asetat tampon çözeltileri ve 8,80; 9,81 olan borat tampon çözeltileri kullanılmıştır. Yapılan deneylerde, miktar tayini çalışmaları için en uygun pH ortamının 8,04 olan fosfat tamponu ile elde edildiği ve en uygun elektrotun bor katkılı elmas elektrot olduğu belirlenmiştir.

Dihidroksipropilteofilin' in pH 8,04 fosfat tamponunda yükseltgenme davranışı değişen tarama hızlarında incelenmiştir. Gerekli olan yöntem geçerlilik parametrelerinin incelenebilmesi adına çalışmalar yapılmıştır. Deva ilaç firması tarafından piyasaya sunulan ampul formundaki Difilin<sup>®</sup> isimli ilaçtan miktar tayini ve % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Biyolojik numunelerden yapılacak olan miktar tayinleri, insan idrarı ve insan kan serumunda da gerekli yöntem geçerlilik çalışmaları ile birlikte; geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Standart materyal ve biyolojik materyaller ile yapılan çalışmalar için kullanılan stok ve ölçüm çözeltilerinin hazırlanışı, 2.3.3 nolu bölümde detaylı bir şekilde yer almaktadır.

### **3.1.1. DPT' nin Farklı pH' lardaki Voltametrik İncelenmesi**

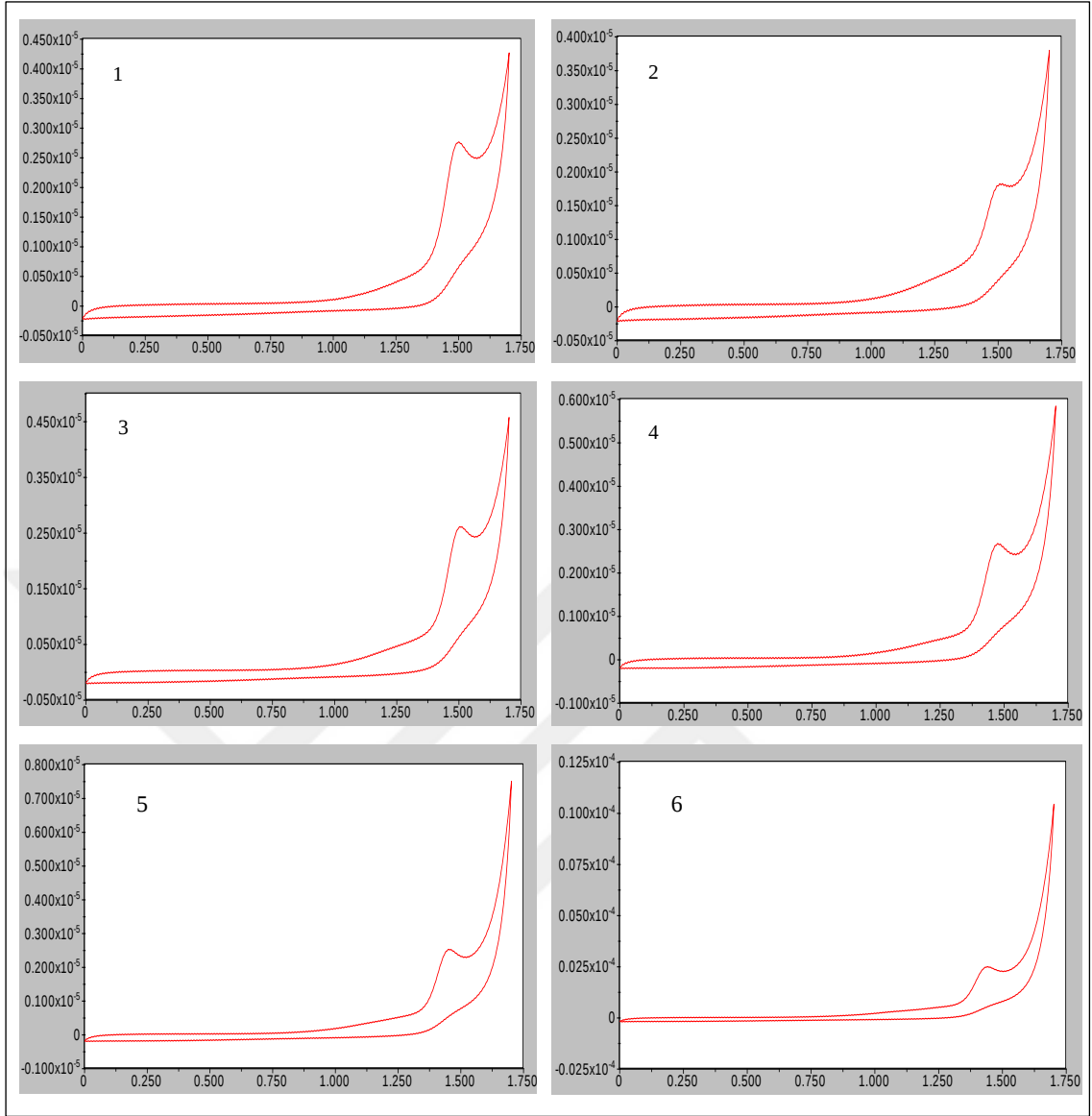
$1 \times 10^{-3}$  M' lık stok dihidroksipropilteofilin çözeltisinden hazırlanan  $5 \times 10^{-5}$  M' lık ölçüm çözeltileri ve pH değerleri 1,80; 2,19; 3,09; 5,85; 6,99; 8,04; 11,24; 12,28 olan fosfat tampon çözeltileri, 3,56; 4,56; 5,58 olan asetat tampon çözeltileri ve 8,80; 9,81 olan borat tampon çözeltilerinde, bor katkılı elmas elektrot kullanılarak DV, DPV ve KDV yöntemleri uygulanmıştır.

#### **3.1.1.1. DPT' nin Bor Katkılı Elmas Elektrot(BKEE) ile İncelenmesi**

##### **3.1.1.1.1. DPT' nin BKEE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi**

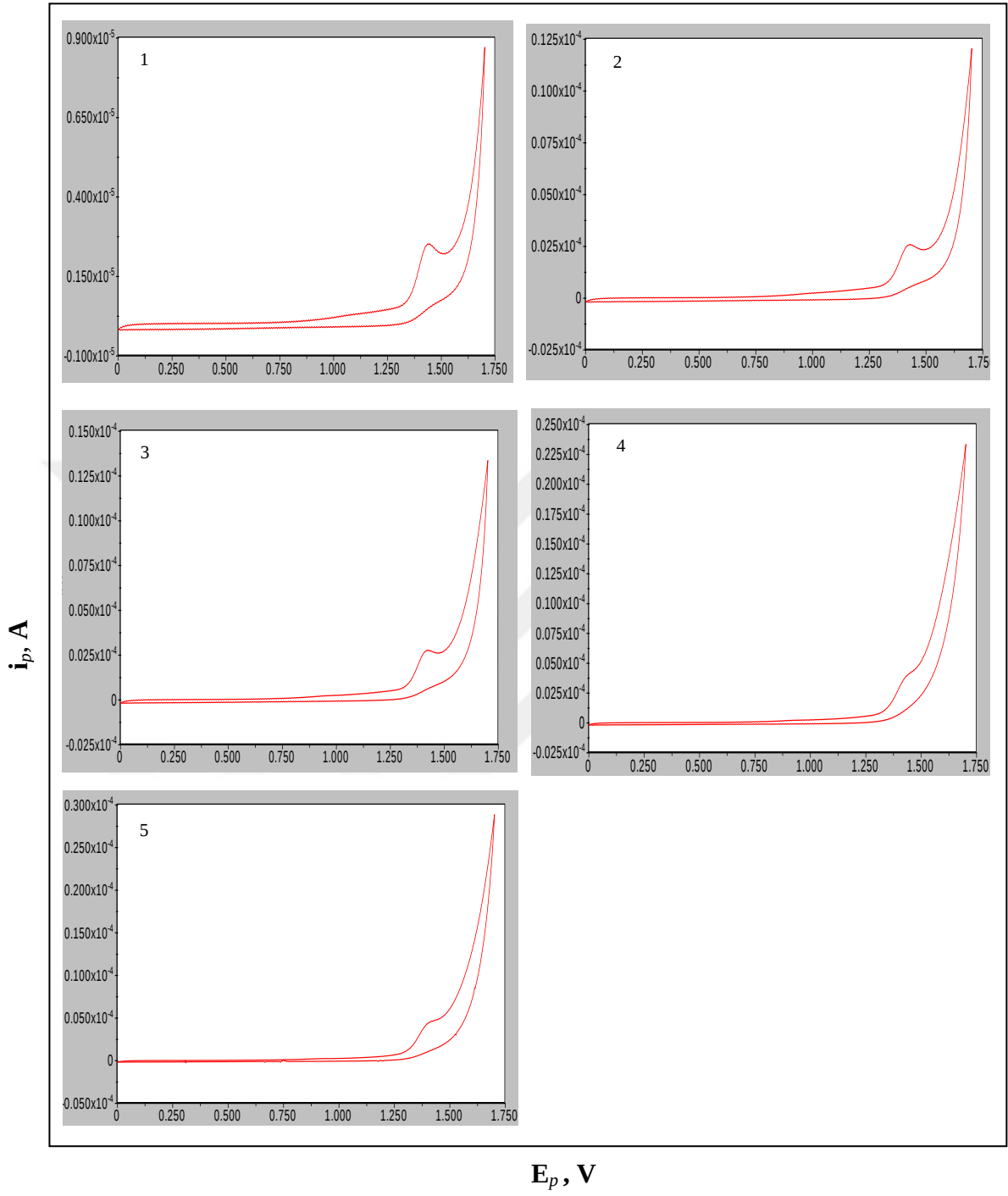
$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,02; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80; 9,81 olan çeşitli tampon çözeltileri ile, bor katkılı elmas elektrot kullanılarak, tarama hızı  $100 \text{ mV s}^{-1}$  olacak şekilde incelenmiştir. Oluşan voltamogramlar Şekil 3.1.a ve Şekil 3.1.b' de, elde edilen pik akımları ve potansiyelleri ise Çizelge 3.1' de yer almaktadır. pH 11,24 ve 12,28 değerindeki tampon çözeltiler kullanılarak yapılan ölçümlerden elde edilen pikler uygun olmadığından voltamogramları gösterilmemiştir.

$i_p, A$



$E_p, V$

**Şekil 3.1.a.** 5x10<sup>-5</sup> M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58.

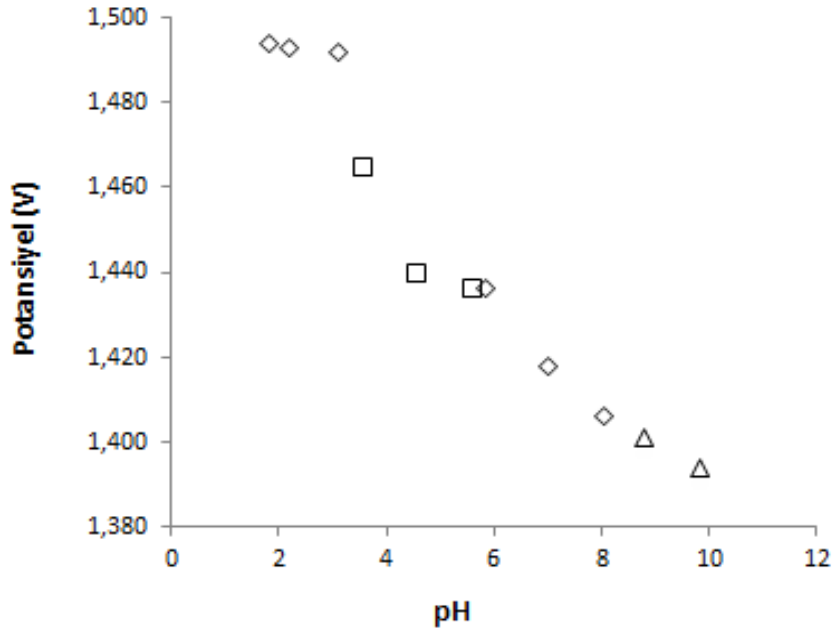


**Şekil 3.1.b.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81.

**Çizelge 3.1.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu$ A) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 1,037                | 1,494          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 0,437                | 1,493          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 0,913                | 1,492          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 1,044                | 1,465          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 0,466                | 1,440          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 0,943                | 1,436          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 1,034                | 1,436          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 1,01                 | 1,418          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 0,949                | 1,406          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 0,576                | 1,401          |
| 9,81 (borat tamponu)  | 1,052                | 1,394          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin dönüşümlü voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren grafik Şekil 3.2' de gösterilmektedir.



**Şekil 3.2.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (△): Borat Tamponu.

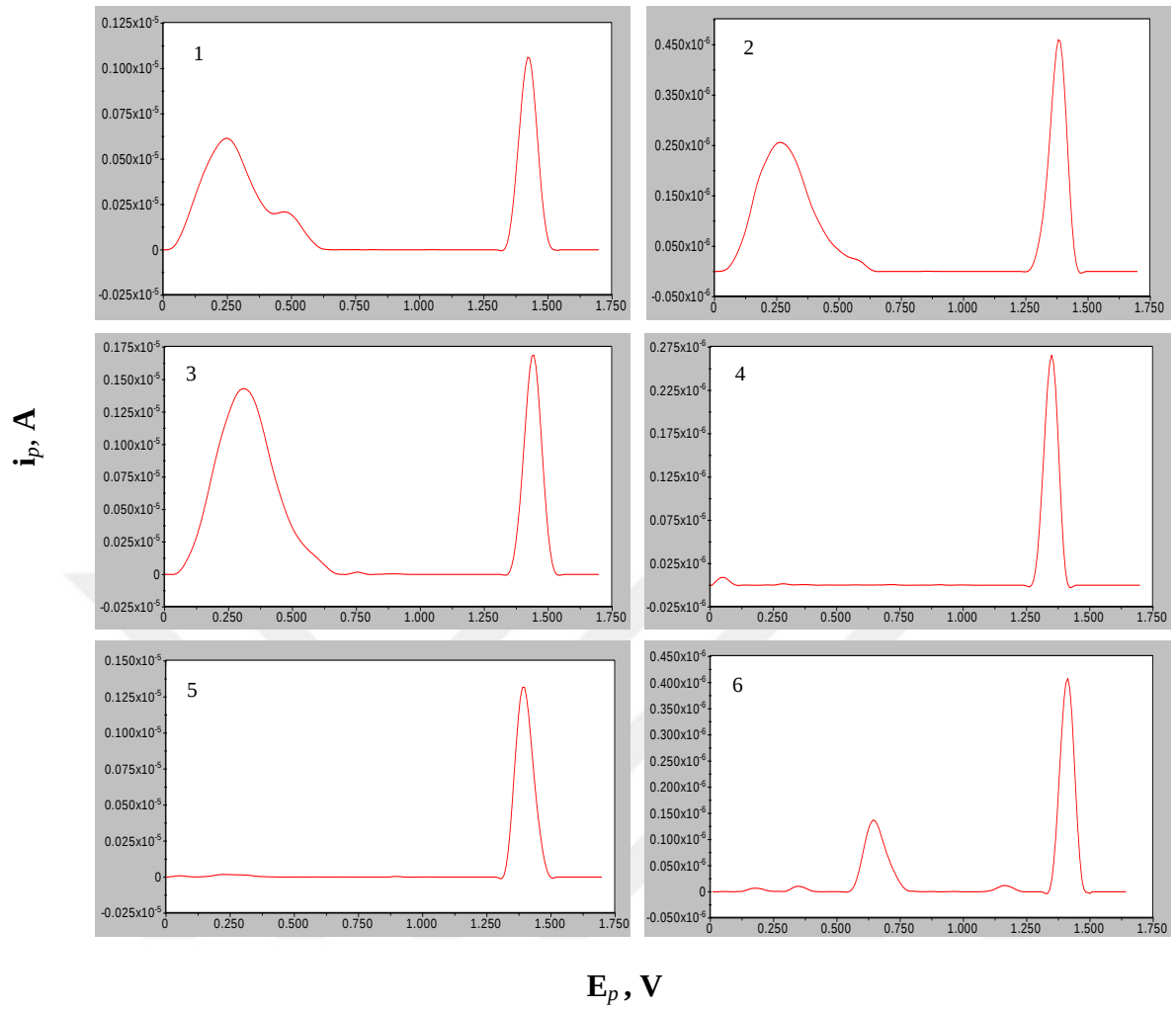
DV yöntemi kullanılarak pH taraması yapılmıştır. Sonuç olarak pH değeri artarken DPT pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı (azaldığı) tespit edilmiştir.  $E_p$  – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

$$E_p (V) = -0,013pH + 1,5123, \quad r:-0,9825, \quad (pH 1,8- 9,81), \quad (n= 10)$$

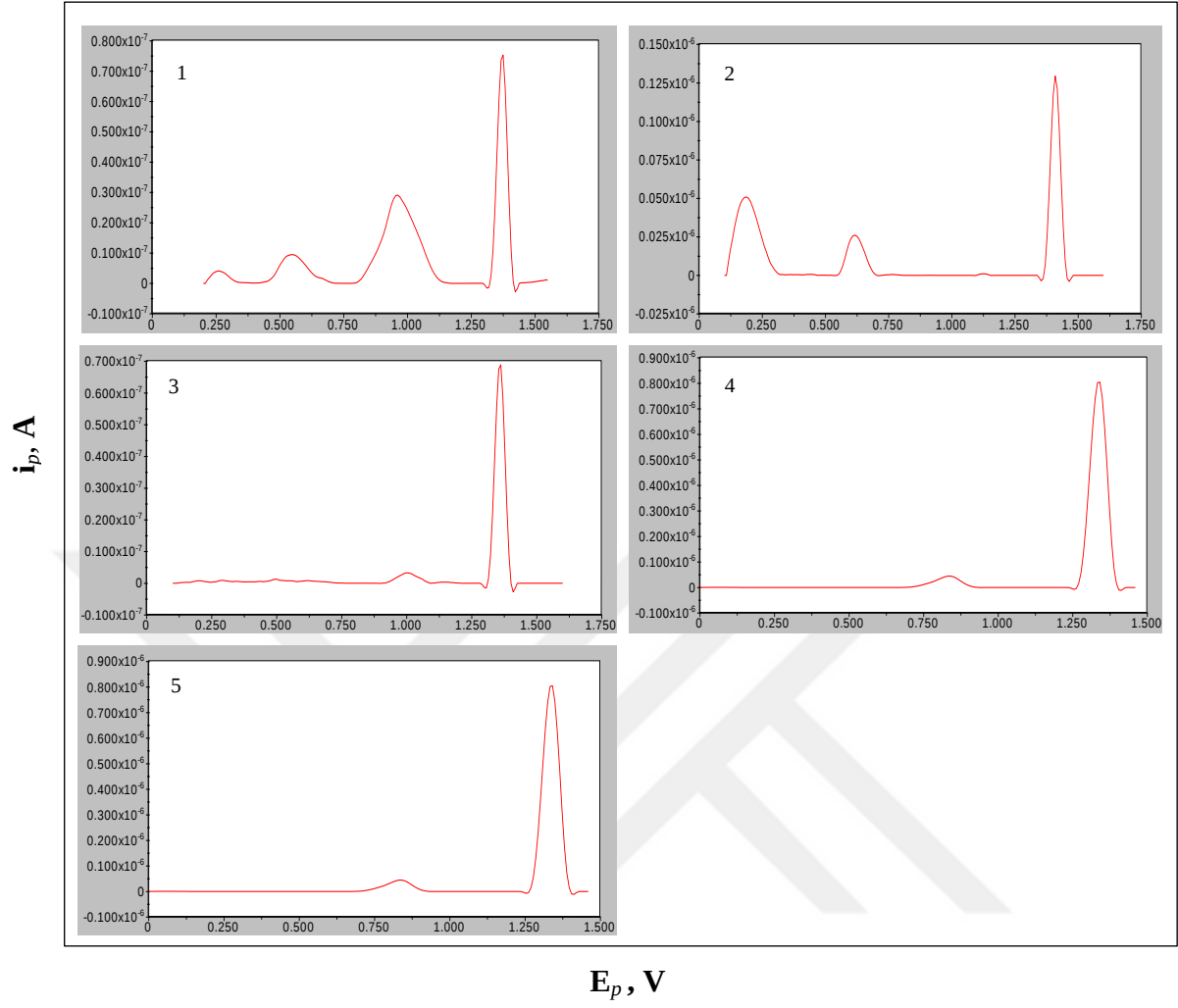
#### 3.1.1.1.2. DPT' nin BKEE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi

##### (DPV) ile İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,02; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80; 9,81 olan çeşitli tampon çözeltileri ile, bor katkılı elmas elektrot kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.3.a ve Şekil 3.3.b' de, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.2' de yer almaktadır.



**Şekil 3.3.a.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58.

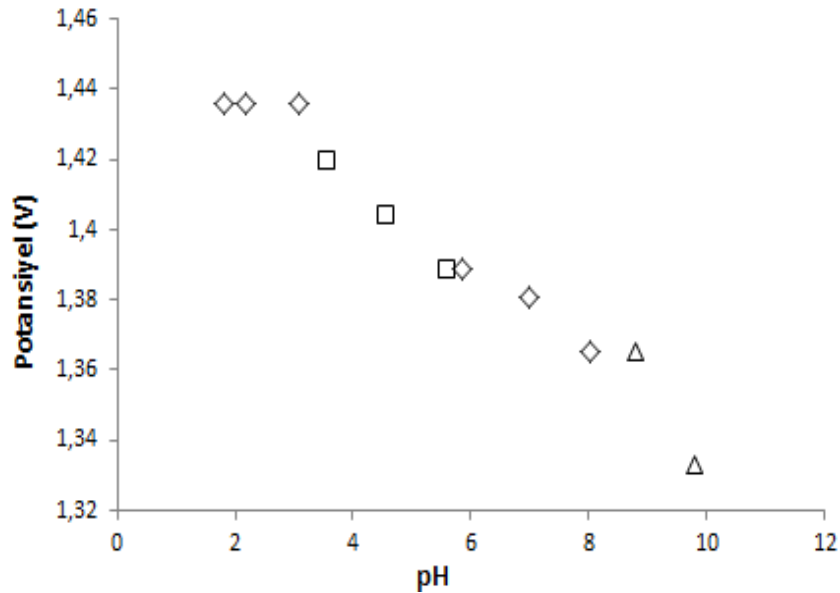


**Şekil 3.3.b.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81.

**Çizelge 3.2.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu$ A) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 1,593                | 1,436          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 0,627                | 1,436          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 1,333                | 1,436          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 1,107                | 1,420          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 1,260                | 1,404          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 1,375                | 1,389          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 1,439                | 1,389          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 1,502                | 1,381          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 1,474                | 1,365          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 0,747                | 1,365          |
| 9,81 (borat tamponu)  | 0,734                | 1,333          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin diferansiyel puls voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren grafik Şekil 3.4' te gösterilmektedir.



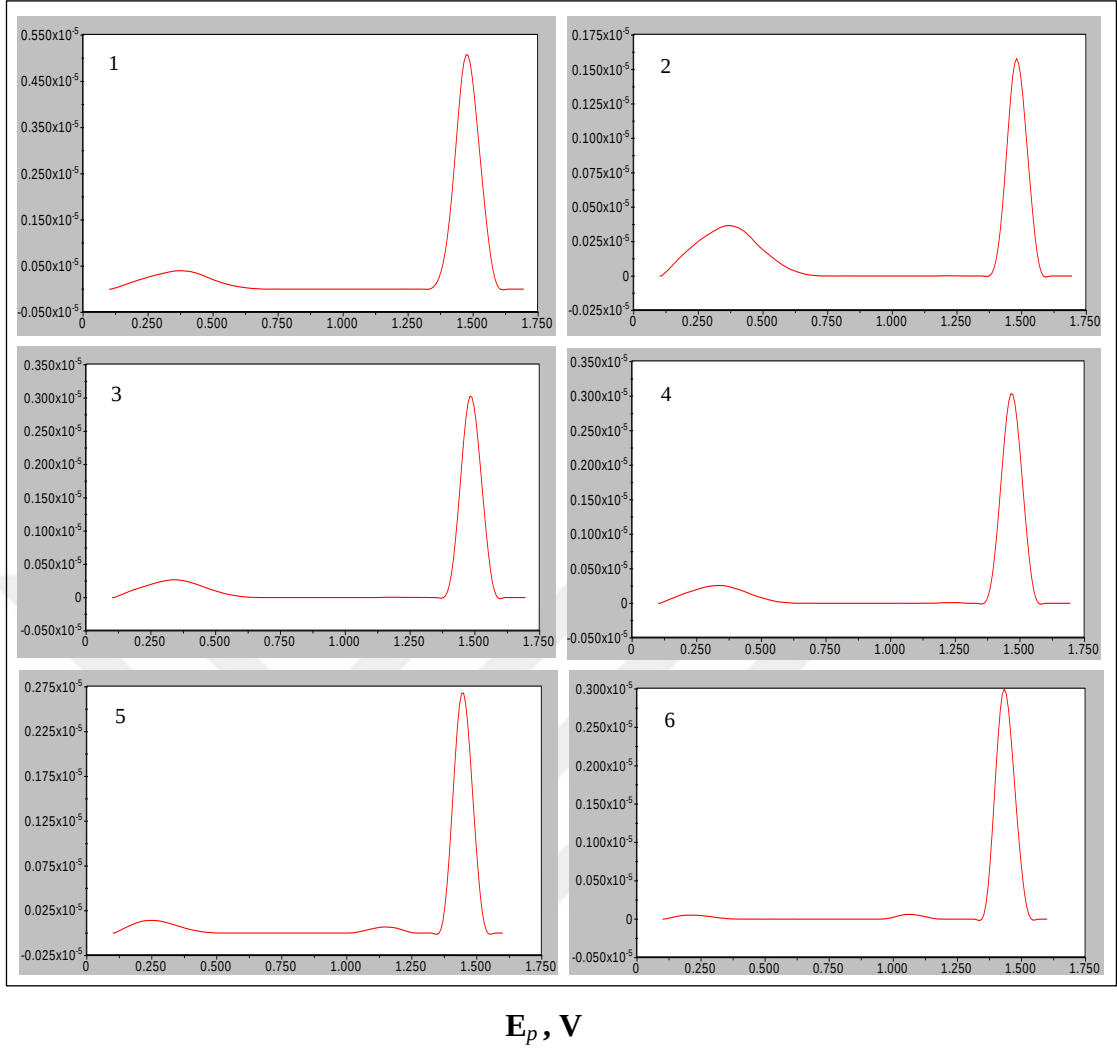
**Şekil 3.4.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu).

DPV yöntemi kullanılarak pH taraması yapılmıştır. Sonuç olarak pH değeri artarken DPT pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı (azaldığı) tespit edilmiştir.  $E_p$  – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

$$E_p (V) = -0.0124pH + 1.464, \quad r: -0,9829, \quad (pH 1,8- 9,81), \quad (n= 11)$$

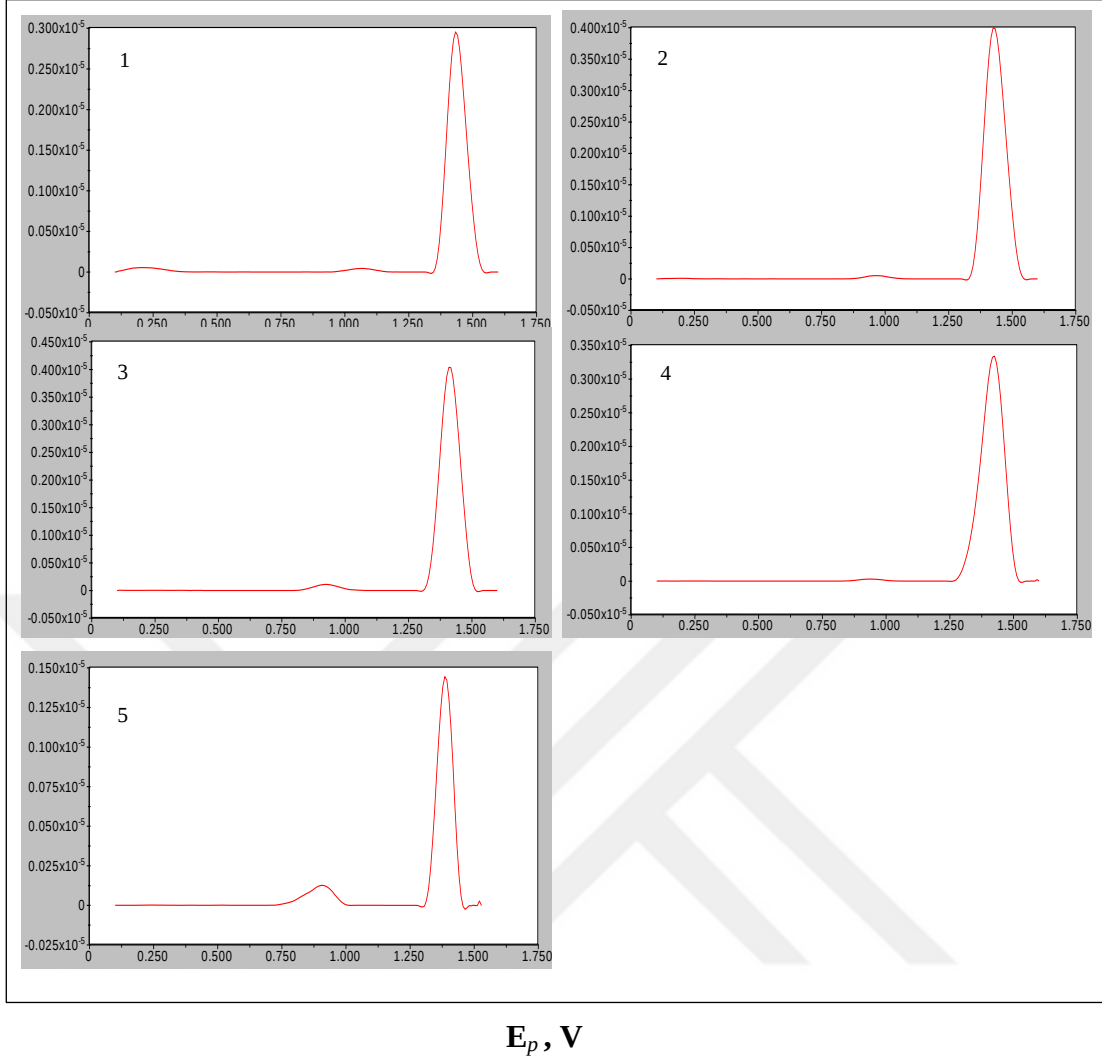
#### **3.1.1.1.3. DPT' nin BKKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi**

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,02; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80; 9,81 olan çeşitli tampon çözeltileri ile, bor katkılı elmas elektrot kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.5.a ve Şekil 3.5.b' te, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.3' te yer almaktadır.

$i_p, A$ 

**Şekil 3.5.a.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09; 4) pH 3,56; 5) pH 4,56; 6) pH 5,58.

$i_p, A$

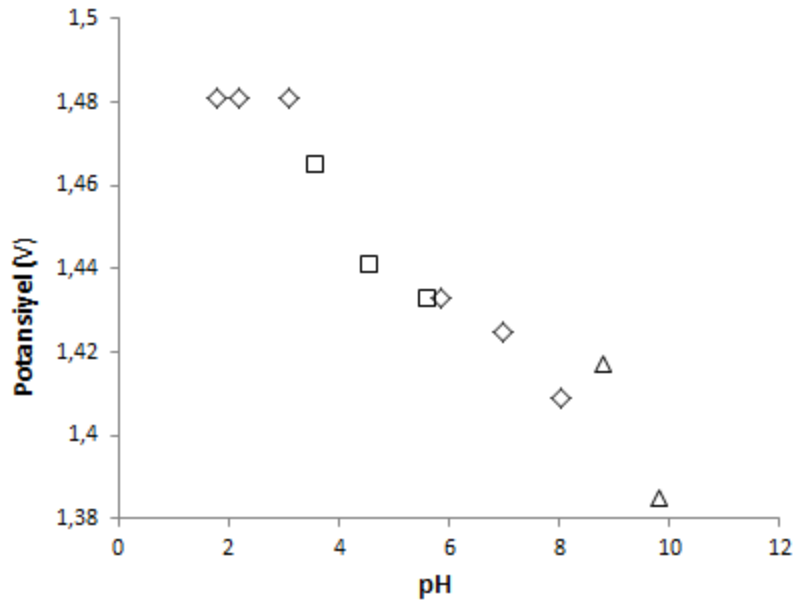


Şekil 3.5.b.  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 5,85; 2) pH 6,99; 3) pH 8,04; 4) pH 8,80; 5) pH 9,81.

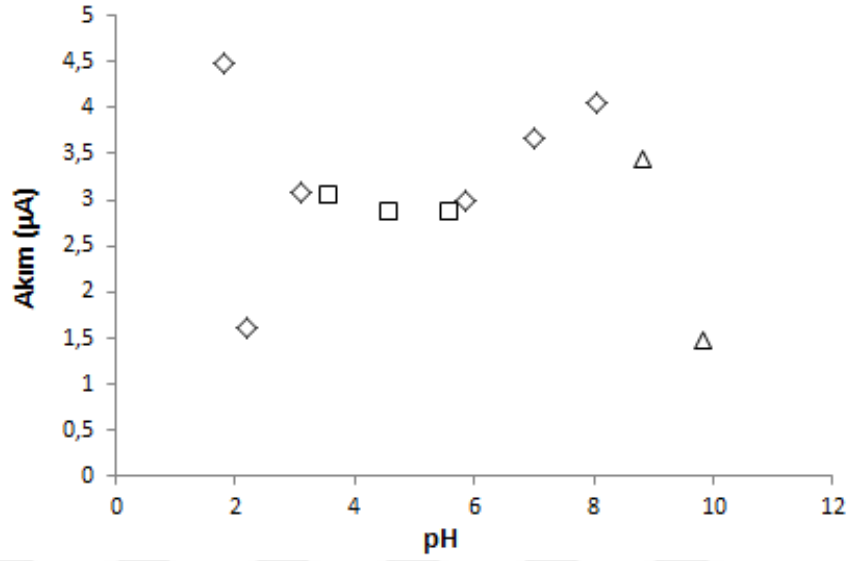
**Çizelge 3.3.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu$ A) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 4,479                | 1,481          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 1,609                | 1,481          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 3,081                | 1,481          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 3,047                | 1,465          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 2,877                | 1,441          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 2,883                | 1,433          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 2,997                | 1,433          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 3,661                | 1,425          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 4,057                | 1,409          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 3,433                | 1,417          |
| 9,81 (borat tamponu)  | 1,466                | 1,385          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin kare dalga voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyelleri ve akımları üzerine etkisini gösteren eğriler Şekil 3.6' da gösterilmektedir.



(A)



(B)

**Şekil 3.6.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyelleri (A) ve akımları (B) üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu).

KDV yöntemi kullanılarak pH taraması yapılmıştır. Sonuç olarak pH değeri artarken DPT pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı (azaldığı) tespit edilmiştir.  $E_p$  – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

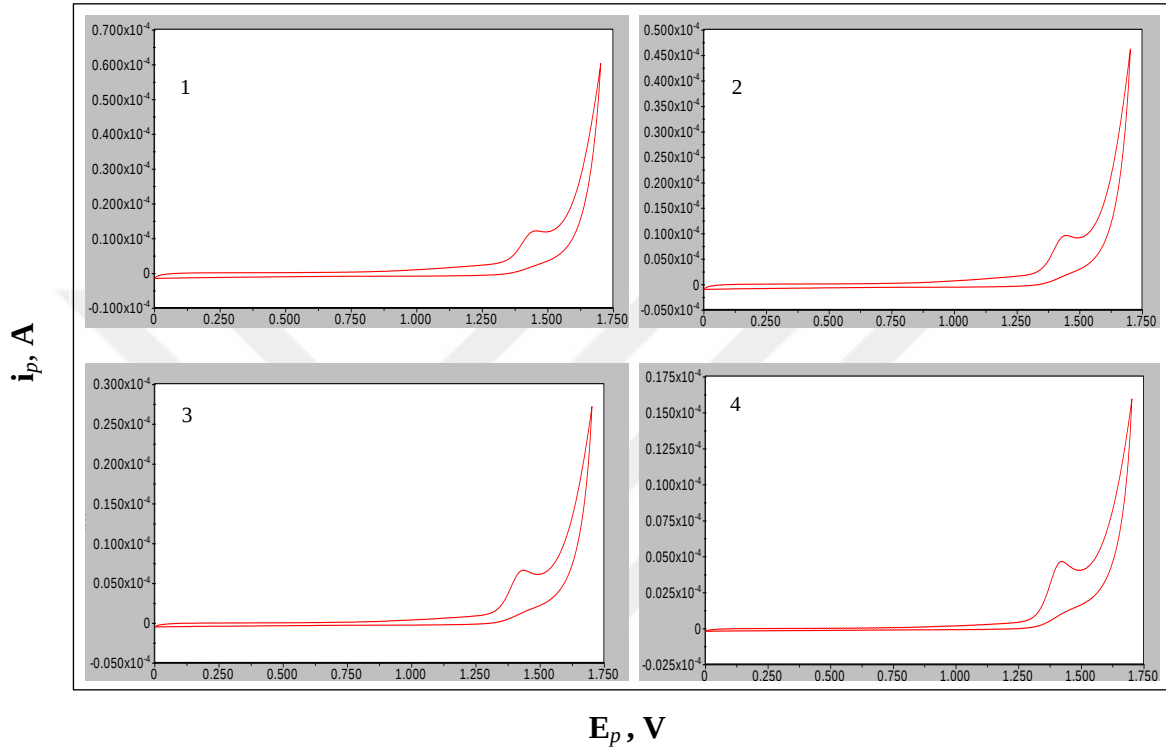
$$E_p = -0,0116pH + 1,5047, \quad r: -0,9715 \quad (pH \text{ 1,8- 9,81})$$

pH taraması sonucunda elde edilen tekraredilebilir yüksek pik akımı nedeniyle DPT'nin miktar tayini çalışmaları için pH 8,04 fosfat tamponu çalışma ortamı ve KDV uygun yöntem olarak seçilmiştir.

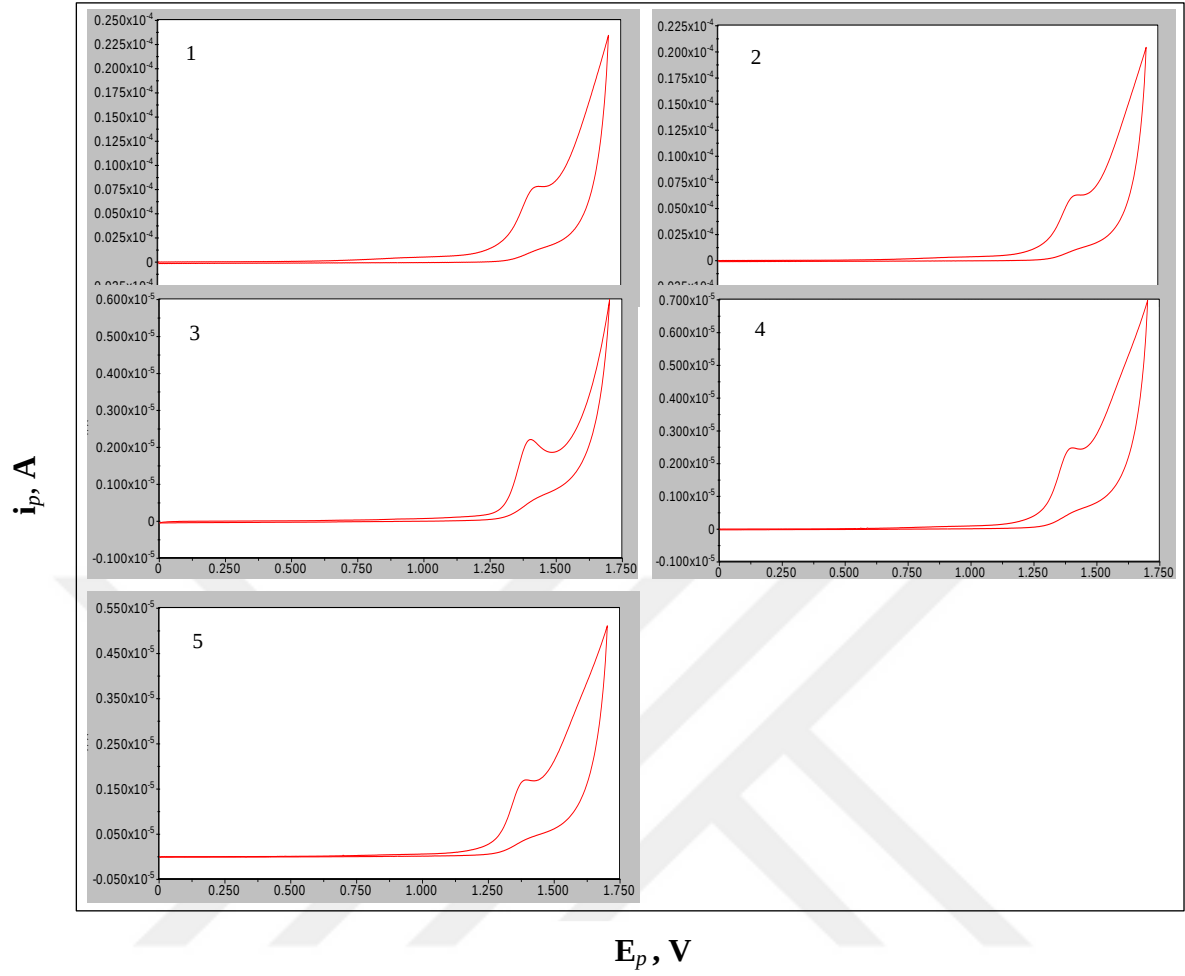
### 3.1.2. DPT' nin Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması

Yapılan çalışmaların sonucunda en uygun pH noktasının, fosfat tamponuyla elde edilen 8,04 olduğu tespit edilmiştir. Madde taşınmasının difüzyon, adsorbsiyon veya migrasyon olaylarından hangisiyle gerçekleştiğini belirlemek üzere, pH 8,04

noktasında,  $1 \times 10^{-4}$  M DPT çözelti derişiminde, tarama hızı 5- 750  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında olacak şekilde, DV tekniğı ile bor katkılı elmas elektrot kullanılarak hız taramaları yapılmıştır. Yapılan hız taramalarına ait çalışmalar Şekil 3.7.a ve Şekil 3.7.b’ de, Çizelge 3.4’ te verilmiştir.



**Şekil 3.7.a.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT’ nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV Tekniğı ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 750; 2) 500; 3) 250; 4) 100.

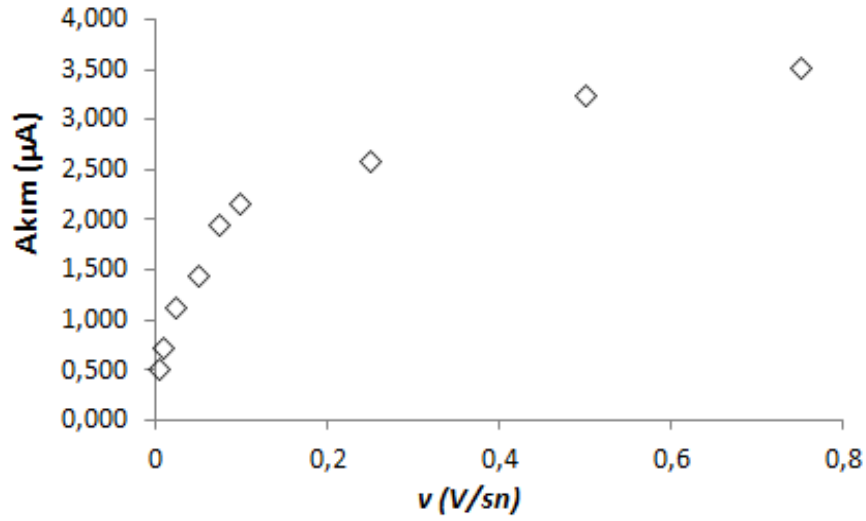


**Şekil 3.7.b.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  (mVs<sup>-1</sup>) 1) 75; 2) 50; 3) 25; 4) 10; 5) 5.

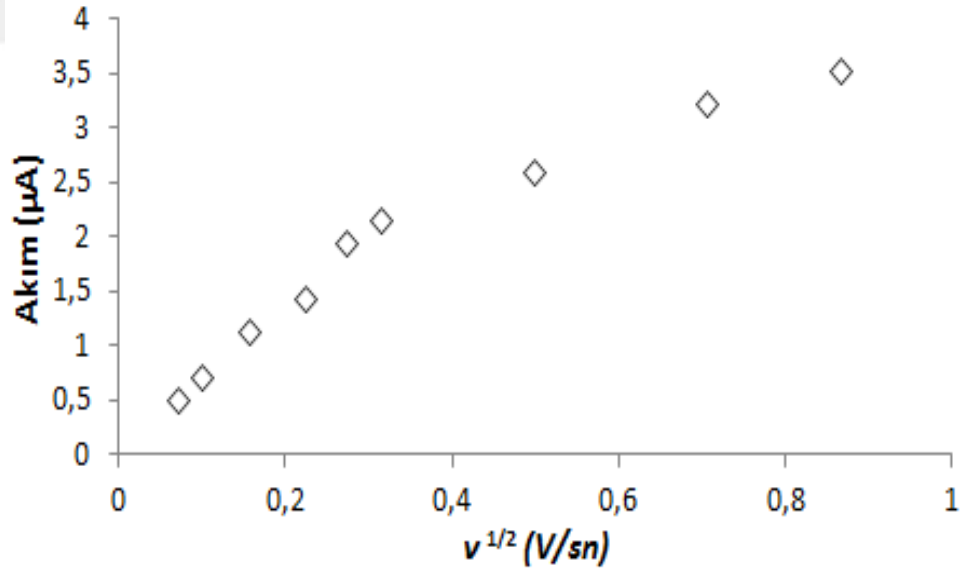
**Çizelge 3.4.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen veriler.

| $v$ (Vs <sup>-1</sup> ) | $v^{1/2}$ | $\log v$ | $i_p$ (µA) | $\log i_p$ | $E_p$ (V) |
|-------------------------|-----------|----------|------------|------------|-----------|
| 0,750                   | 0,866     | -0,125   | 3,523      | 0,547      | 1,433     |
| 0,500                   | 0,707     | -0,301   | 3,230      | 0,509      | 1,428     |
| 0,250                   | 0,500     | -0,602   | 2,585      | 0,412      | 1,421     |
| 0,100                   | 0,316     | -1,000   | 2,160      | 0,334      | 1,414     |
| 0,075                   | 0,274     | -1,125   | 1,944      | 0,289      | 1,411     |
| 0,050                   | 0,224     | -1,301   | 1,439      | 0,158      | 1,404     |
| 0,025                   | 0,158     | -1,602   | 1,122      | 0,050      | 1,394     |
| 0,010                   | 0,100     | -2,000   | 0,713      | -0,147     | 1,382     |
| 0,005                   | 0,071     | -2,301   | 0,506      | -0,296     | 1,375     |

Tabloda verilen akım ve potansiyel değerleri ile aşağıda yer alan  $v$ -  $i_p$ ;  $v^{1/2}$  -  $i_p$ ;  $\log v$ -  $\log i_p$  grafikleri sırasıyla şekil 3.8, şekil 3.9 ve şekil 3.10 olarak oluşturulmuştur.



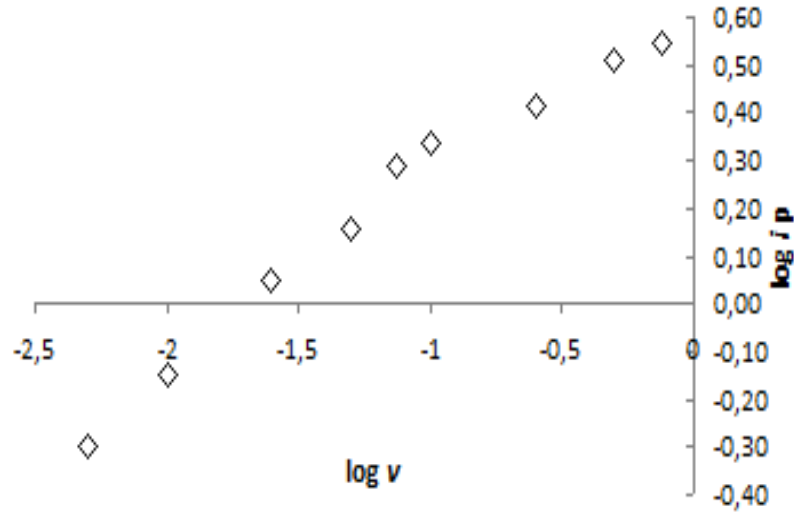
**Şekil 3.8.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen  $v$  -  $i_p$  grafiği



**Şekil 3.9.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen  $v^{1/2}$  -  $i_p$  grafiği.

Hızın karekökünün ve akımın doğrusal değişim gösterdiği, 5- 100  $mVs^{-1}$  arasındaki hız taramasından elde edilen doğru denklemi;

$$i_p(\mu A) = 6,76v^{1/2}(V s^{-1}) + 0,0274 \quad (r:0,9965; n:6) \text{ 'dır.}$$



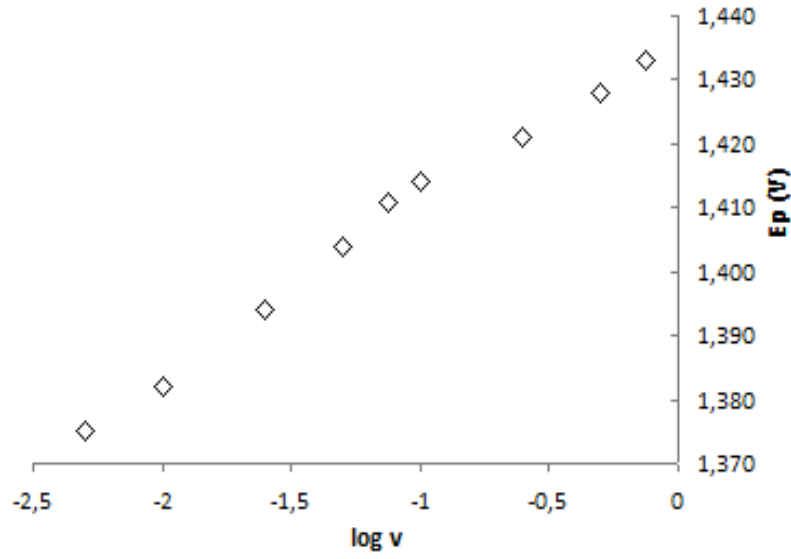
**Şekil 3.10.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen log v- log  $i_p$  grafiği.

Tarama hızı ve pik akımı grafiğinden elde edilen eğim 0,5'e yakın ise madde taşınmasının difüzyon kontrollü olduğu; 1'e yakın ise madde taşınmasının adsorpsiyon kontrollü olduğu anlaşılmaktadır (Laviron ve ark., 1980). Bu bilgiye dayanarak; pH 8,04 noktasında,  $1 \times 10^{-4}$  M DPT standart çözeltisi ile 5-100  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında bor katkılı elmas elektrot ile yapılan hız taramalarından elde edilen log v – log  $i_p$  eğrisinin eğimi 0,4821 olarak bulunmuştur. Bu değer 0,5' e daha yakın olduğundan, DPT taşınmasının difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Eğrinin denklemi;

$$\log i_p(\mu\text{A}) = 0,4821 \log v(\text{V s}^{-1}) + 0,8143, \quad r:0,9980 \quad (n: 6)$$

şeklindedir.



**Şekil 3.11.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,02 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen  $E_p$ - log v grafiği.

5- 750  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında  $E_p$ - log v grafiğinden elde edilen eğim değeri 0,027 olarak bulunmuştur. Buradan elde edilen doğru denklemi aşağıda verilmiştir;

$$E_p (\text{V}) = 0,0269 \log v (\text{V s}^{-1}) + 1,4379, \quad r: 0,995 \quad (n: 9)$$

Eğrilerde geri dönüş piki yoktur. Hız ile beraber pik potansiyeli kaymaktadır. Bu durumda reaksiyon tersinmezdir.

### 3.2. DPT' nin Miktar Tayini İçin Geliştirilen Metodla Yapılan Analiz

#### Çalışması

pH 8,04 değerindeki fosfat tamponunda, KDV tekniği ile yapılan çalışmalar için  $1 \times 10^{-5}$  M dihidroksipropilteofilin standart çözeltisi ile pik akımının en iyi olduğu şartlar optimize edilmiştir. Optimizasyon işleminin sonucuna göre basamak potansiyeli 10 mV; puls yüksekliği 30 mV ve frekans 50 Hz olarak belirlenmiştir. Akım ve potansiyel değerleri; basamak potansiyelinin 10 mV olduğu durum için Çizelge 3.5' te; puls yüksekliğinin 30 mV olduğu durum için Çizelge 3.6' da ve frekansın 50 Hz olduğu durum için ise Çizelge 3.7' de verilmiştir.

**Çizelge 3.5.** Basamak potansiyeli değişiminin potansiyele ve akıma etkisi

| Basamak Potansiyeli (mV) | Potansiyel (V) | Akım (I) |
|--------------------------|----------------|----------|
| 0,002                    | 1,371          | 0,280    |
| 0,004                    | 1,380          | 0,493    |
| 0,006                    | 1,387          | 0,656    |
| 0,008                    | 1,396          | 0,848    |
| 0,010                    | 1,400          | 0,992    |
| 0,012                    | 1,410          | 0,880    |
| 0,014                    | 1,410          | 0,708    |
| 0,016                    | 1,420          | 0,707    |
| 0,018                    | 1,420          | 0,708    |

**Çizelge 3.6.** Puls yüksekliği değişiminin potansiyele ve akıma etkisi

| Puls Yüksekliği (V) | Potansiyel (V) | Akım (I) |
|---------------------|----------------|----------|
| 0,010               | 1,420          | 0,393    |
| 0,020               | 1,420          | 0,582    |
| 0,030               | 1,420          | 0,779    |
| 0,040               | 1,420          | 0,752    |
| 0,050               | 1,420          | 0,614    |
| 0,060               | 1,420          | 0,553    |
| 0,070               | 1,420          | 0,562    |
| 0,080               | 1,420          | 0,522    |

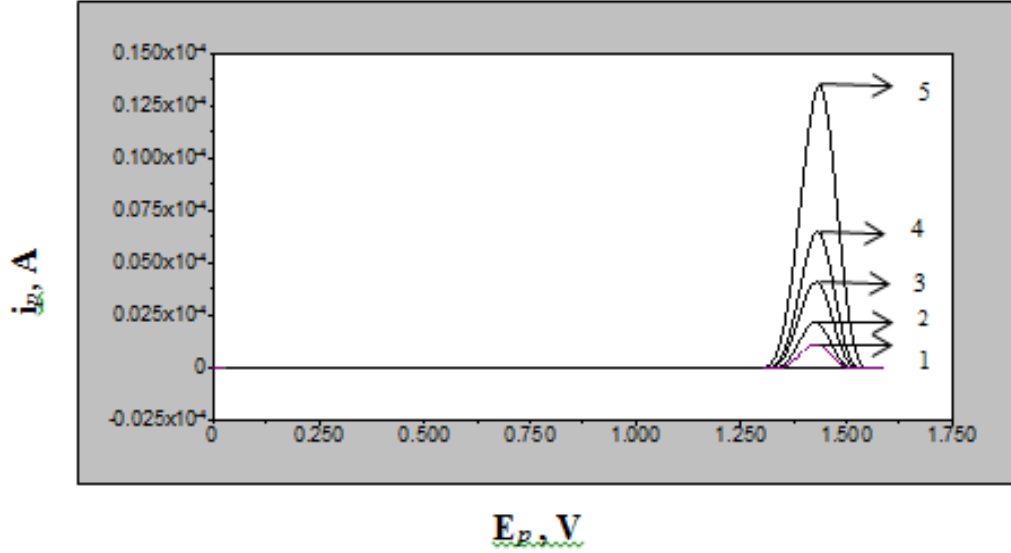
**Çizelge 3.7.** Frekans değişiminin potansiyele ve akıma etkisi

| Frekans (Hz) | Potansiyel (V) | Akım (I) |
|--------------|----------------|----------|
| 10           | 1,380          | 0,084    |
| 20           | 1,390          | 0,217    |
| 30           | 1,400          | 0,374    |
| 40           | 1,410          | 0,548    |
| 50           | 1,420          | 0,689    |
| 60           | 1,420          | 0,342    |
| 70           | 1,420          | 0,216    |

Şartlar optimize edildikten sonra, Dihidroksipropilteofilin' in standart çözeltileriyle, pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği kullanılarak  $2 \times 10^{-6}$ -  $4 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği ile tayin edilen dihidroksipropilteofilin derişimi ile pik akımı arasında elde edilen doğrunun denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıdaki gibidir:

$$i_p(\mu A) = 65034,27C (M) - 0,1547 \quad r = 0,9989 \quad (n = 12)$$

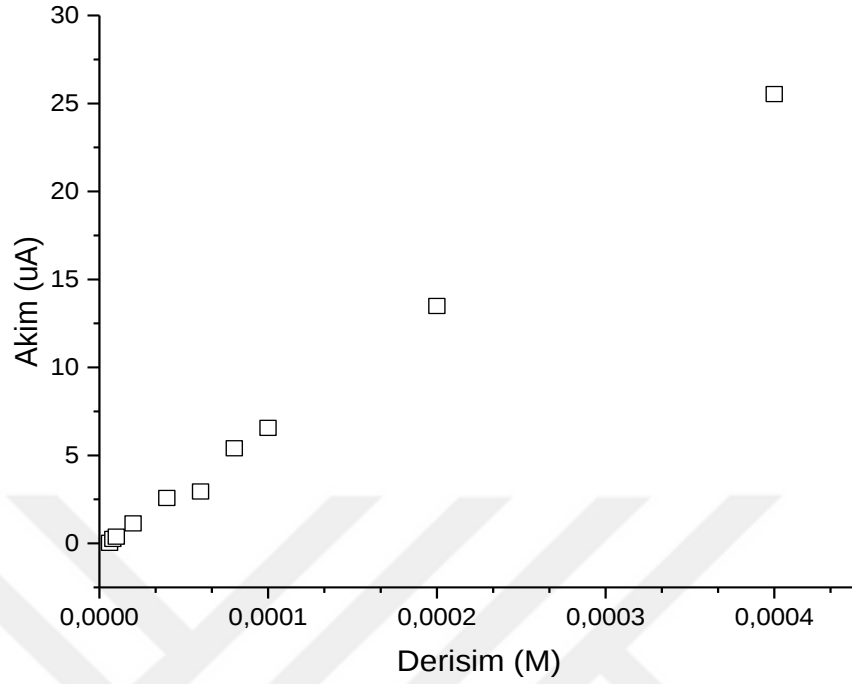
KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen voltamogramlardan bazıları Şekil 3.12’de, kalibrasyon noktalarına ait akım verileri Çizelge 3.8’ de, elde edilen kalibrasyonun grafiğı Şekil 3.13’ te yer almaktadır.



**Şekil 3.12.** KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar, 1)  $2 \times 10^{-5}$  M; 2)  $4 \times 10^{-5}$  M; 3)  $6 \times 10^{-5}$  M; 4)  $1 \times 10^{-4}$  M; 5)  $2 \times 10^{-4}$  M. (standart DPT çözeltisi ortamında).

**Çizelge 3.8.** DPT standart çözeltisinin KDV tekniğı ile derişimine karşı pik akımı değışimi

| Derişim, (M)          | Pik Akımı, $i_p$ ( $\mu A$ ) |
|-----------------------|------------------------------|
| $2,00 \times 10^{-6}$ | 0,0740                       |
| $4,00 \times 10^{-6}$ | 0,1124                       |
| $6,00 \times 10^{-6}$ | 0,1740                       |
| $8,00 \times 10^{-6}$ | 0,2460                       |
| $1,00 \times 10^{-5}$ | 0,3830                       |
| $2,00 \times 10^{-5}$ | 1,1340                       |
| $4,00 \times 10^{-5}$ | 2,5750                       |
| $6,00 \times 10^{-5}$ | 2,9420                       |
| $8,00 \times 10^{-5}$ | 5,4050                       |
| $1,00 \times 10^{-4}$ | 6,5600                       |
| $2,00 \times 10^{-4}$ | 13,4900                      |
| $4,00 \times 10^{-4}$ | 25,5300                      |



**Şekil 3.13.** Standart DPT çözeltisi ile elde edilen kalibrasyon grafiğı.

pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde, kare dalga voltametri (KDV) yöntemi kullanılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizinin sonuçları Çizelge 3.9’ da özetlenmiştir. Teşhis sınırı (TS) 3 ss/m ve tayin alt sınırı (TAS) 10 ss/m formülleri ile hesaplanmıştır (ICH Rehberi, 2005). Formüllerde bulunan ss, kalibrasyonun en düşük derişimine ait üç tekrarlı ölçümün standart sapmasını, m ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir.

**Çizelge 3.9.** BKEE ile DPT’ nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında KDV tekniği ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi sonuçları.

|                                                              | KDV                                       |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Ölçüm potansiyeli (mV)                                       | 1420                                      |
| Doğrusal aralık (M)                                          | $2 \times 10^{-6}$ - $4 \times 10^{-4}$ M |
| Eğim ( $\mu$ A/M)                                            | 65034,274                                 |
| Eğimin Standart Hatası                                       | 963,18                                    |
| Kesişim( $\mu$ A)                                            | -0,15471                                  |
| Kesişimin Standart Hatası                                    | 0,13                                      |
| Korelasyon katsayısı (r)                                     | 0,9989                                    |
| TS (M)                                                       | $3,24 \times 10^{-8}$                     |
| TAS (M)                                                      | $1,08 \times 10^{-7}$                     |
| Potansiyel için gün içindeki tekrarlanabilirlik (% BSS)      | 0,31                                      |
| Potansiyel için günler arasındaki tekrarlanabilirlik (% BSS) | 0,38                                      |

Aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirliklerden hesaplanan %BSS değerleri, sırasıyla  $8 \times 10^{-6}$  M ve  $8 \times 10^{-5}$  M standart DPT çözeltileri ile 5’ er tekrarlı çalışılarak elde edilmiştir.

**Çizelge 3.10.** BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirlik sonuçları

| Teorik Derişim (M) | Gün İçinde Elde Edilen Derişim (M)* |      | Günler Arasında Elde Edilen Derişim (M)** |      |
|--------------------|-------------------------------------|------|-------------------------------------------|------|
|                    | Xort                                | %BSS | Xort                                      | %BSS |
| $8 \times 10^{-6}$ | $7,74 \times 10^{-6}$               | 0,75 | $7,75 \times 10^{-6}$                     | 1,67 |
| $8 \times 10^{-5}$ | $7,95 \times 10^{-5}$               | 0,74 | $7,93 \times 10^{-5}$                     | 1,22 |

(\*) Aynı günlerde hazırlanmış olan 5 ayrı çözelti ölçümünün ortalama değeri

(\*\*) Farklı günlerde hazırlanmış olan 5 ayrı çözelti ölçümünün ortalama değeri

Validasyon çalışmalardan yola çıkılarak bu tekniğin ticari preparatlarda (DIFILIN<sup>®</sup>) dihidroksipropilteofilin’ in miktar tayini için doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

### 3.2.1. Geliştirilen Yöntemin Ticari Preparatlara Uygulanması ve Geri

#### Kazanım Çalışmaları

Dihidroksipropilteofilin' in pH 8,04 fosfat tamponu ortamında bor katkılı elmas elektrot (BKEE) ile kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği kullanılarak geliştirilen yöntem, etken maddenin ticari ilaç formlarından biri olan DIFILIN<sup>®</sup>, e uygulanmıştır.

DIFILIN<sup>®</sup> ampul içeriğinde etken madde olarak 300 mg dihidroksipropilteofilin, yardımcı madde olarak 3 mg metil paraben ve 3 ml' ye tamamlayacak miktarda enjeksiyonluk su bulunmaktadır. Numuneler 2.3.5 bölümünde anlatıldığı şekilde hazırlanmış ve voltamogramlar saf dihidroksipropilteofilin gibi kaydedilmiştir. Elde edilen voltamogramlardaki akım verileri, ilgili doğru denklemleri kullanılarak ampullerin içeriğindeki analit miktarı hesaplanmıştır. Bu sonuçlar Çizelge 3.11 de gösterilmiştir.

Geri kazanım çalışmaları, ampul dozaj formunda yer alan katkı maddelerinin geliştirilen tayin yöntemine etkisi olup olmadığını anlamak için yapılmıştır. Bu amaçla, Bölüm 2.3.6' da anlatıldığı şekilde dihidroksipropilteofilin içeriği bilinen ampul çözeltisi içerisine toplam madde miktarı doğrusal aralık içerisine girecek şekilde dihidroksipropilteofilin' in belli miktarda saf standardı ilave edilerek, pH 8,04 fosfat tamponu ile seyreltilmiş olup BKE elektrot kullanılarak, KDV tekniği ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.12. de verilmiştir.

**Çizelge 3.11.** DPT içeren ticari ilacın (DİFİLİN ®), BKEE kullanılarak geliştirilen KDV tekniğiyle elde edilen bulguları

| Çalışma No | Ampulde Bulunan Madde Miktarı (300 mg) |
|------------|----------------------------------------|
| 1          | 296,35                                 |
| 2          | 296,92                                 |
| 3          | 289,77                                 |
| 4          | 309,61                                 |
| 5          | 291,74                                 |
| $X_{ort}$  | 296,88                                 |
| SS         | 7,73                                   |
| %BSS       | 2,60                                   |
| %Bias      | 1,04                                   |

**Çizelge 3.12.** Ticari ilaca (DİFİLİN ®) enjekte edilen DPT’ nin BKEE kullanılarak kare dalga voltametrisi (KDV) tekniğiyle elde edilen % geri kazanım değerleri

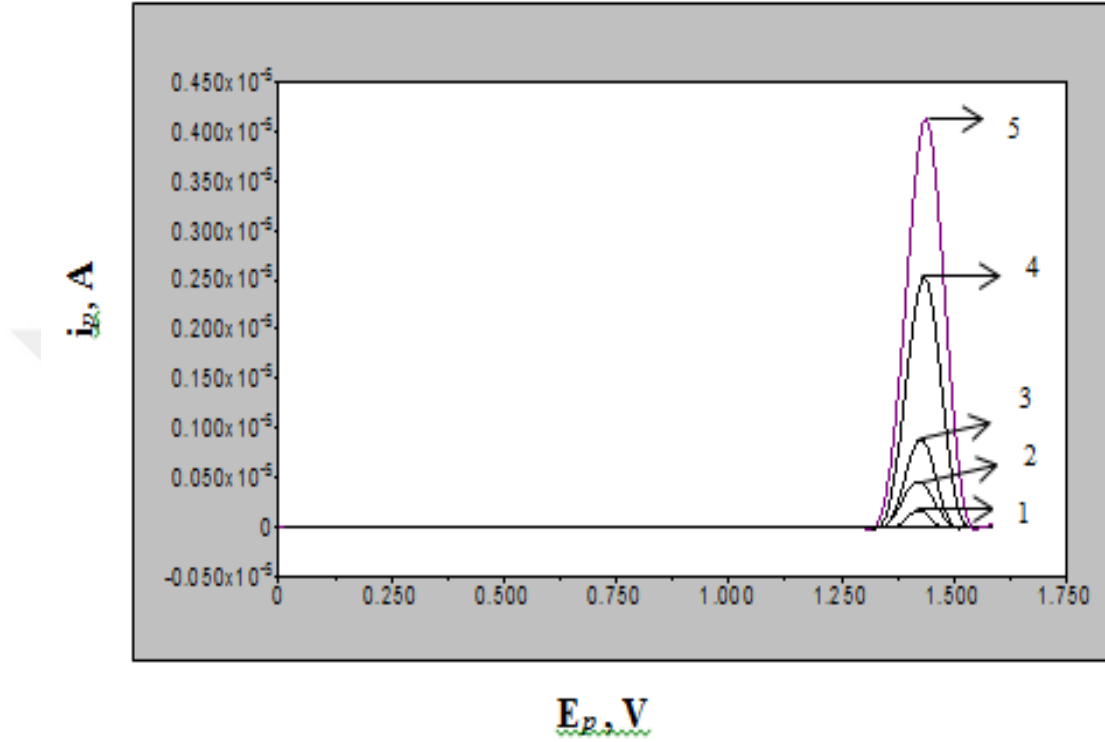
| Çalışma No | Eklenen Analit Miktarı (mg) | Elde Edilen Analit Miktarı (mg) | %GK    |
|------------|-----------------------------|---------------------------------|--------|
| 1          | 20                          | 19,89                           | 99,46  |
| 2          | 20                          | 20,02                           | 100,10 |
| 3          | 20                          | 20,39                           | 101,94 |
| 4          | 20                          | 20,07                           | 100,35 |
| 5          | 20                          | 19,95                           | 99,75  |
| $X_{ort}$  |                             |                                 | 100,12 |
| SS         |                             |                                 | 0,57   |
| % BSS      |                             |                                 | 0,57   |
| % Bias     |                             |                                 | -0,12  |

### 3.3. İnsan İdrarında Dihidroksipropilteofilin Tayini

İnsan idrarında bulunan DPT miktar tayini için, pH 8,04 değerindeki fosfat tamponu içerisinde kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği kullanılarak  $2 \times 10^{-6}$  -  $1 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği ile tayin edilen dihidroksipropilteofilin derişimi ile pik akımı arasında elde edilen doğrunun denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıdaki gibidir:

$$i_p(\mu A) = 81823,124C (M) - 0,3724, \quad r = 0,9978 \quad (n = 10)$$

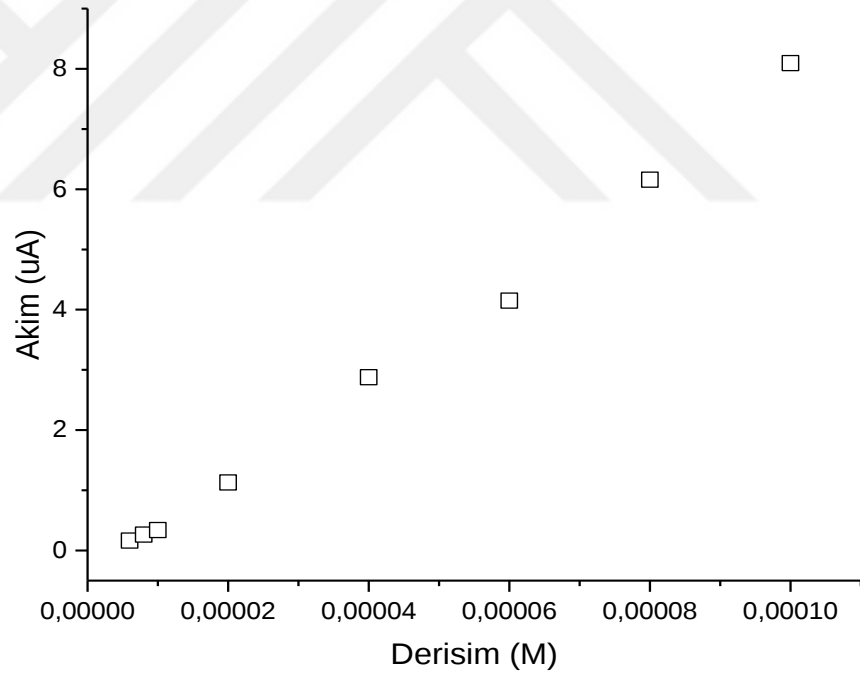
KDV ile insan idrarı ortamında çizilen kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen voltamogramlardan bazıları Şekil 3.14'te, kalibrasyon noktalarına ait akım değeri Çizelge 3.13' te, kalibrasyon grafiğı ise Şekil 3.15' te verilmiştir.



Şekil 3.14. KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar, 1)  $2 \times 10^{-5}$  M; 2)  $4 \times 10^{-5}$  M; 3)  $6 \times 10^{-5}$  M; 4)  $8 \times 10^{-5}$  M; 5)  $1 \times 10^{-4}$  M. (insan idrarı ortamında).

**Çizelge 3.13.** İnsan idrarındaki DPT miktar tayininde KDV tekniği ile derişimine karşı pik akımı değışimi

| Derişim, (M)          | Pik Akımı, $i_p$ ( $\mu A$ ) |
|-----------------------|------------------------------|
| $2,00 \times 10^{-6}$ | 0,0340                       |
| $4,00 \times 10^{-6}$ | 0,0720                       |
| $6,00 \times 10^{-6}$ | 0,1650                       |
| $8,00 \times 10^{-6}$ | 0,2630                       |
| $1,00 \times 10^{-5}$ | 0,3400                       |
| $2,00 \times 10^{-5}$ | 1,1300                       |
| $4,00 \times 10^{-5}$ | 2,8760                       |
| $6,00 \times 10^{-5}$ | 4,1480                       |
| $8,00 \times 10^{-5}$ | 6,1570                       |
| $1,00 \times 10^{-4}$ | 8,0930                       |



**Şekil 3.15.** İnsan idrarından DPT miktar tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.

İnsan idrarında DPT miktar tayini yapılmıştır. pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde, kare dalga voltametrisi (KDV) yöntemi kullanılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizi verileri Çizelge 3.14' te özetlenmiştir. Teşhis sınırı 3 ss/m ve tayin alt sınırı 10 ss/m formülleri ile hesaplanmıştır (ICH

Rehberi, 2005).

**Çizelge 3.14.** BKEE ile insan idrarındaki DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında KDV tekniği ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi sonuçları.

|                                                              | KDV                                     |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Ölçüm potansiyeli (mV)                                       | 1440                                    |
| Doğrusal aralık (M)                                          | $2 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ M |
| Eğim ( $\mu$ A/M)                                            | 81823,124                               |
| Eğimin Standart Hatası                                       | 1927,25                                 |
| Kesişim( $\mu$ A)                                            | -0,37236                                |
| Kesişimin Standart Hatası                                    | 0,09                                    |
| Korelasyon katsayısı (r)                                     | 0,9978                                  |
| TS (M)                                                       | $3,8512 \times 10^{-7}$                 |
| TAS (M)                                                      | $1,2837 \times 10^{-6}$                 |
| Potansiyel için gün içindeki tekrarlanabilirlik (% BSS)      | 0,38                                    |
| Potansiyel için günler arasındaki tekrarlanabilirlik (% BSS) | 0,58                                    |

Aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirliklerden hesaplanan %BSS değerleri,  $8 \times 10^{-6}$  M ve  $8 \times 10^{-5}$  M standart DPT çözeltileri ile 5' er tekrarlı çalışılarak elde edilmiştir.

**Çizelge 3.15.** İnsan idrarı ortamında BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günlerdeki tekrarlanabilirlik sonuçları

| Teorik Derişim (M) | Gün İçinde Elde Edilen Derişim (M)* |      | Günler Arasında Elde Edilen Derişim (M)** |      |
|--------------------|-------------------------------------|------|-------------------------------------------|------|
|                    | Xort                                | %BSS | Xort                                      | %BSS |
| $8 \times 10^{-6}$ | $7,03 \times 10^{-6}$               | 0,78 | $7,11 \times 10^{-6}$                     | 1,71 |
| $8 \times 10^{-5}$ | $8,02 \times 10^{-5}$               | 0,74 | $7,97 \times 10^{-5}$                     | 1,27 |

(\*) Aynı günlerde hazırlanmış olan 5 ayrı çözelti ölçümünün ortalama değeri

(\*\*) Farklı günlerde hazırlanmış olan 5 ayrı çözeltinin ölçümünün ortalama değeri

Validasyon çalışmalardan yola çıkılarak bu tekniğin insan idrarında DPT' nin miktar tayini için doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

### 3.3.1. DPT' nin İnsan İdrarından Geri Kazanımı

DPT' nin insan idrarında pH 8,04 fosfat tamponu ortamında BKE elektrot ile KDV tekniğiyle geliştirilen yöntem doğruluğunun belirlenmesi geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, 2.3.6 bölümünde anlatıldığı şekilde hazırlanan geri kazanım çözeltileri kullanılmıştır. Analiz bulguları Çizelge 3.16' da yer almaktadır.

**Çizelge 3.16.** İnsan idrarındaki  $8,0 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE kullanılarak KDV tekniğiyle elde edilen % geri kazanım sonuçları

| Çalışma No | İdrara Eklenen Analit Miktarı (M) | Elde Edilen Analit Miktarı (M) | %GK    |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------|
| 1          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,05 \times 10^{-5}$          | 100,68 |
| 2          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,06 \times 10^{-5}$          | 100,80 |
| 3          | $8 \times 10^{-5}$                | $7,92 \times 10^{-5}$          | 98,95  |
| 4          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,07 \times 10^{-5}$          | 100,86 |
| 5          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,06 \times 10^{-5}$          | 100,77 |
| $X_{ort}$  |                                   |                                | 100,41 |
| SS         |                                   |                                | 0,82   |
| % BSS      |                                   |                                | 0,82   |
| % Bias     |                                   |                                | -0,41  |

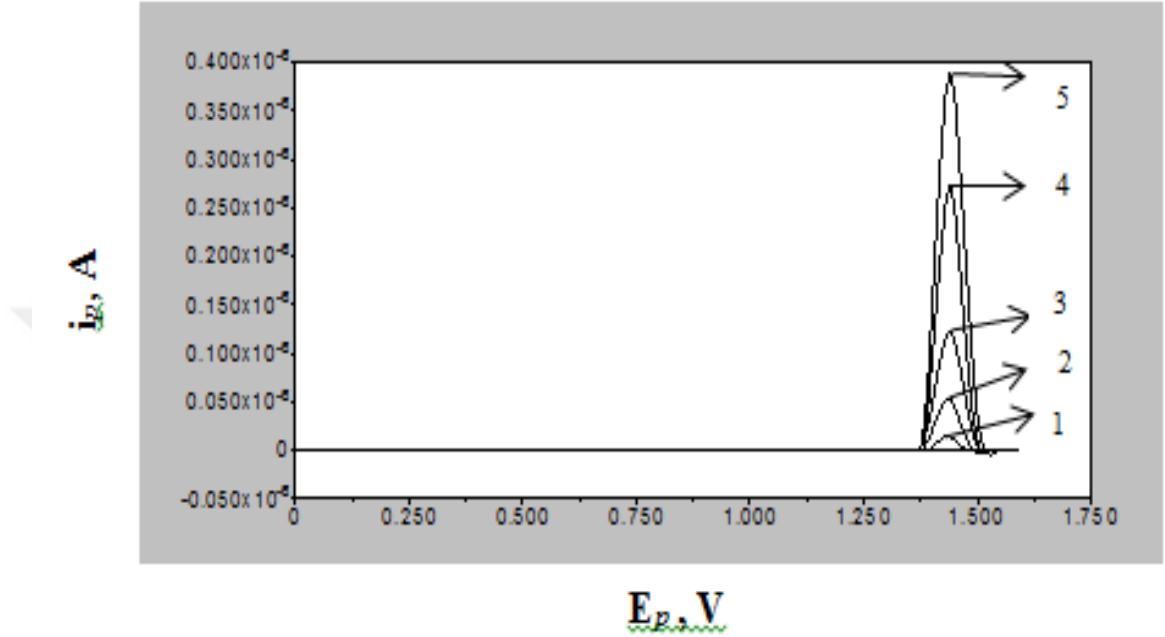
### 3.4. İnsan Serumunda Dihidroksipropilteofilin Tayini

İnsan serumunda bulunan DPT miktar tayini için, pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği kullanılarak  $6 \times 10^{-6}$ -  $2 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir. KDV tekniği ile tayin edilen DPT derişimi ile pik akımı arasında elde edilen doğrunun denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıdaki gibidir:

$$i_p(\mu A) = 59359,11xC - 0,1334 \quad r = 0,9987 \quad (n = 9)$$

KDV ile insan serumu ortamında çizilen kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı

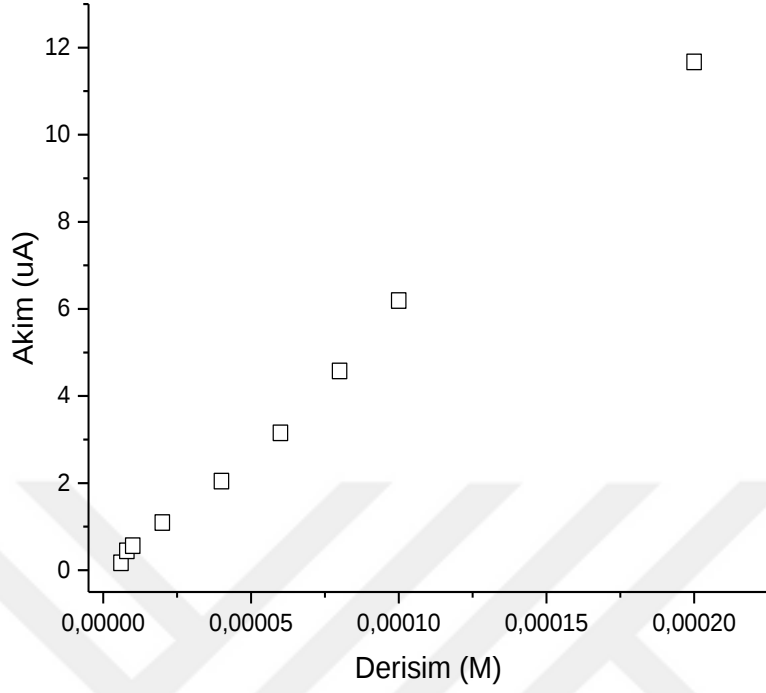
derişimlerde elde edilen voltamogramlardan bazıları Şekil 3.16’ da, kalibrasyon noktalarına ait akım değerleri Çizelge 3.17’ de, elde edilen kalibrasyonun grafiğı Şekil 3.17’ de yer almaktadır.



**Şekil 3.16.** KDV ile kalibrasyon aralığı içerisindeki farklı derişimlerde elde edilen bazı voltamogramlar, 1)  $4 \times 10^{-5}$  M; 2)  $6 \times 10^{-5}$  M; 3)  $8 \times 10^{-5}$  M; 4)  $1 \times 10^{-4}$  M; 5)  $2 \times 10^{-4}$  M. (insan serumu ortamında).

**Çizelge 3.17.** İnsan serumundaki DPT miktar tayininde KDV tekniğı ile derişimine karşı pik akımı değışimi

| Derişim, (M)          | Pik Akımı, $i_p$ ( $\mu A$ ) |
|-----------------------|------------------------------|
| $6,00 \times 10^{-6}$ | 0,168                        |
| $8,00 \times 10^{-6}$ | 0,444                        |
| $1,00 \times 10^{-5}$ | 0,562                        |
| $2,00 \times 10^{-5}$ | 1,0950                       |
| $4,00 \times 10^{-5}$ | 2,0440                       |
| $6,00 \times 10^{-5}$ | 3,1540                       |
| $8,00 \times 10^{-5}$ | 4,5760                       |
| $1,00 \times 10^{-4}$ | 6,1910                       |
| $2,00 \times 10^{-4}$ | 11,67                        |



**Şekil 3.17.** İnsan serumundan DPT miktar tayini için elde edilen kalibrasyon grafiği.

İnsan serumunda DPT miktar tayini yapılmıştır. pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde, kare dalga voltametrisi (KDV) yöntemi kullanılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizinin sonuçları Çizelge 3.18’ de özetlenmiştir. Teşhis sınırı 3 ss/m ve tayin alt sınırı 10 ss/m formülleri ile hesaplanmıştır (ICH Rehberi, 2005).

**Çizelge 3.18.** BKEE ile insan serumundaki DPT’ nin pH 8,04 fosfat tamponu ortamında oluşturulan kalibrasyon eğrisi regresyon analizi sonuçları.

|                                                             | KDV                                       |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Ölçüm potansiyeli (mV)                                      | 1450                                      |
| Doğrusal aralık (M)                                         | $6 \times 10^{-6}$ - $2 \times 10^{-4}$ M |
| Eğim ( $\mu$ A/M)                                           | 59359,1142                                |
| Eğimin Standart Hatası                                      | 1156,46                                   |
| Kesişim( $\mu$ A)                                           | -0,13335                                  |
| Kesişimin Standart Hatası                                   | 0,096                                     |
| Korelasyon katsayısı (r)                                    | 0,9987                                    |
| TS (M)                                                      | $3,9257 \times 10^{-7}$                   |
| TAS (M)                                                     | $1,3086 \times 10^{-6}$                   |
| Potansiyel için gün içindeki tekrarlanabilirlik (%BSS)      | 0,38                                      |
| Potansiyel için günler arasındaki tekrarlanabilirlik (%BSS) | 0,49                                      |

Aynı gün içindeki ve farklı günler arasındaki tekrarlanabilirliklerden elde edilen potansiyel %BSS değerleri, sırasıyla  $8 \times 10^{-6}$  M ve  $8 \times 10^{-5}$  M standart DPT çözeltileri ile 5’ er tekrarlı çalışılarak elde edilmiştir.

**Çizelge 3.19.** İnsan serumu ortamında BKEE ile DPT ölçümlerinin aynı gün içindeki ve farklı günler arasındaki tekrarlanabilirlik sonuçları

| Teorik Derişim (M) | Gün İçinde Elde Edilen Derişim (M)* |      | Günler Arasında Elde Edilen Derişim (M)** |      |
|--------------------|-------------------------------------|------|-------------------------------------------|------|
|                    | Xort                                | %BSS | Xort                                      | %BSS |
| $8 \times 10^{-6}$ | $8,00 \times 10^{-6}$               | 0,90 | $7,91 \times 10^{-6}$                     | 1,83 |
| $8 \times 10^{-5}$ | $8,12 \times 10^{-5}$               | 0,82 | $8,11 \times 10^{-5}$                     | 1,31 |

(\*) Aynı günlerde hazırlanmış olan 5 farklı çözelti ölçümünün ortalama değeri

(\*\*) Farklı günlerde hazırlanmış olan 5 farklı çözelti ölçümünün ortalama değeri

Validasyon çalışmalarından yola çıkılarak bu tekniğin; insan serumunda DPT’ nin miktar tayini için doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu

sonucuna varılmıştır.

#### 3.4.1. DPT' nin İnsan Serumundan Geri Kazanımı

DPT' nin insan serumunda pH 8,04 fosfat tamponu ortamında BKE elektrot ile KDV tekniğiyle geliştirilen yöntem ile dihidroksipropilteofilin' in insan serumundan geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, 2.3.6 bölümünde anlatıldığı şekilde hazırlanan geri kazanım çözeltileri kullanılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 20' de verilmiştir.

**Çizelge 3.20.** İnsan serumundaki  $8,0 \times 10^{-5}$  M DPT' nin BKEE kullanılarak KDV tekniğiyle elde edilen geri kazanım sonuçları

| Çalışma No | Seruma Eklenen Analit Miktarı (M) | Elde Edilen Analit Miktarı (M) | %GK    |
|------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------|
| 1          | $8 \times 10^{-5}$                | $7,95 \times 10^{-5}$          | 99,34  |
| 2          | $8 \times 10^{-5}$                | $7,99 \times 10^{-5}$          | 99,93  |
| 3          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,15 \times 10^{-5}$          | 101,82 |
| 4          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,18 \times 10^{-5}$          | 102,20 |
| 5          | $8 \times 10^{-5}$                | $8,03 \times 10^{-5}$          | 100,35 |
| $X_{ort}$  |                                   |                                | 100,73 |
| SS         |                                   |                                | 1,23   |
| % BSS      |                                   |                                | 1,22   |
| % Bias     |                                   |                                | -0,73  |

#### 3.5. DPT' nin Camsı Karbon Elektrot (CKE) İle Voltametrik İncelenmesi

DPT etken maddesinin voltametrik davranışı ayrıca camsı karbon elektrot ile incelenmiştir.

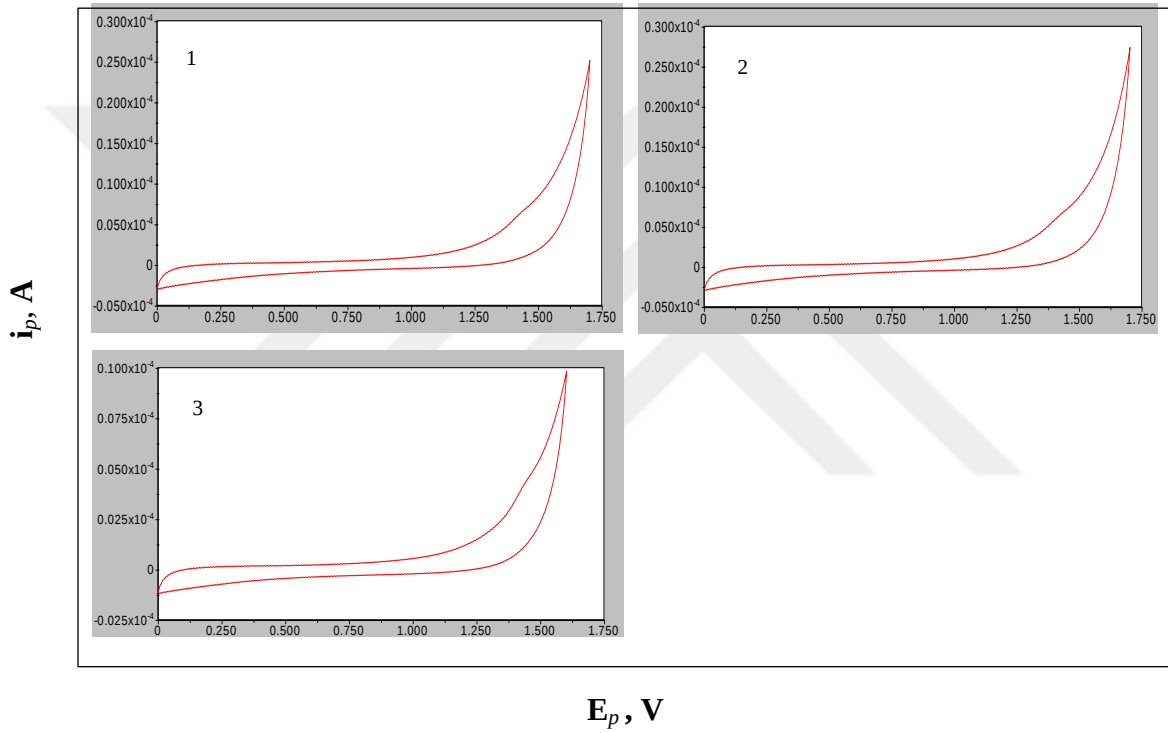
##### 3.5.1. DPT' nin CKE ile Farklı pH' lardaki Voltametrik İncelenmesi

$1 \times 10^{-3}$  M' lık stok DPT çözeltisinden hazırlanan  $5 \times 10^{-5}$  M' lık ölçüm çözeltileri ve pH değerleri 1,80; 2,19; 3,09; 5,85; 6,99; 8,04; 11,24; 12,28 olan fosfat tampon çözeltileri, 3,56; 4,56; 5,58 olan asetat tampon çözeltileri ve 8,80; 9,81 olan borat tampon çözeltilerinde, camsı karbon elektrot kullanılarak DV, DPV ve KDV yöntemleri uygulanmıştır.

### 3.5.1.1. DPT' nin CKE Kullanılarak Dönüştümlü Voltametri (DV) ile

#### İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,09; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80; 9,81 olan tampon çözeltileri ile, camı karbon elektrot kullanılarak,  $100 \text{ mV s}^{-1}$  hız ile taranarak incelenmiştir. Oluşan voltamogramlar Şekil 3.18' de, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.21' de yer almaktadır.



**Şekil 3.18.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar. 1) pH 1,80; 2) pH 2,19; 3) pH 3,09.

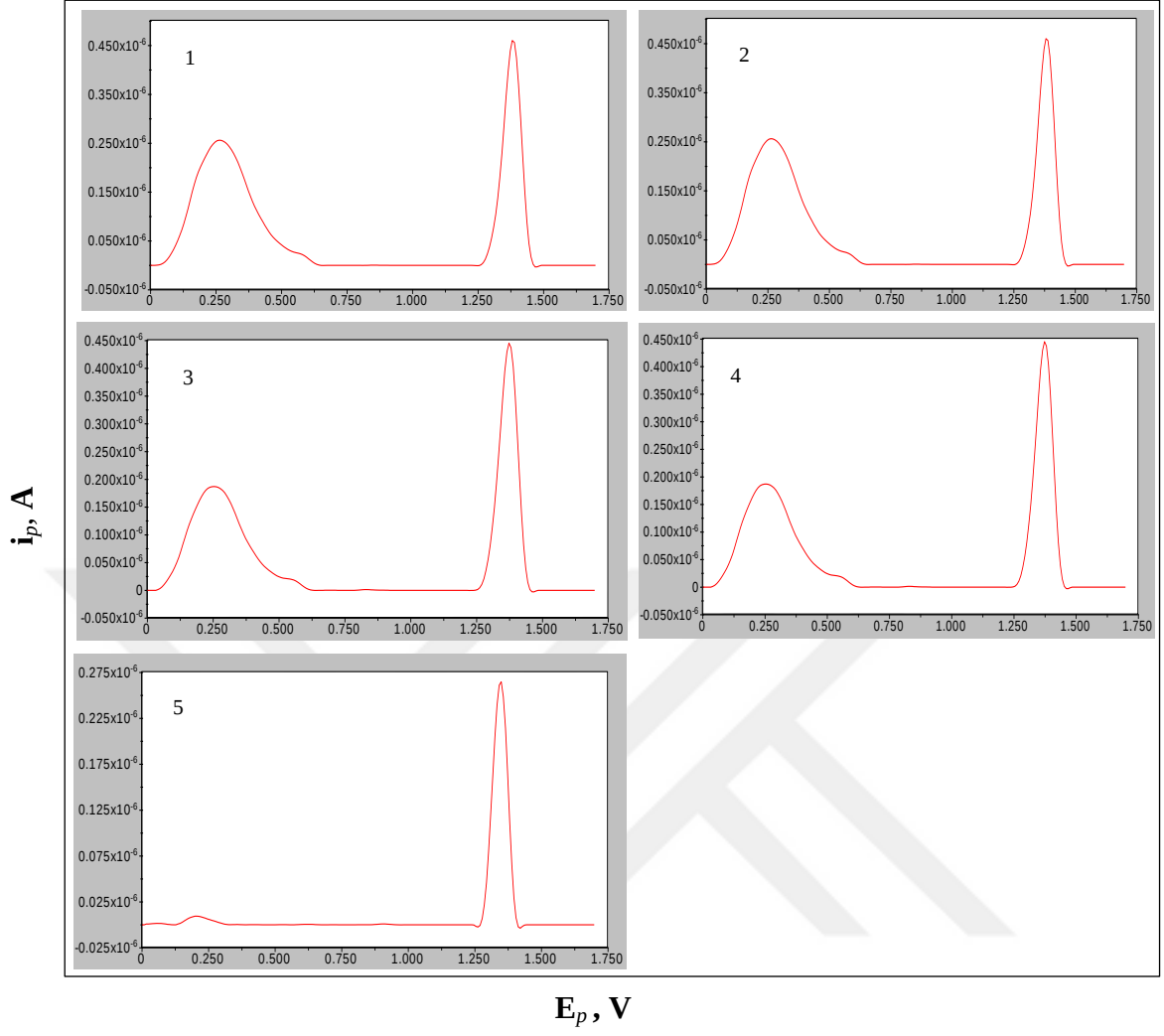
**Çizelge 3.21.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu$ A) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 0,138                | 1,438          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 0,167                | 1,438          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 0,103                | 1,438          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 0,043                | 1,431          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 0,045                | 1,379          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 0,346                | 1,367          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 0,152                | 1,328          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 0,312                | 1,319          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 0,324                | 1,316          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 0,409                | 1,302          |
| 9,81 (borat tamponu)  | 0,25                 | 1,301          |

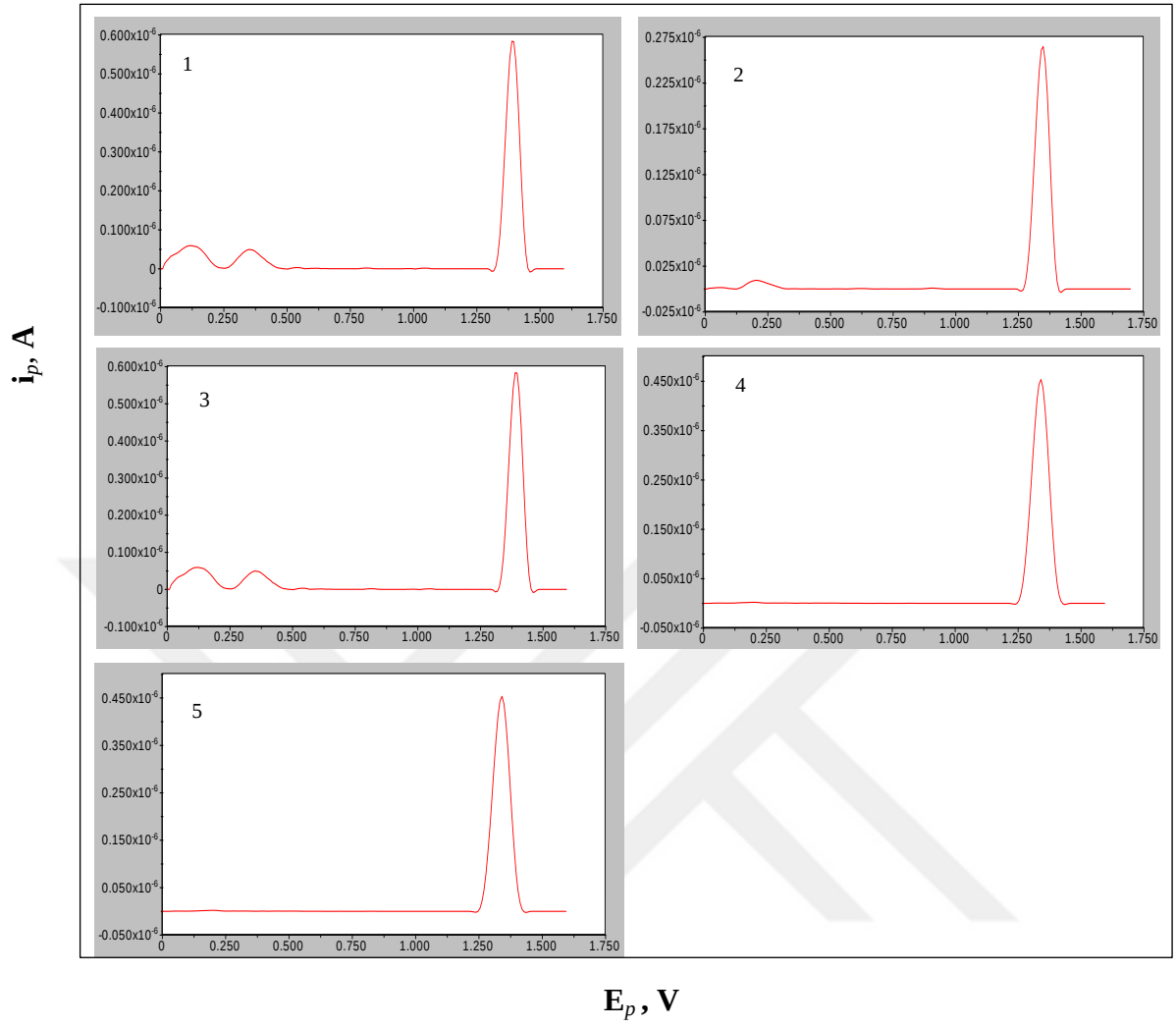
#### 3.5.1.2. DPT' nin CKE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

##### ile İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,02; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04; 8,80 olan tampon çözeltiler ile, camı karbon elektrot kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.19.a ve Şekil 3.19.b' da, pik akımı, potansiyel değerleri ise Çizelge 3.22' de yer almaktadır.



**Şekil 3.19.a.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH: 1,80; 2) pH: 2,19; 3) pH: 3,09; 4) pH: 3,56; 5) pH: 4,56.

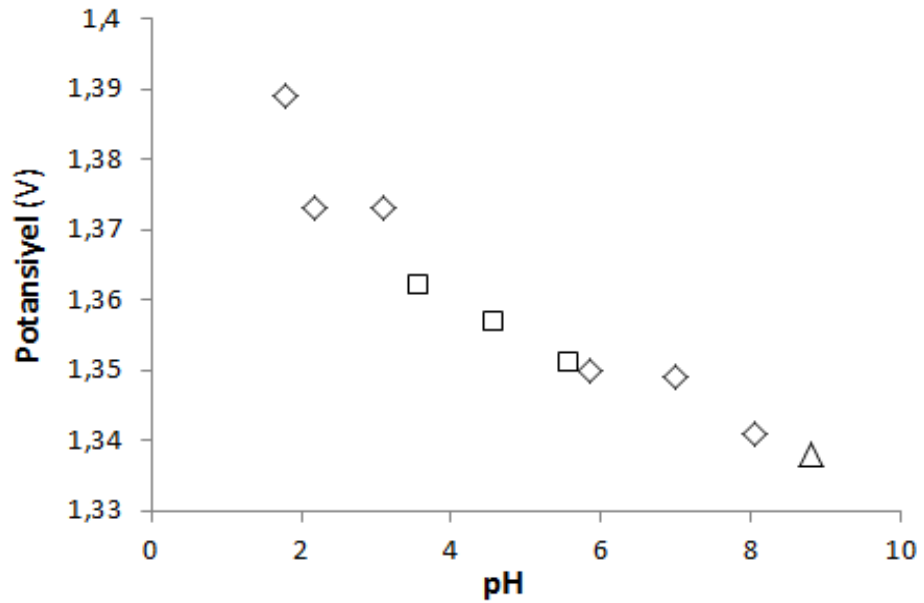


**Şekil 3.19.b.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH 5,58; 2) pH 5,85; 3) pH 6,99; 4) pH 8,04; 5) pH 8,80

**Çizelge 3.22.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu$ A) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 0,462                | 1,389          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 0,457                | 1,373          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 0,359                | 1,373          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 0,232                | 1,362          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 0,114                | 1,357          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 0,071                | 1,351          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 0,590                | 1,350          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 0,268                | 1,349          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 0,390                | 1,341          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 0,883                | 1,338          |

Camsı karbon elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin DPV voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler aşağıda gösterilmektedir.



**Şekil 3.20.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu, (Δ): Borat Tamponu).

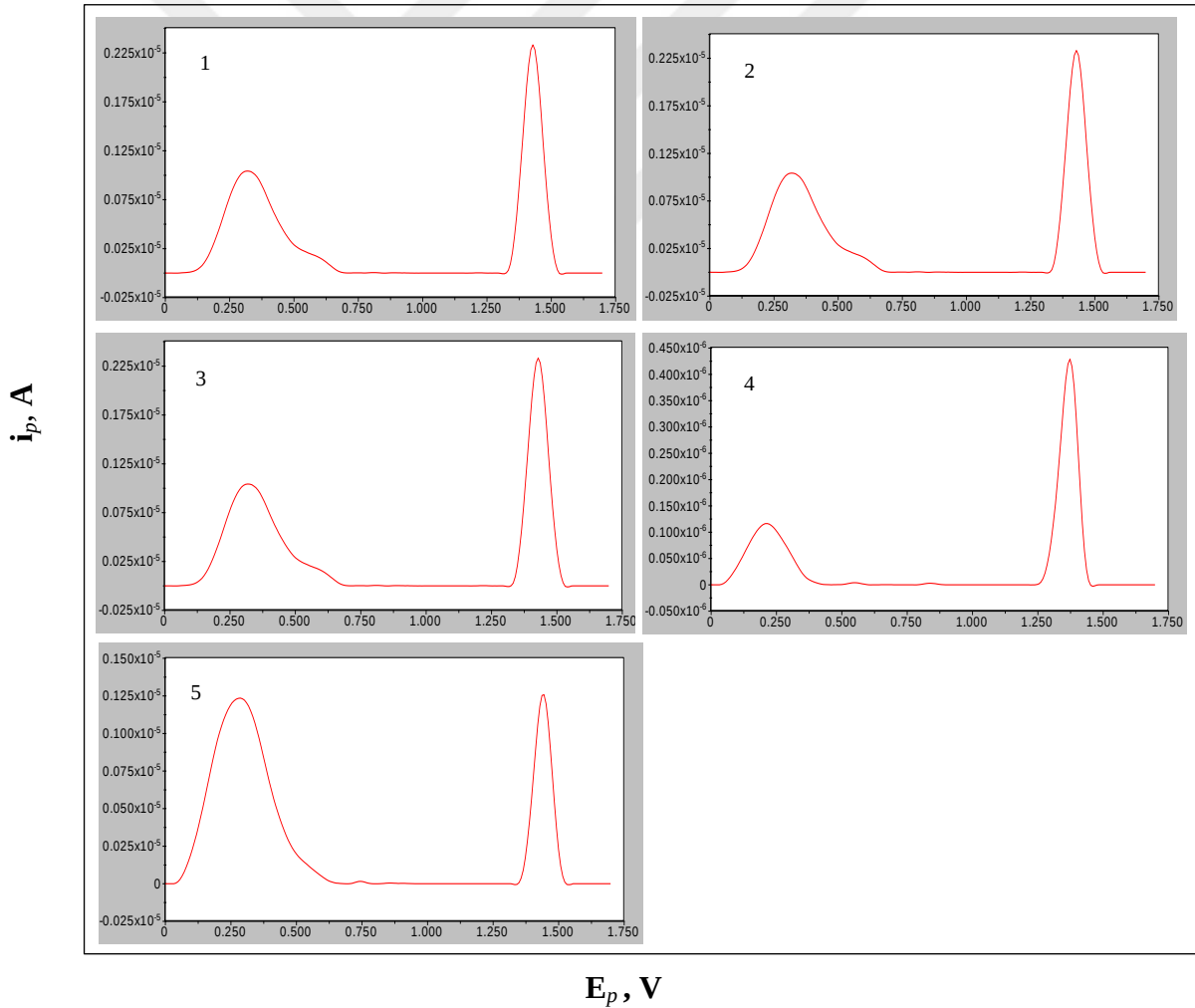
DPV yöntemi ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça DPT pikinin görüldüğü potansiyelin sola doğru kaydığı (azaldığı) görülmüştür.  $E_p - pH$

doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

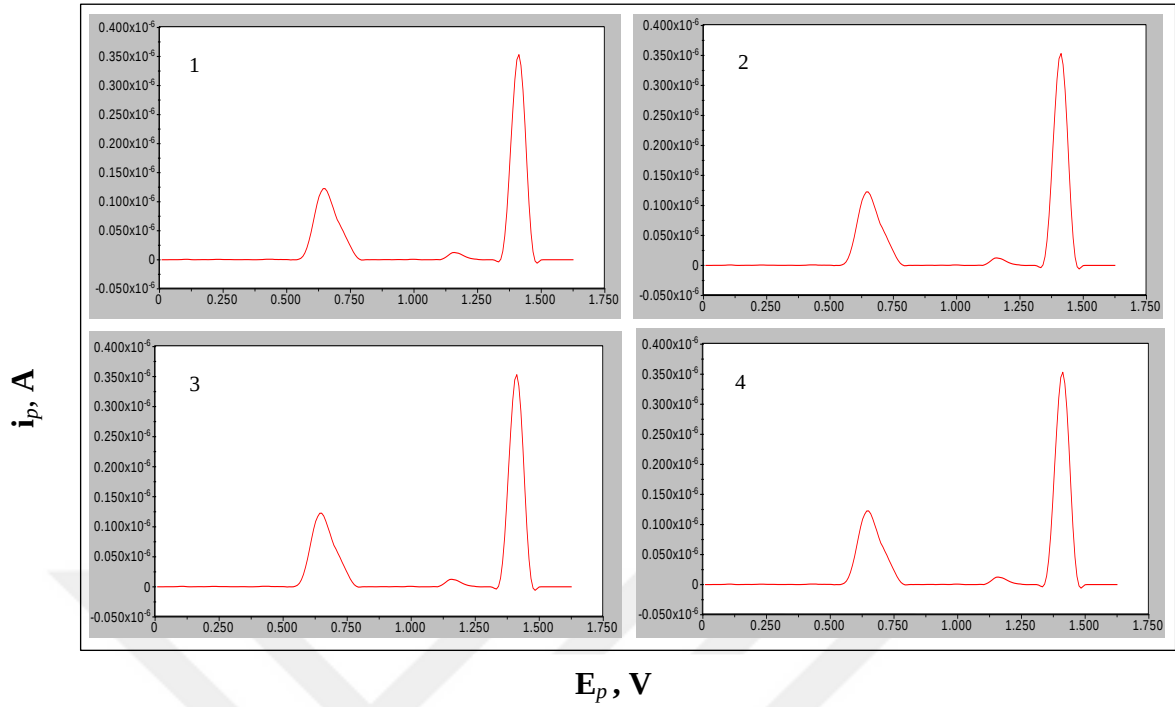
$$E_p (V) = -0,005pH + 1,381 \quad r : -0,9838 \quad (pH 2,19- 8,8)$$

### 3.5.1.3. DPT' nin CKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart DPT çözeltisi, pH değerleri 1,80; 2,19; 3,02; 3,56; 4,56; 5,58; 5,85; 6,99; 8,04 olan çeşitli tampon çözeltiler ile, camı karbon elektrot kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.21.a ve Şekil 3.21.b' de, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.23' te yer almaktadır.



**Şekil 3.21.a.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH: 1,80; 2) pH: 2,19; 3) pH: 3,09; 4) pH: 3,56; 5) pH: 4,56.

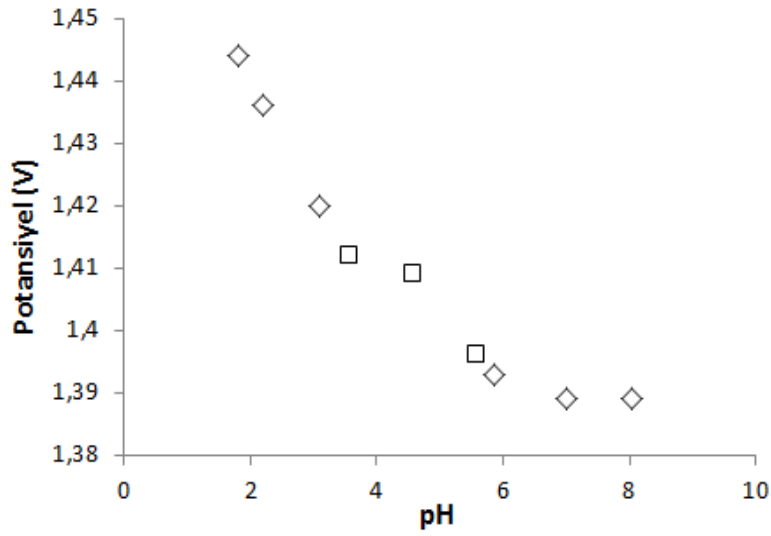


**Şekil 3.21.b.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramları 1) pH 5,58; 2) pH 5,85; 3) pH 6,99; 4) pH 8,04.

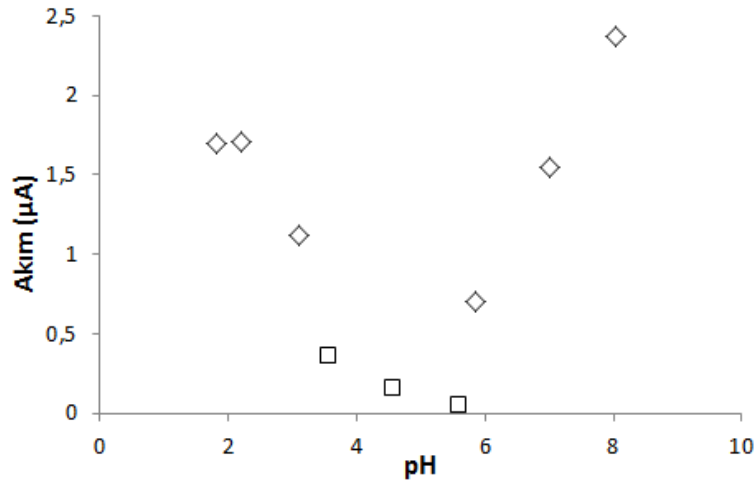
**Çizelge 3.23.**  $5 \times 10^{-5}$  DPT' nin CKE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlara ait pik akımları ve potansiyel değerleri.

| pH                    | Pik Akımı ( $\mu A$ ) | Potansiyel (V) |
|-----------------------|-----------------------|----------------|
| 1,80 (fosfat tamponu) | 1,694                 | 1,444          |
| 2,19 (fosfat tamponu) | 1,708                 | 1,436          |
| 3,09 (fosfat tamponu) | 1,125                 | 1,420          |
| 3,56 (asetat tamponu) | 0,358                 | 1,412          |
| 4,56 (asetat tamponu) | 0,158                 | 1,409          |
| 5,58 (asetat tamponu) | 0,052                 | 1,396          |
| 5,85 (fosfat tamponu) | 0,706                 | 1,393          |
| 6,99 (fosfat tamponu) | 1,549                 | 1,389          |
| 8,04 (fosfat tamponu) | 2,373                 | 1,389          |
| 8,80 (borat tamponu)  | 2,700                 | 1,385          |
| 9,81 (borat tamponu)  | 3,500                 | 1,377          |

Camsı karbon elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin kare dalga voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeline ve akımına etkisini gösteren eğriler Şekil 3.22' de gösterilmektedir.



(A)



(B)

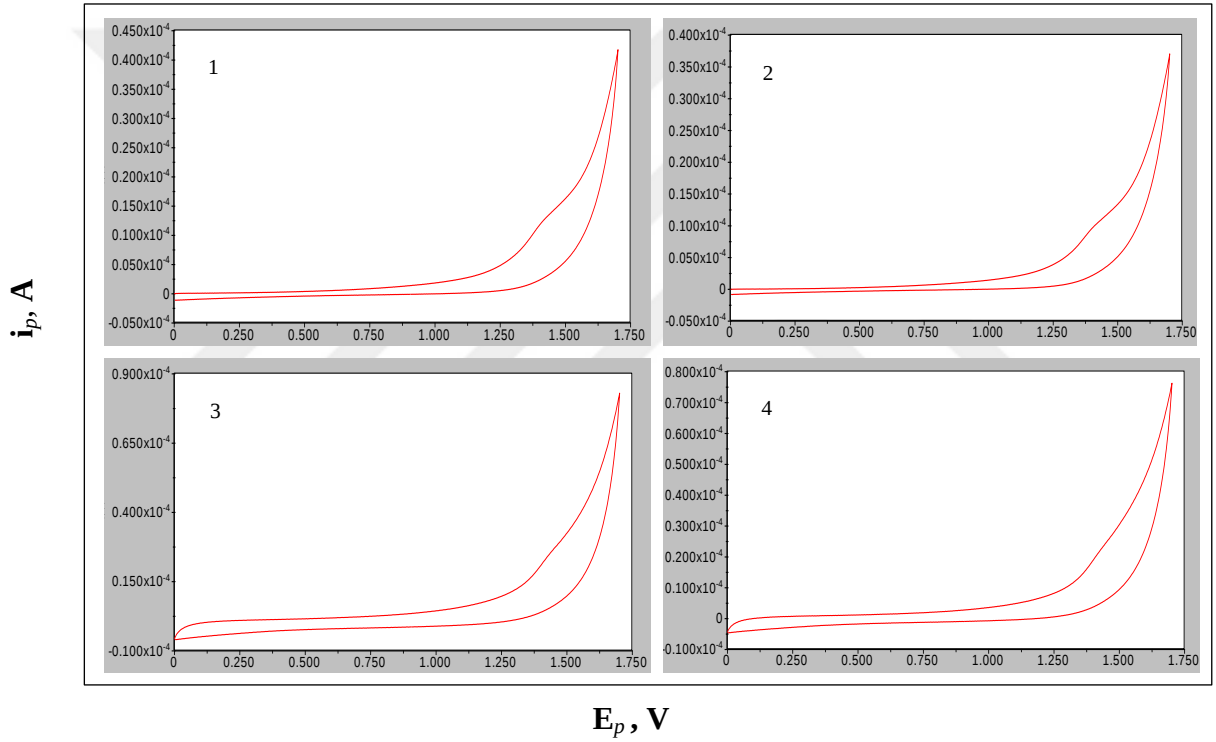
**Şekil 3.22.**  $5 \times 10^{-5}$  M DPT' nin CKE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeline (A), akımına (B) etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu).

KDV yöntemi ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça DPT pikinin görüldüğü potansiyelin sola doğru kaydığı (azaldığı) görülmüştür.  $E_p$  – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

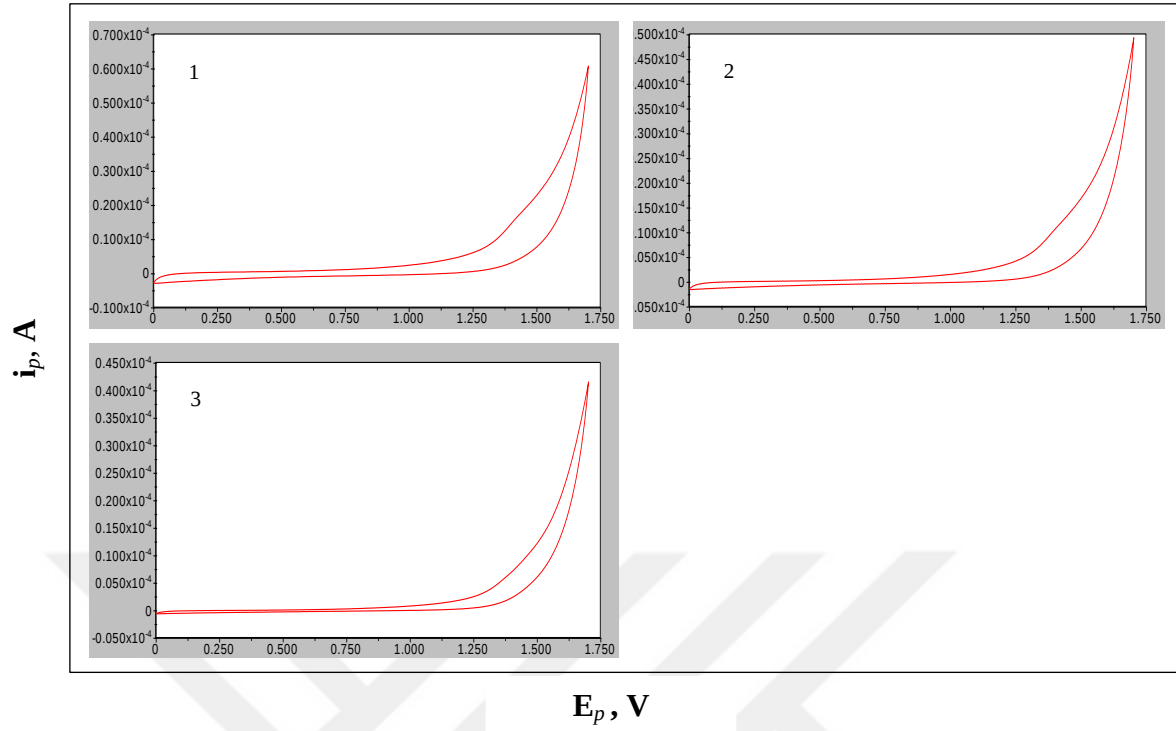
$$E_p \text{ (V)} = -0,009\text{pH} + 1,4513, \quad r: -0,9497 \quad (\text{pH } 1,8- 8,04)$$

### 3.5.2. DPT' nin Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması

Yapılan çalışmaların sonucunda en uygun pH noktasının, fosfat tamponuyla elde edilen 8,04 olduğu tespit edilmiştir. Madde taşınmasının difüzyon veya adsorbsiyon olaylarından hangisiyle gerçekleştiğini belirlemek üzere, pH 8,04 noktasında,  $1 \times 10^{-4}$  M DPT standart çözelti derişiminde, tarama hızı  $5-750 \text{ mV s}^{-1}$  aralığında olacak şekilde, dönüşümlü voltametri (DV) tekniği ile, camsı karbon elektot kullanılarak hız taramaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalardan elde edilen bazı voltamogramlar ve akım/potansiyel değerleri sırasıyla Şekil 3.23.a, Şekil 3.23.b, Çizelge 3.24' te verilmiştir.



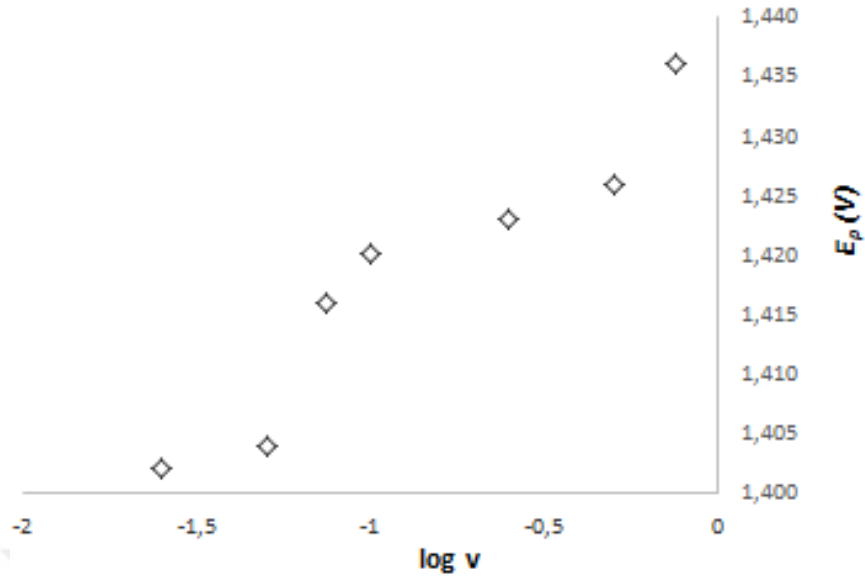
**Şekil 3.23.a.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 750; 2) 500; 3) 250; 4) 100.



**Şekil 3.23.b.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 75; 2) 50; 3) 25.

**Çizelge 3.24.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen veriler

| $v$ ( $\text{Vs}^{-1}$ ) | $v^{1/2}$ | $\log v$ | $i_p$ ( $\mu\text{A}$ ) | $\log i_p$ | $E_p$ (V) |
|--------------------------|-----------|----------|-------------------------|------------|-----------|
| 0,750                    | 0,866     | -0,125   | 0,539                   | -0,268     | 1,436     |
| 0,500                    | 0,707     | -0,301   | 0,232                   | -0,635     | 1,426     |
| 0,250                    | 0,500     | -0,602   | 0,219                   | -0,660     | 1,423     |
| 0,100                    | 0,316     | -1,000   | 0,210                   | -0,678     | 1,420     |
| 0,075                    | 0,274     | -1,125   | 0,203                   | -0,206     | 1,416     |
| 0,050                    | 0,224     | -1,301   | 0,172                   | -0,326     | 1,404     |
| 0,025                    | 0,158     | -1,602   | 0,155                   | -1,260     | 1,402     |



**Şekil 3.24.**  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponunda CKE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen  $E_p$ - log  $v$  grafiği.

$1 \times 10^{-4}$  M DPT standart çözeltisi ile 5-1000  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında CK elektrot ile  $E_p$ - log  $v$  grafiğinden elde edilen eğim değeri 0,0213 olarak bulunmuştur. Buradan elde edilen doğru denklemi aşağıda verilmiştir;

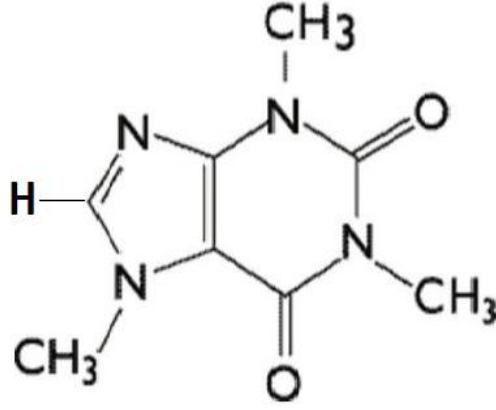
$$E_p (\text{V}) = 0,0213 \log v (\text{V s}^{-1}) + 1.4365 \quad r: 0,953 \quad (n: 7)$$

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

DPT' nin CKE yüzeyine taşınması olayı ise difüzyon kontrollü olarak gerçekleşmektedir.

### 3.6. Model İlaç İncelemeleri

Model ilaç kullanımının amacı, çalışılan maddeye ait mekanizma aydınlatırken, kendisine benzer referans bir maddenin ışığında değerlendirmeler yapabilmektir. Dihidroksipropilteofilin yükseltgenme mekanizması incelenirken, model ilaç olarak kafein kullanılmıştır.



Şekil 3.25. Kafein' in açık formülü.

**Molekül Kütlesi:** 194,19 g/mol' dür.

**Kapalı Formül:**  $C_8H_{10}N_4O_2$

**Erime Noktası:** 235 °C

**Kaynama Noktası:** 178 °C (süblimleşir.)

Kafein beyaz renkte, yoğun acı tada sahip bir maddedir.

Kafein'in voltametrik davranışı ile DPT' nin voltametrik davranışı karşılaştırılarak, DPT mekanizması hakkında bilimsel ip uçları elde edilmiştir.

$5 \times 10^{-5}$  M kafein çözeltisi kullanılarak pH taraması ve  $1 \times 10^{-4}$  M kafein çözeltisi kullanarak tarama hızı  $5-750 \text{ mV s}^{-1}$  aralığında olacak şekilde hız taraması yapılmıştır. Elde edilen voltamogramlar, DPT ile yapılan çalışmaların voltamogramları ile kıyaslanmıştır.

### 3.6.1. Kafein' in Farklı pH' lardaki Voltametrik İncelenmesi

$1 \times 10^{-3}$  M' lık standart stok çözeltisinden hazırlanan  $5 \times 10^{-5}$  M kafein çözeltisinin, pH değerleri 2,19; 5,85; 8,04 olan fosfat tampon çözeltileri ve 3,56 olan asetat tampon çözeltilerinde bor katkılı elmas elektrot ile DV, DPV ve KDV yöntemleri ile voltametrik davranışı incelenmiştir. Camsı karbon elektrodu kullanarak yalnızca pH 8,04 fosfat tampon çözeltisinde inceleme yapılmıştır.

### **3.6.1.1. Kafein' in Camsı Karbon Elektrot (CKE) ile İncelenmesi**

#### **3.6.1.1.1. Kafein' in CKE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi**

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değeri 8,04 olan fosfat tampon çözeltileri ile, CKE kullanılarak incelenmiştir.

$5 \times 10^{-5}$  M Kafein' in CKE kullanılarak DV yöntemi ile pH 8,04 fosfat tamponlarında elde edilen voltamogramına ait pik akımı  $0,155 \mu\text{A}$ ; pik potansiyeli ise 1,440 V olarak elde edilmiştir.

#### **3.6.1.1.2. Kafein' in CKE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) ile İncelenmesi**

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değeri 8,04 olan fosfat tampon çözeltileri ile, CKE kullanılarak incelenmiştir.

$5 \times 10^{-5}$  M Kafein' in CKE kullanılarak DPV yöntemi ile pH 8,04 fosfat tamponlarında elde edilen voltamogramına ait pik akımı  $0,652 \mu\text{A}$ ; pik potansiyeli ise 1,333 V olarak elde edilmiştir.

#### **3.6.1.1.3. Kafein' in CKE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi**

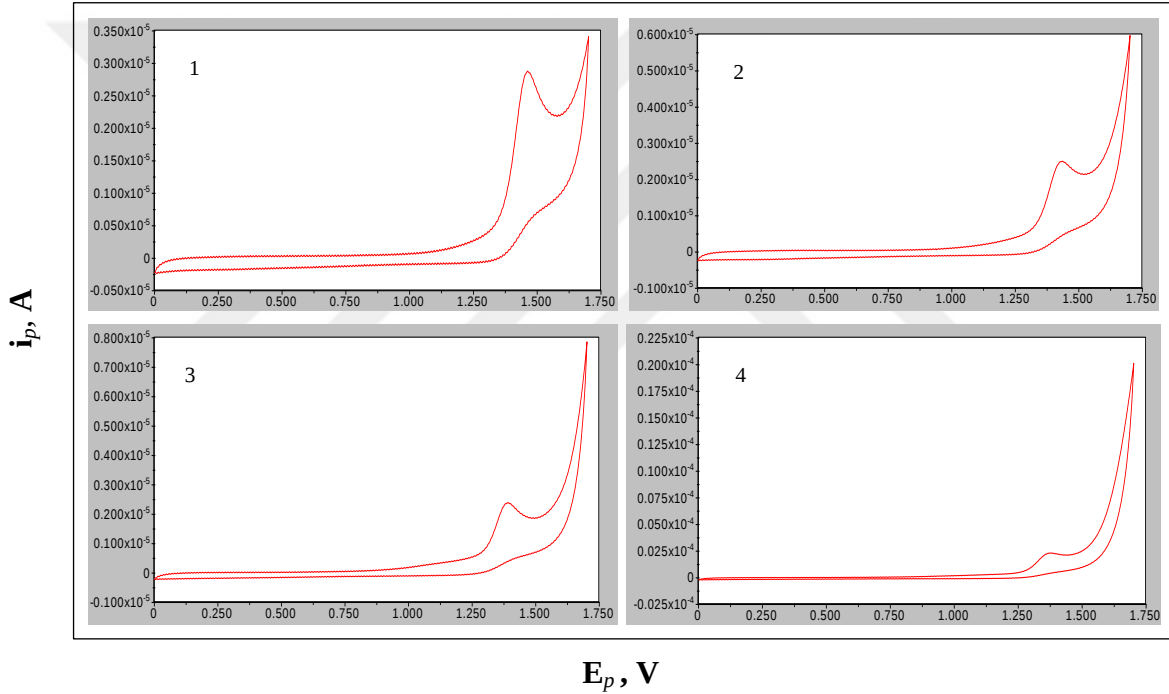
$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değeri 8,04 olan fosfat tampon çözeltileri ile, CKE kullanılarak incelenmiştir.

$5 \times 10^{-5}$  M Kafein' in CKE kullanılarak KDV yöntemi ile pH 8,04 fosfat tamponlarında elde edilen voltamogramına ait pik akımı  $2,622 \mu\text{A}$ ; pik potansiyeli ise 1,362 V olarak elde edilmiştir.

### 3.6.1.2. Kafein' in Bor Katkılı Elmas Elektrot (BKEE) ile İncelenmesi

#### 3.6.1.2.1. Kafein' in BKEE Kullanılarak Dönüşümlü Voltametri (DV) ile İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değerleri 2,19; 3,56; 5,85; 8,04 olan çeşitli tampon çözeltileri ile, camı karbon elektrot kullanılarak, tarama hızı  $100 \text{ mV s}^{-1}$  olacak şekilde incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.26, pik akımı ile potansiyel verileri ise Çizelge 3.25' te yer almaktadır.

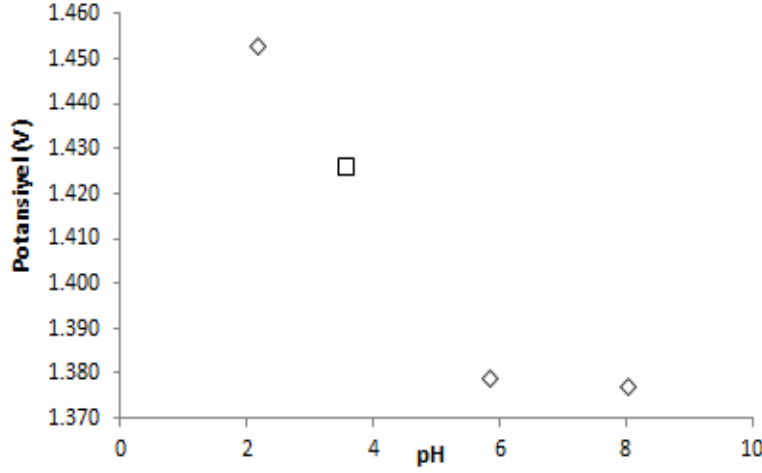


**Şekil 3.26.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04.

**Çizelge 3.25.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile ve DV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH   | Pik Akımı ( $\mu\text{A}$ ) | Potansiyel (V) |
|------|-----------------------------|----------------|
| 2,19 | 1,555                       | 1,453          |
| 3,56 | 1,118                       | 1,426          |
| 5,85 | 1,166                       | 1,379          |
| 8,04 | 0,140                       | 1,377          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin dönüşümlü voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler aşağıda gösterilmektedir.



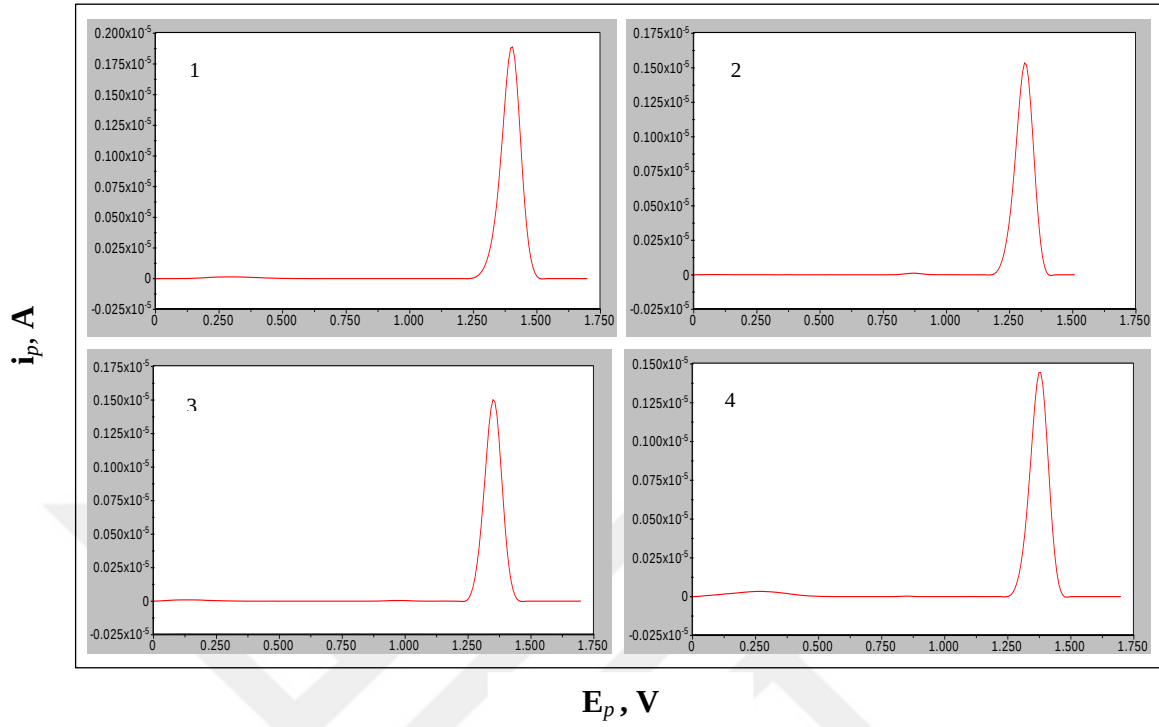
**Şekil 3.27.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu).

DV yöntemi ile yapılan pH taraması sonucunda pH değeri arttıkça kafein pikinin görüldüğü potansiyelin sola doğru kaydığı (azaldığı) görülmüştür.

#### 3.6.1.2.2. Kafein' in BKEE Kullanılarak Diferansiyel Puls Voltametrisi

##### (DPV) ile İncelenmesi

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değerleri 2,19; 3,56; 5,85; 8,04 olan çeşitli tampon çözelti ile, BKEE kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.28' de, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.26' da yer almaktadır.

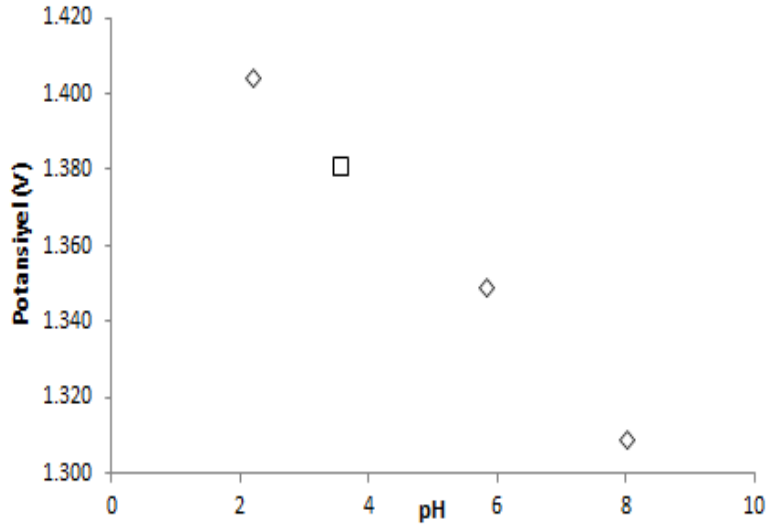


**Şekil 3.28.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04.

**Çizelge 3.16.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile ve DPV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH   | Pik Akımı ( $\mu A$ ) | Potansiyel (V) |
|------|-----------------------|----------------|
| 2,19 | 1,890                 | 1,404          |
| 3,56 | 1,418                 | 1,381          |
| 5,85 | 1,506                 | 1,349          |
| 8,04 | 1,532                 | 1,309          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda,  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin diferansiyel puls voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler aşağıda gösterilmektedir.

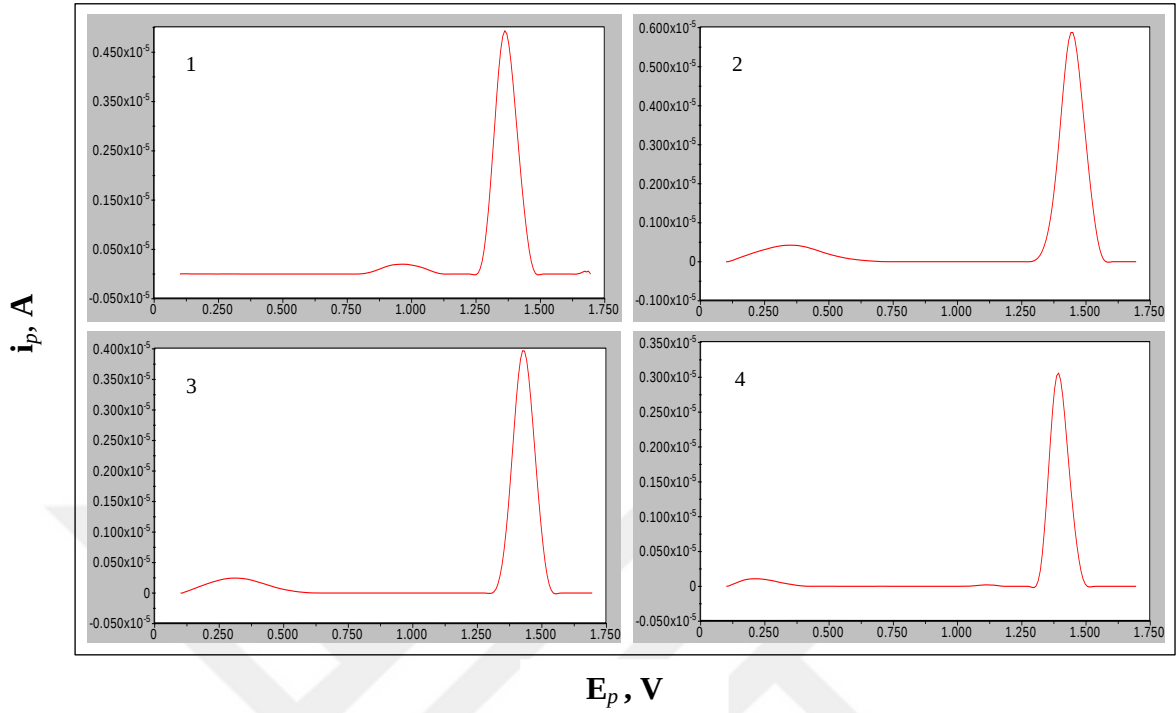


**Şekil 3.29.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, DPV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeli üzerine etkisini gösteren eğriler ( $\diamond$ ): Fosfat Tamponu, ( $\square$ ): Asetat Tamponu).

DPV yöntemi ile yapılan pH taraması yapılmıştır. Sonuç olarak pH değeri artarken kafein pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı (azaldığı) tespit edilmiştir.

#### **3.6.1.2.3. Kafein' in BKEE Kullanılarak Kare Dalga Voltametrisi (KDV) ile İncelenmesi**

$5 \times 10^{-5}$  M' lık standart kafein çözeltisi, pH değerleri 2,19; 3,56; 5,85; 8,04 olan çeşitli tampon çözeltileri ile, camı karbon elektrot kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.30' da, pik akımı ve potansiyel değerleri ise Çizelge 3.27' de yer almaktadır.

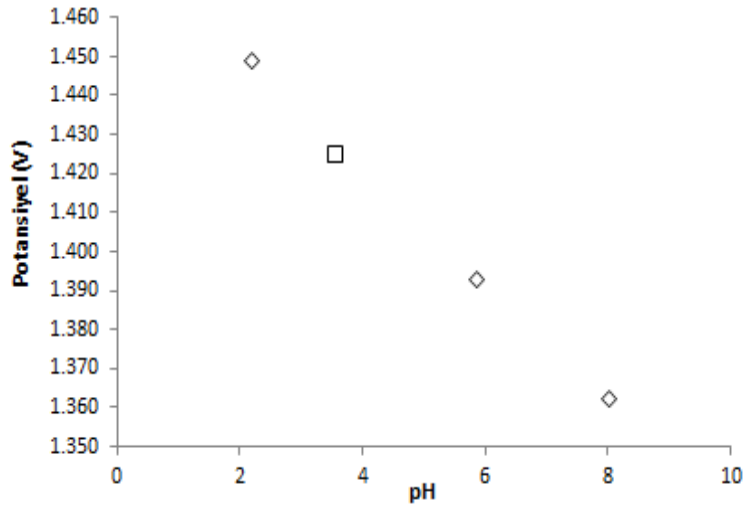


**Şekil 3.30.** 5x10<sup>-5</sup> M kafeinin BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamogramlar 1) pH 2,19; 2) pH 3,56; 3) pH 5,85; 4) pH 8,04.

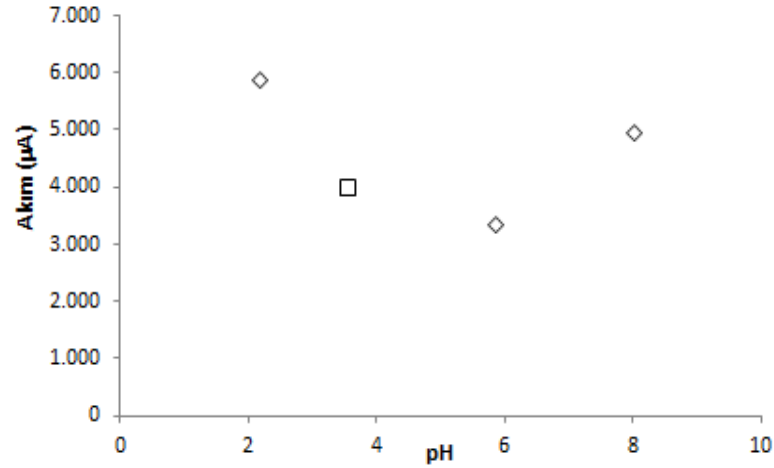
**Çizelge 3.27.** 5x10<sup>-5</sup> M Kafein' in BKEE ile ve KDV ile çeşitli tampon çözeltilerden elde edilen voltamograma ait pik akımları ve potansiyel değerleri

| pH   | Pik Akımı (µA) | Potansiyel (V) |
|------|----------------|----------------|
| 2,19 | 5,884          | 1,449          |
| 3,56 | 3,978          | 1,425          |
| 5,85 | 3,335          | 1,393          |
| 8,04 | 4,951          | 1,362          |

Bor katkılı elmas elektrot ile yapılan çalışmalarda, 5x10<sup>-5</sup> M kafeinin kare dalga voltamogramlarına göre, farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin pik potansiyeline ve akımına üzerine etkisini gösteren eğriler aşağıda gösterilmektedir.



(A)



(B)

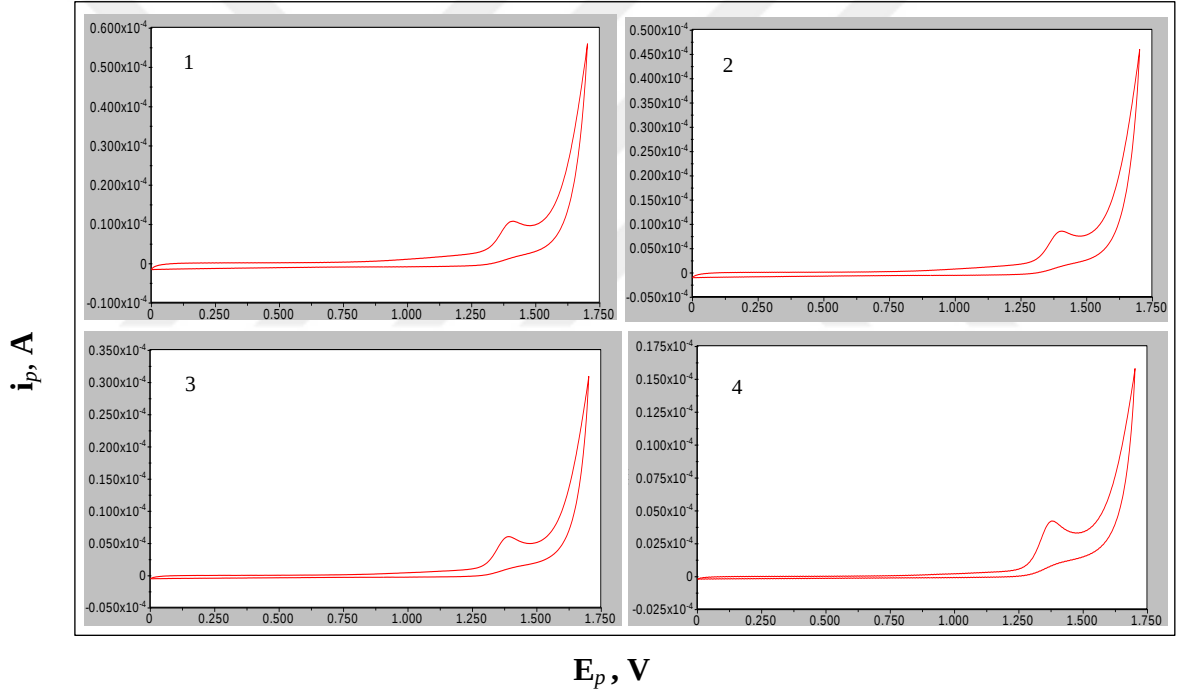
**Şekil 3.31.**  $5 \times 10^{-5}$  M kafeinin BKEE ile yapılan çalışmalarda, KDV ile farklı tampon çözeltilerdeki pH değerlerinin (A) pik potansiyeli üzerine, (B) pik akımı üzerine etkisini gösteren eğriler (◇): Fosfat Tamponu, (□): Asetat Tamponu).

KDV yöntemi ile yapılan pH taraması yapılmıştır. Sonuç olarak pH değeri artarken kafein pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı (azaldığı) tespit edilmiştir.

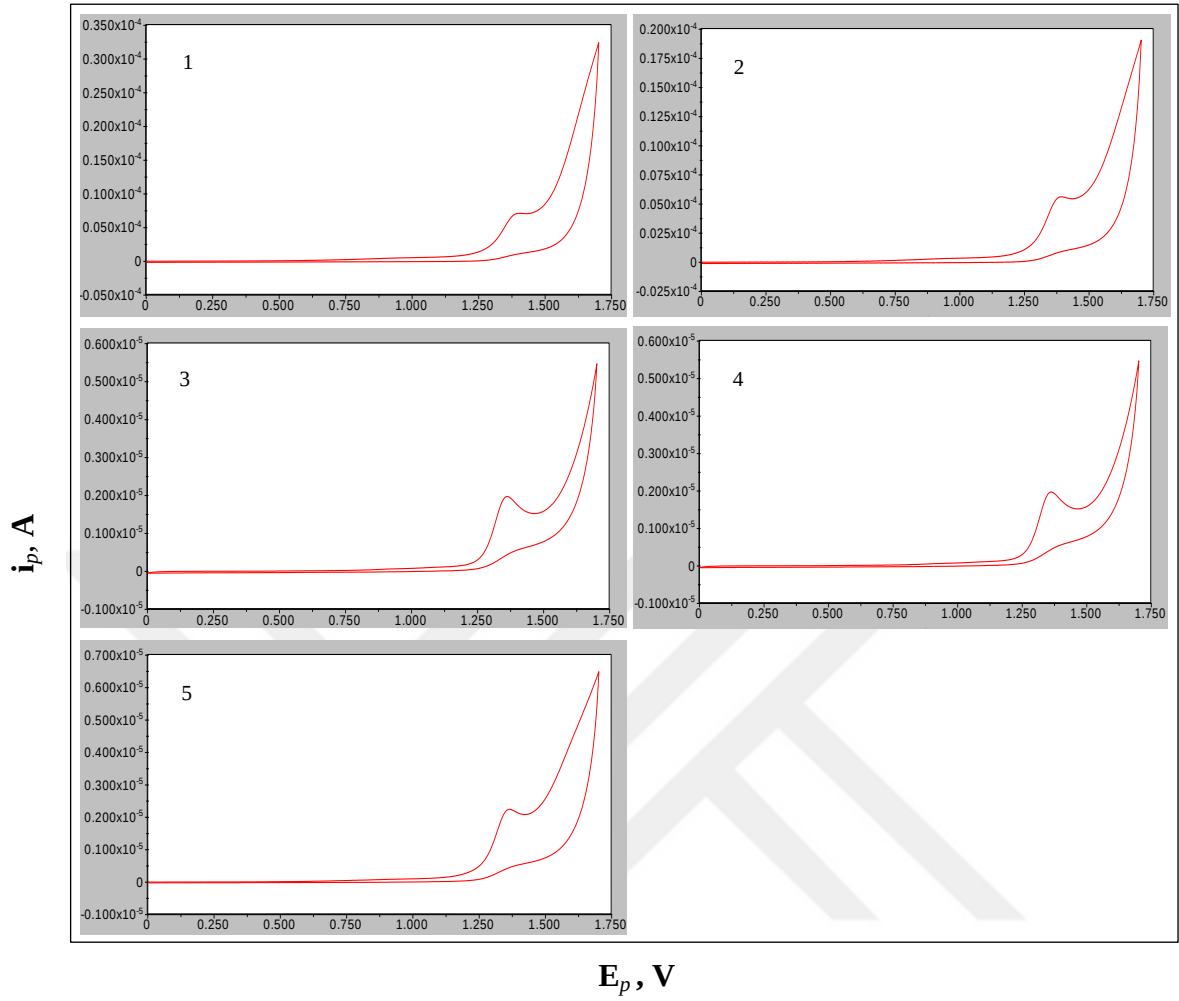
$$E_p(V) = 1479,6 - 14,75pH \quad r = 0.996 \quad (pH:2,19 - 8,02) \quad n:4$$

### 3.6.2. Kafein' in BKEE ve Dönüşümlü Voltametri (DV) Tekniği ile Hız Taraması

pH 8,04 noktasında,  $1 \times 10^{-4}$  M kafein standart çözelti konsantrasyonda, tarama hızı  $5-750 \text{ mV s}^{-1}$  aralığında olacak şekilde, DV tekniği ile, BKEE kullanılarak hız taramaları yapılmıştır. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.32a ve Şekil 3.32b' de, akım potansiyel değerleri Çizelge 3.28' de,  $v$ -  $i_p$ ;  $v^{1/2}$ -  $i_p$ ;  $\log v$ - $\log i_p$ ;  $E_p$ -  $\log i_p$  grafikleri ise sırasıyla Şekil 3.33, Şekil 3.34, Şekil 3.35 ve Şekil 3.36' da verilmiştir. Kafein için çizilen  $\log v$ -  $\log i_p$  grafiğinin eğiminin 0,5'e yakınlığı ( $m$ : 0.3841), kafeindeki madde taşınmasının difüzyon kaynaklı olduğu gerçeğini doğrulamıştır.



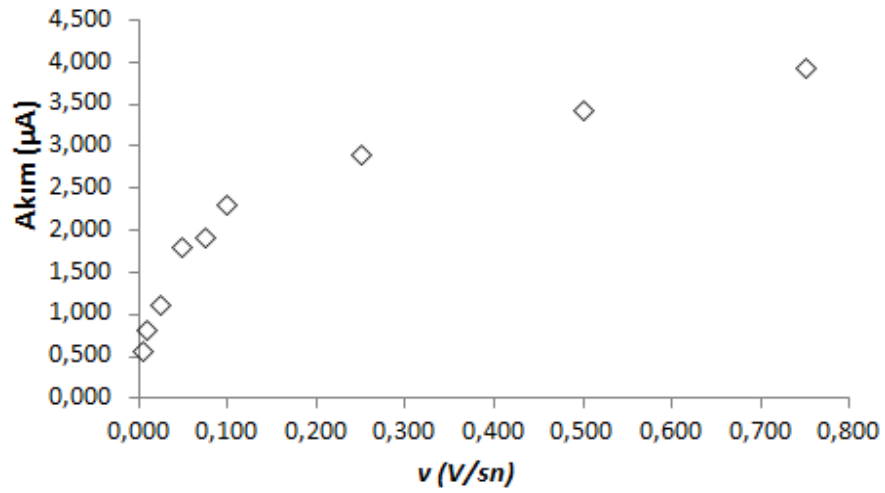
**Şekil 3.32.a.**  $1 \times 10^{-4}$  M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 750; 2) 500; 3) 250; 4) 100.



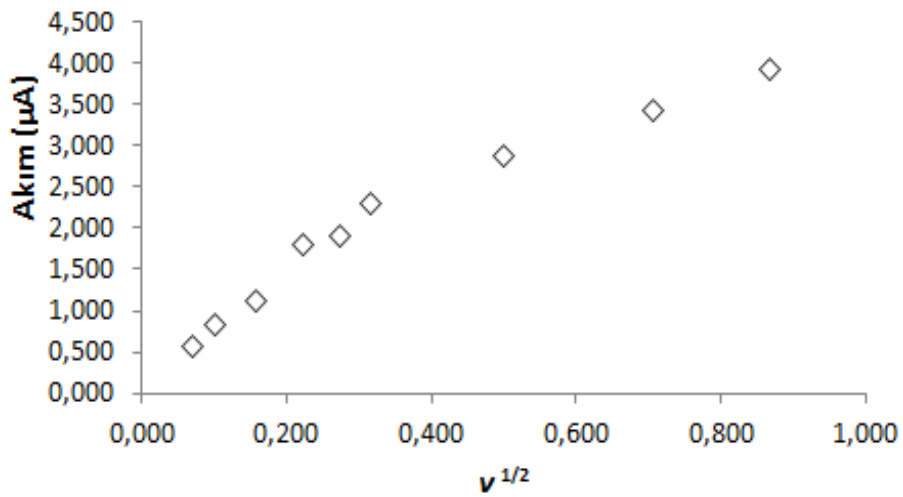
**Şekil 3.32.b.**  $1 \times 10^{-4}$  M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Voltamogramlar. Tarama hızı  $v$  ( $\text{mVs}^{-1}$ ) 1) 75; 2) 50; 3) 25; 4) 10; 5) 5.

**Çizelge 3.28.**  $1 \times 10^{-4}$  M Kafein' in pH 8,04 Fosfat Tamponunda BKEE ve DV Tekniği ile Hız Taramasından Elde Edilen Veriler

| $v$ ( $\text{Vs}^{-1}$ ) | $v^{1/2}$ | $\log v$ | $i_p$ ( $\mu\text{A}$ ) | $\log i_p$ | $E_p$ (V) |
|--------------------------|-----------|----------|-------------------------|------------|-----------|
| 0,750                    | 0,866     | -0,125   | 3,919                   | 0,593      | 1,399     |
| 0,500                    | 0,707     | -0,301   | 3,432                   | 0,536      | 1,391     |
| 0,250                    | 0,500     | -0,602   | 2,891                   | 0,461      | 1,384     |
| 0,100                    | 0,316     | -1,000   | 2,295                   | 0,361      | 1,375     |
| 0,075                    | 0,274     | -1,125   | 1,906                   | 0,280      | 1,372     |
| 0,050                    | 0,224     | -1,301   | 1,798                   | 0,255      | 1,372     |
| 0,025                    | 0,158     | -1,602   | 1,109                   | 0,045      | 1,355     |
| 0,010                    | 0,100     | -2,000   | 0,820                   | -0,086     | 1,350     |
| 0,005                    | 0,071     | -2,301   | 0,567                   | -0,246     | 1,340     |



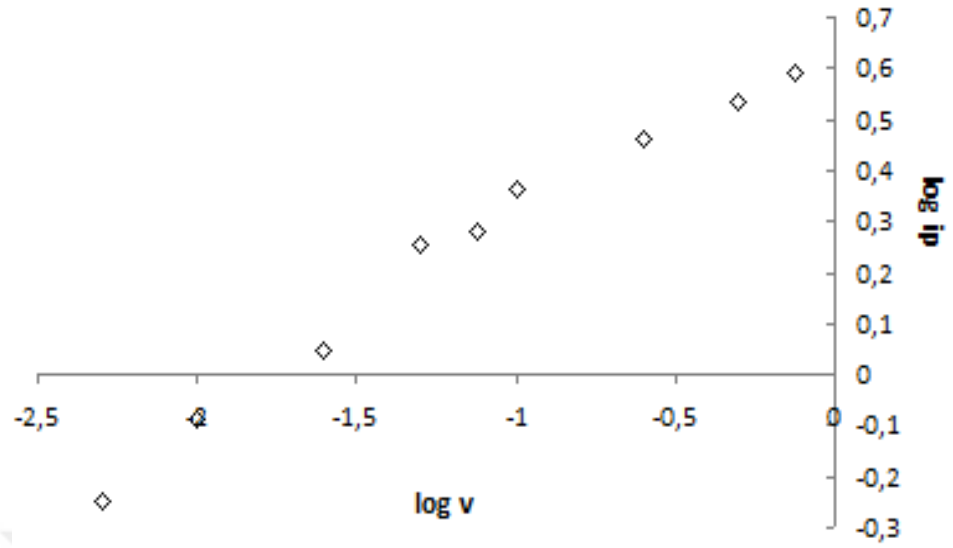
Şekil 3.33.  $1 \times 10^{-4}$  M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen v- ip grafiği.



Şekil 3.34.  $1 \times 10^{-4}$  M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen v<sup>1/2</sup>- ip grafiği.

Hızın karekökünün ve akımın ile doğrusal değiştiği, 5- 750 mVs<sup>-1</sup> arasındaki hızlarda taramalar yapıldığında aşağıdaki gibi doğru denklemi ile anlaşılmıştır;

$$i_p(\mu A) = 4,19v^{1/2} (V s^{-1}) + 0,3764 \quad r: 0,998 \quad (n: 5)$$



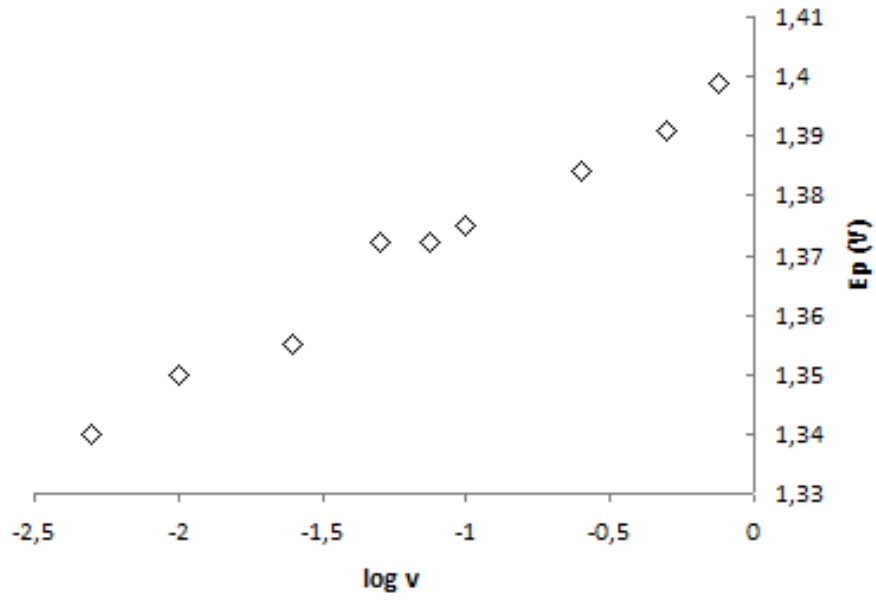
**Şekil 3.35.**  $1 \times 10^{-4}$  M kafeinin pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen log v- log  $i_p$  grafiği.

Tarama hızı ve pik akımı logaritmalarnın grafiğinden elde edilen eğim 0,5'e yakın ise madde taşınmasının difüzyon kontrollü olduğu; 1'e yakın ise madde taşınmasının adsorpsiyon kontrollü olduğu anlaşılmaktadır (Laviron ve ark., 1980). Bu bilgiye dayanarak; pH 8,04 noktasında,  $1 \times 10^{-4}$  M kafein standart çözeltisi ile 5-750  $\text{mV s}^{-1}$  aralığında bor katkılı elmas elektrot ile yapılan hız taramalarından elde edilen log v -log  $i_p$  eğrisinin eğimi (m; 0,3841) olarak bulunmuştur. Bu değer 0,5' e daha yakın olduğundan, kafein taşınmasının difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Eğrinin denklemi;

$$\log i_p(\mu\text{A}) = 0,384 \log v(\text{V s}^{-1}) + 0,6679 \quad r: 0,9963 \quad (n: 7)$$

şeklindedir.



**Şekil 3.36.**  $1 \times 10^{-4}$  M Kafein' in pH 8,04 fosfat tamponunda BKEE ve DV tekniği ile hız taramasından elde edilen  $E_p$ - log  $v$  grafiği.

$E_p$ - log  $v$  grafiğinden elde edilen eğim değeri 0,026 olarak bulunmuştur. Buradan elde edilen doğru denklemi aşağıda verilmiştir;

$$E_p (V) = 0,0263 \log v (V s^{-1}) + 1,4005, \quad r: 0,9961 \quad (n: 8)$$

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

#### 4. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında, astım, bronşit ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tedavisinde kullanılan DPT etken maddesinin miktar tayini için, uygun bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. DPT' nin elektrokimyasal davranışı; destek elektrolitinin pH değeri, destek elektrolitinin cinsi, tarama hızının etkisi açısından incelenmiştir.

Literatür taraması sonuçlarına göre, DPT madde miktarının bulunması için YPSK ve spektrofotometri yöntemleri kullanılmıştır. DPT miktar tayini için, elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı bir çalışma bulunmadığı için, tez çalışmasının orijinalliği tespit edilmiştir.

Elde edilen bilgiler sonucunda, teze konu olan araştırmada, ilaç analizleri için kullanılan kromatografik ve spektrofotometrik tekniklere alternatif yöntem olarak voltametrik teknik geliştirilmiştir.

DPT' nin yükseltgenme mekanizması camısı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak, DV, DPV ve KDV yöntemleri ile incelenmiştir.

Geliştirilecek olan yöntemin çalışmalarına başlamadan önce, stok çözeltinin hazırlanacağı ve tüm çalışmalarda kullanılacak olan DPT standardının saflığı, saf etken maddenin temin edildiği Deva ilaç firması tarafından gönderilen sertifika ile anlaşılmıştır. Sertifika değerlerine göre; temin edilen standart materyalin çalışmalarda kullanılabilecek saflığa sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmalar esnasında kullanılan camısı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) temizliğinin sağlanamaması durumunda deney sonuçlarına girişim etkisi ortaya çıkacağından, elektrotlar her deney öncesinde madde 2.1.4' te anlatıldığı gibi mekanik bir ön işlem ile temizlenmiştir.

DPT miktar tayini için camısı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak değişik pH' larda, farklı destek elektrolitleriyle çalışmalar yapılmıştır. Çalışmalarda pH 1,80; 2,19; 3,09; 5,85; 6,99; 8,04; 11,24;

12,28 fosfat tamponu, pH 3,56; 4,56; 5,58 asetat tamponu ve 8,80; 9,81 borat tamponu ortamları kullanılmıştır. Bu ortamların içerisine hazırlanan DPT standart çözeltilerine, DV, DPV ve KDV yöntemleri uygulanarak voltamogramlar elde edilmiştir. Her farmasötik maddeye özgü indirgenip yükseltgenme özelliğini aydınlatmak üzere voltametrik metodlar kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametri bu teknikler arasında en sık kullanılandır. Dönüşümlü voltametri, DPT elektroaktif grubu üzerinden yola çıkarak indirgenme/yükseltgenme mekanizması hakkında bilgi vermektedir. Bunun yanı sıra bileşik metabolitleriyle ilgili fikirler sağlamaktadır. DPT' e ait pozitif potansiyele sahip olan pik, dönüşümlü voltametri (DV) tekniğiyle camısı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak kaydedilmiştir. Dihidroksipropilteofilin, yüksek potansiyellerde, tüm destek elektrolitlerinde, tüm pH' larda geri dönüşümsüz olarak yükseltgenmiştir. DPT' nin camısı karbon elektrot (CKE) kullanılarak pH 1,80- 9,81 ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak pH 1,80- 12,28 aralığında yükseltgendiği görülmüştür.

Pik akımı – pH eğrileri incelendiğinde, en uygun pik şekli ve en yüksek pik akımı pH 8,04 değerinde elde edilmiştir. DPT standart çözeltileri ile yapılan pH taramalarının sonucunda, camısı karbon elektrodun (CKE) kullanıldığı durumda elde edilen eğriler ile, bor katkılı elmas elektrodun (BKEE) kullanıldığı durumda elde edilen eğriler karşılaştırıldığında, pik akımının daha yüksek elde edilmesinden dolayı, dihidroksipropilteofilin miktar tayini için kullanılacak olan elektrodun, bor katkılı elmas elektrot olması uygun görülmüştür.

DPT standart çözeltileri ile yapılan pH taramalarının sonucunda, pH' ın 8,04 olduğu ortamda, yüksek pik akımı ve iyi pik şekli elde edildiği için, DPT miktar tayini için en uygun tekniğin kare dalga voltametrisi (KDV) olduğu tespit edilmiştir.

KDV yöntemi kullanılarak yapılan pH taramasında pH değeri artarken DPT pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı tespit edilmiştir.  $E_p$ – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

$$E_p (V) = 1,5047 - 0,012pH, \quad r:-0,9715 \quad (pH: 1,8- 9,81)$$

KDV yöntemi kullanılarak yapılan pH taramasında pH değeri artarken model ilaç Kafein pikinin daha az pozitif potansiyele kaydığı tespit edilmiştir.  $E_p$  – pH doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir.

$$E_p(V) = 1,4796 - 0,015pH, \quad r : -0,9990 \quad (pH:2,19 - 8,02) \quad n:4$$

DPT ve Kafein için elde edilen  $E_p$ -pH eğrilerinin eğim değerleri sırasıyla 12 mV ve 15 mV'dur.

Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak bor katkılı elmas elektrot (BKEE) ile pH 8,04 olan fosfat tamponu ortamında hız taramaları yapılmış ve  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin madde taşınması mekanizması incelenmiştir. Tarama hızları  $5-750 \text{ mVs}^{-1}$  arasında seçilmiştir. Pik potansiyeli hızın artmasıyla birlikte daha pozitif değerlere kaymıştır. Bir katodik pikin ya da dalganın oluşmaması geri dönüşümsüz bir tepkime olduğuna işaret eder.  $\log i_p - \log v$  arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır ve elde edilen doğru eğiminin 0,4821 olduğu belirlenmiştir. Elde edilen değer 0,5' e yakınlığından dolayı madde taşınmasının difüzyon kontrollü gerçekleştiği saptanmıştır. (Laviron E., 1980).

Doğrunun denklemi;

$$\log i_p (\mu A) = 0,4821 \log v (\text{mVs}^{-1}) + 0,8143, \quad r: 0,9980 \quad (n: 6)$$

BKEE kullanılarak  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde DV tekniği ile yapılan tarama hızı çalışmalarından elde edilen  $E_p - \log v$  eğri denklemi aşağıda verilmiştir:

$$E_p (V) = 0,0269 \log v (\text{V s}^{-1}) + 1,4379, \quad r: 0,995 \quad (n: 9)$$

Ayrıca çalışma elektrodu olarak CKE kullanılarak  $1 \times 10^{-4}$  M DPT' nin pH 8,04 fosfat tamponu içerisinde dönüşümlü voltametri (DV) tekniği ile yapılan tarama hızı çalışmalarından elde edilen  $E_p - \log v$  eğri denklemi aşağıda verilmiştir:

$$E_p (V) = 0,0213 \log v (\text{V s}^{-1}) + 1,4365 \quad r: 0,953 \quad (n: 7)$$

BKEE kullanılarak  $1 \times 10^{-4}$  M kafein' in (model ilaç) pH 8,04 fosfat tamponu

içerisinde dönüşümlü voltametri (DV) tekniği ile yapılan tarama hızı çalışmalarından elde edilen  $E_p - \log v$  eğri denklemi aşağıda verilmiştir:

$$E_p (V) = 0,0263 \log v (V s^{-1}) + 1,4005, \quad r: 0,9961 \quad (n: 8)$$

pH taraması ve hız taraması sonuçlarından elde edilen bilgiler ışığında DPT'nin yükseltgenme davranışı model ilaç olarak seçilen Kafein'in yükseltgenme davranışına benzemektedir (Spataru ve ark., 2002).

DPT miktar tayini için duyarlı analitik yöntem geliştirmek için daha yüksek pik akımı ve keskin piklerin elde edildiği KDV yöntemi seçilmiştir. KDV yöntemi, pH 8,04 olan fosfat tampon çözeltisinde, BKEE kullanılarak optimize edilmiştir. Optimizasyon işleminin sonucuna göre basamak potansiyeli 10 mV; puls yüksekliği 30 mV ve frekans 50 Hz olarak belirlenmiştir. Saf DPT ile yapılan çalışmalarda doğrusal aralığın  $2 \times 10^{-6}$ -  $4 \times 10^{-4}$  M; tayin alt sınırının  $1,08 \times 10^{-7}$  M; insan idrarında yapılan çalışmalarda doğrusal aralığın  $2 \times 10^{-6}$ -  $1 \times 10^{-4}$  M; tayin alt sınırının  $1,28 \times 10^{-6}$  M ve insan serumunda yapılan çalışmalarda ise doğrusal aralığın  $6 \times 10^{-6}$ -  $2 \times 10^{-4}$  M; tayin alt sınırının  $1,31 \times 10^{-6}$  M olduğu belirlenmiştir.

Saf DPT ile çalışılarak geliştirilen yöntem, DPT etken maddesini içeren ampul formdaki Difilin® e uygulanmıştır. Ampul içerisindeki yardımcı maddelerin geliştirilen yöntemleri etkileyip etkilemediğini göstermek için % geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Yöntem, insan serumu ve insan idrarında da uygulanmış ve bilinen miktarda dihidroksipropilteofilin ilave edilen biyolojik ortamlardan geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Geri kazanım değerlerinin; ampul formdaki ticari ilaçtan % 99,5 - % 101,9; insan idrarından % 99,0- % 100,9 ve insan serumundan ise % 99,3- %102,2 arasında olduğu tespit edilmiştir. Ticari ilaç, insan idrarı ve insan serumundan elde edilen geri kazanım miktarları, geliştirilen yöntemin ampuldeki yardımcı maddelerden, serum ve idrar ortamındaki diğer bileşenlerden etkilenmediğini göstermiştir.

Yöntem geçerlilik çalışmalarının sonuçlarından yola çıkılarak bu tekniğin doğru, tekrar edilebilir, seçici, duyarlı ve uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında, astım, bronşit ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tedavisinde kullanılan DPT etken maddesinin miktar tayini için, uygun bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. DPT' nin elektrokimyasal davranışı; destek elektrolitinin pH değeri, destek elektrolitinin cinsi, tarama hızının etkisi açısından incelenmiştir.

Çalışmalarda pH 1,80- 12,28 fosfat tamponu, pH 3,56- 5,58 asetat tamponu ve 8,80; 9,81 borat tamponu ortamları kullanılmıştır. Bu ortamların içerisine hazırlanan DPT standart çözeltilerine, DV, DPV ve KDV yöntemleri uygulanarak voltamogramlar elde edilmiştir. Uygun pH değerinin 8,04; uygun ortamın fosfat tamponu olduğu ve yükseltgenme reaksiyonunun tersinmez olduğu belirlenmiştir.

Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak bor katkılı elmas elektrot (BKEE) ile pH 8,04 olan fosfat tamponu ortamında hız taramaları yapılmış ve DPT' nin madde taşınması mekanizması incelenmiştir. Hız taramalarından elde edilen akım ve gerilim değerleri ile  $\log v - \log i_p$  eğrisi oluşturulmuştur. Eğim değerinden yola çıkılarak, elektrodun yüzeyine maddenin taşınması işleminin difüzyon kaynaklı olduğu tespit edilmiştir.

DPT miktar tayini için, standart DPT çözeltileri ile ve biyolojik ortamlarda (serumda ve idrarda) gerekli validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bor katkılı elmas elektrot (BKEE) ile pH 8,04 fosfat tamponu ortamında standart DPT çözeltisi, insan idrarı ve insan serumu ortamlarındaki teşhis sınırı değerleri sırasıyla;  $3,24 \times 10^{-8}$  M;  $3,85 \times 10^{-7}$  M;  $3,93 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem; ampul formdaki Difilin<sup>®</sup> e, insan idrarına ve insan serumuna uygulanarak geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen % geri kazanım sonuçları, geliştirilen yöntemin DPT' nin miktar tayini için seçici olduğunu kanıtlamıştır.

## ÖZET

### **Dihidroksipropilteofilin' in Elektrokimyasal Yöntemlerle Miktar Tayini**

Bu tezde, DPT' nin yükseltgenme mekanizması, camı karbon elektrot (CKE) ve bor katkılı elmas elektrot (BKEE) kullanılarak, pH 1,80 ve pH 12,28 aralığında değişen asetat, fosfat ve borat tamponlarıyla elde edilen destek elektrolitlerinin varlığında, DV, DPV ve KDV yöntemleri ile incelenmiştir.

pH 8,02 fosfat tamponunda dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak dihidroksipropilteofilin' in hız taraması yapılmıştır.

DPT' nin yükseltgenme mekanizması model ilaç Kafein ile karşılaştırılmıştır.

DPT' nin miktar tayini, pH 8,02 fosfat tamponunda, BKEE elektrot kullanılarak, kare dalga voltametrisi tekniği ile yapılmıştır. Gerekli olan tüm yöntem geçerlilik parametreleri incelenmiştir.

Geliştirilen yöntem, DPT' nin farmasötik dozaj formuna uygulanmıştır. Ayrıca, geliştirilen yöntem idrar ve serum gibi biyolojik numunelere uygulanmıştır ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Biyolojik numune, Dihidroksipropilteofilin, Farmasötik dozaj form, Voltametri, Yöntem geçerliliği

## SUMMARY

### **Determination of Dihydroxypropyl Theophylline by Electrochemical Techniques**

In this thesis, the oxidation mechanism of DPT was investigated using glassy carbon and boron-doped diamond electrodes by cyclic, differential pulse and square wave voltammetric techniques in the supporting electrolytes which acetate, phosphate and borate buffers in the pH range 1.80 - 12.28.

In pH 8.02 phosphate buffer, the scan rate studies of DPT was carried out using the cyclic voltammetry.

The oxidation mechanism of DPT was compared with the model drug Caffeine.

The determination of DPT was performed by square wave voltammetry using BDD electrode in pH 8.02 phosphate buffer. Full validation parameters were studied.

The developed method was applied to the pharmaceutical dosage form of dihydroxypropyldeophiline. In addition, the developed method was applied for biological samples (urine & serum) and recovery studies were performed.

**Keywords:** Biological sample, Dihydroxypropyl theophylline, Pharmaceutical dosage forms, Validation, Voltammetry

## KAYNAKLAR

- ABOUL- ENEIN HY, STEFAN RI, BAIULESCU GE (2000). Quality and Reliability in Analytical Chemistry. Boca Raton, FL: CRC Press.
- AKDAG I (2014). Metot Validasyonu ve Önemi. 2. Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu ve Güvenliği (ULAG) Sempozyumu ve Sergisi Sunumu, İstanbul.
- ANZUETO A, MİRAVİTLLES M (2018). Considerations for the Correct Diagnosis of COPD and Its Management With Bronchodilators, *Chest*, **154**(2): 242- 248.
- ARGUDER E (2012). Diagnosis and Treatment of Chronic Cough, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Bölümü, Ankara, Solunum Dergisi, **14**(3): 117- 126.
- AYAZLI E (2007). Kare Dalga Voltametrisi ve Uygulamaları, Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- AYDOĞAN H (2014). Bazı Antibiyotiklerin Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi ve Kantitasyon Koşullarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Adnen Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- AYRES JW, PANOMVANA D, BLOCK JH (1985). Preparation and Characterization of Potential Prodrugs of Dyphylline, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **74**(2): 185-187.
- BARD AJ, INZELT G, SCHOLZ F (2008). Electrochemical Dictionary. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag. p.: 36
- BLOCK JH, AYRES JW, DOUGLAS RH, HOWARD LL (1980). Use of Flow Programming in Paired-Ion High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Dosage Forms Containing Dyphylline, *Journal of Chromatography A*, **193**(1): 111-117.
- BRETT CMA (2014). Electrooxidation of cytosine on bare screen-printed carbon electrodes studied by online electrochemistry-capillary electrophoresis-mass spectrometry, in Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, *Electrochemistry Communications*, **99**: 41- 45.
- DAVID DZ (2008). Microelectrodes For In-Vivo Determination of pH. *Electrochemical Sensors, Biosensors and their Biomedical Applications*, page:261-305.
- DOĞAN TOPAL B (2011). Bazı Antiviral ve Antineoplastik İlaç Etken Maddelerinin DNA İle Etkileşimi ve Elektrokimyasal Analizleri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- ERDOĞAN E, HOUIN G (1998). Suivi Thérapeutique des Xantines, *Revue Française des Laboratoires*, **304**: 89- 92.
- EUROCHEM GUIDE(2011). *Terminology in Analytical measurement-Introduction to VIM*. 1th Ed.: Barwick V, Prichard E.

- GINDY A (2005). Hplc and Chemometric Assisted Spectrophotometric Methods For Simultaneous Determination Of Diprophylline, Phenobarbitone and Papaverine Hydrochloride, *II Farmaco*, **60**(9): 745- 753.
- GOODING JJ, LAI LMH, GOON IY (2009). Nanostructured Electrodes with Unique Properties for Biological and Other Applications. In: *Chemically Modified Electrodes*, Ed.: Alkire, R.C., Kolb, D. M., Lipowski, J., Ross. P. N., Weinheim: Wiley-WCH. 1– 56.
- HE W, HUANJING D, ZHIGANG L, XIAOGAI W, LYJING W, RUIYONG W, JUNBIAO C (2014). Investigation of The Interaction Between Five Alkaloids and Human Hemoglobin By Fluorescence Spectroscopy and Molecular Modeling, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **123**: 176-186.
- HONEYCHURCH KC (2012). Printed Thick- Film Biosensors. Printed Fils, Chapter 13, P.: 366- 409.
- <http://saglikloji.com/koah-hastaligi-nedir-belirtileri-tedavisi/> (Erişim Tarihi: 06/03/2019).
- <http://t.ogren-sen.com/kimya/5886/index.html>. Erişim Tarihi: 10.03.2019.
- <http://www.renklinot.com/saglik/hastalik-ve-tedavi/bronsit-nedir-bronsit-belirtileri-ve-bronsit-tedavisi.html> (Erişim Tarihi: 06.03.2019).
- ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)(2005).p.:16.
- JONES JW, MANEY PV (1951). Pharmaceutical Manufacturing Encyclopedia, 1412- 1413.
- KELTER P, MOSHER M, SCOTT A (2009). Chemistry: The Practical Science. Media Enhanced Edition. Boston/New York: Houghton Mifflin Company. Chapter 19.
- KESTER MB, CONSUELO LS, HERBERT CM (1987). Microassay for The Simultaneous Determination of Theophylline and Dyphylline in Serum by High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **416**: 91- 97.
- KIRTH HV, CRAIG AH, NORBERT K, RDUANE S (1980). Simultaneous Determination of Dyphylline and Theophylline in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **221**(1): 170- 175.
- LAVIRON E, ROULLIER L, DEGRAND CA (1980) Multilayer Model For The Study Of Space Distributed Redox Modified Electrodes. Part II. Theory and Application of Linear Potential Sweep Voltammetry for a Simple reaction. *J Electroanal Chem*, **112**: 11–23.
- MAHATO K, KUMAR S, SRIVASTAVA A, MAURYA PK, SINGH R, CHANDRA P (2018). Electrochemical Immunosensors: Fundamentals and Applications in Clinical Diagnostics. *Handbook of Immunoassay Technologies*. Chapter 14: 359- 414.
- MILLER RR, GREENBLATT DJ (1979). Handbook of Drug Therapy, page 939.

- OZCELIKAY G (2016). Antiviral İlaç Etken Maddesi Tenofovirin Elektrokimyasal Davranışı İçin Nanosensör Tasarımı, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- OZKAN SA (2012). Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation. HNB Pub., USA, ISBN: 978-0-9664286-7-4.
- OZKAN SA, USLU B (2016). From Mercury To Nanosensors: Past, Present And The Future Perspective of Electrochemistry In Pharmaceutical and Biomedical Analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **130**: 126- 140.
- PATERSON N (1982). High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Diprophylline in Human Serum, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 232(2): 450- 455.
- PLESKOV YV (2002), Electrochemistry of Diamond: A Review, *Russian Journal of Electrochemistry*, **38**(12): 1275–1291.
- PLIETH W, (2008). Electrochemistry for Materials, Chapter 5, p.: 143- 167.
- SATO N (1998). Electrochemistry at Metal and Semiconductor Electrodes.
- SHONO T, (1991). Oxidation by Electrochemical Methods. *Comprehensive Organic Synthesis*. **7**: 789- 819
- SKOOG DA, WEST DM (1981). Principles of Instrumental Analysis.
- SPATARU N, SARADA BV, TRYK DA, FUJISHIMA A (2002). Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis, **14**(11): 721- 728.
- STRAUGHN AB, WOOD GC, RAGHOW G, MEYER MC (1985). Bioavailability of Dyphylline and Dyphylline- Guaifenesin Tablets in Humans, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **74**(3): 335- 337.
- SWAIN GM (2007). Solid Electrode Materials: Pretreatment and Activation. In: *Handbook of Electrochemistry*, Ed.: Zoski, C. G., Amsterdam: Elsevier. 111–154.
- SWARTZ ME, KRULL I (2012). Handbook of Analytical Validation. Boca Raton, FL: CRC Press.
- The Merck Index. 9th ed. Rahway, New Jersey: Merck & Co., Inc., 1976., p. 460.
- TÜRKAK (2016). Metot Validasyonu Eğitim Sunumu. Akreditasyon Daire Başkanlığı, İstanbul.
- USLU B, ÖZKAN S (2007b), Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High Throughput Screening of Drug Compounds, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **10**: 495-513.
- UYGUN R (2016). Metot Validasyonu Eğitim Sunumu. TÜRKLAB Akademi, İstanbul.
- WANG J (2006). Analytical Electrochemistry. 3rd Ed. John Wiley and Sons.

WENK M, EGGS B, FOLLATH F (1983). Simultaneous Determination of Diprophylline, Proxyphylline and Theophylline Serum by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **276**: 341- 348.

XU J, GRANGER MC, CHEN Q, STROJEK JW, LISTER TE, SWAIN GM (1997), Boron-Doped Diamond Thin-Film Electrodes, *Analytic Chemistry*, **69** (19): 591A–597A.

ZOSKI GC (2007). *Handbook of Electrochemistry*. 1st Ed. Elsevier.



# ÖZGEÇMİŞ

## I- Bireysel Bilgiler

Adı: Dilay

Soyadı: Subaşı

Doğum yeri ve tarihi: Zonguldak, 19.10.1987

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Çamlık Mah. Şahinbey Cad. Mehtap Sk.

No:16 Çekmeköy/ İSTANBUL Tel:0538 865 75 50

## II- Eğitimi

2006- 2011 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

2001- 2005 Fener Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi

Yabancı dili: İngilizce

## III- Ünvan

Kimyager (2011)

## IV- Mesleki Deneyimi

2012- 2016 Artek Mühendislik Çevre Laboratuvarı, Analiz Sorumlusu

2016- 2017 Penta Çevre Laboratuvarı, Laboratuvar Sorumlusu

2017- 2019 Analitik Çevre Laboratuvarı, Kalite Yöneticisi

## **V- Bilimsel İlgi Alanları**

Bitki ve İlaç Etkileşmeleri Hakkında Makaleler

DOĞAN Ö, AVCI A, (2018). Herbs and Drug Interactions. Türkiye Klinikleri J Public Health-Special Topics. 4 (1): 49-54.

GÜLLÜ İ. B, ÖCAL N, (2016). Tıbbi Bir Bitki Olarak Ecballium Eaterium (L.)’un Tedavi Alanlarının Araştırılması. Cilt 18, Sayı (1): 49-57.

## **VI- Bilimsel Etkinlikleri**

“ İlaç Atıklarının Çevresel Etkileri” adlı Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Semineri, Ekim 2013

“ Elektrokimya ve Önemi” adlı Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Bitirme Ödevi, Haziran 2011