



AMLODİPİN VE ROSUVASTATİN ETKİN  
MADDELERİNİN FARMASÖTİK PREPARATLARDA  
KARE DALGA VOLTAMETRİ YÖNTEMİ İLE AYNI  
ANDA MİKTAR TAYİNİ

Nurullah YILMAZ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Bilal YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi - 2018

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMLODİPİN VE ROSUVASTATİN ETKİN MADDELERİNİN  
FARMASÖTİK PREPARATLARDA KARE DALGA  
VOLTAMETRİ YÖNTEMİ İLE AYNI ANDA MİKTAR TAYİNİ

Nurullah YILMAZ

Analitik Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Bilal YILMAZ

ERZURUM  
2018

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

**AMLODİPİN VE ROSUVASTATİN ETKİN MADDELERİNİN  
FARMASÖTİK PREPARATLARDA KARE DALGA VOLTAMETRİ  
YÖNTEMİ İLE AYNI ANDA MİKTAR TAYİNİ**

**Nurullah YILMAZ**

**Tez Savunma Tarihi** : 16.02.2018

**Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Bilal YILMAZ (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Yrd. Doç. Dr. Muhammed Fatih POLAT (Erzincan Üniversitesi)

**Onay**

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

**Prof. Dr. Duygu ARIKAN**  
Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi**  
**ERZURUM-2018**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Amlodipin.....	2
2.2. Rosuvastatin.....	3
2.3. Rosucor Plus® Tablet ile İlgili Genel Bilgiler .....	5
2.4. AML ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	6
2.5 ROS ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	17
2.6. Elektrokimyasal Yöntemler .....	21
2.6.1. Voltametri .....	22
2.6.1.1. Voltametricde Uyarma Sinyalleri .....	24
2.6.1.2. Dönüşümlü Voltametri Spektrofotometreleri.....	24
2.6.1.3. Kare Dalga Voltametri.....	25
2.6.1.4. Diferansiyel Puls Voltametri.....	26
2.6.2. Elektrokimyanın Temel Kavramları.....	27
2.6.3. Elektrot Reaksiyon Çeşitleri.....	27
2.6.3.1. Kütle Transferi.....	28
2.6.3.2. Kimyasal Reaksiyonlar.....	28

2.6.3.3. Adsorpsiyon Kontrollü Reaksiyonlar.....	29
2.6.4. Mekanizma Çeşitleri.....	30
2.6.4.1. Tersinir Reaksiyonlar.....	30
2.6.4.2. Yarı tersinir Reaksiyonlar .....	31
2.6.4.3. Tersinmez Reaksiyonlar.....	32
2.6.5. Destek Elektrolit Seçimi .....	32
2.6.6. Elektroanalitik Yöntemlerin Kullanım Alanları.....	33
2.7. Yöntem Geçerlilik Testleri (Validasyon).....	33
2.7.1. Doğruluk ve Kesinlik.....	34
2.7.2. Örneklerin Kararlılığı (Stabilite) .....	34
2.7.3. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi.....	35
2.7.4. Duyarlılık.....	35
2.7.5. Tayin Alt Sınırı (LOQ) .....	35
2.7.6. Gözlenebilme (Teşhis) Sınırı (LOD) .....	35
2.7.7. Geri Kazanım.....	35
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>36</b>
3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	36
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	36
3.3. Voltametre Sistemi.....	36
3.3.1. Voltametrik Yöntem ve Şartları.....	36
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
4.1. Voltametri Yöntemi.....	37
4.1.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) Deneyinin Yapılışı.....	37
4.1.2. Amlodipin için Kare Dalga Voltametri Deneyinin Yapılışı.....	39
4.1.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	39

4.1.2.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu) .....	40
4.1.2.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi.....	40
4.1.2.2.2. Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Alt Sınırı (LOQ).....	41
4.1.2.2.3. Doğruluk ve Kesinlik.....	41
4.1.2.2.4. Kararlılık (Stabilite).....	41
4.1.2.2.5. Geri Kazanım.....	42
4.2.2. Rosuvastatin için Kare Dalga Voltametri Deneyinin Yapılışı.....	43
4.2.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması.....	43
4.2.2.2. Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu) .....	44
<b>5.TARTIŞMA.....</b>	<b>48</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>55</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>56</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>66</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>66</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAYI.....</b>	<b>67</b>

## TEŞEKKÜR

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

Laboratuvar çalışmalarımı kimyasal madde ve malzeme yönünden 2017/6214 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Gamze YILMAZ'a, tezimin sayfa numaralarını ve dizinini oluşturmada bana koçluk eden kızım Işıl Sena YILMAZ'a ve kayınbabam sayın Ramazan BUDAK'a, tüm eğitim hayatım boyunca bana yol gösteren emek ortağım saygıdeğer babam Şaban YILMAZ'a, dualarıyla beni her zaman kucaklayan canım annem Muzeyen YILMAZ'a ve kız kardeşlerim Sibel YILMAZ ve Hülya YILMAZ'a ve kayın ailem olan BUDAK ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Nurullah YILMAZ

## ÖZET

### **Amlodipin ve Rosuvastatin Etkin Maddelerinin Farmasötik Preparatlarda Kare Dalga Voltametri Yöntemi ile Aynı Anda Miktar Tayini**

**Amaç:** Bu çalışmada amlodipin ve rosuvastatin elektrokimyasal davranışları, platin elektrotta asetonitrilde Kare Dalga Voltametri yöntemi ile incelendi.

**Materyal ve Metot:** Amlodipin ve rosuvastatinin dönüşümlü voltamogramları yaklaşık olarak platin elektrotta +1.15 ve +1.61 V da yükseltgenme piki gözlenmiştir. Doğrusallık, kesinlik, doğruluk, stabilite, tayin edilebilme sınırı ve miktar tayin sınırı gibi parametreler ICH Guidelines'e göre çalışıldı.

**Bulgular:** Kare Dalga Voltametri yönteminin kalibrasyon eğrisi 5-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında doğrusaldır. Amlodipin ve rosuvastatin için günüçi ve günler arası kesinlik değerleri % 5.34'ten ve doğruluk (bağıl hata) % 6.25'ten küçüktür.

**Sonuç:** Geliştirilen bu yöntem ile amlodipin ve rosuvastatin etkin maddelerini içeren Rosucor Plus preparatında miktar tayini yapıldı. Elde edilen analiz sonuçları değerlendirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Amlodipin, dönüşümlü voltametri, kare dalga voltametri, rosuvastatin, tablet

## ABSTRACT

### **Simultaneous Quantitation of Amlodipin and Rosuvastatin Effective Substances in the Pharmaceutical Preparations with Square Wave Voltammetry Method**

**Aim:** In this study, electrochemical behaviors of amlodipin and rosuvastatin were investigated on platin electrode in acetonitrile by Square Wave Voltammetry method.

**Material and Method:** Cyclic voltammograms of amlodipin and rosuvastatin were observed oxidation peak at about +1.15 V and +1.61 V on platin electrode. Parameters such as linearity, precision, accuracy, stability, limit of detection and limit of quantification were studied according to the ICH Guidelines.

**Results:** Calibration curve of Square Wave Voltammetry method was linear between the concentration range of 5-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Within- and between-day precision values for amlodipin and rosuvastatin were less than 5.34% and accuracy (relative error) was better than 6.29%.

**Conclusion:** Quantitation of amlodipin and rosuvastatin was performed with this method which is developed in Rosucor Plus pharmaceutical preparation containing the amlodipin and rosuvastatin effective substances. Obtained analysis results were evaluated.

**Key Words:** Amlodipin, cyclic voltammetry, rosuvastatin, square wave voltammetry, tablet

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>AML</b>	: Amlodipin
<b>BSS</b>	: Bağıl standart sapma
<b>CV</b>	: Dönüşümlü voltametri
<b>FTIR</b>	: Fourier dönüşümlü infrared spektrometri
<b>HPLC</b>	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
<b>ICH</b>	: International conference on harmonization
<b>LC-MS</b>	: Sıvı kromatografi-kütle spektrometri
<b>LOD</b>	: Gözlenebilme sınırı
<b>LOQ</b>	: Tayin alt sınırı
<b>ROS</b>	: Rosuvastatin
<b>SWV</b>	: Kare dalga voltametri
<b>UV-Vis</b>	: Ultraviyole-görünür bölge

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. AML'nin kimyasal yapısı .....	2
Şekil 2.2. ROS'un kimyasal yapısı .....	4
Şekil 2.3. Voltamogram .....	23
Şekil 2.4. Voltametrizde en çok kullanılan uyarma sinyalleri .....	24
Şekil 2.5. Dönüşümlü voltametri potansiyel-zaman grafiği .....	25
Şekil 2.6. Kare Dalga Voltametri potansiyel-zaman grafiği .....	25
Şekil 2.7. Kare dalga voltamogramı .....	26
Şekil 2.8. Elektrot reaksiyonları .....	28
Şekil 2.9. Tersinir bir reaksiyon için alınan dönüşümlü voltamogram) .....	30
Şekil 2.10. Yarı tersinir bir reaksiyon için alınan dönüşümlü voltamogram .....	31
Şekil 2.11. Çözücü, destekleyici elektrolitler ve potansiyel ilişkisi .....	32
Şekil 4.1. AML ve ROS etkin maddesinin 0.1 M LiClO <sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki dönüşümlü voltamogramları (ROS ve AML, 50 µg) .....	37
Şekil 4.2. AML ve ROS etkin maddesinin 0.1 M LiClO <sub>4</sub> içeren asetonitril içinde Kare Dalga Voltamogramları (20 µg ml <sup>-1</sup> ) .....	38
Şekil 4.3. AML etkin maddesinin 0.1 M LiClO <sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki Kare Dalga Voltamogramları (5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml <sup>-1</sup> ) .....	39
Şekil 4.4. Kare Dalga Voltametrik yöntem kalibrasyon eğrisi .....	40
Şekil 4.5. ROS etkin maddesinin 0.1 M LiClO <sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki Kare Dalga voltamogramları (5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml <sup>-1</sup> ) .....	43
Şekil 4.6. Kare Dalga Voltametrik yöntem kalibrasyon eğrisi .....	44
Şekil 4.7. Rosucor® film farmasötik preparatının Kare Dalga Voltametrik voltamogramı (25 µg ml <sup>-1</sup> ) .....	47

## TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 4.1.</b> Kare Dalga Voltametik çalışmada AML'ye ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri.....	40
<b>Tablo 4.2.</b> Kare Dalga Voltametik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	41
<b>Tablo 4.3.</b> AML'nin Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri.....	42
<b>Tablo 4.4.</b> Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri .....	42
<b>Tablo 4.5.</b> Kare Dalga Voltametik çalışmada ROS'a ait kalibrasyon eğrisinin istatistiki değerleri.....	44
<b>Tablo 4.6.</b> Kare Dalga Voltametik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	45
<b>Tablo 4.7.</b> ROS'un Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri .....	46
<b>Tablo 4.8.</b> Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri .....	47

# 1. GİRİŞ

Amlodipin (AML), dihidropiridin sınıfından bir kalsiyum kanal blokörüdür. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan AML, kalsiyum iyonunun miyokard ve düz kas hücre membranındaki kalsiyum kanalları yoluyla hücre içine girişini inhibe ederek vücudun kan basıncını düşürür. Rosuvastatin (ROS) ise; 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A'nın selektif ve kompetitif bir inhibitörüdür. ROS primer hiperkolesterolemi ve kombine dislipidemili hastaların tedavisinde kullanılan bir ilaçtır<sup>1</sup>.

Rosucor Plus, statinler olarak isimlendirilen bir ilaç grubunda yer alan AML ve ROS'un kombinasyonudur. Rosucor Plus yüksek kolesterol ve aynı zamanda angina adı verilen belirli tip göğüs ağrısı veya yüksek tansiyon tedavisinde kullanılmaktadır<sup>1</sup>.

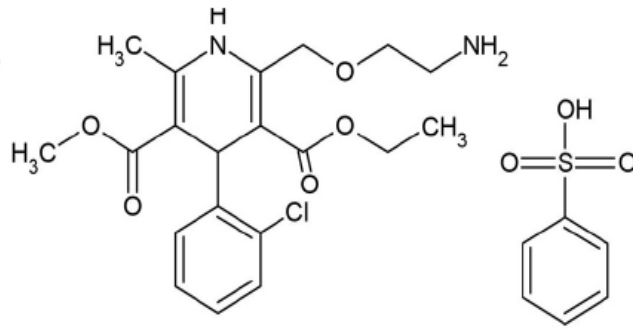
Literatür taramasında, farmasötik preparatlarda ve biyolojik sıvılarda AML veya ROS etkin maddesinin miktar tayini için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), UV-Görünür Bölge Absorbsiyon Spektrofotometri, FT-IR Spektrometri ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometri (LC-MS) yöntemleri ile ilgili çalışmalara ulaşıldı.

Yapılan literatür araştırmalarında AML ve ROS etkin maddesinin bir arada tayinine ilişkin herhangi bir Kare Dalga Voltametri yöntemine rastlanmadı. Bundan dolayı etkin maddelerin çözüleceği çözelti ortam pH'sının, tampon çözelti bileşiminin, potansiyel tarama hızının, destek elektroliti cinsinin ve çeşitli parametrelerin etkisi araştırılarak Kare Dalga Voltametri yöntemi optimize edildi. Uygun ortam şartları belirlendikten sonra, Kare Dalga Voltametri yönteminde belirleyicilik, doğrusallık, doğruluk, kesinlik, gerikazanım, teşhis limiti, miktar tayin sınırı ve kararlılık parametreleri ile yöntem validasyonu (geçerlilik testi) yapıldı. Ayrıca AML ve ROS'un kombine farmasötik preparatlarında miktar tayini de yapıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Amlodipin

AML (Şekil 2.1) dihidropiridin sınıfından bir kalsiyum kanal blokörüdür. Kalsiyum iyonunun miyokard ve düz kas hücre membranındaki kalsiyum kanalları yoluyla hücre içine girişini inhibe eder. AML düz kas hücreleri için selektiftir. AML transmembran kalsiyum akımını engelleyerek periferik arteriyollerde vazodilatasyon yapar, periferik rezistansı ve sistemik kan basıncını düşürür. AML ağız yoluyla alındıktan sonra iyi absorbe olur, 6-12 saat sonra doruk plazma konsantrasyonları oluşur. Dolaşımdaki ilacın % 93'ü plazma proteinlerine bağlıdır. AML yoğun bir hepatik metabolizma (% 90) ile inaktif metabolitlere dönüşür ve ilacın % 10'u değişmemiş olarak, % 60'ı metabolitler şeklinde idrarla atılır. Plazmadan terminal eliminasyon yarı ömrü 30-50 saattir. Art arda her gün verildiğinde 7-8 günde kararlı durum plazma düzeyleri oluşur<sup>1</sup>.



Şekil 2.1. AML'nin kimyasal yapısı

AML hipertansiyon tedavisinde endikedir ve gerek yalnız başına monoterapi olarak gerekse diğer antihipertansif ilaçlarla kombine olarak kullanılır. AML kronik stabil angina pectoris tedavisinde endikedir ve gerek yalnız başına monoterapi olarak gerekse diğer antianjinal ilaçlarla birlikte kullanılır. AML gerek teşhisi kesinleşmiş gerekse varlığından şüphelenilen vazospastik angina pectoris tedavisinde endikedir. Bu amaçla gerek monoterapi olarak yalnız başına gerekse diğer antianjinal ilaçlarla kombine olarak

kullanılır. AML, dihidropiridinlere ve tabletteki maddelerden herhangi birine karşı aşırı duyarlılığı olanlarda kontrendikedir<sup>1</sup>.

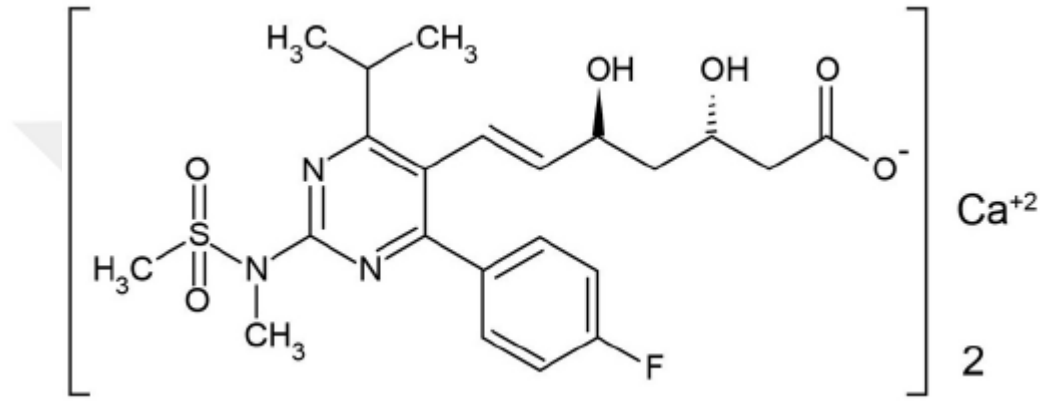
AML iyi tolere edilir. Bildirilen yan etkilerin çoğu hafif ve orta derecededir. Tedavi sırasında en sık görülen yan etkiler şunlardır: ödem, baş dönmesi, yorgunluk, baş ağrısı, çarpıntı, kızarma, bulantı, karın ağrısı ve uyuklama. Aşağıdaki yan etkiler hastaların % 1'den azında görülmüş olup ilaçla nedensellik ilişkisi olup olmadığı belli değildir: Aritmi, postural hipotansiyon, tremor, vertigo, diare, flatulans, kusma, dispepsi, kilo alma, artralji, miyalji, kas krampı, insomni, depresyon, anksiyete, epistaksis, dispne ve deri erüpsiyonudur<sup>1</sup>.

AML'nin kimyasal adı 3-O-Ethyl-5-O-methyl 2-(2-aminoethoxymethyl)-4-(2-chlorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate olup Şekil 2.1'de verilmiştir. AML'nin molekül formülü  $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$  ve molekül ağırlığı 408.85 g mol<sup>-1</sup>'dür. Beyaz kristal bir toz olan AML suda iyi çözünür ve etanolde çok az miktarda çözünür. Erime noktası 134 °C'dir. Kaynama noktası 760 mmHg'de 527.2 °C' dir. pKa değeri 8.6'dır<sup>2</sup>.

## 2.2. Rosuvastatin

ROS (Şekil 2.2) 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim (HMGKoA redüktaz) A'nın, selektif ve kompetitif bir inhibitördür. ROS'un temel olarak etki gösterdiği yer, kolesterolün düşürülmesinde hedef organ olan karaciğerdir. ROS, LDL'nin karaciğere girişi ve katabolizmasını artırmak suretiyle hücre yüzeyindeki hepatik LDL reseptörlerinin sayısını artırır. Oral alımdan yaklaşık 5 saat sonra doruk plazma konsantrasyonuna ulaşır. Mutlak biyoyararlanımı yaklaşık % 20'dir. Kolesterol sentezi ve LDL klerensinin temel olarak yer aldığı karaciğere büyük oranda geçer. ROS'un dağılım hacmi yaklaşık 134 L'dir. Başta albumin olmak üzere plazma proteinlerine % 90 oranında bağlanır. ROS'un metabolizması sınırlıdır. Belirlenen temel metabolitler N-desmetil ve lakton

metabolitleridir. N-desmetil metaboliti, ROS dan % 50 daha az aktif iken lakton formu klinik olarak inaktiftir. HMG-KoA redüktaz inhibitör aktivitenin % 90'ından fazlası ROS tarafından gerçekleştirilir. ROS'un yaklaşık % 90'ı değişmemiş olarak feçes ile kalanı ise idrar ile atılır. Yaklaşık % 5'i idrarla değişmeden atılır. Plazma eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 19 saat olup eliminasyon yarı ömrü yüksek dozlar ile artmaz<sup>1</sup>.



Şekil 2.2. ROS'un kimyasal yapısı

Diyet ve diğer farmakolojik olmayan tedaviler (örneğin egzersiz, kilo verme) ile yeterli yanıt alınamayan durumlarda primer hiperkolesterolemi ve kombine dislipidemili hastalarda diyete yardımcı olmak üzere kullanılır. Homozigot ailesel hiperkolesterolemide diyet ve diğer lipid düşürücü tedavilerle kombine edilerek ya da bu tür tedavilerin uygun olmadığı durumlarda kullanılır<sup>1</sup>.

ROS'un kimyasal adı (E)-(3R,5S)-7-[4-(4-fluorophenyl)-6-isopropyl-2-[methyl(methylsulfonyl)amino] pyrimidin-5-yl]-3,5-dihidroxyhept-6-enoic acid olup Şekil 2.2'de verilmiştir. ROS'un molekül formülü  $C_{22}H_{28}FNO_6S$  ve molekül ağırlığı 481.53 g mol<sup>-1</sup>'dür. ROS beyaz renkte, kokusuz bir tozudur. Suda ve etanolde çok az çözünür, metanolde iyi çözünür. Erime noktası 122°C' dir. Kaynama noktası 760 mmHg'de 745.6 °C'dir. ROS'un pKa değeri 4.6'dır<sup>2</sup>.

### 2.3. Rosucor Plus® Tablet ile İlgili Genel Bilgiler

Rosucor Plus; hipertansiyon veya angina ile dislipidemisi olan ve bu nedenle hem AML hem de ROS ile tedavi edilmesi uygun olan hastalarda kullanılmaktadır. Hipertansiyon: yüksek kan basıncı sonucu kanın damarlara yaptığı baskıdan oluşur. AML damarların genişlemesini, kanın damarlarda daha kolay dolaşmasını sağlayarak kan basıncını düşürür. Angina, kalp kasının bir kısmına yeterli kanın gitmediğinde oluşan ağrı veya rahatsızlık hissidir. Angina genellikle göğüs bölgesinde baskı veya sıkıştırıcı ağrı şeklinde hissedilir. Bazen bu ağrı kollarda, omuzlarda, boyunda, çenede veya sırtta da hissedilir. AML bu ağrıyı geçirebilir. Rosucor Plus alındığı sürece, kolesterol düşürücü beslenme diyetine ve egzersizlere devam edilmelidir. Kalp krizi, inme veya diğer sorunlar ateroskleroz olarak adlandırılan bir hastalıktan kaynaklanabilir. Aterosklerozun nedeni damarlardaki yağlı artıkların birikmesidir. Rosucor Plus içeriğindeki ROS'un kanda bulunan, lipit adı verilen yağ maddelerinin düzeylerini düzenlemek için kullanılır. Kandaki lipitlerin en fazla bilineni kolesteroldür. Kanda bulunan kolesterolün değişik tipleri vardır. "Kötü" kolesterol (LDL-K) ve "iyi" kolesterol (HDL-K). Rosucor Plus "kötü" kolesterolü azaltabilir, "iyi" kolesterolü arttırabilir. Vücudun "kötü" kolesterol üretmesinin önlenmesi ve "kötü" kolesterolün kandan uzaklaştırılması için vücuda yardımcı olur. İnsanların çoğu, yüksek kolesterolden etkilenmediklerini düşünürler, çünkü bu durum nedeniyle bir belirti hissetmezler. Ama bu durum tedavi edilmezse, yağlı artıklar kan damarların çeperlerinde birikir ve damarları daraltır. Bazen, daralan bu damarlar tıkanabilir. Kalbe veya beyine kan gitmezse, kalp krizi veya inme ortaya çıkabilir. Rosucor Plus, kolesterol düzeylerini düşürerek kalp krizi geçirme riskini azaltmış olur. Kolesterol istenen düzeye gelse bile Rosucor Plus almaya devam edilmelidir. Çünkü Rosucor Plus, kolesterol düzeyinin yeniden yükselmesine ve bunların damarlarda birikmesine engel olur<sup>1</sup>.

## 2.4. AML ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Yucesoy ve ark.<sup>3</sup> AML'nin tayini için bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem AML'nin dinitrobenzensülfonik asit ile kompleks ürün oluşturmasına dayanmaktadır. Reaksiyon oda sıcaklığında bazik ortamda (pH 10) gerçekleştirilmiş olup ürün kloroform fazına ekstre edildikten sonra 337 nm de absorbanı ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi 6.0-30.0 µg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında geçerlidir. Sonuçların kesinliği % bağıl standart sapma (BSS) olarak verilmiş ve % BSS % 1.34'tür ve analiz edilen tabletlere ilave edilen saf AML için geri kazanım % 99.7'dir. Yöntemin uygulanabilirliği AML içeren tabletlerde denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Jain ve ark.<sup>4</sup> tarafından AML'nin tabletlerde tayini için bir spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. AML sodyum asetat içinde çözünmüş ve 240 nm'de absorbanı ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi 50 ve 250 µg ml<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>= 0.9998) derişim aralığında geçerlidir. AML için geri kazanım değeri % 97.84 ve % 100.16 arasında bulunmuştur.

Abdel-Wadood ve ark.<sup>5</sup> tabletlerde AML tayini için AML, ninhidrin ve fenilasetaldahit ile kompleks yapılarak iki farklı spektroflorometri yöntemi geliştirip valide etmişlerdir. Kalibrasyon eğrileri 0.35-1.80 µg ml<sup>-1</sup> ve 0.55-3 µg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında doğrusaldır. Yöntemlerin miktar tayin sınırları 0.30 ve 0.54 µg ml<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir.

Prasad ve ark.<sup>6</sup> tabletlerde AML-lisinopril ve AML-enalapril tayini için türev spektrofotometri yöntemleri geliştirmişler. 215 ve 260 nm dalga boyundaki türev absorbanları ölçülerek AML'nin geri kazanım değerlerini % 100.15 ve % 99.71 olarak hesaplamışlardır.

Prasad ve ark.<sup>7</sup> tabletlerde AML ve atenolol tayinini türev spektroskopisiyle aynı anda gerçekleştirmişlerdir. Bu analizlerde 250 ve 273.4 nm dalga boylarında ölçümler alınarak AML ve atenolol için doğrusal derişim aralıklarını sırasıyla 2.5-10 µg ml<sup>-1</sup> ve 15-

30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak belirlemişlerdir. Yöntemin miktar tayin sınırları 0.10 ve 0.40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir.

Juyal ve ark.<sup>8</sup> çok bileşenli analiz modlu UV spektrofotometri ile AML ve atorvastatinin tabletlerde aynı anda analizi için hızlı, kesin ve basit bir yöntem geliştirmiş ve valide etmişlerdir. Doğrusal derişim aralığını AML ve atorvastatin için sırasıyla 7.0-10  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 14-26  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulmuşlardır.

Ramesh ve ark.<sup>9</sup> AML ve atorvastatin kalsiyumun tabletlerde aynı anda analizi için ekonomik iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Birinci yöntemde 361 ve 246 nm dalga boylarında, ikinci yöntemde 238.8 ve 246 nm dalga boylarında çalışılmıştır. Doğrusal derişim aralığını AML ve atorvastatin için 0.5-30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulmuşlar ve her bir yöntem için miktar tayin sınırları hesaplamışlardır.

Rao ve ark.<sup>10</sup> AML ve atorvastatinin tabletlerde aynı anda analizi için hızlı, kesin ve basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirmiş ve valide etmişlerdir. Bu yöntem için 242 nm ve 364 nm dalga boyları kullanılmış olup, yöntemin validasyon aşamasında AML ve atorvastatin için doğrusal derişim aralıkları sırasıyla 1-50  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 1-20  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Abdallah ve ark.<sup>11</sup> tabletlerde türev spektrofotometrisi ile AML ve atorvastatinin aynı anda tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada 228 nm ve 245 nm dalga boylarında ölçümler yapılmış olup, AML ve atorvastatin için doğrusal derişim aralıkları 10-100  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 2.5-30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Basavaiah ve ark.<sup>12</sup> tabletlerde Fe(III) ve ferrisiyanür kullanarak AML ve felodipinin aynı anda tayini için hızlı, basit ve ekonomik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem için 760 nm dalga boyunda çalışılmış olup AML ve felodipin için doğrusal derişim aralıkları 5-15  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 1.5-5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Rathee ve ark.<sup>13</sup> tabletlerde türev spektrofotometrisi ile AML ve lisinoprilin aynı anda tayinini gerçekleştirmişler ve bu çalışmada AML ve lisinopril doğrusal derişim aralıkları 10-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 4-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Joshi ve ark.<sup>14</sup> AML ve lisinoprilin tabletlerde aynı anda analizi için iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Birinci yöntem de 360 ve 248 nm dalga boylarında, ikinci yöntemde 300 ve 360 nm dalga boylarında her iki maddenin absorbansı ölçülmüş olup AML ve lisinopril için doğrusal derişim aralığı 5-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Patil ve ark.<sup>15</sup> tabletlerde AML ve losartan potasyumun aynı anda tayini için iki spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Birinci yöntemde 208 ve 237.5 nm dalga boylarında, ikinci yöntemde de 242.5 ve 237.5 nm dalga boylarında ölçümler alınmış olup AML ve losartan potasyumun doğrusal derişim aralıkları 2-20  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Kavari ve ark.<sup>16</sup> tabletlerde AML ve losartan potasyumun aynı anda tayini için hızlı, basit ve ekonomik bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişler ve bu yöntemde 206 ve 360 nm gibi iki farklı dalga boyunda çalışılarak AML ve losartan için doğrusal derişim aralıkları 10-30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 2.5-7.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Rahman ve ark.<sup>17</sup> AML ve ninhidrinin tabletlerde aynı anda tayini için bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada 595 nm dalga boyunda ölçümler alınmış olup AML ve ninhidrin için doğrusal derişim aralıkları 10-60  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Mehulkumar ve ark.<sup>18</sup> tabletlerde AML ve olmesartanın aynı anda tayini için spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişler olup bu yöntemde AML için 259 nm dalga boyunda çalışılmıştır. AML ve olmesartanın doğrusal derişim aralıkları 5-30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  arasında doğrusal olup miktar tayin sınırı AML ve olmesartan için sırasıyla 0.18  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 0.43  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Kardile ve ark.<sup>19</sup> tabletlerde olmesartan ile AML'nin aynı anda tayini için spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Absorbanslar 239 ve 256 nm dalga boyunda ölçülmüş olup AML ve olmesartan için doğrusal derişim aralıkları 5-35  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Patil ve ark.<sup>20</sup> tabletlerde olmesartan medoksimil ile AML'nin aynı anda tayini için spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde 360 nm dalga boyunda çalışılmış olup AML ve olmesartan için doğrusal derişim aralığı 2-20  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 'dir. Yöntemde AML ve olmesartan için miktar tayin sınırı sırasıyla 0.092  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 0.05  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Muthu ve ark.<sup>21</sup> tabletlerde UV- spektrofotometri yöntemiyle AML ve felodipinin aynı anda tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemde 296 ve 363 nm gibi iki farklı dalga boyunda çalışılmış, AML ve felodipin için doğrusal derişim aralıkları 1-3  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur. AML ve felodipin için miktar tayin sınırı sırasıyla 0.4125  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 0.3786  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır.

Gölcü ve ark.<sup>22</sup> AML'nin kolorimetrik tayini için, AML'nin bromfenol mavisi ile pH 3.2'de renkli bir iyon-çifti kompleksi oluşumuna dayanan bir reaksiyon kullanmışlardır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi 6-30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında Beer kanununa uymaktadır ve regresyon eşitliği  $A=0.055C-0.018$ 'dir ( $r=0.9997$ ). Etkin maddenin ticari bir tablettten geri kazanımı etiket değerinin % 100.7'sidir ve ölçümlerin % BSS değeri % 1.24'dür. Sonuçlar tablet üreticisi firmanın kullandığı spektrofotometrik yöntemle istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Monkman ve ark.<sup>23</sup> AML etkin maddesinin insan plazmasında ve dış eti oluğu sıvısı içerisinde var olup olmadığının görülmesi için bir gaz kromatografisi yöntemi geliştirmişlerdir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonun ardından AML etkin maddesi türevlendirme ile uçucu hale getirilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Kardiyovasküler rahatsızlıklardan dolayı

AML tedavisi gören dört hastanın plazmaları ve diş eti oluğu sıvıları içerisindeki AML analiz edilmiştir. Tüm hastaların plazmalarında AML tespit edilmiş ve ayrıca aşırı diş eti büyümesi yaşayan hastaların diş eti oluğu sıvılarında 23'den 290 kata kadar daha yoğun olduğu tespit edilmiştir.

Bahrami ve ark.<sup>24</sup> insan serumundaki AML analizi için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. AML, serumdan etil asetat kullanılarak ekstrakte edilmiştir. HPLC sisteminde mobil faz olarak trietilamin ve metanol (50:50, h/h) kullanılmıştır. İnternal standart olarak propranolol kullanılmıştır. Standart kalibrasyon eğrisi, insan serumunda 0.25-16 ng ml<sup>-1</sup>'lik derişim aralığında lineer doğrusallık göstermiştir. Gün içi ve günler arası kesinlik çalışmalarında %BSS % 12'den düşük bir varyasyon göstermiştir. Yöntemin gözlenebilme sınırı serum için 0.25 ng ml<sup>-1</sup>'dir.

Vora ve ark.<sup>25</sup> tabletlerde bisoprolol fumarat ve AML maddelerinin aynı anda ölçülebilmeleri için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Hareketli faz olarak pH değeri 5.0 olan 25 mM amonyum asetat ve methanol (65:35, h/h) karışımı 0.8 ml dk<sup>-1</sup> akış hızı kullanılmıştır. Çalışmada C<sub>18</sub> ters faz kolonu (3 µm 50 × 4.6 mm i.d.) ve 230 nm'de ölçüm yapabilen UV dedektörü kullanılmıştır. Alıkonma süresi bisoprolol ve AML için sırasıyla 1.45 ve 3.91 dk'dır. Kalibrasyon eğrisi 8-33 µg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında çizilmiştir. Çalışmanın geri kazanım değeri her iki madde için sırasıyla % 99.1 ve % 98.6 olarak bulunmuştur.

Shah ve ark.<sup>26</sup> tabletlerde atorvastatin kalsiyum ve AML miktarlarının aynı anda tespit edilebilmesi için basit ve spesifik bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Kolon olarak C<sub>18</sub> (5 µm 250 × 4.6 mm i.d.) kullanılmıştır. HPLC yöntemi izokratik modda, 0.02 M potasyum dihidrojen fosfat:asetonitril:metanol (30:10:60, h/h/h) içeren bir hareketli fazla birlikte kullanılmıştır. Akış hızı 1.0 ml dk<sup>-1</sup>'dir. Atorvastatin kalsiyum ve AML maddelerinin alıkonma süreleri sırasıyla 11.6 ve 4.5 dk'dır. Lineer aralık atorvastatin

kalsiyum için 0.08-20  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve AML için 0.1-20  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında sağlanmıştır. Atorvastatin kalsiyum ve AML çözeltilerinin stabilite çalışması da yapılmış olup bozunmaya uğrayan maddeler için alıkonma sürelerinde önemli bir fark gözlenmiştir. Yöntem, atorvastatin kalsiyum ve AML maddelerini içeren kombine tabletlere uygulanmıştır.

Prajapati ve ark.<sup>27</sup> tabletlerde perindopril erbumin ve AML maddelerinin aynı anda miktar tayini için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Her iki etkin maddenin kromatografik ayrımı Eclipse XDB C<sub>8</sub> (150 mm x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 5 mM fosfat tamponu (pH 2.6):asetonitril kullanılmıştır. Akış hızı 1.0 ml dk<sup>-1</sup> olarak seçilmiştir. Analiz 8 dk içerisinde tamamlanmıştır. Lineer konsantrasyon aralığı perindopril erbumin için 8-60  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , AML için 10-75  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 'dir. Yöntemin kesinliği %BSS ile değerlendirilmiş ve %BSS<%2.0' dir.

Rajitha ve ark.<sup>28</sup> tabletlerde telmisartan ve AML maddelerinin aynı anda ölçümü için basit, kesin, doğru ve hızlı bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Kolon olarak Symmetry C<sub>18</sub> (4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) kullanılmıştır. Yöntemde gradient elüsyon modlu mobil faz kullanılmıştır. Akıs hızı 1.0 ml dk<sup>-1</sup> ve dedektör dalga boyu 245 nm olarak seçilmiştir. AML ve telmisartan için alıkonma zamanı sırasıyla 2.32 ve 3.52 dk'dır. Lineer derişim aralığı telmisartan için 32-96  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve AML için 4-12  $\mu\text{g ml}^{-1}$  'dir.

Chaudhari ve ark.<sup>29</sup> atorvastatin ve AML'nin aynı zamanda analizi için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Geliştirilen HPLC yönteminde asetonitril ve 50 mM potasyum dihidrojen fosfat tamponu (60:40, h/h) içeren hareketli faz ile Lichrospher® 100 C<sub>18</sub> (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4.0 mm i.d.) kolonu kullanılmıştır. Akış hızı 1.0 ml dk<sup>-1</sup> ve UV değerı 254 nm olarak seçilmiştir. Atorvastatin ve AML etkin maddeleri sıcaklık, asidik ve bazik baskı unsurlarına maruz bırakılarak stabilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrileri atorvastatin ve AML için sırasıyla 1-90  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 1-80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında

lineerdir. Ortalama geri kazanım sırasıyla % 99.76 ve % 98.12'dir. Yöntemin gözlenebilme sınırı atorvastatin ve AML için sırasıyla 0.4 ve 0.6 µg ml<sup>-1</sup>, miktar tayin alt sınırı ise her ikisi için de 1.0 µg ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Yöntem deneysel ortamda iki adet kombine kullanımlı olan ilaç formülasyonunda uygulanmıştır.

Üstün ve ark.<sup>30</sup> tarafından AML'nin IR Spektroskopisi ve HPLC yöntemleriyle kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir. IR Spektroskopisi yönteminde KBr tablet tekniği kullanılmış, disulfiram ise internal standart olarak seçilmiştir. Çalışmalarda spesifik absorpsiyon bantları olarak AML ve disulfiram için sırası ile 693 cm<sup>-1</sup> ve 913 cm<sup>-1</sup> seçilmiştir. AML için Beer yasasına göre uygun derişim aralığındaki regresyon denklemi  $y=0.652x+0.024$  ( $r^2=0.9968$ )'dir. Ortalama geri kazanım değeri ve bağıl standart sapma değerleri (BSS) IR spektroskopisi yöntemi için sırası ile % 98.2 ve % 1.63 olarak bulunmuştur. HPLC sisteminde Luna C<sub>18</sub> (5µm, 250 x 4.6 mm) kolon hareketli faz olarak su:metanol:fosfat tamponu (pH:3) (36:64:1, h/h/h) kullanılmıştır. Akış hızı 0.7 ml dk<sup>-1</sup>'dir. Çalışmada internal standart olarak mefrusid seçilmiştir. Ölçümler 275 nm'de yapılmış ve pikler AML ve mefrusid için sırası ile 11.5 ve 7.27 dakikadır. AML için lineer derişim aralığı 0.004-0.020 mg ml<sup>-1</sup>'dir. Regresyon denklemi  $y=0.846x-0.013$  ( $r^2=0.9950$ ) olup ortalama geri kazanım değeri ve bağıl standart sapma değeri sırası ile % 98.9 ve % 0.75 olarak bulunmuştur.

Chitlange ve ark.<sup>31</sup> AML ve valsartan maddelerinin HPLC yöntemindeki analizinde 1.0 ml dk<sup>-1</sup> akış hızında hareketli faz olarak asetonitril: fosfat tamponu (0.02 M, pH:3.0) karışımı (56:44 h/h), 234 nm dalga boyu, Kromasil C<sub>18</sub> (5µm, 250 x 4.6 mm) kolonu kullanılmıştır. AML ve valsartan için alıkonma süreleri sırasıyla 3.07 ve 6.20 dk olarak bulunmuştur. Bu yöntem aynı zamanda AML ve valsartan maddelerinin, çeşitli durumlarında meydana gelen bozunmuş ürünlerinin de varlığında, bu maddelerin tespiti

için kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem kesinlik, doğruluk, tekrarlanabilirlik ve sağlamlık açısından değerlendirilmiştir.

Klinkenberg ve ark.<sup>32</sup> AML kalıntılarının tespit edilmesi için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışma 25 °C'de ters faz C<sub>18</sub> kolonu, asetonitril:metanol:triethylamin (pH:3) (15:35:50, h/h/h) hareketli fazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma 237 nm dalga boyundaki UV dedektör ile gerçekleştirilmiştir. AML için lineer derişim aralığı 0.39-1.56 µg ml<sup>-1</sup>'dir. Yöntemin miktar tayin alt sınırı ise 0.08 µg ml<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır.

Sah ve ark.<sup>33</sup> tabletlerdeki AML miktarını (250 mm × 4.6 mm, 5µm) WATERS C<sub>18</sub> kolonu kullanarak geliştirmişlerdir. Hareketli faz olarak asetonitril, 70 mM potasyum dihidrojen ortofosfat tamponu:metanol (15:30:55, h/h/h) kullanılmıştır ve pH degeri 3'e sabitlenerek 2.60 dakikalık alıkonma zamanına sahip oldukça kesin ve etkili bir HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Hareketli faz akış hızı 1.0 ml dk<sup>-1</sup> değerindedir. AML için lineer derişim aralığı 0.5-8 µg ml<sup>-1</sup> dir. Yöntemin miktar tayin alt sınırı ise 0.20 µg ml<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır.

Ma ve ark.<sup>34</sup> insan plazmasında AML tayini ve farmakokinetik çalışması için ultra performanslı sıvı kromatografi ardışık kütle spektrometri (UPLC-MS/MS) yöntemi geliştirmişlerdir. Bu analiz C<sub>18</sub> kolonu (50mm × 2.1 mm, 1.7 µm) ve 0.35 ml dk<sup>-1</sup>'lık akış hızı ile gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak % 0.3'lük formik asit içeren su ve asetonitril kullanılmıştır. İnternal standart olarak da nimodipin kullanılmıştır. İyonizasyon tekniği olarak elektrosprey iyonizasyon (ESI) modu kullanılarak kuadropol kütle spektrometresi üzerinde analiz gerçekleştirilmiştir. Lineer derişim aralığı 0.15-16.0 ng ml<sup>-1</sup>'dir. Gün içi ve günler arası %BSS değerleri % 15'in altında, doğruluk degeri ise tüm üç kalite kontrol örneği için % bağıl hata ile verilmiş olup % -2.3 ile % 6.9 arasındadır. Yöntem, AML'nin, ağız yoluyla sağlıklı gönüllüler üzerinde kullanılması sonrasındaki biyoyararlanım çalışmasında kullanılmıştır.

Dongre ve ark.<sup>35</sup> tablet formunda metoprolol süksinat ve AML etkin maddelerinin aynı anda tayini için basit ve kesin bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Kromatografik ayırım üfotodiyot array dedektörü kullanılarak Hipersil BDS siyano (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. 1.0 mL dk<sup>-1</sup> akış hızına sahip olan yöntem ICH talimatlarına göre spesifik, doğrusal, doğru ve sağlam olduğu gösterilmiştir.

Shentu ve ark.<sup>36</sup> insan plazmasındaki AML'nin tayini için katı faz ekstraksiyonu kullanarak bir LC-MS/MS yöntemi kullanmışlardır. Plazmadan (10 mmx2 mm) HySphere C<sub>8</sub> kolonu ile katı-faz ekstraksiyon kullanılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. LC-MS/MS yönteminin derişim aralığı 0.10 ile 10.22 ng ml<sup>-1</sup> arasında doğrusaldır. Gün içi ve günler arası doğruluk değerleri % 8 civarındadır. Yöntemin kolay, az zaman alıcı ve diğer numune hazırlama yöntemlerine göre daha hızlı olduğu belirtilmektedir. Yöntem biyoeşdeğerlik analizlerinde başarıyla uygulanmıştır.

Qi ve ark.<sup>37</sup> insan plazması ve idrarında olmesartan ve AML miktarının aynı anda tayini için hassas ve hızlı bir UPLC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Kromatografik ayırım Acquity UPSK BEH C<sub>18</sub> ters faz kolonunda ESI modunda QTrap-5500 kütle spektrometresi kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Yöntem seçicilik, doğrusallık, doğruluk, kesinlik, stabilite ve matriks etkisi parametreleri ile valide edilmiştir. Bu yöntemin lineer doğrusallığı olmesartan için insan plazması ve idrar için sırasıyla 0.2-500 ng ml<sup>-1</sup> ve 4-5000 ng ml<sup>-1</sup>'dir. AML ise sırasıyla kan ve idrar için 0.1-50 ng ml<sup>-1</sup> ve 2-1000 ng ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Analiz süresi sadece iki dakikadır. Yöntem olmesartan ve AML maddelerinin farmakokinetiğini incelemek üzere sağlıklı gönüllüler üzerinde uygulanmıştır.

Bathula ve ark.<sup>38</sup> insan plazmasındaki AML miktarının tayini için, hızlı ve hassas bir UPLC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Ayırım işlemi ACQUITY (C<sub>18</sub> 100 x 2.1 mm, i.d, 1.7 µm) kolonunda, 10 mM'lik amonyum asetat tamponu (pH:4.5) ve metanol (20:80

h/h) karışımının izokratik şartlar altında 0.2 ml dk<sup>-1</sup> akış hızıyla hareketli faz olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. İnternal standart olarak ondansetron hidroklorit dihidrat kullanılmıştır. ESI kaynağı ile analiz gerçekleştirilmiştir. Lineer derişim aralığı 0.20-20 ng ml<sup>-1</sup>'dir. Gün içi ve günler arası % BSS değerleri % 15'in altındadır. Yöntemin gözlenebilme sınırı 0.1 ng ml<sup>-1</sup> ve miktar tayin alt sınırı ise 0.20 ng ml<sup>-1</sup> değerlerinde bulunmuştur. Yöntem, sağlıklı erkek gönüllülerde, ağız yoluyla aldıkları AML tabletlerinin kullanım sonrasındaki farmakokinetik çalışmasına için uygulanmıştır.

Zhou ve ark.<sup>39</sup> insan plazmasında AML, atorvastatin ve bunun metabolitleri ortohidrojen atorvastatin ve parahidrojen atorvastatin miktarlarının pozitif iyon ESI ile birlikte aynı anda analizi için yeni, hassas, basit ve kısa sürede tamamlanan bir ESI-LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Etkin maddeler insan plazmasından sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile alınmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü için metil tertbütil eter ve etil asetat karışımı (50:50) (h/h) kullanılmıştır. Kromatografik ayırım CAPCELLPAK (150 mm × 2.0 mm, 5 µm) kolonu üzerinde 6.0 dakika içerisinde, % 0.3 oranında formik asit içeren asetonitril ve amonyumdan oluşan bir hareketli fazda gerçekleştirilmiştir (50:50, h/h). Dağrusallık AML için 35-10.000 pg ml<sup>-1</sup>, atorvastatin için 35-25.000 pg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında sağlanmıştır. Yöntem 50 erkek gönüllü üzerinde, AML ve atorvastatin içeren tabletlerin farklı ilaçlarla kombinasyonunu inceleyen biyoeşdeğerlik çalışması için uygulanmıştır.

Chang ve ark.<sup>40</sup> AML ve bisoprololün plazmada miktar tayini için yeni ve hassas bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada internal standart olarak klenbuterol kullanılmıştır. AML'nin plazmadan ekstraksiyonu sıvı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. LC-MS/MS yönteminde Diamonsil C<sub>18</sub> kolonu (50 mm× 4.6 mm, 5 µm), metanol-su-formik asit birleşiminden oluşan (75:25:0.01, h/h/h) hareketli faz kullanılmıştır. Yöntemin analiz süresi 3 dk'dır. Yöntemin miktar tayin sınırı AML ve

bisoprolol için 0.2 ng ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Kalibrasyon eğrisi her iki etkin madde için de 0.2-50 ng ml<sup>-1</sup> derişim aralığında doğrusaldır. Geliştirilen yöntem Sprague Dawley sıçanlarında, farmakokinetik AML ve bisoprolol çalışmalarına başarıyla uygulanmıştır.

Karra ve ark.<sup>41</sup> insan plazmasında losartan ve aktif metabolitleri ile AML'nin aynı anda tayini için basit, hızlı ve hassas bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada internal standart olarak irbesartan kullanılmıştır. Etkin maddeler insan plazması örneklerinden katı faz ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmada C<sub>18</sub> kolonu, 85:15, h/h oranlarındaki metanol ve % 0.1 h/h oranındaki formik asit karışımının 1.0 ml dk<sup>-1</sup> akış hızıyla hareketli faz olarak kullanılmasıyla yöntem optimize edilmiştir. Lineer derişim aralığı losartan ve aktif metaboliti için 0.5-1000 ng ml<sup>-1</sup>, AML için ise 0.05-10.1 ng ml<sup>-1</sup> derişimde doğrusaldır. Gün içi ve günlerarası kesinlik ve doğruluk çalışmalarının sonuçları kabul edilebilir seviyede bulunmuştur.

Sirikatitham ve ark.<sup>42</sup> insan plazmasındaki AML miktarını tayin etmek için, internal standartı tizanidin olan, pozitif iyonizasyon modunda çalışan hassas, spesifik, ESI ile kombine bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. AML plazmadan dietileter/diklorometan (70/30, h/h) karışımıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonu kullanılarak elde edilmiştir. Kromatografik ayırım C<sub>18</sub> analitik kolonunda, izokratik şartlar altında, 10 mM'lik amonyum format/metanol/asetonitril (30/50/20, h/h/h) karışımının 1.0 ml dk<sup>-1</sup> hızıyla hareketli faz olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. AML için m/z 409.4, 238.1 ve internal standart için m/z 254.2, 44.1 değerlerine sahip iyonlar seçilmiştir. Plazmada AML'nin lineer derişim aralığı 0.3-15.0 ng ml<sup>-1</sup>'dir. Çalışmada %BSS % 10'un altında olup plazmadan gerikazanım % 94.87 ile % 102.44 arasında bulunmuştur. LC-MS/MS yöntemi, tek bir dozda (10 mg'lık tablet) sağlıklı gönüllülere oral uygulandıktan sonra biyodeşğerlik çalışmasında başarıyla uygulanmıştır.

## 2.5. ROS ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Uyar ve ark.<sup>43</sup> ROS'un farmasötik preparatlarda tayini için UV spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Standart ve tablet çözeltilerinin hazırlanmasında çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Ölçümler ROS'un maksimum absorbands gösterdiği 243 nm dalga boyunda yapılmıştır. Çalışmanın lineer aralığı 1.0-60 µg ml<sup>-1</sup> arasındadır. Yöntemin miktar tayin sınırı 0.33 µg ml<sup>-1</sup>'dir. Valide edilen yöntem daha sonra farmasötik preparatlara uygulanmıştır.

Braga ve ark.<sup>44</sup> ROS'un idrarda moleküler floresans yöntemi ile miktarını tayin etmek için bir yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmada maksimum analitik sinyallere ulaşmak gayesiyle pek çok parametre optimize edilmiştir. Ayrıca matriks etkisinden kaçınmak amacıyla idrar numuneleri sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Çalışmanın gözlenebilme sınırı ve miktar tayin sınırı sırasıyla 0.38 mg L<sup>-1</sup> ve 1.28 mg L<sup>-1</sup>'dir ve geri kazanım % 90'dır.

Gupta ve ark.<sup>45</sup> tabletlerde ROS etkin maddesinin tayini için UV spektrofotometri yöntemiyle yeni, basit ve hızlı bir yöntem geliştirmişlerdir. Çalışmanın lineeritesi 2-18 µg ml<sup>-1</sup> arasında sağlanmıştır. Yöntemin doğruluk ve kesinliği iyi bulunmuştur. Analizin sonuçları geri kazanım çalışmaları ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Uyar ve ark.<sup>46</sup> ROS'un elektrokimyasal davranışlarını dönüşümlü voltametri ve kronoamperometri yöntemleri ile incelemişlerdir. ROS'un indirgenmesi sonucu oluşan akımın difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. ROS'un voltamogramı incelendiğinde dönüşümsüz olduğu görülmektedir. Dönüşümlü voltametri yöntemi ile yapılan çalışmalarda ROS'un difüzyon katsayısı 5.79x10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup> sn<sup>-1</sup> olası mekanizma önerisine göre aktarılan elektron sayısının 2 olduğu hesaplanmıştır. ROS'un (pH:5) asetat tamponu destek elektroliti içerisinde çalışma elektrotu olarak asılı duran civa elektrotu, referans elektrot olarak Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak platin elektrot sistemi kullanılarak -1184

mV'da indirgenme piki gözlenmiştir. ROS için doğrusallık 0.2-10.00  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında bulunmuştur. Çalışmanın gözlenebilme sınırı ve miktar tayin sınırı sırasıyla 0.07 ve 0.20  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar literatürdeki UV spektrofotometrik ve kapiller elektroforez yöntemlerinin sonuçları ile karşılaştırılmış aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Süslü ve ark.<sup>47</sup> ROS'un farmasötik preparatlarda tayini için bir kapiller elektroforez yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntemde optimizasyon çalışmaları sonucunda 50 mM pH:9.5 borat tamponu, 30 °C kapiler sıcaklığı ve 25 kV voltaj uygulanmıştır. Çözeltiler 5 mbar basınçla 5 saniye boyunca enjekte edilmiştir. Ölçümler 243 nm dalga boyunda yapılmıştır. İnternal standart olarak diflunisal kullanılmış olup ROS ve internal standart için alıkonma süresi sırasıyla 3.20 ve 4.20 dk bulunmuştur. Doğrusal aralığı 3.0-200  $\mu\text{g ml}^{-1}$  arasında sağlanmıştır. Yöntemin gözlenebilme sınırı 1  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve miktar tayin alt sınırı 3.00  $\mu\text{g ml}^{-1}$  bulunmuş ve geliştirilen yöntem farmasötik preparatlara uygulanmıştır.

Gao ve ark.<sup>48</sup> insan plazmasında ROS etkin maddesinin tayini için hassas bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Plazma örnekleri etil eter ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile hazırlanmıştır. Kromatografik ayırım Zorbax XDB-C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm i.d. 5 $\mu\text{m}$ ), hareketli faz metanol-su (75:25, h/h, pH değeri seyreltik amonyak ile 6'ya ayarlanmıştır) ile yapılmıştır. Çalışmada internal standart olarak hidroklorotiazidin kullanılmıştır. Lineer derişim aralığı 0.020 ile 60.0 ng  $\text{ml}^{-1}$  arasında oluşturulmuştur. Gün içi ve günler arası kesinlik % BSS ile ve doğruluk değerleri % bağıl hata ile ifade edilmiş olup sırasıyla % 8.5 ve % 1.9 olarak bulunmuştur. Yöntem 5, 10 ve 20 mg ROS ilacının gönüllüler tarafından ağız yoluyla alınmasının ardından ROS etkin maddesinin farmakokinetik çalışması başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Shah ve ark.<sup>49</sup> insan serumunda ROS ve atorvastatin etkin maddelerinin aynı anda tayini için yeni, kesin, doğru ve hızlı bir izokratik ters fazlı HPLC yöntemi

geliştirmişlerdir. Yöntemde analitik C<sub>18</sub> kolonu (150 × 4.6 mm, 5 µm), metanol-su (68:32, h/h; pH değeri triflüoroasetik asit ile 3.0'e ayarlanmış) karışımının 1.5 ml dk<sup>-1</sup> akış hızında ve 241 nm dalga boyunda hareketli fazı kullanılmıştır. Lineer derişim aralığı ROS için 2.0-256 ng ml<sup>-1</sup> ve atorvastatin için 3.0-384 ng ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Yöntemin gözlenebilme sınırı ve miktar tayin alt sınırı ROS için 0.6 ve 2.0 ng ml<sup>-1</sup> iken atorvastatin için 1.0 ve 3.0 ng ml<sup>-1</sup> değerlerindedir. Analiz 7.0 dk'da tamamlanmıştır.

Hull ve ark.<sup>50</sup> insan plazmasında ROS etkin maddesinin metaboliti olan N-desmetil ROS'un tayini için bir ESI-LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Plazma örnekleri katı-faz ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanmıştır. İnsan plazmasındaki N-desmetil ROS için lineer derişim aralığı 0.5-30 ng ml<sup>-1</sup> arasında doğrusaldır. Yöntemin gözlenebilme sınırı 0.5 ng ml<sup>-1</sup>'dir.

Trivedi ve ark.<sup>51</sup> insan plazmasında ROS ve fenofibrik asitin aynı anda miktar tayini için yeni, hassas ve spesifik bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada 0.5 mL insan plazması ve internal standart olarak karbamazepin kullanılmıştır. Plazmadan gerikazanım sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma X-Terra MS C<sub>18</sub> kolonu (4.6 mm × 50 mm, 5.0 µm) 0.05 M formik asit:asetonitril (45:55, h/h) karışımının hareketli fazı ve 0.4 ml dk<sup>-1</sup> akış hızı kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Alıkonma süreleri sırasıyla ROS, fenofibrik asit ve internal standart için sırasıyla 2.35, 4.70 ve 2.32 dk'dır. Lineer derişim aralığı ROS ve fenofibrik asit için sırasıyla 1.0-50.0 ng ml<sup>-1</sup> ve 0.5-20.0 ng ml<sup>-1</sup>'dir. ROS ve fenofibrik asit etkin maddelerinin geri kazanım oranları sırasıyla % 74.61 ve % 69'dur. ROS ve fenofibrik asit için miktar tayin alt sınırı sırasıyla 1.00 ng ml<sup>-1</sup> ve 0.50 ng ml<sup>-1</sup>'dir. Gün içi ve günler arası kesinlik değerleri ROS kalite kontrol örneklerinde 5, 15, 400 ve 800 ng ml<sup>-1</sup> değerlerindedir ve % BSS değerleri % 9.37'den küçüktür. Plazmadan ROS ve fenofibrik asit için gerikazanım değerleri ise sırasıyla % 88.1-108 ve % 87-115 arasındadır.

Lan ve ark.<sup>52</sup> insan plazmasında ROS etkin maddesinin miktar tayini için basit ve hassas bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Plazma, asetik asit ve tetrabutyl amonyum hidroksit çözücülerıyla sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile hazırlanmıştır. Kromatografik ayırım Phenomenex Luna C<sub>18</sub> kolonu, % 2 oranındaki formik asit/metanol (20:90, h/h) hareketli fazı ve 1.00 mL dk<sup>-1</sup>'lık akış hızı ile gerçekleştirilmiştir. ROS etkin maddesi ve internal standartın alıkonma süreleri sırasıyla 2.3 ve 3.4 dk'dır. ROS için m/z 482 258, internal standart için m/z 271 253 SIM iyonlar kullanılmıştır. Çalışmanın lineer derişim aralığı 0.1-20 ng ml<sup>-1</sup> ve miktar tayin alt sınırı 0.1 ng ml<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir.

Beludari ve ark.<sup>53</sup> ROS ve ezetimib etkin maddelerinin miktarlarının aynı anda tayin edilebilmesi için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada ters faz modunda Water's C<sub>18</sub> (250 x 4.6 mm, 5 µm) kolonu, asetonitril:su:0.02 M fosfat tamponu (pH 8) (40:10:50 h/h) hareketli fazı kullanılmıştır. Çalışmanın lineer derişim aralığı 30-90 µg ml<sup>-1</sup>'dir. Ticari preparatlarda geri kazanım % 98 ile % 100 arasında seyretmiş, % BSS değeri ise %2'den küçük görülmüştür.

Hull ve ark.<sup>54</sup> insan plazmasındaki ROS etkin maddesinin miktar tayini için katı-faz ekstraksiyonu sonunda bir LC-MS/MS yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmanın lineer derişim aralığı insan plazmasında 0.1-30 ng ml<sup>-1</sup> arasında doğrusaldır. Yöntemin miktar tayin alt sınırı 0.1 ng ml<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiş olup %BSS değeri % 8 olarak bulunmuştur.

Nasir ve ark.<sup>55</sup> timolol, ROS ve diklofenak sodyum etkin maddelerinin tablet, insan plazması ve göz içi sıvısında aynı anda tayini için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada Hypersil BDS C<sub>18</sub> kolonu (250 mm × 4.6 mm, 5 µm), olarak % 0.2 oranında trietilamin ve asetonitril (40:60, h/h) hareketli faz karışımı kullanılmıştır. Kolon akış hızı 1 ml dk<sup>-1</sup> ve 45 °C olarak 284 nm'de analiz gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sıvı-sıvı ekstraksiyonu prosedürü sonrası geri kazanım oranları sırasıyla timolol, ROS ve diklofenak sodyum için sırasıyla % 98.72, % 96.04 ve % 95.14 olarak bulunmuştur.

Varghese ve ark.<sup>56</sup> insan plazmasında ezetimibe ve ROS'un aynı anda tayini için ESI ile bir LC-MS yöntemi geliştirmişlerdir. Plazmadan numune hazırlanması sıvı-sıvı ekstrasyonunu yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. İnternal standart olarak atorvastatin kullanılmıştır. Çalışmanın lineer derişim aralığı 0.1-10 ng ml<sup>-1</sup> 'dir. Analiz süresi 4 dk olarak belirlenmiştir.

Tajane ve ark.<sup>57</sup> farmasötik preparatlarda ROS ve AML etkin maddelerinin aynı anda miktar tayini için bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Analiz esnasında Kromasil C<sub>18</sub> (5 µm, 4.6 x 250 mm) kolon ve UV detektör (251 nm) kullanılmıştır. Hareketli faz kompozisyonunda birkaç modifikasyon yapılarak kromatografik sistemin seçiciliğinin değişebilme olasılığı üzerinde durulmuştur. Bu modifikasyonlar ROS ve AML maddelerinin organik düzenleyici, pH ve akış hızı oranlarının değiştirilmesini içermektedir. Lineer derişim aralığı sırasıyla ROS için 1-160 µg ml<sup>-1</sup> ve AML için 0.5-80.0 µg ml<sup>-1</sup> 'dir. Yöntemin gözlenebilme sınırı ve miktar tayin alt sınırı ROS için 0.11, 0.34 µg ml<sup>-1</sup> ve AML için 0.06, 0.19 µg ml<sup>-1</sup> ' dir. Farmasötik preparatta geri kazanım oranları ROS ve AML için sırasıyla % 99.55 ve % 99.67' dir.

Banerjee ve ark.<sup>58</sup> AML ve ROS etkin maddelerinin aynı anda tayini için basit bir HPLC yöntemini geliştirmişlerdir. Bu yöntemde Kromasil C<sub>18</sub> (100 mm x 4.6 mm, 5 µm) kolonu kullanılmıştır. Kullanılan hareketli faz bileşimi (asetonitril 40, 55, 70, 40, 40):(fosfat tamponu 60, 45, 30, 60, 60) şeklindedir. UV analizi 239 nm'de gözlenmiştir. AML ve ROS için alıkonma zamanı sırasıyla 2.40 ve 4.28 dk olarak elde edilmiştir. Gün içi ve günler arasında %BSS % 2'nin altında olarak görülmüştür. Lineer derişim aralığı AML için 1-150 µg ml<sup>-1</sup> ve ROS için 0.5-100.0 µg ml<sup>-1</sup>'dir.

## 2.6. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimya, maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesi sonucu ortaya çıkan kimyasal dönüşümler ile fiziksel değişimleri ve ayrıca kimyasal enerjinin elektrik

enerjisine çevrilmesini inceleyen bilim dalıdır. Elektrokimyasal tekniklerde elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki uygulanır ve bu etki sonucu sistemin verdiği cevap incelenir.

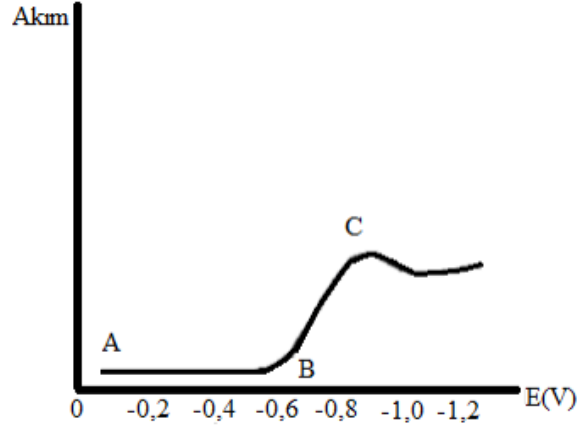
Elektrokimyasal bir sistemde katot ve anot olmak üzere iki elektrot bulunur. Bir elektrokimyasal hücrede indirgenme reaksiyonunun olduğu elektrot katot, yükseltgenmenin olduğu elektrot ise anottur.

Elektroanalitik yöntemler üç ana grupta toplanabilir:

1. Potansiyel, akım, direnç, iletkenlik, sığa ve elektrik miktarı gibi değişkenler ile derişim arasındaki ilişkilerin incelenmesine dayanan voltametrik yöntemler.
2. Elektriksel ölçümler ile volumetrik analizde dönüm noktası tayinine dayanan voltametrik yöntemler, örneğin potansiyometrik, amperometrik ve konduktometrik titrasyonlar.
3. Elektrolitin bileşenlerinin elektrik akımı ile faz değiştirmesine dayanan yöntemler.<sup>31</sup>

### **2.6.1. Voltametri**

Voltametri, bir çalışma elektrotunun polarize olduğu şartlar altında uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden faydalanılarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemi kapsar. Voltametri de elektrokimyasal hücreye değiştirilebilen potansiyel uyarma sinyalleri uygulanır ve bu uyarma sinyalleri, yöntemeye göre karakteristik akım oluşturur. Elektrokimyasal reaksiyon sonucu, çalışma elektrotunda oluşan akıma karşı, çalışma elektrotunun potansiyelinin grafiği voltamogramı verir. Tipik bir voltamogram Şekil 2.3’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.3.** Voltamogram

Şekil 2.3'teki voltamograma göre, başlangıçta (A noktasında) akım çok düşüktür. Safsızlık ve çift tabaka yükleme (elektrot yüzeyi kondansatör gibi davrandığından) sebebiyle A ve B noktaları arasında akım yavaşça yükselir. Bu genellikle zemin akım olarak adlandırılır. B noktasında potansiyel, yükseltgenmiş türlerin indirgenme potansiyeli değerine yaklaşır. Potansiyel artışı elektronların, elektrottan yükseltgenmiş türe doğru artan bir hızla geçmesine sebep olur. İndirgenmedeki hız artışı hücredeki akımı da artırır. Bu artış sürekli devam etmez. Şekil 2.3'te görüldüğü gibi C noktasında bir pik ile sonlanır.<sup>59</sup>

Voltametri ve polarografi ilaç analizlerinde ilk kez 1954 Çekoslovak farmakopesinde kullanılmıştır. Polarografi ile saf etkin maddenin yanında çok kompleks bir karışım olsa bile (çözünmeyen ilaç katkı maddeleri, serum yada plazmada bulunan endojen maddeler vb.) aktif maddelerin analizi duyarlılıkla ve herhangi bir girişim olmaksızın yapılabilmektedir.<sup>60</sup>

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

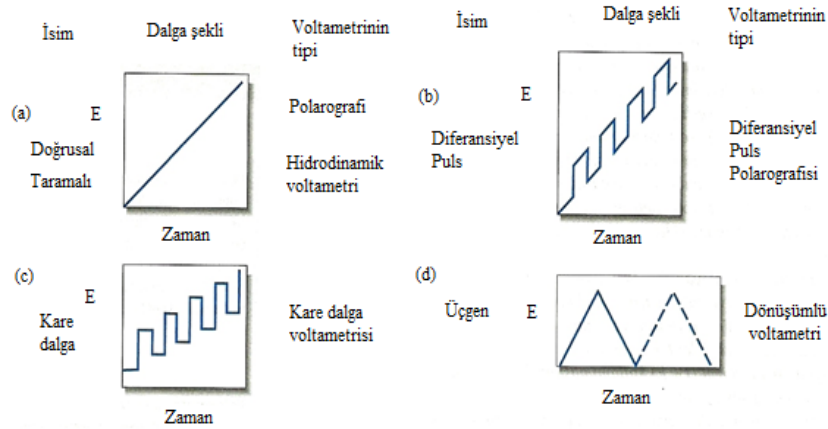
Bu yöntemin diğer analitik yöntemlere üstünlüğü ise; az miktarda maddenin analiz için yeterli olması, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları, analitlerin ön saflaştırma

işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması, fazla çözücü gerektirmemeleri ve hassas birer yöntem olmalarıdır.<sup>61,62</sup>

Tablet, kapsül, süspansiyon, şurup vb. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya katkı maddelerinin genelde elektroaktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerin diğer bir üstünlüğü de pahalı ve az miktardaki ilaçların analizinde de çok az miktarda numuneye çalışma imkanı verdiği için kullanılabilirliği.<sup>62-64</sup>

### 2.6.1.1. Voltametri Uyarma Sinyalleri

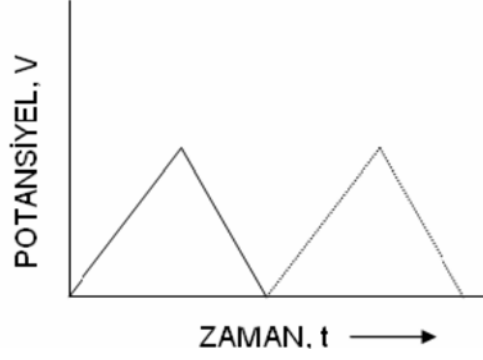
Voltametri, bir mikroelektrot içeren elektrokimyasal hücreye değiştirilebilir bir potansiyel "uyarma sinyali" uygulanır. Voltametri en çok kullanılan uyarma sinyallerinden dördü Şekil 2.4'te verilmiştir.<sup>65</sup>



Şekil 2.4. Voltametri en çok kullanılan uyarma sinyalleri

### 2.6.1.2. Dönüşümlü Voltametri

Durgun bir çözelti içinde bulunan çalışma elektroduna uygulanan potansiyel polarizasyon dalgasının düzgün bir şekilde değiştirilmesi sonucu oluşan akım-potansiyel davranışını inceleyen elektrokimyasal yöntemdir. Dönüşümlü voltametri yöntemi nitel analiz için kullanılan en yaygın elektrokimyasal yöntemdir.<sup>66</sup>

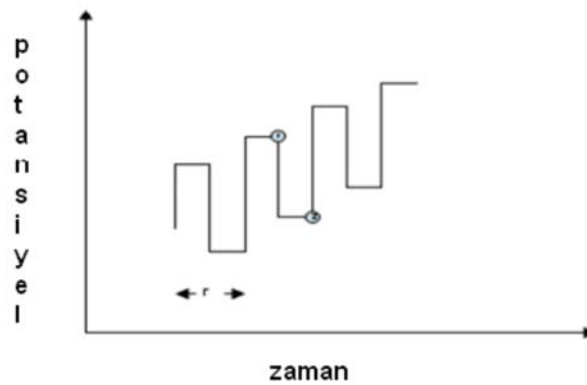


Şekil 2.5. Dönüşümlü voltametri potansiyel-zaman grafiği

Dönüşümlü voltametri yönteminde, uygulanan potansiyel önce bir yönde sonra ters yönde taranırken akım ölçülür. Bir dönüşümlü voltametri deneyinde tek bir tam döngü, bir yarım döngü veya birçok döngüler kullanılabilir. Taramanın ters döndüğü potansiyellere dönüş potansiyeli denir. Belli bir deneyde, dönüş potansiyelleri, bir veya daha çok sayıda türün difüzyon kontrollü yükseltgenmesini veya indirgenmesini gözlemeyi mümkün kılacak şekilde seçilir. İlk taramanın yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak negatif yönde olabileceği gibi, bunun tersi de olabilir. Daha negatif potansiyellere doğru gidilerek tarama yapılıyorsa, buna ileri tarama, diğer yöndekine de geri tarama denir.

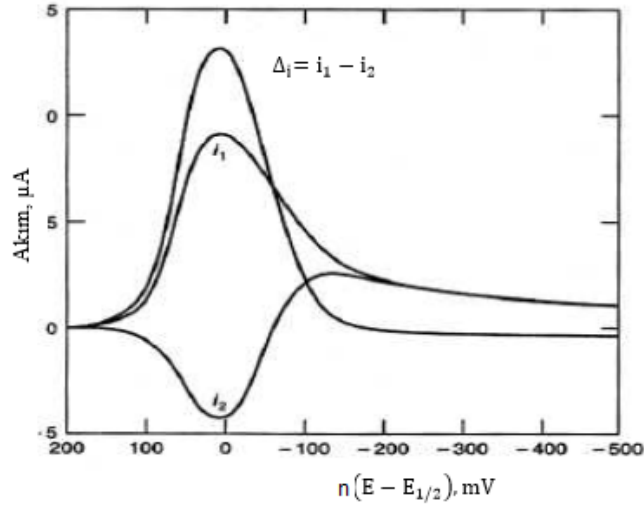
### 2.6.1.3. Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls voltametri tekniğidir. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha az sürede elde edilir.



Şekil 2.6. Kare dalga voltametri potansiyel-zaman grafiği

Şekil 2.6'da kare dalga voltametrisinde elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Basamaklı sinyalde her basamağın boy ve puls periyodu eşit olup bu yaklaşık 5 ms civarındadır.



Şekil 2.7. Kare dalga voltamogramı

Şekil 2.7'de bir tepkime için alınan kare dalga voltamogramı gösterilmektedir. Kare pulsun ileri ve geri uygulamalarındaki iki noktaya ait akım değerlerinin farkları alınarak net akım hesaplanmaktadır. Akımlardan birinin değeri negatif olduğu için fark akımların toplamını vermektedir. Kare dalga voltametrisinin tayin sınırları  $10^{-7}$  ile  $10^{-8}$  M olduğundan dolayı hem süresinin daha kısa oluşu hem de tayin sınırının düşük olmasından dolayı elektroanalizde çok kullanılan bir yöntemdir.

#### 2.6.1.4. Diferansiyel Puls Voltametri

Elektroanaliz ve elektrokimyasal çalışmalarda kapasitif akımın faradayik akımdan ayrılması için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemlerde faradayik akımın kapasitif akıma oranı yüksektir. Bu çalışma elektroduna uygulanan pulsun ve uygulamadaki akımın

ölçülme şeklinden kaynaklanmaktadır. Her bir pulsta iki ölçüm alınır. Birinci ölçüm puls uygulamadan hemen önce alınırken ikinci ölçüm ise puls bitmeden alınmalıdır. Net akım, son akım ile ilk akımın farkı alınarak bulunmakta ve yapılan fark alma işlemi kapasitif akımın yok edilmesi olarak bilinmektedir.<sup>67</sup>

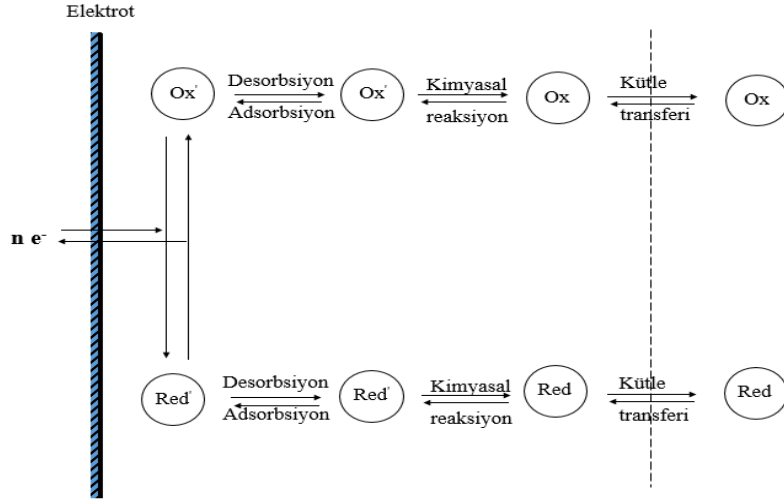
### **2.6.2. Elektrokimyanın Temel Kavramları**

Bu bölümde elektrokimyadaki temel kavramlardan, elektrot reaksiyonlardan ve hücre kimyasından bahsedilmiştir. Elektrot tepkimeleri, iletken ya da yarı iletken bir madde ile çözelti ara yüzeyinde elektron aktarımı yoluyla meydana gelen elektrokimyasal değişimlerdir. Elektrot tepkimelerinde anot ve katot olmak üzere iki çeşit elektrot vardır. Anot; çözeltilen elektroda elektron aktarımının olabildiği yani yükseltgenmenin gerçekleştiği elektrottur. Katot; elektrottan çözeltilen elektroya elektron aktarımının olabildiği yani indirgenmenin gerçekleştiği elektrottur. Katot materyali olarak platin, altın, karbon gibi metaller ya da kurşun, bakır gibi geçiş metalleri kullanılabilirken, anot olarak belirtilen inert metallerin yanı sıra metal oksitler kullanılabilir. Anot tepkimelerinde akım negatif yönlü, katot tepkimelerinde ise akım pozitif yönlü olarak kabul edilmektedir. Elektrot yüzeyinde değişikliğe uğrayan elektroaktif yapıya sahip organik veya inorganik maddeler çözücü yardımıyla çözülmüş halde ya da elektrot yüzeyine kaplı ince bir film şerit halinde bulunabilmektedir. Tepkimelere elektrodun kendisi de katılabilmektedir.

### **2.6.3. Elektrot Reaksiyon Çeşitleri**

“Ox” ile gösterilen bir maddenin elektron aktarımı yoluyla “Red” maddesine dönüşmesi elektrot çözelti ara yüzeyinde (Şekil 8);

- a) “Ox” maddesinin çözeltilen elektrot yüzeyine taşınmasıyla,
- b) “Ox” maddesinin elektrot yüzeyinde indirgenmesi için elektrot aktarımı,
- c) Oluşan “Red” maddesinin çözeltilen elektroya taşınması olayları gerçekleşebilir.<sup>39</sup>



**Şekil 2.8.** Elektrot reaksiyonları

### 2.6.3.1. Kütle Transferi

Elektroaktif türlerin elektrokimyasal redüksiyon veya oksidasyonu, elektrot- çözelti ara yüzeyinde çok ince bir çözelti tabakasında (~30 nm) gerçekleştiğinden ana çözeltilerden elektrot yüzeyine reaksiyona giren türlerin devamlı aktarımını gerektirir. Kütle transferi denilen maddenin elektrot yüzeyine taşınması olayı; difüzyon (rastgele hareket), konveksiyon (karıştırma) ve migrasyon (göç) şekilde meydana gelebilir.

### 2.6.3.2. Kimyasal Reaksiyonlar

Bir elektrot reaksiyonu sonucu oluşan ürün kararlı olmayabilir. Bu durumda, elektroaktif maddenin elektron transferiyle oluşturduğu kararsız ara ürün kimyasal reaksiyonla sonuç ürüne dönüşür.



Redüktantın P'ye dönüşümü 3 farklı yolla olabilir;

1. Redüktant ara ürünü elektrottan uzaklaştıktan sonra çözelti içerisinde homojen reaksiyon ile P'ye dönüşür.
2. Elektrot yüzeyinde adsorplanmış redüktant heterojen reaksiyon ile P'ye dönüşür.
3. Ortamda bulunan bir reaktif (çözücü, elektrolit) ile etkileşerek P'ye dönüşür.

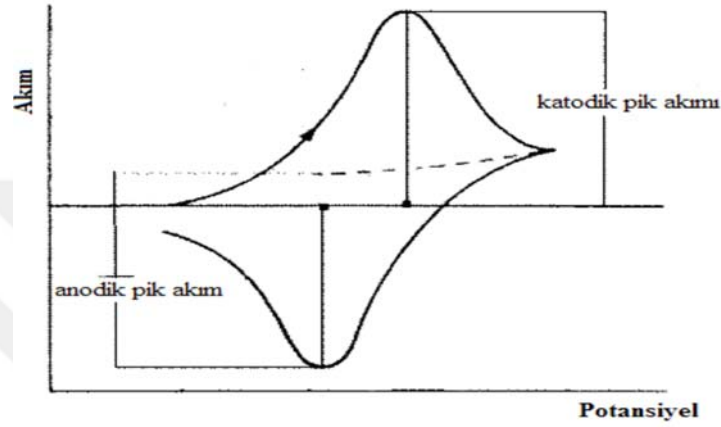
### **2.6.3.3. Adsorpsiyon Kontrollü Reaksiyonlar**

Adsorpsiyon; çözültide bulunan molekül ve iyonların elektrodun yüzeyine farklı yollarla tutunması olarak tanımlanmaktadır. Adsorpsiyon sonucu elektrot yüzeyine bağlanan iyon ve moleküller ile elektrot yüzeyi arasında farklı türde bağlar oluşmaktadır. Genellikle beklenilmeyen elektrokimyasal davranışlar adsorpsiyon olayıyla açıklanmaktadır. Elektroaktif türlerin adsorplanması tepkime kinetiğinde değişmeye ve tepkime hızının azalmasına neden olmaktadır. Bu değişiklik elektron aktarımını sağlayan aktif yüzeyin azalmasından ve elektron aktarımının elektrot yüzeyinden uzakta meydana gelmesinden kaynaklanır. Elektroaktif maddelerin adsorplanması ortamda gerçekleşen elektron aktarımının termodinamiğinde değişikliklere yol açmaktadır. Elektrot yüzeyine adsorbe olan türler yüksüz organik moleküller, metal katyonlar, inorganik türler şeklinde bulunabilmektedirler. Anyonların adsorpsiyonu elektrodun pozitifliği arttıkça artmakta yüksüz organik moleküllerin adsorpsiyonu ise hidrofobik özellik arttıkça artmaktadır (organik maddelerde bulunan pi elektronları ve bağ yapmamış elektron çifti bulunduran azot, molekülün adsorpsiyonunu artırır). Yüksüz organik moleküller genellikle yüksüz elektrotlara adsorbe olmaktadır. Elektrot yüzeyi farklı yüklerle yüklendikçe polar su molekülleri elektrot ile etkileşmekte ve ortamdaki yüksüz organik moleküller su molekülleriyle yer değiştirmektedir.

## 2.6.4. Mekanizma Çeşitleri

### 2.6.4.1. Tersinir Reaksiyonlar

Tersinir tepkimelerde yüzeyde elektron aktarım hızlı gerçekleşmektedir. Bir tepkime yavaşsa ve potansiyel tarama hızı arttırılırsa tepkimede kararsız hal difüzyonu artar (Şekil 2.9).



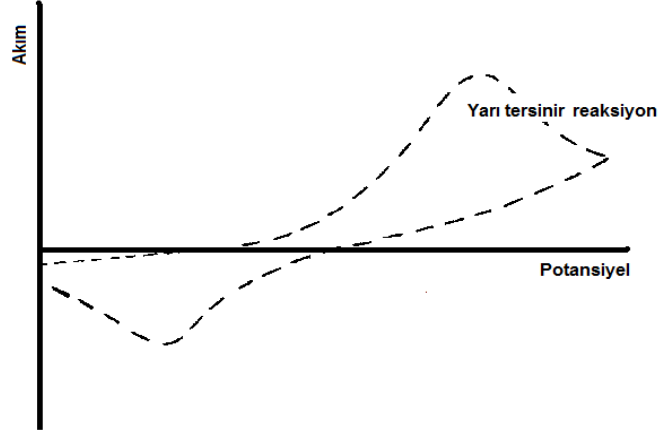
Şekil 2.9. Tersinir bir reaksiyon için alınan dönüşümlü voltamogram

Dönüşümlü voltametri çalışmalarından yararlanılarak bir tepkimenin tersinir olup olmadığının belirlenmesinde aşağıdaki kriterler kullanılır:

- $E_p^k - E_p^a = 59/n$  mV veya  $E_p - E_{p/2} = 57/n$  mV'tur.
- $E_p$  tarama hızı ile değişmez.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez.
- $i_p/v^{1/2}$ , tarama hızıyla değişmez.
- Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.

### 2.6.4.2. Yarı Tersinir Reaksiyonlar

Yarı tersinir tepkimelerde akım, difüzyon hızı ve elektron aktarım hızı ile birlikte kontrol edilir. Redoks çiftinin elektrot yüzeyindeki derişimlerinin değişmesinde difüzyon ve kinetik olaylarının her ikisi de etkilidir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Yarı tersinir bir reaksiyon için alınan dönüşümlü voltamogram

Bu sebeple difüzyon ve kinetik eşitlikleri birlikte çözülür. Bu tür mekanizmalarda sistem tersinir ve tersinmez mekanizmalar arasında davranış sergiler.

Bir tepkimenin yarı-tersinir olduğunun belirlenmesinde de dönüşümlü voltametri çalışmalarından elde edilen verilerden yararlanır. Bu amaçla, aşağıdaki kriterler incelenir.<sup>67</sup>

Yarı-tersinir bir sistem için:

- $i_p/v^{1/2}$  tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ 'dir.
- $E_p^k$  tarama hızı ile değişir. Bu değişme genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.

- $E_p^k - E_p^a$  farkı düşük tarama hızlarında  $59/n$ 'e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.

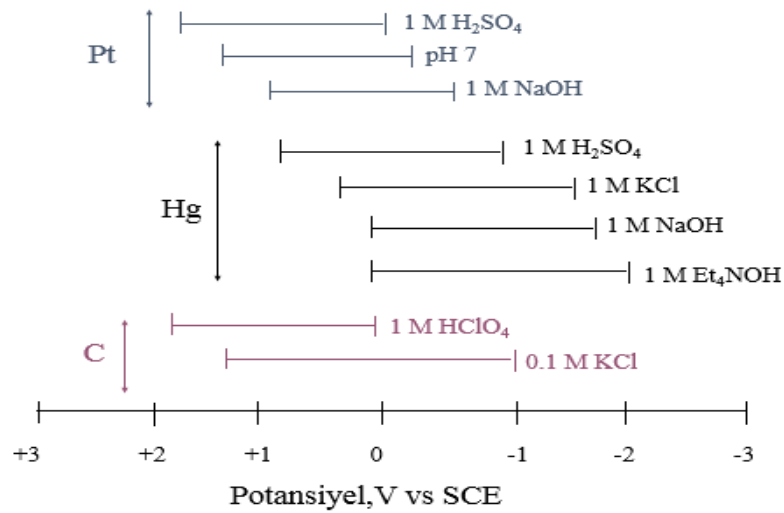
### 2.6.4.3. Tersinmez Reaksiyonlar

Elektrokimyasal olarak bir elektrot tepkimesinin tersinmez olduğunu gösteren ilk gözlem dönüşümlü voltametri çalışmalarında ters tarama yönünde herhangi bir pikin gözlenmemesidir. Bunun yanında;

- $E_p^a - E_p^k > 59/n$  mV veya  $E_p - E_{p/2} = 48/n$  mV'tur.
- $E_p$  tarama hızı ile değişir. Tarama hızı arttırıldıkça anodik pikler daha anodik potansiyele, katodik pikler ise daha katodik potansiyele kaymaktadır.

### 2.6.5. Destek Elektrolit Seçimi

Elektrokimyasal reaksiyonda, elektroaktif maddeyi çözecek çözücünün yüksek dielektrik sabitine sahip olması gerekir. Diğer önemli husus ise, çözücünün parçalanma potansiyelinin elektroaktif bileşiğinkinden büyük olmasıdır. Aksi halde çözücünün kendisi reaksiyona girer. Aynı durum destekleyici elektrolit için de geçerlidir. Bu yüzden destekleyici elektrolit inert olarak seçilmelidir. Sulu ortamda böyle bir problem yoktur (Şekil2.11).



Şekil 2.11. Çözücü, destekleyici elektrolitler ve potansiyel ilişkisi

### **2.6.6. Elektroanalitik Yöntemlerin Kullanım Alanları**

- Çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilen kantitatif tayinler
- Kalitatif tayinler
- Elektrot reaksiyon mekanizmalarının belirlenmesi
- Oksidasyon basamağı, sitokiyometri, reaksiyon hızı ve yük transferinin belirlenmesi
- Kütle aktarımı ve adsorbsiyon olaylarının incelenmesi
- Standart elektrot potansiyellerinin belirlenmesi
- Kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyon denge sabitlerinin belirlenmesi
- Difüzyon katsayılarının belirlenmesi
- Elektrot yüzey alanlarının tespiti
- Korozyon çalışmaları
- Organik veya inorganik materyallerinin ince filmlerinin oluşturulması
- Elektrokimyasal polimerizasyon
- Enerji üretimi
- Elementlerin geri kazanımı

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

Geçerlilik Testi (Validasyon), ürünlerin değerlendirme prosesinde, kalitatif veya kantitatif analizlerde seçilen yöntem ya da yöntemlerin bu analiz işlemlerinde uygulanabilir olduğunu göstermek için yapılan testlerin tümüdür.<sup>68,69</sup> Seçilen analitik yöntemin geçerliliğini göstermek için kullanılan parametreler:

1. Doğruluk
2. Kesinlik
3. Saklanan Örneklerin Kararlılığı (Stabilite)
4. Doğrusallık

## 5. Seçicilik

## 6. Duyarlılık

## 7. Geri Kazanım

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

### 2.7.1. Doğruluk ve Kesinlik

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

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

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

### 2.7.2. Örneklerin Kararlılığı (Stabilite)

Saklanan örneklerin analiz süresince bozunmadan sabit kaldığından emin olmak için yapılan testlere kararlılık (stabilite) denilmektedir. Etkin maddeyi içeren kan örneklerinin normal laboratuvar koşullarında nem, sıcaklık, hava ve örneklerin dondurulup-eritilmesi ( $-20$  °C bekletilmesi) gibi etkilere maruz kaldığında etkin maddenin

bozunmadan sabit kaldığı süre tespit edilmeli ve aynı zamanda elde edilen bilgilerin literatür bilgileri ile de desteklenmesi gerekmektedir.

### **2.7.3. Doğrusallık ve Kalibrasyon Eğrisi**

En düşük derişimden en yüksek derişime doğru bir seri çözelti hazırlanarak yöntemin doğrusal olduğu aralığın belirlenme işlemine doğrusallık denir. Bu aralık belirlendikten sonra çözeltinin derişimine karşı elde edilen cevaplar grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi türetilir. Kalibrasyon eğrisinin regresyon analizi yapılarak standart eğrinin doğru denklemi ve korelasyon katsayısı elde edilir. Kalibrasyon doğrusunun eğimi, doğrusallığın matematiksel bir ölçüsüdür.

### **2.7.4. Duyarlılık**

Analitik yöntemin en düşük derişimdeki analitleri saptayabilmesinin bir ölçüsüdür.

### **2.7.5. Tayin Alt Sınırı (LOQ)**

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

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

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

### **2.7.7. Geri Kazanım**

Analiz sonucunda bulunan değerlerin gerçek değere oranı olarak ifade edilir.

## 3. MATERYAL VE METOT

### 3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Amlodipin (Sigma, Almanya)

Rosuvastatin (Sigma, Almanya)

Rosucor Plus (Erzurum, Türkiye)

Asetonitril (HPLC grade, Merck, Almanya)

Lityum perklorat (Sigma, Almanya)

Deiyonize su (Millipore)

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

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Etüv (Memmert)

Ultrasonik banyo (Elma LC 30)

Terazi (Metler Toledo)

Karıştırıcı (Vorteks, IKA)

### 3. Voltametre Sistemi

Potansiyostat (Gamry Interface 1000)

#### 3.3.1. Voltametrik Yöntem ve Şartları

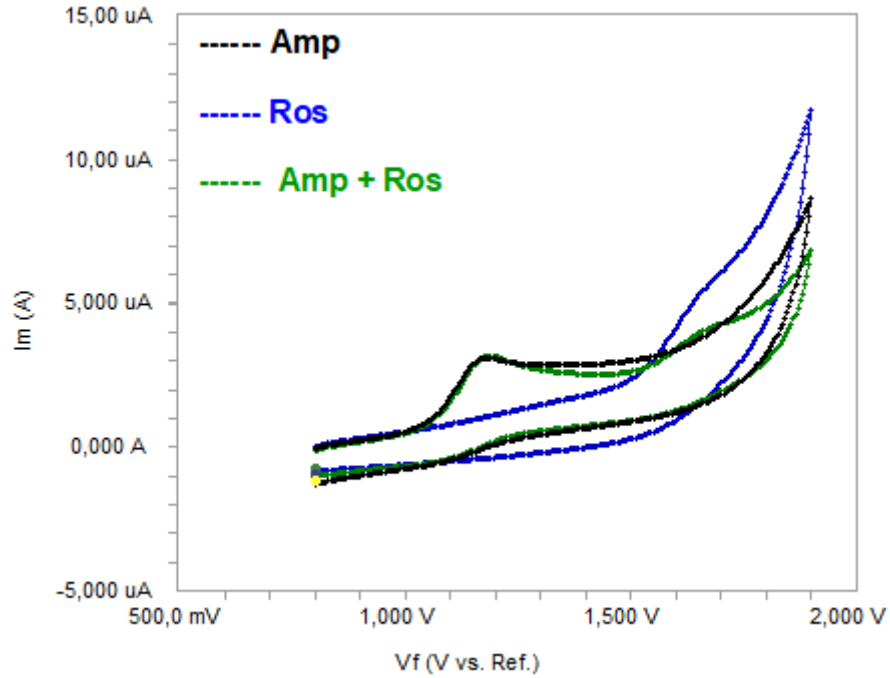
Voltametrik ölçümler dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak +0.80 ile +1.90 V potansiyel aralığında Gamry Interface 1000 markalı potansiyostatta gerçekleştirildi. Çalışmada platin elektrot indikatör elektrot, Ag/AgCl referans elektrot ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. AML ve ROS çözeltilerinin dönüşümlü voltametride taraması 100 mV tarama hızında gerçekleştirildi. Kare Dalga Voltametri yönteminde tarama hızı 20 mV s<sup>-1</sup>, frekans 25 Hz ve puls genliği 50 mV olarak seçilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Voltametri Yöntemi

#### 4.1.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) Deneyinin Yapılışı

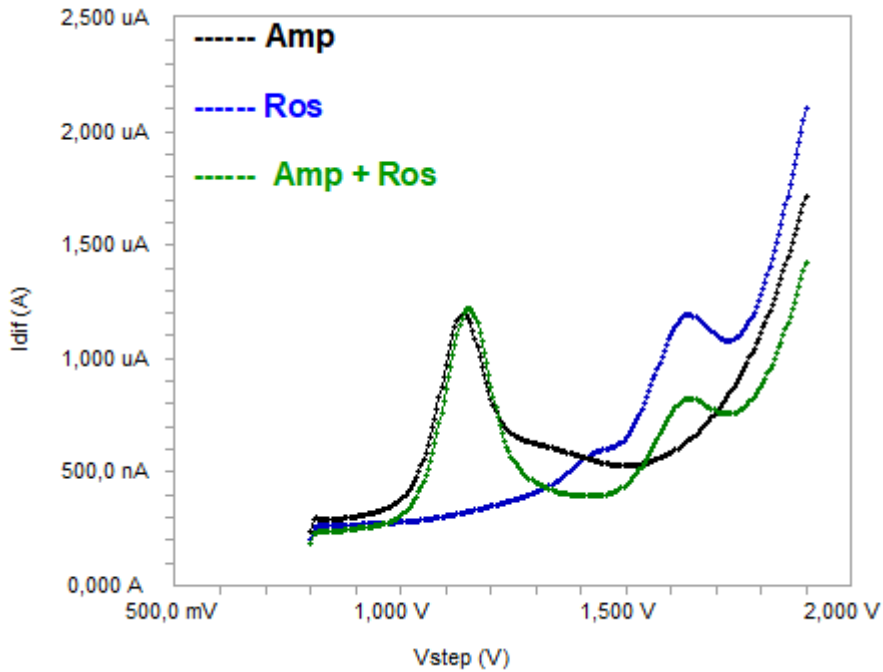
Destek elektrolit olarak seçilen 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetonitril çözeltisinden 5 mL alınarak elektrokimyasal hücreye konulmuş ve 3 dakika süre ile azot gazı geçirilmiştir. Çalışmaların yapılacağı sınır potansiyel değerlerinin belirlenmesi için bir takım ön denemeler yapılmış ve çalışma potansiyel penceresinin +0.80 V ile +1.90 V olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1.** AML ve ROS etkin maddesinin 0.1 M LiClO<sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki dönüşümlü voltamogramları (ROS ve AML, 50  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>)

Potansiyel sınır değerleri belirlendikten sonra elektrokimyasal çalışma hücresindeki çözücü destek elektrolit içerisine belirlenen derişimlerde ROS ve AML bulunacak şekilde stok çözelti eklemeleri yapılmıştır. Bu eklemeler için mikro pipetler kullanılmıştır. ROS ve AML'nin  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$  derişimleri için  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  olan stok çözeltiden alınan bir miktar, ön seyreltme yapılarak eklemelerde olası hatalar önlenmiştir. CV çalışmalarında sabit ROS ve AML derişimlerinde tarama hızının pik akımına etkisi çalışılmıştır. Bu alışma için  $0.01 \text{ V s}^{-1}$  ile  $1 \text{ V s}^{-1}$  arasındaki tarama hızlarındaki voltamogramlar alındı.

Aynı şekilde ROS ve AML için kare dalga voltamogramları da alınmış olup; AML için  $+1.15 \text{ V}$  ve ROS için  $+1.61 \text{ V}$  potansiyelde maksimum kare dalga akımı gözlenmiştir. (şekil 4.2).



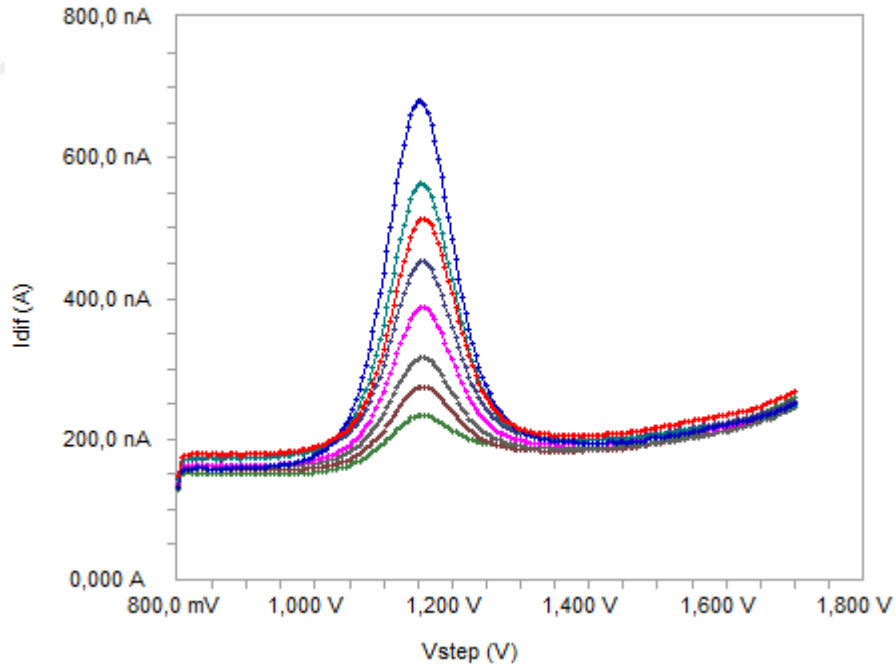
**şekil 4.2.** AML ve ROS etkin maddesinin  $0.1 \text{ M LiClO}_4$  içeren asetonitril içinde Kare Dalga Voltamogramları ( $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ )

#### 4.1.2. Amlodipin İçin Kare Dalga Voltametri Deneyinin Yapılışı

Kare Dalga Voltametri deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücrede, daha önce yapılan CV deneylerinde belirlenen potansiyel penceresinde, Kare Dalga Voltametri yöntemi için gerekli parametreler ayarlandıktan sonra çalışmalar gerçekleştirilmiştir. AML stok standart çözeltisinden elde edilen farklı derişimler için kare dalga voltamogramların pik akımları kaydedilmiştir.

##### 4.1.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

AML 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetonitril çözeltisi içinde 100 µg ml<sup>-1</sup> derişimde stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltilerden belirli hacimlerde alınıp 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetonitril çözeltisi ile seyreltilerek 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml<sup>-1</sup> derişimlerde AML standart çalışma çözeltileri hazırlandı. AML'nin +1.15 Volt potansiyeldeki kare dalga voltamogramları alındı (Şekil 4.3).

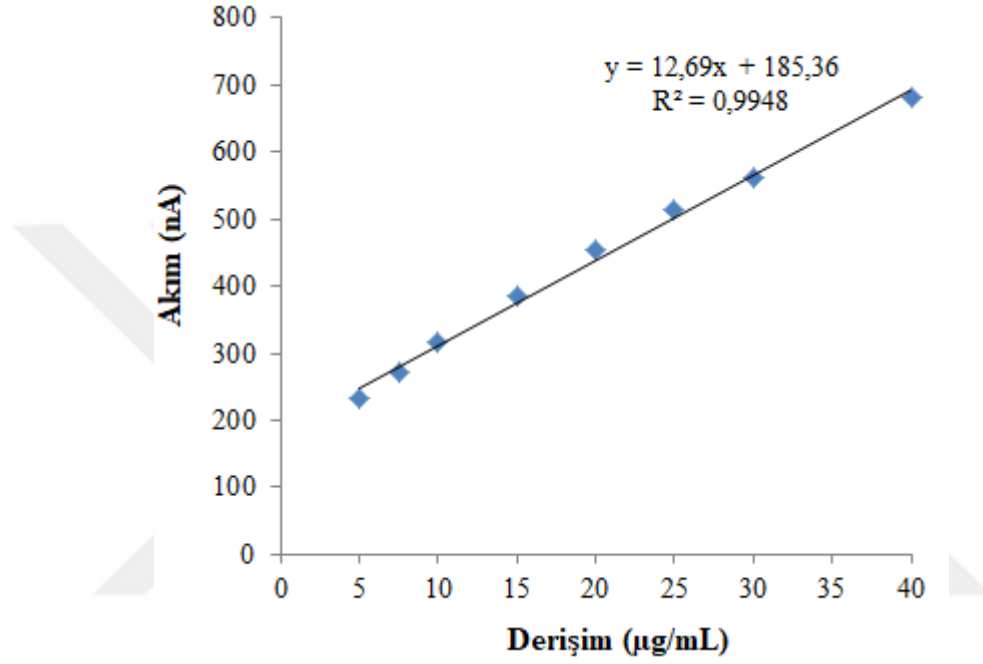


Şekil 4.3. AML etkin maddesinin 0.1 M LiClO<sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki Kare Dalga Voltamogramları (5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml<sup>-1</sup>)

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

##### 4.1.2.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

5-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında AML çözeltilerinin derişimlerine karşı +1.15 V potansiyelde okunan kare pik akım değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri elde edildi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Kare Dalga Voltametik yöntem kalibrasyon eğrisi

Kare Dalga Voltametik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrilerinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.1’de verildi.

**Tablo 4.1.** Kare Dalga Voltametik çalışmada AML’ye ait kalibrasyon eğrisinin istatistikî değerleri

Parametreler	Kare Dalga Voltametri
Potansiyel (E: V)	+1.15
Doğrusal aralık ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5-40
Regresyon doğrusu denklemi	$A=12.69x+185.36$
$S_a$	18.16
$S_b$	0.725
Korelasyon katsayısı (r)	0.9948
$S_r$	$2.42 \times 10^{-3}$

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

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

AML için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Kare Dalga Voltametik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla  $0.70 \mu\text{g ml}^{-1}$  ve  $2.10 \mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulundu.

#### 4.1.2.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

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

**Tablo 4.2.** Kare Dalga Voltametik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi			Günler arası			
Eklene ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. Sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS
7.5	7.31 $\pm$ 0.31	-2.53	4.24	7.67 $\pm$ 0.41	2.26	5.34
17.5	16.47 $\pm$ 0.81	-5.88	4.92	17.95 $\pm$ 0.62	2.57	3.45
32.5	31.40 $\pm$ 1.39	-3.38	4.42	33.20 $\pm$ 1.29	2.15	3.89

#### 4.1.2.2.4. Kararlılık (Stabilite)

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

hemen standart çözeltilerin okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.3’de verildi.

**Tablo 4.3.** AML’nin Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda sıcaklığı		4 °C		-20 °C	
	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat	24 saat	48 saat
10	99.7±1.17	99.5±1.41	98.7±2.59	99.5±1.41	101.1±3.51	99.3±1.79
20	99.7±1.17	97.6±3.23	99.1±1.68	99.1±5.72	101.1±3.51	97.9±4.46
30	98.5±4.21	102.1±4.62	98.3±3.15	102.1±4.62	98.5±4.21	99.1±5.72

#### 4.1.2.2.5. Geri Kazanım

Farmasötik preparattan geri kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemi ile yapıldı. Rosucor® film tablet preparatının sırasıyla 5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde çözeltileri hazırlanarak pik akımları okundu. Sonra bu çözeltiler üzerine AML’nin 3 farklı derişimdeki standart çözeltileri eklendi ve günüçi ve günler arası (farklı günlerde en fazla iki gün) pik akımları belirlendi. Belirlenen pik akımı değerleri aynı derişimdeki standart çözeltilerinin pik akımı değerleriyle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.4’de verildi.

**Tablo 4.4.** Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri

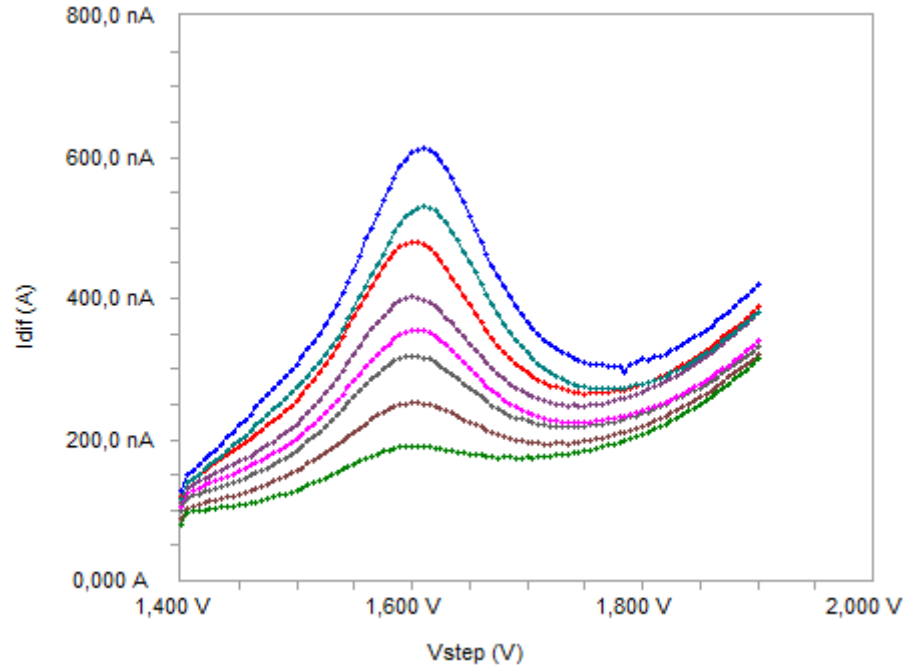
Preparat	Günüçi				Günler arası		
	Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan±std. sapma	Geri kazanım	% BSS	Bulunan ±std. sapma	Geri kazanım	% BSS
<i>Rosucor® film tablet (5 <math>\mu\text{g ml}^{-1}</math>)</i>	5	5.1 ± 0.18	102.0	3.53	4.9 ± 0.13	98.0	2.65
	15	14.6 ± 0.28	97.3	1.92	14.8 ± 0.27	98.7	1.82
	35	35.4 ± 0.73	101.1	2.06	35.6 ± 1.02	101.7	2.87

#### 4.2.2. Rosuvastatin için Kare Dalga Voltametri Deneyinin Yapılışı

Kare Dalga Voltametri deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücrede, daha önce yapılan CV deneylerinde belirlenen potansiyel penceresinde, Kare Dalga Voltametri yöntemi için gerekli parametreler ayarlandıktan sonra çalışmalar gerçekleştirilmiştir. ROS stok standart çözeltisinden elde edilen farklı derişimler için kare dalga voltamogramların pik akımları kaydedilmiştir.

##### 4.2.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

ROS'un 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetonitril çözeltisi içinde 100 µg ml<sup>-1</sup> derişimde stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltilerden belirli hacimlerde alınıp 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetonitril çözeltisi ile seyreltilerek 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml<sup>-1</sup> derişimlerde ROS standart çalışma çözeltileri hazırlandı. ROS'un +1.61 Volt potansiyeldeki voltamogramları alındı (Şekil 4.5).

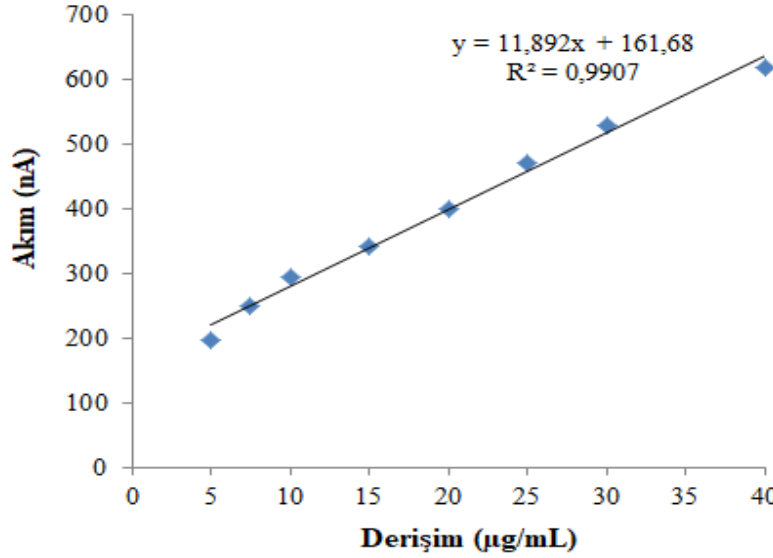


**Şekil 4.5.** ROS etkin maddesinin 0.1 M LiClO<sub>4</sub> içeren asetonitril içindeki Kare Dalga voltamogramları (5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 40 µg ml<sup>-1</sup>)

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

##### 4.2.2.2.1. Doğrusal Aralık ve Kalibrasyon Eğrisi

5-40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişim aralığında ROS çözeltilerinin derişimlerine karşı +1.61 V potansiyelde okunan pik akım değerlerinin grafiğe geçirilmesi ile kalibrasyon eğrileri elde edildi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Kare Dalga voltametik yöntem kalibrasyon eğrisi

Kare Dalga Voltametik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrilerinin regresyon eşitliklerinin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.5’de verildi.

Tablo 4.5. Kare Dalga Voltametik çalışmada ROS’a ait kalibrasyon eğrisinin istatistiksel değerleri

Parametreler	Kare Dalga Voltametri
Potansiyel (E: V)	+1.61
Doğrusal aralık ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	5-40
Regresyon doğrusu denklemi	$A=11.892x+161.68$
$S_a$	12.24
$S_b$	0.813
Korelasyon katsayısı (r)	0.9907
$S_r$	$1.98 \times 10^{-3}$

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

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

ROS için kalibrasyon eğrisinin en küçük değerinden daha küçük derişimlerde bir seri çözelti hazırlandı ve pik akımları üç kez okundu. Okunan değerlerin yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri belirlendi. Yüzde bağıl standart sapma değeri % 20'den küçük olan derişim gözlenebilme sınırı ve % 10'dan küçük olan derişim de tayin alt sınırı değeri olarak tespit edildi. Kare Dalga voltametrik yöntemin gözlenebilme sınırı ve tayin alt sınırı değerleri sırasıyla 0.80  $\mu\text{g ml}^{-1}$  ve 2.40  $\mu\text{g ml}^{-1}$  olarak bulundu.

#### 4.2.2.2.3. Doğruluk ve Kesinlik

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

**Tablo 4.6.** Kare Dalga Voltametrik yönteminin günüçi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

Günüçi				Günler arası		
Eklene ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	% bağıl hata	% BSS	Bulunan $\pm$ std. Sapma	% bağıl hata	% BSS
7.5	7.29 $\pm$ 0.19	-2.80	2.61	7.88 $\pm$ 0.23	5.06	2.91
17.5	18.60 $\pm$ 0.32	6.29	1.72	18.13 $\pm$ 0.30	3.60	1.65
37.5	35.50 $\pm$ 0.79	-5.33	2.22	39.44 $\pm$ 0.81	5.17	2.05

#### 4.2.2.2.4. Kararlılık (Stabilite)

ROS stok ve standart çözeltilerinin çalışma süresince kararlı (stabil) kaldığı süreyi belirlemek amacıyla kararlılık çalışması gerçekleştirildi. Bunun için ROS'un üç farklı derişimde hazırlanan çözeltileri oda sıcaklığı, 4 ve -20 °C'de 24 ve 48 saat süreyle bekletildi. Bu süreler sonunda çözeltilerin pik akımları ölçüldü ve elde edilen değerler standart çözeltilerin hemen okunan değerleri ile kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım ile Tablo 4.7'de verildi.

**Tablo 4.7.** ROS'un Kare Dalga Voltametik yöntemle belirlenen kararlılık (stabilite) değerleri

Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Oda sıcaklığı 24 saat	Oda sıcaklığı 48 saat	4 °C 24 saat	4 °C 48 saat	-20 °C 24 saat	-20 °C 48 saat
10	99.3±5.41	101.1±3.72	99.6±1.45	98.8±2.56	101.1±3.52	99.4±1.79
20	102.1±4.62	98.5±4.21	97.6±3.23	99.1±1.68	97.9±4.46	99.5±1.43
30	98.6±4.32	101.1±4.02	97.3±3.12	99.8±1.18	99.1±5.72	99.7±1.17

#### 4.2.2.2.5. Geri Kazanım

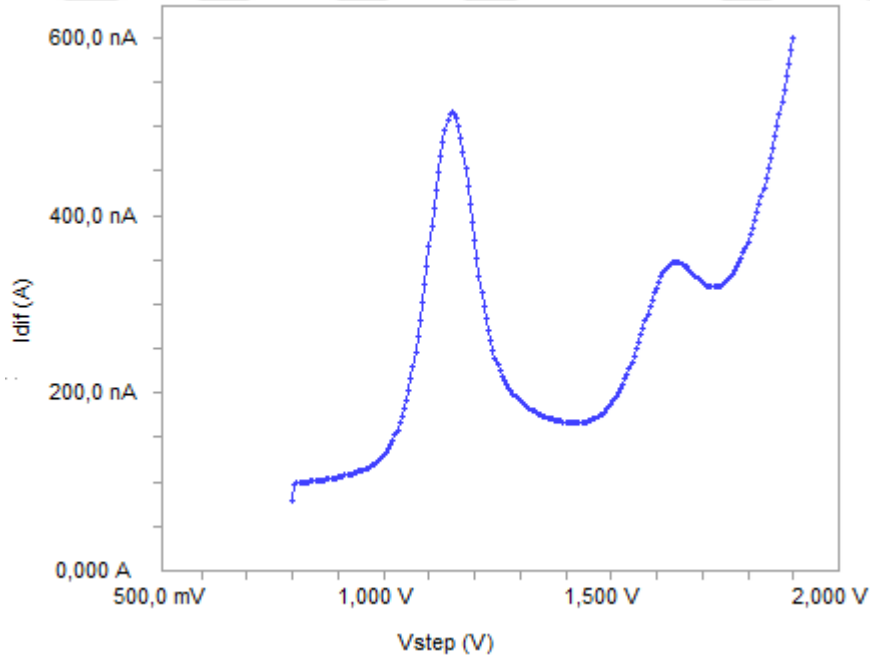
Farmasötik preparattan geri kazanım çalışmaları standart ekleme yöntemi ile yapıldı. Rosucor® film tablet preparatının sırasıyla 5  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde çözeltileri hazırlanarak pik akımları okundu. Sonra bu çözeltiler üzerine ROS'un 3 farklı derişimdeki standart çözeltileri eklendi ve günüçi ve günler arası (farklı günlerde en fazla iki gün) pik akımları belirlendi. Belirlenen pik akımı değerleri aynı derişimdeki standart çözeltilerinin pik akımı değerleriyle kıyaslanarak sonuçlar yüzde geri kazanım olarak Tablo 4.8'de verildi.

**Tablo 4.8.** Kare Dalga Voltametrik yöntemle belirlenen farmasötik preparatın günüçi ve günler arası geri kazanım değerleri

Preparat	Günüçi				Günler arası		
	Eklenen ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Bulunan $\pm$ std. sapma	Geri kazanım	% BSS	Bulunan $\pm$ std. Sapma	Geri kazanım	% BSS
<i>Rosucor</i> <sup>®</sup> <i>film tablet</i> (7.5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	7.5	7.67 $\pm$ 0.41	102.2	5.34	7.31 $\pm$ 0.31	97.5	4.24
	17.5	17.95 $\pm$ 0.62	102.5	3.45	16.97 $\pm$ 0.84	96.9	4.94
	32.5	31.40 $\pm$ 1.39	96.6	4.42	33.20 $\pm$ 1.29	102.1	3.89

#### 4.2.2.3. Yöntemin Farmasötik Preparatlara Uygulanması

Geliştirilen ve geçerlilik testi (validasyonu) yapılan yöntemin uygulanabilir olduğunu görmek amacıyla AML ve ROS içeren farmasötik preparatta etkin madde miktar analizi yapıldı. Bu çalışma için AML ve ROS içeren Rosucor Plus<sup>®</sup> film tabletten 25  $\mu\text{g ml}^{-1}$  derişimde çözelti hazırlandı. Çözeltinin kare dalga voltametrik voltamogramı alınıp pik akımı okundu. Voltamogram standart çözeltilerin voltamogramları ile karşılaştırıldı ve Şekil 4.7’de verildi.



**Şekil 4.7.** Rosucor Plus<sup>®</sup> film farmasötik preparatının Kare Dalga Voltametrik voltamogramı (25  $\mu\text{g ml}^{-1}$ )

## 5.TARTIŞMA

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

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

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

sırası ile potansiyel-akım, zaman akım ve zaman-yük parametreleri arasındaki ilişki anlatılmaktadır. Elektroanalitik metotlar genel olarak net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Elektroanalitik tekniklerin çok büyük bir kısmı net akımın sıfır olmadığı dinamik metotlardır ve bunlar da potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür.<sup>59</sup>

Akım kontrollü teknikler kronopotansiyometri ve kulometrik titrasyonlar olmak üzere iki kısımda incelenir. İyon seçici elektrotların kullanıldığı metotlar akımın sıfır olduğu statik elektroanalitik metotlardır. Voltametri deneyler üçlü elektrot sisteminde gerçekleştirilmektedir. Üç elektrottan birisi zamanla potansiyeli değiştirilen indikatör elektrot veya çalışma elektrotudur.<sup>60</sup>

Voltametri indikatör elektrot olarak, civa, platin, altın, paladyum, karbon elektrot (grafit, karbon pasta elektrot, camısı karbon elektrot) gibi elektrotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan referans elektrotudur. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrotudur. Elektrot sistemindeki üçüncü elektrot ise karşıt veya yardımcı elektrotudur. Karşıt elektrot olarak ise genellikle Pt tel kullanılır.<sup>61</sup> Voltametri akım, çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir.

AML ve ROS etkin maddeleri için yapılan literatür araştırmasında miktar tayinine yönelik UV dedektörlü HPLC, LC-MS, LC-MS/MS gibi kromatografik yöntemlere ulaşılmıştır. Çalışmalarda genellikle tampon sistemi içeren mobil faz kompozisyonları kullanılmıştır. pH'sı bilinen tampon mobil faz sistemi günlük hazırlanması gerekmekte ve bu durum kolon ömrünü azaltmaktadır. HPLC çalışmasında analizin yapılması, kolonun

şartlandırılması, analiz öncesi HPLC sisteminin çalışmaya optimize edilmesi için çok fazla zaman harcanmaktadır. HPLC yöntemi ile farklı etkin maddelerinin farmasötik preparatlarda ve biyolojik materyallerde yöntem geliştirme, yöntem validasyonu ve gerçek numunelerde uygulamasında HPLC sistemi ile çalışmanın zorlukları bilinmektedir. AML ve ROS'un farmasötik preparatlarda tayinine yönelik Kare Dalga Voltametri yöntemi ile aynı anda tayinine yönelik bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bundan dolayı AML ve ROS etkin maddelerinin farmasötik preparatlarda aynı anda tayinine ilişkin kolay, ekonomik ve hızlı yöntemler geliştirilmesi gerekmektedir.

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

Bu nedenle tez kapsamında yer alan AML ve ROS maddelerinin yükseltgenme/indirgenme mekanizmaları üzerinde de çalışmalar yapılarak, analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu tezde kullanılan elektrokimyasal yöntem olan voltametri 1970'li yıllardan bu yana elektronikteki gelişmelerle doğrusal olarak ilaç analizlerinde sağladığı bazı üstünlükler nedeni ile giderek artan bir uygulama alanına yayılmıştır.<sup>67-69</sup> Özellikle sonradan geliştirilen tekniklerle çok düşük derişimlerde bile ( $10^{-10}$ - $10^{-12}$  M) farmasötik analizler yapılabilmektedir.

Voltametrik yöntemlerin günümüzde çok sayıda kullanım alanı vardır. Temel olarak önemli kullanım alanı madde miktar tayinidir. Bu nedenle özellikle klinik amaçla kullanımları çok yaygındır. İlaçların içindeki etkin maddelerin tabletlerden, biyolojik

sıvılardan izole edildikten sonra miktarlarının tayininde oldukça hassas tayinler yapılabildiğinden analizlerde tercih edilen yöntemler olmuşlardır.

Modern elektro analiz yöntemler (kare dalga ve diferansiyel puls voltametri) sayesinde biyolojik sıvılardan ilaç etkin maddeleri ve metabolitlerinin direkt olarak analizinin yapılabilmesi sağlanmaktadır.<sup>67,68</sup> Bu yöntemler diğer pek çok yöntem (HPLC, LC-MS, GC-MS vb.) göre oldukça kolay olup çoğu kez herhangi bir ayırmaya gerek kalmadan gerçekleştirilebilmektedir.

Voltametri yöntemlerinin üstün yanlarından biri de, ilaç etkin maddelerinin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarındaki rolü ile moleküler biyoloji alanında ve dolayısıyla fizyolojik önem taşıyan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında kullanılmasıdır. İlaç etkin maddelerinin elektrot yüzeyindeki oksido-redüktif davranışları, ilaçların vücuda alındığı zaman vücutta uğradıkları invivo redoks davranışlarına benzetilmekte ya da başka bir deyişle metabolizmaları hakkında bilgi verebileceği düşünülmektedir.<sup>69</sup>

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

AML ve ROS'un elektrokimyasal davranışlarını incelemeye önce, 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetoitril ortamı için potansiyel penceresi belirlendi. Bu amaçla, 0.1 M

LiClO<sub>4</sub>/asetoitritil ortamında 50 µg ml<sup>-1</sup> olarak hazırlanan AML ve ROS çözeltilerinin dönüşümlü voltamogramı alındı ve Şekil 4.1’de verildi. Şekil 4.1’ den de görüleceği gibi +0.80V ile +1.9 V aralığında çözücü sistemine ait herhangi bir indirgenme-yükseltgenme pikine rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmaya uygun potansiyel penceresinin +0.80 V ile +1.9 V olarak seçilmesine karar verildi. 0.1 M LiClO<sub>4</sub>/asetoitritil ile hazırlanan AML ve ROS çözeltilerinin, 100m Vs<sup>-1</sup> tarama hızında, +0.80 V ile +1.9 V potansiyel aralığında platin elektrot kullanılarak alınan dönüşümlü voltamogramı Şekil 4.1’de görülmektedir.

Şekil 4.1’ de elektrokimyasal davranışı incelenen AML ve ROS’a ait elde edilen voltamogramda, bir anodik pik gözlenirken katodik pike rastlanmadı. Asidik ortamda anodik pik potansiyeli AML için +1.15 V, ROS için +1.61 V’dur. Voltamogramlarda bir katodik pikin gözlenmemesi, metimazolün yükseltgenmesinin tersinmez olabileceğinin bir göstergesidir. Ancak, katodik pike rastlanmaması mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Çünkü elektron aktarım basamağını takip eden hızlı bir kimyasal reaksiyon gerçekleşirse, katodik pik gözlenemeyebilir.

AML ve ROS’un elektrot yüzeyine adsorplanıp adsorplanmadığının belirlenmesi için dönüşümlü voltametri yöntemi kullanıldı. AML ve ROS’un elektrot yüzeyine adsorbe olup olmadığı farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alınarak pik akımlarının tarama hızıyla değişiminden yararlanıldı. Bu amaçla log *ip*-log *v* grafikleri çizildi. Bilindiği gibi, difüzyon dikate alınarak türetilen ve dönüşümlü voltamogramdaki pik akımını veren Randless-Sevcik eşitliğinden, log *ip* ve log *v* arasında, eğimi 0.5 olan bir doğru elde edilir. Maddenin elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu söz konusu ise, bu bağıntıdan ve dolayısıyla 0.5’den sapmalar meydana gelir ve genellikle bu durumda grafiklerin eğimi 0.5’den büyük olur.<sup>62</sup> Yapılan çalışmada çizilen log *ip* ve log *v* arasındaki grafikte eğimin AML için 0.581 ve ROS için 0.532 olması difüzyon kontrollü mekanizma yanında AML ve ROS’un elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu da söz konusudur.

Kare Dalga Voltametri yönteminde +1.5 V potansiyeldeki 5-40 µg ml<sup>-1</sup> derişime sahip AML standart çözeltilerinin voltamogramları alındı (Şekil 4.3). Ayrıca yöntemin doğrusal olduğu derişim aralığında (5-40 µg ml<sup>-1</sup>) AML çözeltisi derişimine karşı okunan pik akımları şiddeti değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi. Voltametri yönteminin kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden regresyon doğrusu denklemi ve korelasyon katsayısı (r) sırasıyla  $y=12.69x+185.36$  (y: Pik akım şiddeti, x: derişim) ve 0.9948 olarak, yöntemin gözlenebilme sınırı (LOD) değeri 0.70 µg ml<sup>-1</sup> ve tayin alt sınırı (LOQ) değeri ise 2.10 µg ml<sup>-1</sup> olarak belirlendi. Güniçi ve günler arası kesinlik belirlenmesinde yüzde bağıl standart sapma (% BSS) ve doğruluk belirlenmesinde bağıl hata değerleri, sırasıyla % 5.34 ve % 5.88'den küçük olarak tespit edildi. Yöntemin uygulaması AML ve ROS içeren farmasötik preparatlardan Rosucor Plus tablette miktar analizi yapılarak gerçekleştirildi. Yöntemin farmasötik preparattan geri kazanım değerleri % 97.3 ile % 102 arasında olduğu belirlendi.

ROS için geliştirilen Kare Dalga Voltametri yönteminde ise; +1.61 V potansiyelde 50-40 µg ml<sup>-1</sup> derişim aralığında okunan kare dalga voltamogramlarının pik akım şiddetleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi üretildi. Kalibrasyon eğrisinin regresyon analizinden elde edilen regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı sırasıyla  $y=11.892x+161.68$  ve  $r^2=0.9907$  olarak bulunmuştur. Yöntemin LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.80 µg ml<sup>-1</sup> ve 2.4 µg ml<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Güniçi ve günler arası %BSS ve % bağıl hata değerleri sırasıyla % 5.06 ve % 6.29 olarak tespit edilmiştir. Yöntemin uygulanması AML ve ROS içeren farmasötik preparatlardan Rosucor Plus tablette miktar analizi yapılarak geliştirildi. Yöntemin farmasötik preparattan geri kazanım değerleri %96.6 ile %102.2 arasında olduğu belirlendi.

Ayrıca geliştirilen yöntemin farmasötik preparatlardan geri kazanım değerleri de oldukça yüksektir. Bu yöntemlerin başka bir avantajı da herhangi bir ön zenginleştirme,

ekstraksiyon veya uzun bir numune hazırlama işlemine gerek duyulmadan doğrudan ölçüm yapılabilmesine izin vermesidir. Bu nedenle ilaç endüstrisinde kalite kontrol çalışmalarında Kare Dalga Voltametri yöntemi başarıyla uygulanabilir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, AML ve ROS etkin maddesinin standart çözeltilerde ve farmasötik preparatlarda aynı anda miktar tayini için literatürdeki yöntemlere alternatif olacak Kare Dalga Voltametri yöntemi geliştirilip geçerlilik testi yapıldı.

Geliştirilen bu yöntem hassas, duyarlı, seçici, doğru ve kesin olduğu geçerlilik testi ile gösterildiğinden dolayı yöntemin farmasötik preparatlarda AML ve ROS'un miktar tayini için uygulanabilir olduğu sonucuna varıldı. Bu çalışmadan elde edilen verilerin ileriki çalışmalara da yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Bunlar;

Hipertansiyon ve kolesterol hastalıklarında kullanılan ilaçların analizleri için kromatografik sistemler pahalı organik solvanları kullanırken, geliştirilen yöntemlerde minimum solvan sarfiyatı bulunmaktadır. Bunun için ön zenginleştirme, ekstraksiyon veya türevlendirme gibi basamaklara ihtiyaç duyulmadan Kare Dalga Voltametri yöntemi ile direkt ölçüm yapılmasıyla literatürdeki diğer yöntemlere alternatif olabilir. Bu anlamda yapılan tez özgün bir çalışmadır.

Ayrıca yürütülen araştırmanın bilimsel katkısı ve pratik sonuçları şunlardır:

- Seçilen AML ve ROS etkin maddelerinin yükseltgenme ve indirgenme mekanizması aydınlatılmış, böylece bu etkin maddelerin vücutta nasıl bir mekanizma ile metabolize olduğu hakkında in vitro olarak bilgi sahibi olunmaya çalışılmıştır.
- AML ve ROS etkin maddesinin ileride insan plazmasında tayini için önerilecek ekonomik ve rutin analizlere uygulanabilecek özgün bir yöntem geliştirilmiş oldu. Bu nedenle özellikle tıp ve eczacılık alanlarında rutin analizlerin yapılması kolaylaşacak ve çok sayıda analiz kısa sürede yapılabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. RxMedia Pharma. İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, 2014
2. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clarke's analysis of drugs and poisons, Vol. 2, 4rd ed, *Pharmaceutical Press*, London, 2011
3. Yücesoy C, Gölcü A. Spectrophotometric determination of amlodipine besylate in tablets with trinitrobenzene sulphonic acid. *Journal of Faculty of Pharmacy, Ankara*, 2001, 30 (2):1-8
4. Jain N, Jain R, Jain A, Sharad P, Jain DK. Spectrophotometric method development and validation for quantitative estimation of amlodipine besylate in bulk drug and their dosage forms by using hydrotropic agent. *Eurasian Journal Analytical Chemistry*. 2010, 5 (3):212-217.
5. Abdel-Wadood HM, Mohamed NA, Mahmoud AM. Validated spectrofluorometric methods for determination of amlodipine besylate in tablets *Spectrochimica Acta*, 2008, 70:564–570.
6. Prasad CVN, Saha RN, Parimoo P. Simultaneous determination of amlodipine, enalapril maleate and amlodipine, lisinopril in combined tablet preparations by derivative spectrophotometry. *Pharmacy Pharmacology Communications*, 1999, 5: 383-388.
7. Prasad CVN, Parihar C, Chowdhary TR, Purohit S, Parimoot P. Simultaneous determination of atenolol-amlodipine and haloperidol- trihexyphenidyl in combined tablet reparations by derivative spectroscopy. *Pharmacy Pharmacology Communications*, 1998, 4: 325-330.
8. Juyal V, Chaudhary M, Kumar P, Gnanarajan G, Yadav PK. Method development and its validation for simultaneous estimation of atorvastatin and amlodipine in combination in tablet dosage form by uv spectroscopy, using multi-component mode of analysis. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2008, 1 (2): 182–187.

9. Ramesh D, Ramakrishna S. New spectrophotometric methods for simultaneous determination of amlodipine besylate and atorvastatin calcium in tablet dosage forms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, 2 (4): 215-219.
10. Rao L, Rajeswari KR, Sankar GG. Spectrophotometric method for simultaneous estimation of atorvastatin and amlodipine in tablet dosage form. *Research Journal of Pharmac, Biological and Chemical Sciences*, 2010, 1 (2): 66.
11. Abdallah OM, Badawey AM. Derivative - ratio spectrophotometric, chemometric and HPLC validated methods for simultaneous determination of amlodipine and atorvastatin in combined dosage form. *International Journal Industrial Chemistry*, 2011, 2(2): 78-85.
12. Basavaiah K, Chandrashekar U, Prameela HC. Sensitive spectrophotometric determination of amlodipine and felodipine using iron(III) and ferricyanide. *IL Farmaco*, 2003, 58: 141-148.
13. Rathee P, Rathee S, Thakur S, Kumar V. Simultaneous estimation of amlodipine besylate and lisinopril dihydrate in tablet dosage forms by modified form of simultaneous equation method using derivative uvspectrophotometry. *International Journal of Pharmtech Research*, 2010, 2 (1): 556-562.
14. Joshi HV, Patel JK. New spectrophotometric methods for simultaneous determination of amlodipine besylate and lisinopril in tablet dosage forms. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011, 1 (6): 162-164.
15. Patil PR, Rakesh SU, Dhabale PN, Burade KB. Simultaneous UV spectrophotometric method for estimation of losartan potassium and amlodipine besylate in tablet dosage form. *Asian Journal Research Chemistry*, 2009, 2(1): 183-187.

16. Kaveri K, Saravanan C, Mozhi MT. Simultaneous estimation of losartan potasyum and amlodipine besylate in tablet dosage form by UV spectrophotometer. *International Research Journal of Pharmaceuticals*, 2011, 2 (4): 96-100.
17. Rahman N, Azmi SNH. Spectrophotometric method for the determination of amlodipine besylate with ninhydrin in drug formulations. *IL Farmaco*, 2001, 56: 731-735.
18. Mehulkumar P, Ramesh V, Kumar VV, Srinivas R, Diwanl PV. Simultaneous spectroscopic estimation of amlodipine besylate and olmesartan medoximil in tablet dosage form. *Asian Journal Research Chemistry*, 2009, 2 (2): 127-130.
19. Kardile DP, Kalyane NV, Thakkar TH, Patel MR, Moradiya RK. Simultaneous estimation of amlodipine besylate and olmesartan medoxomil drug formulations by HPLC and UV-spectrophotometric methods. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2010, 2 (9): 599-514.
20. Patil P, Barge V, More H, Piswkar S. Spectrophotometric method for simultaneous determination of olmesartan medoxomil and amlodipine besylate from tablet dosage form. *International Journal Of Current Pharmaceutical Research*, 2011, 3 (2): 74-79 .
21. Muthu AK, Chidalla RS, Prasad S, Kumar DS, Manavala R. Simultaneous estimation of telmisartan and amlodipine by UV-spectrophotometric method using multi component mode analysis. *International Research Journal of Pharmacy*, 2011, 2 (5): 175-180.
22. Gölcü A, Yücesoy C. Colorimetric determination of amlodipine besylate in tablets. KSU. *Journal of Science and Engineering*, 2006, 9 (2): 52-54.
23. Monkman SC, Ellis JS, Cholerton S, Thomason JM, Seymour RA, Idle JR. Automated gas chromatographic assay for amlodipine in plasma and gingival crevicular fluid.

*Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences And Applications*, 1996, 678: 360-364.

24. Bahrami G, Mirzaeei S. Simple and rapid HPLC method for determination of amlodipine in human serum with fluorescence detection and its use in pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 36: 163-168.
25. Vora DN, Kadav AA. Development and validation of a simultaneous HPLC method for estimation of bisoprolol fumarate and amlodipine besylate from tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 70: 542-546.
26. Shah DA, Bhatt KK, Mehta RS, Baldania SL, Gandhi TR. Stability indicating RP-HPLC estimation of atorvastatin calcium and amlodipine besylate in pharmaceutical formulations. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 70(6): 754-760.
27. Prajapati J, Patel A, Patel MB, Prajapati N, Prajapati R. Analytical method development and validation of amlodipine besylate and perindopril erbumine in combine dosage form by RP-HPLC. *International Journal of Pharmtech Research*, 2011, 3(2): 801-808.
28. Rajitha S, Biswal VB, Reddy DN, Ramesh B. Method development and validation of telmisartan and amlodipine besylate by RP-HPLC in tablet dosage form. *International Journal Pharma Sciences*, 2013, 3(5): 365-369.
29. Chaudhari BG, Patel MN, Shah PB. Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of atorvastatin and amlodipine from their combination drug products. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2007, 55 (2): 241-246.
30. Üstün FG, Atay O. Quantitative determination of amlodipine containing pharmaceuticals by IR spectroscopy and HPLC methods. *Journal of the Faculty of Pharmacy of İstanbul*, 2006, 38 (1): 37-46.

31. Chitlange SS, Bagri K, Sakarkar DM. Stability indicating RP- HPLC method for simultaneous estimation of valsartan and amlodipine in capsule formulation. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2008, 1 (1): 15-18.
32. Klinkenberg R, Streef B, Ceccato A. Development and validation of a liquid chromatographic method for the determination of amlodipine residues on manufacturing equipment surfaces. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 32: 345-352.
33. Sah R, Saahil A. Development and validation of a HPLC analytical assay method for amlodipine besylate tablets: a potent  $\text{Ca}^{+2}$  channel blocker. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 2012, 2 (3): 93-100.
34. Ma Y, Qin F, Sun X, Lu X, Li F. Determination and pharmacokinetic study of amlodipine in human plasma by ultra performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43: 1540-1545.
35. Dongre VG, Shah SB, Karmusea PP, Phadke M, Jadhav VK. Simultaneous determination of metoprolol succinate and amlodipine besylate in pharmaceutical dosage form by HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 46: 583-586.
36. Shentu J, Fu L, Zhou H, Hu XJ, Liu J, Chen J, Wu G. Determination of amlodipine in human plasma using automated online solid-phase extraction HPLC tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study of chinese volunteers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 70: 614- 618.
37. Qi W, Zhao Q, Jiang J, Hu P. Simultaneous determination of olmesartan and amlodipine in human plasma and urine by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 2013, 938: 27-34.

38. Bathula SP, Devani KP. Quantitative determination of amlodipine in human plasma by ultra performance liquid chromatography- electro spray ionization mass spectrometry: application to a clinical pharmacokinetic study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2012, 5 (1): 89-93.
39. Zhou Y, Li J, He X, Jia M, Liu M, Li H, Xiong Z, Fan Y, Weiyong L. Development and validation of a liquid chromatography–tandem massspectrometry method for simultaneous determination of amlodipine, atorvastatin and its metabolites ortho-hydroxy atorvastatin and para-hydroxyatorvastatin in human plasma and its application in a bioequivalence study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, 83: 101-107.
40. Chang H, Li J, Li J, Guan X, Sun F, Qian Z, Bia K, Fan G. Simultaneous determination of amlodipine and bisoprolol in rat plasma by a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method and its application in pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 71: 104-110.
41. Karra VK, Pilli NR, Inamadugu JK, Seshagiri JVL. Simultaneous determination of losartan, losartan acid and amlodipine in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study. *Pharm Methods*, 2012, 3(1):18-25.
42. Sirikatitham A, Panrat K, Tanmanee N. Determination of amlodipine in human plasma by electrospray ionization LC-MS/MS method: validation and its stability studies. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 2008, 30 (4): 455-462.
43. Uyar B, Celebier M, Altınöz S. Spectrophotometric determination of rosuvastatin calcium in tablets pharmazie, 2007, 62 (6): 411-413.

44. Braga VS, Mancilha TP, Cassella RJ, Pacheco WF. Determination of rosuvastatin in urine by spectrofluorimetry after liquid-liquid extraction and derivatization in acidic medium. *Journal of Fluorescence*, 2013, 23: 49-55.
45. Gupta A, Mishra P, Shah K. Simple UV spectrophotometric determination of rosuvastatin calcium in pure form and in pharmaceutical formulations. *Journal of Chemistry*, 2009, 6 (1): 89-92.
46. Uyar B. Rosuvastatin kalsiyumun elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve farmasötik preparatlardan miktar tayini Yüksek Lisans Tezi, 2009.
47. Süslü İ, Çelebier M, Altınöz S. Determination of rosuvastatin in pharmaceutical formulations by capillary zone electrophoresis chromatographia, 2007, 66: 65-72.
48. Gao J, Zhong D, Duan X, Chen X. Liquid chromatography/negative ion electrospray tandem mass spectrometry method for the quantification of rosuvastatin in human plasma: application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, 2007, 856: 35-40.
49. Shah Y, Iqbal Z, Ahmad L, Khan A, Khan MI, Nazir S, Nasir F. Simultaneous determination of rosuvastatin and atorvastatin in human serum using RP-HPLC/UV detection: method development, validation and optimization of various experimental parameters. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879: 557-563.
50. Hull CK, Martin, PD, Warwick MJ, Thomasb E. Quantification of the n-desmethyl metabolite of rosuvastatin in human plasma by automated KFE followed by HPLC with tandem ms detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2004, 35: 609-614.
51. Trivedi RK, Kalleem RR, Mullangi R, Srinivas NR. Simultaneous determination of rosuvastatin and fenofibric acid in human plasma by LC-MS/MS with electrospray

- ionization: assay development, validation and application to a clinical study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 39: 661-669.
52. Lan K, Jiang X, Li Y, Wang L, Zhou J, Jiang Q, Ye L. Quantitative determination of rosuvastatin in human plasma by ion pair liquid-liquid extraction using liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 44: 540-546.
53. Beludari MI, Prakash KV, Mohan GK. RP-HPLC method for simultaneous estimation of rosuvastatin and ezetimibe from their combination tablet dosage form. *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 2013, 4: 205-209.
54. Hull CK, Penman AD, Smith CK, Martin PD. Quantification of rosuvastatin in human plasma by automated solidphase extraction using tandem mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B*, 2002, 772: 219-228.
55. Nasir F, Iqbal Z, Khan A, Ahmad L, Shah Y, Khan AZ, Khan JA, Khan S. Simultaneous determination of timolol maleate, rosuvastatin calcium and diclofenac sodium in pharmaceuticals and physiological fluids using HPLC-UV. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879: 3434-3443.
56. Varghese SJ, Ravi TK. Development and validation of a liquid chromatography/ mass spectrometry method for the simultaneous quantitation of rosuvastatin and ezetimibe in human plasma. *Journal of AOAC International*, 2013, 96 (2): 307-312.
57. Tajane D, Raurale AM, Bharande PD, Mali AN, Gadkari AV, Bhosale VR. Development and validation of a RP-HPLC-PDA method for simultaneous determination of rosuvastatin calcium and amlodipine besylate in pharmaceutical dosage form. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012, 4(5): 2789-2794.

58. Banerjee SK, Vasava NM. Simultaneous estimation of amlodipine and rosuvastatin in combined bulk forms by RP-HPLC using ultraviolet detection. *Bulletin of Pharmaceutical Research*, 2013, 3 (1): 29-33.
59. Yılmazgüç B. Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2008.
60. Patriarche GJ, Chateau-Gosselin M, Vandenbalck JL. Polarography and electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology. *Electroanalytical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> ed. New York, J. A. Bord, 1979, 2:141-189.
61. Zuman P, Brezina M. Polarographic analysis in pharmacy progress in polarography, 2<sup>th</sup> ed. New York, Interscience Publishers, 1962.
62. Kissinger PT, Heineman WR. *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> ed. Revised and Expanded. New York, Marcel Dekker Inc, 1996: 141-163.
63. Brezina M, Zuman P. Polarography in Medicine Biochemistry and Pharmacy, New York, Interscience Publishers, 1958.
64. Skoog DA, Holler FJ, West DM. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Saunders collage publishing, 1991: 460-496.
65. Bond AM. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker Inc, 1980: 8-102.
66. Wang H, Wang L, Shi Z, Guo Y, Cao X, Zhang H. Application of self-assembled 'molecular wires' monolayers for electroanalysis of dopamine. *Electrochemistry Communications*, 2006, 8:1779-1783.
67. Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochemical Methods: Fundamentals Applications*, John Wiley and Sons. Inc. New York, 2001.

68. Sharma S, Sharma MC. Simultaneous spectrophotometric estimation of etoposide tablet formulations using hydrotrophy solubilization agents. *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials*, 2010, 2:227-229.
69. Validation of Analytical Procedures. Proceedings of the International Conference on Harmonisation (ICH). Commission of the European Communities, 1996.



## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı:</b> Nurullah Yılmaz <b>Doğum tarihi:</b> 15.08.1984 <b>Doğum yeri:</b> Tekman <b>Medeni hali:</b> Evli <b>Uyruğu:</b> T.C. <b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM <b>Tel:</b> 04423425040 <b>Faks:</b> 04423425040 <b>E-mail:</b> eczaneevrak@gmail.com</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> Erzurum İbrahim Hakkı Fen Lisesi (2000-2003) <b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2004-2008) <b>Yüksek lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı (2012-2018)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce: Orta      Almanca: Başlangıç Seviyesinde</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>Erzurum Eczacı Odası (2018)</p>
Sürücü Belgesi
<p>B Sınıfı</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>Futbol , Kayak , Edebiyat , Marangozculuk</p>

## EK-2. ETİK KURUL ONAYI



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

Sayı : 93722986.12/ 34  
Konu: Etik Alt Kurul Kararı

07/06/2017

Sayın Doç. Dr. Bilal YILMAZ

İlgi: 29.05.2017 tarih ve 1700154025 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Alt Etik Kurulunun 07.06.2017 tarihinde almış olduğu 5 numaralı karar ile danışmanı olduğunuz yüksek lisans öğrencisi Nurullah YILMAZ'ın "Amlodipin ve Rosuvastatin Etkin Maddelerinin Farmasötik Preparatlarda Kare Dalga Voltametri Yöntemi ile Aynı Anda Miktar Tayini" başlıklı çalışması etik kurulumuz tarafından kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU  
Başkan

Prof. Dr. Zühal GÜVENALP  
Üye

Prof. Dr. Halise İnci GÜL  
Üye

Doç. Dr. Yasin BAYIR  
Üye

Doç. Dr. Beyzağul POLAT  
Üye

**Karar-05-** Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Bilal YILMAZ'ın danışmanı olduğu yüksek lisans öğrencisi Nurullah YILMAZ'ın Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yürüteceği "Amlodipin ve Rosuvastatin Etkin Maddelerinin Farmasötik Preparatlarda Kare Dalga Voltametri Yöntemi ile Aynı Anda Miktar Tayini" başlıklı çalışma ile ilgili 29.05.2017 tarih ve 1700154025 sayılı yazı ile ekleri görüşülmüştür.

Yapılan görüşmelerden sonra; söz konusu çalışmanın yürütülmesinin etik kurallara uygun olduğu mevcut oybirliği ile kabul edilmiştir.