

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RİZATRİPTAN VE ZOLMİTRİPTAN
İÇEREN PREPARATLARDAKİ
ETKİN MADDE MİKTAR
TAYİNLERİ**

Engin ÇİÇEK

**ANALİTİK KİMYA ANA BİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nevin ERK**

2006 - ANKARA

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Lisans Programı çerçevesinde yürütölmüş bu çalışma, aşğıdaki jüri üyeleri tarafından Tezli Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tezli Yüksek Lisans Tezi Savunma Tarihi: 04 / 08 /2006



Prof. Dr. Feyyaz ONUR

Ankara Üniversitesi

Eczacılık Faköltesi

Jüri Başkanı



Prof. Dr. Sacide ALTINÖZ

Hacettepe Üniversitesi

Eczacılık Faköltesi



Prof. Dr. Nevin ERK

Ankara Üniversitesi

Eczacılık Faköltesi



Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

Ankara Üniversitesi

Eczacılık Faköltesi

Doç. Dr. Erdal DİNÇ

Ankara Üniversitesi

Eczacılık Faköltesi



ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında Analitik Kimya Anabilim Dalının bütün olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve bu süreçte yardımlarını esirgemeyen başta Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Feyyaz ONUR olmak üzere tüm öğretim üyelerine ve yardımcılara; tez çalışmalarım süresince bilimsel tecrübesiyle yol gösteren, gelişimime katkı sağlayan ve her konuda bana destek olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nevin ERK'e; değerli tavsiyelerinden dolayı Sayın Doç. Dr. Erdal DİNÇ'e; çalışmalarım boyunca her zaman destek olan ve bilgisinden yararlandığım Uzm. Ecz. İ. Murat PALABIYIK'a; güler yüzleri ve yardımseverlikleri ile her zaman yardımcı olan bütün Analitik Kimya Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Astra Zeneca Firmasına Zomig[®] tabletin teminindeki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Son olarak da tezimin bitmesini dört gözle bekleyen aileme ve Demir ailesine desteklerinden ve sabırlarından ötürü sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER.....	ix
ÇİZELGELER.....	xiii
GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Kullanılan Etkin Maddelerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	13
1.2.1. Zolmitriptan	13
1.2.1.1. Kimyasal Yapısı	13
1.2.1.2. Farmakolojik Özellikleri	14
1.2.1.2.1. Farmakokinetik Özellikleri	14
1.2.1.2.2. Farmakodinamik Özellikleri	19
1.2.2. Rizatriptan	20
1.2.2.1. Kimyasal Yapısı	20
1.2.2.2. Farmakolojik Özellikleri	21
1.2.2.2.1. Farmakokinetik Özellikleri	21
1.2.2.2.2. Farmakodinamik Özellikleri	25
1.3. Zolmitriptan ve Rizatriptan İçin Uygulanan Analiz Yöntemleri ...	26
1.3.1. Zolmitriptan İçin Yapılmış Analiz Yöntemleri.....	26
1.3.1.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)	26
1.3.2. Rizatriptan İçin Yapılmış Analiz Yöntemleri	29
1.3.2.1. Spektrofotometri ve Spektroflurimetri	29
1.3.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)	29
1.4. Kullanılan Yöntemler	31
1.4.1. Spektrofotometri	31
1.4.1.1. Lambert - Beer Kanunundan Sapmalar.....	36
1.4.1.2. UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri	37
1.4.2. Türev Spektrofotometri	44

1.4.2.1.	Yöntemin Özellikleri.....	49
1.4.2.1.1.	Avantajları.....	49
1.4.2.1.2.	Dezavantajları	50
1.4.3.	İyon Çifti Oluşumuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntem	51
2.	DENEYSEL KISIM	52
2.1.	Kullanılan Cihazlar ve Gereçler.....	52
2.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	52
2.3.	Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması	53
2.4.	Farmasötik Preparatlar	53
2.5.	Ortam Şartları ve Hesaplamalar	54
2.6.	Analizi Yapılan Maddelerin Saflıklarının Araştırılması	54
2.7.	Zolmitriptan İçin Analiz Yöntemleri	55
2.7.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri.....	55
2.7.1.1.	Deneyin Yapılışı.....	55
2.7.1.1.1.	Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması	55
2.7.1.1.2.	Keskinliğin Araştırılması	55
2.7.1.1.3.	Geri Kazanım Çalışmaları.....	55
2.7.1.1.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	56
2.7.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri.....	57
2.7.2.1.	Deneyin Yapılışı.....	57
2.7.2.1.1.	Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması	57
2.7.2.1.2.	Geri Kazanım Çalışmaları.....	57
2.7.2.1.3.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	57
2.7.3.	İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemleri.....	58
2.7.3.1.	Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın Analizi.....	58
2.7.3.1.1.	Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması	58
2.7.3.1.1.1.	Uygun pH Seçimi	58
2.7.3.1.1.2.	Uygun Bekleme Süresinin Seçimi	58
2.7.3.1.1.3.	Uygun Organik Faz Seçimi.....	59
2.7.3.1.1.4.	Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi	59
2.7.3.1.2.	Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması	59
2.7.3.1.3.	Geri Kazanım Çalışmaları.....	60

2.7.3.1.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	60
2.7.3.2.	Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın Analizi	61
2.7.3.2.1.	Yöntemin Uygulanmasında Optimum Koşulların Sağlanması	61
2.7.3.2.1.1.	Uygun pH Seçimi	61
2.7.3.2.1.2.	Uygun Bekleme Süresinin Seçimi	61
2.7.3.2.1.3.	Uygun Organik Faz Seçimi	62
2.7.3.2.1.4.	Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi	62
2.7.3.1.2.	Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması	62
2.7.3.1.3.	Geri Kazanım Çalışmaları	63
2.7.3.1.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	63
2.8.	Rizatriptan İçin Analiz Yöntemleri	64
2.8.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri	64
2.8.1.1.	Deneyin Yapılışı	64
2.8.1.1.1.	Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması	64
2.8.1.1.2.	Kesinliğin Araştırılması	64
2.8.1.1.3.	Geri Kazanım Çalışmaları	64
2.8.1.1.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	65
2.8.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri	66
2.8.2.1.	Deneyin Yapılışı	66
2.8.2.1.1.	Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması	66
2.8.2.1.2.	Geri Kazanım Çalışmaları	66
2.8.2.1.3.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	66
2.8.3.	İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemleri	67
2.8.3.1.	Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın Analizi	67
2.8.3.1.1.	Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması	67
2.8.3.1.1.1.	Uygun pH Seçimi	67
2.8.3.1.1.2.	Uygun Bekleme Süresinin Seçimi	67
2.8.3.1.1.3.	Uygun Organik Faz Seçimi	68
2.8.3.1.1.4.	Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi	68
2.8.3.1.2.	Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması	68
2.8.3.1.3.	Geri Kazanım Çalışmaları	68
2.8.3.1.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	69

2.8.3.2.	Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın Analizi	70
2.8.3.2.1.	Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması	70
2.8.3.2.1.1.	Uygun pH Seçimi	70
2.8.3.2.1.2.	Uygun Bekleme Süresinin Seçimi	70
2.8.3.2.1.3.	Uygun Organik Faz Seçimi	71
2.8.3.2.1.4.	Uygun Reaktif Konsantrasyonunun Seçimi	71
2.8.3.2.2.	Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması	71
2.8.3.2.3.	Geri Kazanım Çalışmaları	72
2.8.3.2.4.	Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması	72
3.	BULGULAR	73
3.1.	Etkin Maddelerin Saflık Kontrolü	73
3.1.1.	Zolmitriptan'ın Saflık Kontrolü Analiz Sonuçları	73
3.1.1.1.	<i>Erime Noktası</i>	73
3.1.1.2.	<i>UV Spektrumu</i>	73
3.1.1.3.	<i>IR Spektrumu</i>	74
3.1.2.	Rizatriptan'ın Saflık Kontrolü Analiz Sonuçları	75
3.1.2.1.	<i>Erime Noktası</i>	75
3.1.2.2.	<i>UV Spektrumu</i>	75
3.1.2.3.	<i>IR Spektrumu</i>	76
3.2.	Zolmitriptan İçin Yöntemlerin Uygulanması ve Analiz Sonuçları	77
3.2.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri	77
3.2.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri	83
3.2.3.	İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemlerinin Uygulanması	89
3.2.3.1.	Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın Analiz Sonuçları	89
3.2.3.2.	Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın Analiz Sonuçları	94
3.2.4.	Zolmitriptan İçin Önerilen Yöntemlerin Karşılaştırılması	99
3.3.	Rizatriptan İçin Yöntemlerin Uygulanması ve Analiz Sonuçları ..	101
3.3.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri	101
3.3.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri	106
3.3.3.	İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemlerinin Uygulanması	112
3.3.3.1.	Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın Analiz Sonuçları	112
3.3.3.2.	Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın Analiz Sonuçları	116

3.3.4.	Rizatriptan İçin Önerilen Yöntemlerin Karşılaştırılması	120
4.	TARTIŞMA	122
4.1.	Farmasötik Preparatlarda Zolmitriptan'ın Tayini İçin Önerilen Yöntemler.	122
4.1.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri.....	123
4.1.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri	126
4.1.3.	Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi.....	128
4.1.4.	Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi	130
4.2.	Farmasötik Preparatlarda Rizatriptan'ın Miktar Tayini İçin ÖnerilenYöntemler.....	132
4.2.1.	Doğrudan UV Spektrofotometri.....	133
4.2.2.	Birinci Türev UV Spektrofotometri	136
4.2.3	Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi	138
4.2.4.	Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi.....	139
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	141
ÖZET.....		143
SUMMARY		145
KAYNAKLAR..		147
ÖZGEÇMİŞ.....		158

ŞEKİLLER

Şekil 1.2.1.1.	Zolmitriptan'ın molekül yapısı.....	13
Şekil 1.2.2.1	Rizatriptan'ın molekül yapısı.....	20
Şekil 1.4.1.1.	Elektromanyetik spektrum bölgeleri.....	31
Şekil 1.4.1.2.	I_0 şiddetindeki bir ışın demetinin çözeltiden geçmesi.....	32
Şekil 1.4.1.3.	Beer Kanunu, gelen ışığın şiddetinin çözeltilerden geçtikten sonra üstel olarak azalması.....	33
Şekil 1.4.1.4.	Lambert Kanunu, gelen ışığın şiddetinin logaritmik olarak azalması.....	34
Şekil 1.4.1.5.	Beer Kanunu'ndan sapmalar.....	35
Şekil 1.4.1.6.	Absorplama katsayısının ışığın dalga boyuna bağlılığı.....	35
Şekil 1.4.1.2.1.	Tek ışık yollu spektrofotometre cihazı.....	37
Şekil 1.4.1.2.2.	D ₂ , W, H ₂ ve Xe lambalarının yaydıkları ışımının spektrumları.....	38
Şekil 1.4.1.2.3.	Fotovoltaik (Se), fotoiletken (CdS) ve fotoemisif (CsSb) tür dedektörlerin ölçebildiği fotonların spektral dağılımları.....	40
Şekil 1.4.1.2.4.	a)Cornu ve b) Littrow türü prizmalarla dalga boyu seçimi.....	41
Şekil 1.4.1.2.5.	Çift ışık yollu spektrofotometre cihazı.....	42
Şekil 1.4.2.1.	Bir absorbans bandının eğim işaretleri.....	44

Şekil 1.4.2.2.	Altta : Bir absorbans bandı, Üstte: Bu absorbans bandının birinci türevi.....	45
Şekil 1.4.2.3.	Bir absorbans spektrumundaki 0.5 birimlik absorbans kayması.....	46
Şekil 1.4.2.4.	Absorbans kaymasının birinci türev alınarak yok edilmesi.....	46
Şekil 1.4.2.5.	Bir absorbans bandının konkav değişikliklerinin tanımlanması.....	47
Şekil 1.4.2.6.	Altta tipik bir absorbans bandı, üstte ise ikinci türevi görülmektedir.....	48
Şekil 1.4.2.7.	Altta eğim içeren bir absorbans bandı, üstte bu spektrumun ikinci türevinin alınmasıyla eğimin yok edilmesi görülmektedir.....	48
Şekil 3.1.1.2.1.	Zolmitriptan'ın su içerisinde $23.1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ lik çözeltisinin UV spektrumu.....	73
Şekil 3.1.1.3.1	Zolmitriptan'ın IR spektrumu.....	74
Şekil 3.1.2.2.1.	Rizatriptan'ın su içerisindeki $40.4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ lik çözeltisinin UV spektrumu.....	75
Şekil 3.1.2.3.1.	Rizatriptan'ın IR spektrumu.....	76
Şekil 1.2.1.1.	Zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 282.7 nm 'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	78
Şekil 3.2.2.1	Zolmitriptan'ın $23.1; 30.8; 38.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ lik su içerisindeki çözeltilerinin birinci türev UV spektrumları.....	83
Şekil 3.2.2.2.	Zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 288.2 nm 'deki türev absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	85

Şekil 3.2.3.1.1.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu ($C=33.9; 41.2; 48.5 \mu\text{g.mL}^{-1}$).....	90
Şekil 3.2.3.1.2.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 398.0 nm'deki absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	91
Şekil 3.2.3.2.1.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu ($C=32.0; 40.0; 48.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$).....	94
Şekil 3.2.3.2.2.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 413.4 nm'deki absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	95
Şekil 3.3.1.1.	Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 279.3 nm'deki absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	102
Şekil 3.3.2.1.	Rizatriptan'ın 20.2; 30.3; 40.4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ lik su içerisindeki çözeltilerinin birinci türev UV spektrumu.....	106
Şekil 3.3.2.2.	Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 266.7 nm'deki türev absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	107
Şekil 3.3.2.3.	Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 286.0 nm'deki türev absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	108
Şekil 3.3.2.4.	Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 295.0 nm'deki türev absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	108
Şekil 3.3.3.1.1.	Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu ($C=75.0; 112.5; 150.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$).....	112
Şekil 3.3.3.1.2.	Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde 401.9 nm'deki absorbens değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	113

Şekil 3.3.3.2.1. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu(C=100.0; 125.0; 150.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).....	116
Şekil 3.3.3.2.2. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde 420.0 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.....	117

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.1.	Dozaj önerileri ile mevcut triptanlar.....	8
Çizelge 1.1.2.	Triptan karakteristiklerinin karşılaştırılması.....	9
Çizelge 1.1.3.	2 saatte seçilen triptanların baş ağrısına yanıtı ve iyileştirmedeki kazancı.....	10
Çizelge 1.1.4.	Triptan etkinliği ve zamana karşı konsantrasyon piki (T_{Max}).....	11
Çizelge 3.2.1.1.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan için kalibrasyon verileri, n=5.....	78
Çizelge 3.2.1.2.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler.	79
Çizelge 3.2.1.3.	Zolmitriptan standartlarının gün içi ve günler arası analiz sonuçları (n=3).....	80
Çizelge 3.2.1.4.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları.....	81
Çizelge 3.2.1.5.	Doğrudan UV spektrofotometrinin zolmitriptan tayini için farmasötik preparata uygulaması ve analiz sonuçları (Zomig® tablette etkin madde için etiket miktarı: 2.5 mg / tablet).....	82
Çizelge 3.2.2.1.	Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan için kalibrasyon verileri.....	84

Çizelge 3.2.2.2.	Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.....	86
Çizelge 3.2.2.3.	Birinci türev UV spektrofotometrinin sentetik numunelere uygulanması ile elde edilen geri kazanım sonuçları.....	87
Çizelge 3.2.2.4.	Birinci Türev UV spektrofotometrinin zolmitriptan tayini için farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları. Seçilen dalga boyu 288.2 nm, n=5 (Zomig® tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 2.5 mg / tablet).....	88
Çizelge 3.2.3.1.1.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.....	90
Çizelge 3.2.3.1.2.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.....	91
Çizelge 3.2.3.1.3.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları.....	92
Çizelge 3.2.3.1.4.	Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminin farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları, n=5 (Zomig® tabletteki etkin madde için etiket miktarı: Zolmitriptan 2.5 mg/tablet).....	93
Çizelge 3.2.3.2.1.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.....	95

Çizelge 3.2.3.2.2.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.....	96
Çizelge 3.2.3.2.3.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=7	97
Çizelge 3.2.3.2.4.	Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminin farmasötik preparata uygulaması ile elde edilen analiz sonuçları (Zomig® tabletteki etkin madde için etiket miktar: 2.5 mg/tablet).....	98
Çizelge 3.2.4.1.	Zolmitriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının t-tablo değerleri ile karşılaştırılması.....	99
Çizelge 3.2.4.2.	Zolmitriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının F-tablo değerleri ile karşılaştırılması.....	100
Çizelge 3.3.1.1.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan için kalibrasyon verileri, n=5.....	101
Çizelge 3.3.1.2.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.....	102
Çizelge 3.3.1.3.	Rizatriptan standartlarının gün içi ve günler arası analiz sonuçları, n=3.....	103
Çizelge 3.3.1.4.	Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=5.....	104

Çizelge 3.3.1.5.	Doğrudan UV spektrofotometrinin rizatriptan tayini için farmasötik preparata uygulaması ve analiz sonuçları, n=5 (Maxalt® RPD tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 10.0 mg / tablet).....	105
Çizelge 3.3.2.1.	Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan için kalibrasyon verileri, n=5.....	107
Çizelge 3.3.2.2.	Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.....	109
Çizelge 3.3.2.3.	Birinci türev UV spektrofotometrinin sentetik numunelere uygulanması ile elde edilen geri kazanım sonuçları, n=5.....	110
Çizelge 3.3.2.4.	Birinci Türev UV spektrofotometrinin rizatriptan tayini için farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları, n=5 (Maxalt® RPD tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 10.0 mg / tablet).....	111
Çizelge 3.3.3.1.1.	Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.....	113
Çizelge 3.3.3.1.2.	Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.....	114
Çizelge 3.3.3.1.3.	Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yöntemi için geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları.....	115

Çizelge 3.3.3.2.1.	Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.....	117
Çizelge 3.3.3.2.2.	Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.....	118
Çizelge 3.3.3.2.3.	Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=7	119
Çizelge 3.3.4.1.	Rizatriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının t-tablo değerleri ile karşılaştırılması.....	120
Çizelge 3.3.4.2.	Rizatriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının F-tablo değerleri ile karşılaştırılması.....	121
Çizelge 4.1.1.	Zolmitriptan Miktar Tayini İçin Önerilen Yöntemler ve Sonuçları.....	124
Çizelge 4.2.1.	Rizatriptan'ın Miktar Tayini İçin Önerilen Yöntemler ve Sonuçları.....	134

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Amaç

Migren dünyada ki en eski hastalıklardan biri olarak bilinmektedir. Günümüzde milyonlarca insan migren baş ağrısı ataklarına bağlı olarak dayanılmaz acılar çekmektedirler. Migren diğer baş ağrısı türlerinden farklı olarak 4 ile 72 saat arası süren şiddetli ve tek tarafta yoğunlaşan acı olarak tanımlanmaktadır. Mide bulantısı, kusma, mide veya bağırsakla ilgili rahatsızlıklar, ışığa ve sese karşı duyarlı olma ile birlikte görülmektedir. Hareket ettikçe kötüleşmekte ve şiddeti günlük aktivitelerin yapılmasını önleyecek kadar rahatsızlık verecek nitelikte olmaktadır. Migrenin kesin mekanizması bilinmemesine rağmen kalıtsal veya çevresel faktörler ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Migren ataklarını hızlandıran bir kaç faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında endişe, stres, uyku düzensizliği, parlak ışıklar, bazı yiyecekler ve aybaşı hali bulunmaktadır. Migrenden muzdarip olanların %70'i kadındır ve aylık hormonal değişiklikler göstermektedirler. Migren gebelik önleyici, östrojen ve gliseril trinitrat bileşimi içeren ilaçlar ile de hızlanmaktadır. Eğer migreni hızlandıran faktörler tanımlanabilir ve bunlardan sakınılırsa atakların sıklığı azaltılabilmektedir (REMINGTON 2001; KAYAALP, 1989; MARTINDALE, 2002 (LANCE 1992; MACGREGOR 1993; SOLOMON ve ark., 1993; WELCH 1993; KUMAR ve COONEY, 1995; GOADSBY 2003; CAPOBIANCO ve ark., 1996; PRYSE-PHILLIPS ve ark., 1997; FERRARI 1998; DIENER ve ark., 1998; BARTLESON 1999; TFELT-HANSEN 2000; LIPTON ve ark., 2000)).

Migrenin sebeplerine ilişkin teoriler olmasına rağmen çoğu uzman bu acının beyinle ilgili damarların genişlemesine bağlı olduğuna inanmaktadır. Olası bir açıklama da, üçlü sinir düğümü nöronlarından nöropeptitlerin gevşemesi, başlangıç serotonininin indüklediği damar daralması ve beyinle ilgili damarların iltihaplanmasıdır ki bu da sürekli ve acı dolu damar genişlemesine yol açmaktadır. Damarsal olayların veya nöropatik değişikliklerin serotonin, katekolamin, histamin, kinin, nöropeptit ve prostaglandin içeren damar aktif maddelerin serbest kalmasıyla

giderilebileceği görülmüştür (REMYINGTON 2001; KAYAALP, 1989; MARTINDALE, 2002 (LANCE 1992; MACGREGOR 1993; SOLOMON ve ark., 1993; WELCH 1993; KUMAR ve COONEY, 1995; GOADSBY 2003; CAPOBIANCO ve ark., 1996; PRYSE- PHILLIPS ve ark., 1997; FERRARI 1998; DIENER ve ark., 1998; BARTLESON 1999; TFELT-HANSEN 2000; LIPTON ve ark., 2000)).

Migren atakları 4 temel şekilde;

1. **İlk Haberci**, ışığa ve sese karşı hassasiyet, ruh halinin değişimi ve bitkinlik,
2. **Aura** (öncü belirtiler), nörolojik değişiklikler, kısmi körlük, ışık çakması, baş dönmesi, kulak çınlaması,
3. **Baş ağrısı**, bir kaç saat veya bazı durumlarda günlerce sürmesi,
4. **Son Haberci**, bitkin, güçsüz, alıngan, sinirli olma durumu olarak, **tanımlanmaktadır.**

Migrenin 4 çeşidi bulunmaktadır.

1. **Klasik Migren (Auralı Migren)**; görsel veya duyuşal belirtileri içermesi ile karakteristiktir ve bir saatten daha az sürmektedir. Baş ağrısı genel de belirtilerin oluşumundan bir saat sonra başlamaktadır.
2. **Genel Migren (Aurasız Migren)**; migrenli hastaların yaklaşık %75 inde görülen daha ortak bir formdur. Uyarıcı belirtiler migren ataklarından önce gelişmektedir.
3. **Kalıtımsal Yarı İnmeli Migren**; auralı migrenin ender görülen formlarındandır. Bu tür migrende konuşamama, kafa karışıklığı ve kısmi felçlilik söz konusu olmaktadır.
4. **Bayağı Migren**; auralı migrenin bir başka ender görülen tipidir. Bu formda beyinde veya kafatasının arka kısmındaki loblarda rahatsızlıklar olabilmekte, bunun sonucunda bilinç kaybı, baş dönmesi, bedensel işlevlerde düzensizlik ve çift görme sorunu yaşanabilmektedir.

Migren problemini tedavi etmek için akut atakların belirtilerinden kurtaracak ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar migrenin ilk fazlarında alındığında daha etkili olmaktadır. Bunlar etkili ve popüler olan triptan bileşiklerini (örneğin sumatriptan, naratriptan ve zolmitriptan), kafeinli ve kafeinsiz ergotaminleri, steroidal olmayan iltihap önleyici ajanları (NSAID'leri) ve uyuşturucu ağrı kesicileri içermektedirler. Ayda 2 – 3 den daha fazla migren deneyimi yaşayan hastalara hastalıktan koruyucu tedavi önerilmektedir. Bu ilaçlar migrenin önlenmesi için günlük alınmakta ve migrenin şiddeti ile tekrarlanmasını azaltmaktadır. Migrenden ön korunma tedavisi için FDA (Food and Drug Administration)'dan onaylı tek ilaçla tedavi şekli beta adrenerjik blokerlerin (ergotaminler, dihidroergotamin ve metisergit) kullanılmasıdır. Kalsiyum kanal blokerlerin, monoamin oksidaz inhibitörlerin (MAOI'ler), NSAID lerin, üç halkalı antidepresanların ve valproik asitin de migreni önlediği saptanmasına rağmen FDA onaylı değildirler (REMINGTON, 2001).

Tedaviye başlangıçtan itibaren hastalığın şiddetine yön verilebilmektedir. Tedaviye basit ağrı kesiciler ile başlanması tercih edilmekte ve alınan sonuca göre tedavi şekli belirlenmektedir. Basit ağrı kesiciler (parasetamol veya aspirin ve diğer NSAID'ler), atak işaretlerinin başlarında alınırsa etkili olmaktadırlar. Kodein gibi zayıf uyuşturucu ağrı kesiciler, oral bileşiklerin analjezik preparatlarında bulunmaktadır fakat genelde sık sık baş ağrısı çeken hastalarda kullanımlarından kaçınılması gerekmektedir. Antimigren preparatlarda analjeziklerle kullanılan diğer ilaçlar vasokonstriktör izomethepten ve dikloralfenazon gibi uyku ilaçları içermektedirler. Eğer migrenin ilk tedavisi ertelenirse, oral ilaçların absorpsiyonu genelde atakların neden olduğu mide - bağırsak hareketinin yavaşlaması sonucu mide bulantısı ve kusma ile sonuçlanabilmektedir. Antimigren preparatlar genelde antiemetik ilaçları da içermektedirler. Genelde buklizin, siklizin ve metaklopramid ile domperidon gibi prokinetik ilaçlar antimigren ilaçlarda kullanılmaktadır. Prokinetik ilaçların mide boşluğunu genişletme ve mide - bağırsak hareketini düzenleme avantajları bulunmaktadır. Dağılabilen ve köpüren analjezik preparatlar daha hızlı emilimlerinden dolayı tercih edilebilmektedir. Eğer mide bulantısı ve kusma varsa, rektumdan verilmesi gerekmektedir (MARTINDALE, 2002).

Basit ağrı kesicilere veya NSAID'lere cevap vermeyen ataklarda, seçici serotonin (5-HT₁) agonistleri (rizatriptan, zolmitriptan, sumatriptan gibi) ve ergot türevleri ergotamin ve dihidroergotamin gibi spesifik ilaçlar ile tedavi olunabilmektedir. Zayıf emilimi ve yan etkileri genellikle tercih edilen ergot türevlerinin ve seçici serotonin (5-HT₁) agonistlerinin kullanımını sınırlamaktadır (MARTINDALE, 2002).

Sumatriptan geliştirilen ilk serotonin (5-HT₁) agonistidir ve oral, burun içi, derialtı kullanımı bulunmaktadır. Genelde migren atağının ilk belirtisi ile tek dozaj verilmektedir, ayrıca migren ataklarının baş ağrısı aşamasında kullanılırsa da etkili olmaktadır. Bazı hastalar 24 – 48 saat içerisinde baş ağrısı tekrarı ile karşılaştığında, buna ikinci bir dozaj ile karşılık verilmektedir. Diğer seçici serotonin (5-HT₁) agonistleri almotriptan, naratriptan, rizatriptan ve zolmitriptan içermektedirler ve oral olarak kullanılabilirler.

Ergotamin migren atağının ilk uyarısında ne kadar erken verilirse, tedavisi de o kadar etkili olmaktadır. Oral biyoyararlanımının zayıf olması ve migren ataklarında etkinliği oldukça azalabileceğinden, ergotamin bazen dilaltı, rektal preparatlar veya ağızdan solunarak alınabilmektedir. Ergotamin mide bulantısı ve kusturmayı şiddetlendirebilmektedir. Eğer mide bulantısı ve kusma şiddetli olursa, klorpromazin veya proklorperazin gibi fenotiazin antiemetikler verilebilmektedir. Dihidroergotamin paranteral tedavi gerekiyorsa kullanılabilir. Nazal yolla da verilebilir fakat bununla ilgili fazla deneyim bulunmamaktadır (MARTINDALE, 2002).

Hızlı bir şekilde migren gelişen hastalara paranteral olarak dihidroergotamin veya sumatriptan verilebilmektedir. Eğer bu ilaçlardan sonuç alınamazsa, metoklopramit, klorpromazin veya proklorperazin gibi dopamin antagonistlerin paranteral olarak verilmesi akut migren ataklarındaki acının dindirilmesinde etkili olabilmektedir. Uzun dönemli ataklar (sürekli migren) metoklopramit ile dihidroergotaminin damardan verilmesini gerektirebilmektedir. Diğer ilaçlar tek

başına, proklorperazin, klorpromazin, kortikosteroidler veya petidin içeren kombinasyonu ile verilebilmektedir. Lidokain, migrenin acil tedavisi için damardan verilebilmekte, nazal lidokain de yararlı olabilmektedir (MARTINDALE, 2002).

Migren ataklarının sık sık oluştuğu veya daha az sıklıkta fakat şiddetli ve uzun dönemli atakların olduğu hastalarda ön koruyucu tedavi düşünülmesi zorundadır. Etkinliğinin tayin edilmesinden önce yeterli bir süre için ön koruma ilaçları vermek gerekmektedir. Optimum etkiye ulaşıldığında, ön korumanın sürdürülebilmesi için yaklaşık 3 – 6 aylık periyotlarda yeniden inceleme yapmak gerekmektedir. Başlıca ön koruma ilaçları beta blokerlerin, pizotifen, ve üç halkalı antidepresanlardır. Propranolol ön koruma ilaçlarının seçiminde en fazla düşünülenlerin başında gelmektedir. Genelde yan etki olarak hareketsizlik, uyku hali belirler. Diğer beta blokerlerin propranolol gibi etkili oldukları bildirilmiştir. Atenolol, metoprolol, nadolol ve timolol içerenler semptomatik aktiviteye sahip değildirler. Bazı serotonin (5-HT₁) agonistleri ve ergotamin ile etkileşmesi için beta blokerlerin potansiyeli düşünülebilmektedir. Pizotifen, antihistamin ve serotonin antagonisti, propranolol'ün başlıca alternatiflerinden biri olmaktadır. Sürekli uyku hali ve artan iştah ile kilo kazanma bir problem olabilmekte, buna karşılık dozun derecede artırılması ve geceleyin de alınması ile bunun üstesinden gelinmektedir. Üç halkalı antidepresanlardan amitriptilin geceleyin artan dozajlarda verildiğinde özellikle depresyonda veya gergin tip baş ağrısı çeken hastalarda atakların önlenmesinde yararlı olabilmektedir. Buna karşın antimuskarinin yan etkileri oluşabilmektedir. Başka ilaçlarda migrenin ön tedavisinde kullanılabilmektedir. Kalsiyum-kanal bloker aktiviteli ilaçlardan, flunarizin yanı sıra verapamil de yararlı olabilmektedir. Fakat diltiazem, nifedipin veya nimodipin gibi diğer kalsiyum-kanal blokerlerin etkinliği daha az olmaktadır. Bir gamma - aminobütirik asit (GABA) olan valproat etkili olabilmektedir, NSAID'ler de denenmeye değer niteliktedirler. Güçlü bir serotonin antagonisti metisergit kullanımı ciddi yan etkilerinden dolayı azalmaktadır. Fenelzin gibi MAOI'lar nadiren kullanılmaktadırlar fakat en iyisi ön koruyucu tedavinin diğer formlarının düzeltilmediği şiddetli durumlar için düşünülmesidir. Bir antihistamin ve serotonin agonisti olan siproheptadin özellikle çocuklarda migren ön koruyucusu olarak kullanılmaktadır.

Migren ön koruyucu olarak kullanılan diğer ilaçlar klonidin, siklandelat, indoramin ve ergot türevleri lisurit ve metergolin içermektedirler (MARTINDALE, 2002).

Kardiyovasküler hastalıkları nedeniyle beta - bloker tedavisi gören migrenli hastalarda migren nöbeti sıklığının azalması ve ilaç kesilince bu koruyucu etkinin kaybolması, söz konusu ilaçların migrende önleyici ilaç olarak yararlı olduklarını göstermektedir. Migrenli hastalar üzerinde yapılan incelemelerin ekserisinde, beta-blokerlerin kronik uygulanması ile olguların çoğunda nöbet sıklığının genellikle % 50' den fazla azaldığı saptanmıştır. Bu denemelerde daha çok propranolol (günde 80–120 mg) kullanılmış bulunmaktadır. Diğer beta - blokerlerin de etkili olmaları beklenmektedir. Ancak bir çalışmada beta - bloker etkinliği çok düşük olan d-propranololun da etkili olması, sonuçların sadece beta-blokaja bağlı olmadığını da düşündürmektedir (KAYAALP, 1982).

Migrenin nedeni bilinmediği gibi propranololun bu hastalıkta ön koruma yapmasının mekanizması da kesinlikle bilinmemektedir. Propranololun meninks damarlarında vazodilatör etkiye aracılık eden β_2 reseptörleri bloke ederek vazokonstriksiyon yapmasının ön korumaya katkısı bulunabilmektedir (KAYAALP, 1982).

Migren tedavisinde triptan olan sumatriptan kullanımı ile devrim yaratılmıştır. Yeni triptanlar 5-hidroksitriptamin (5-HT) 1B/1D reseptör agonistleridir, farklılıklarının önemi farmakokinetiklikleri ve klinik uygulamalardaki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Deriyaltı sumatriptan çok hızlı etki etmekte fakat etkinliğinin yanı sıra oldukça fazla yan etkiye de sahip bulunmaktadır. Burun spreyi sumatriptanında ilk etkisi hızlı olmakta fakat 2 saat sonra ki etkinliği zolmitriptan ile karşılaştırıldığında düşük kalmaktadır. Oral triptanlardan rizatriptan'ın en hızlı ilk etkiye sahip olduğu görülmektedir. Rizatriptan ve zolmitriptan hızlı olarak ağızda çözülebilmektedir. Yeni triptanlardan almotriptan oral sumatriptan ile aynı etkinliğe sahip bulunmakta ve yan etkileri de daha az olmaktadır. Naratriptan ve frovatriptanın başlangıç etkileri yavaş olmasına rağmen yüksek tolere edilebilirliği ve uzun

yarılanma süreleri uzun süreli migren ataklarının giderilmesinde ve baş ağrılarının önlenmesinde yararlı olabilmektedir. Yüksek dozajlardaki eletriptan (80 mg) rizatriptanla benzer etkilere sahip bulunmakta fakat yan etkileri yüksek seyretmektedir (ADELMAN ve LEWIT, 2001).

Triptan seçimi, hastaların migren atak karakteristiklerine, toleransına ve tercihlerine bağlı olarak migren tedavisine alternatif sunabilmektedir. Çizelge 1.1.1. dozaj önerileri ile triptanları, Çizelge 1.1.2. triptanların karakteristik özelliklerini, Çizelge 1.1.3. triptanların etkinliklerini ve Çizelge 1.1.4. ise triptanların etki sürelerinin karşılaştırılmasını göstermektedir.

ÇİZELGE 1.1.1. DOZAJ ÖNERİLERİ İLE MEVCUT TRİPTANLAR						
İsim	Formülasyonu	Mevcut dozaj	Paket büyüklüğü	Yetişkin Başlangıç Dozajı	Tekrarlama Zamanı	4 Saatte Alınan Maksimum Dozaj
Sumatriptan süksinat(Imitrex®)	SQ	6 mg	2	6 mg	1 sa.	12 mg
	NS	5 mg;20mg	6	20 mg	2 sa.	40 mg
	Tablet	100 mg	9	50 mg	2 sa.	200 mg
Zolmitriptan (Zomig™)	Tablet	2.5mg;5mg	3;6	2.5 mg	2 sa.	10 mg
	Dilim	2.5 mg	6	2.5 mg	2sa.	10 mg
Naratriptan HCl (Amerge™)	Tablet	1 mg;2.5mg	9	2.5 mg	4 sa.	5 mg
Rizatriptan benzoat (Maxalt® RPD), Maxalt.MLT™)	Tablet	5 mg;10 mg	6	10 mg	2 sa.	30 mg
	Dilim	5 mg;10 mg	6	10 mg	2 sa.	30 mg
Almotriptan malat (Axert®)	Tablet	6.25 mg;12.5 mg	6	12.5 mg	2 sa.	25 mg
SQ : Derialtı ; NS : Burun Spreyi						

ADELMAN VE LEWIT, 2001)

ÇİZELGE 1.1.2.	TRİPTAN KARAKTERİSTİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI
	• Hız sumatriptan SQ>sumatriptan burun spreyi=<i>rizatriptan tablet/dilim</i>><i>zolmitriptan</i>>sumatriptan oral=almotriptan>naratriptan • Etkinlik Süresi (1 ve 2 saat) sumatriptan SQ > <i>rizatriptan tablet/dilim</i>>sumatriptan burun spreyi=<i>zolmitriptan</i>>sumatriptan=almotriptan>naratriptan • Tolere edilebilirliği naratriptan=almotriptan>sumatriptan=<i>zolmitriptan</i>=<i>rizatriptan</i>>sumatriptan burun spreyi> sumatriptan derialtı • Yinelenme naratriptan=almotriptan<<i>zolmitriptan</i>=<i>rizatriptan</i>=sumatriptan SQ, sumatriptan, sumatriptan burun spreyi • Formülasyonları sumatriptan><i>rizatriptan</i>=<i>zolmitriptan</i>>naratriptan=almotriptan
SQ=Derialtı	

(ADELMAN VE LEWIT,2001)

ÇİZELGE 1.1.3. 2 SAATTE SEÇİLEN TRİPTANLARIN BAŞ AĞRISINA YANITI VE İYİLEŞTİRMEDEKİ KAZANCI		
	BAŞAĞRISINA YANIT (%)	YANITIN (%) İYİLEŞTİRME KAZANCI
Almotriptan (25 mg)		
Eletriptan (40 mg)	57-68	19-27
Eletriptan (80 mg)	54-65	22-41
Frovatriptan (2.5 mg)	68-77	30-53
Naratriptan (2.5 mg)	40	16
<i>Rizatriptan (10 mg)</i>	48(45-51)	21(18-24)
Sumatriptan(20 mg NS)	73(69-73)	34(30-38)
Sumatriptan (50 mg)	60-86	28-55
Sumatriptan (6 mg SC)	56(51-61)	33(29-36)
<i>Zolmitriptan (2.5 mg)</i>	80-85	51
	64(59-69)	34(27-41)

(ADELMAN VE LEWIT,2001)

ÇİZELGE 1.1.4. TRIPTAN ETKİNLİĞİ VE ZAMANA KARŞI KAN KONSANTRASYON PİKİ (T _{MAX})						
% Acının Hafiflemesi				% Acının Geçmesi		
Triptan	T _{MAX} (sa)	30 dk.	1 Saat	2 saat	1 Saat	2 Saat
Sumatriptan süksinat, 100 mg						
<i>Zolmitriptan, 5 mg</i>	2.5	NA	20(12)	55(24)	6(2)	23(6)
<i>Rizatriptan benzoat, 10 mg</i>	2-3	12(5)	40(22)	62(35)	NA	39(1)
Naratriptan hidroklorit, 2.5mg	1-1.5	22(11)	45(21)	74(28)	13(3)	42(10)
Eletriptan, 40 mg	3-4	7(5)	20(15)	40(30)	NA	NA
Eletriptan, 80 mg	2.8	NA	38(12)	63(24)	8(2)	29(8)
Frovatriptan, 2.5 mg	2.8	NA	41(12)	77(24)	17(2)	37(8)
Almotriptan, 12.5 mg	2-3	NA	NA	40(24)	NA	NA
	2.6	13	34	58	5	18
Plasebo yanıtları parantez içerisinde gösterilmiştir. NA mevcut olmayan verileri ifade etmektedir.						
Almotriptan plasebo ile değil sumatriptanla karşılaştırılmaktadır.						

(MARCUS D.A., 2001)

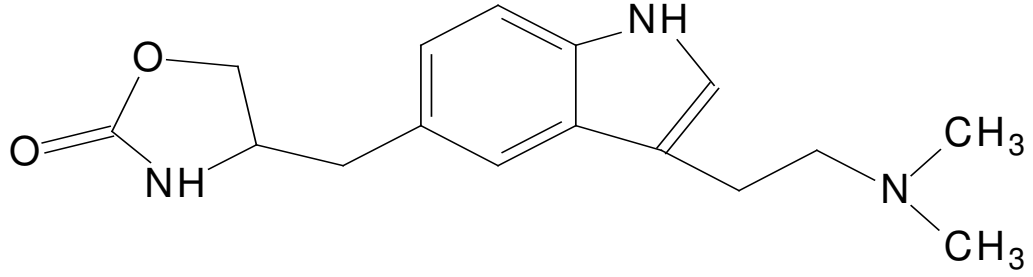
İdeal triptanın çok kısa T_{MAX} ile hızlı olarak etkiyebilmesi, yan etkilerinin az olması, migrenin tekrarlama oranını düşük düzeylerde tutması ve hasta için uygun olması gerekmektedir. Deri altı formülasyonları oldukça hızlı etki etmelerine rağmen yan etkileri oldukça fazla, maliyetli ve enjeksiyon yapılmasını gerektirmektedir. Burun spreyi formülasyonları popüler değildir. Oral ve derialtı formülasyonları daha fazla tercih edilmektedir. Mide bulantısı söz konusu ise rizatriptan'ın dilim formu daha yararlı olmakta, dilaltında daha hızlı çözünmekte ve hızlı olarak etki etmektedir ve 2 saatten önce acıya yanıt verilebilmektedir. Daha uzun yaşam süreli triptanlar, örneğin naratriptan ve frovatriptanda migrenin tekrarlanma oranı az olmasına karşın erken yanıt hızları düşük kalmaktadır. Migren hastalarına belirli bir triptan verilmeden önce bütün faktörlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Tez kapsamında zolmitriptan ve rizatriptan'ı tek başına içeren farmasötik preparatlarda etkin madde miktar tayinleri için hızlı, duyarlı ve seçici yöntemler geliştirilmiştir. Çalışmalarımızda geliştirilen analitik yöntemlerin uygulamalarıyla elde edilen sonuçlar, klasik spektroskopik yöntemlerden elde edilen sonuçlar ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

1.2. Kullanılan Etkin Maddelerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

1.2.1. Zolmitriptan (MERCK INDEX, 2001)

1.2.1.1. Kimyasal Yapısı



Şekil 2.2.1.1. Zolmitriptan'ın molekül yapısı

Adlandırılması: (4S)-4-[[3-[2-(Dimetilamino)etil]-1H-indol-5-il]metil]-2-okzazolidinon;

(S)N,N-dimetil-2-[5-(2-okzo-1,3-okzazolidin-4-ilmetil)-1H-indol-3-il]etilamin;

Ticari Adı: 311C90; Zomig

Kapalı Formülü: C₁₆H₂₁N₃O₂

Molekül Ağırlığı: 287.36

Elemental Analizi: %66.87 C, %7.37 H, %14.62 N%, %11.14 O

İşlevi: Serotonin 5HT_{1D} reseptör agonisti

Erime Noktası: 139 – 141°C

[α]_D²²: -5.79° (C= 0.5 metanolde)

pKa: 9.64

Çözünürlük: Kararlı, higroskopik değildir. Nötral pH'larda sulu çözeltisindeki çözünürlüğü 20.0 mg.mL⁻¹ den fazladır. Su, metanol ve etanolde çözünür.

1.2.1.2. Farmakolojik Özellikleri (MARTINDALE, 2002)

1.2.1.2.1. Farmakokinetik Özellikleri

Ağızdan alımından sonra hızlıca ve büyük ölçüde emilen zolmitriptan'ın (dozun en az % 64'ü) mutlak biyoyararlanımı yaklaşık % 40- 50 olmakta ve pik-plazma konsantrasyonuna formülasyona bağlı olarak yaklaşık 1.5 – 3.5 saatte ulaşılmaktadır (SEABER ve ark., 1996; DIXON ve ark., 1997; SEABER ve ark., 1990; PECK ve ark., 1998; SEABER ve ark., 1998; DIXON ve ark., 1999; DIXON ve WARRANDER, 1997).

Sağlıklı deneklere 2.5 – 50 mg arasında değişen bir tek doz olarak verilen zolmitriptan'ın ve aktif metaboliti olan N-desmetil metabolitinin AUC (eğrinin altında kalan alan) ve C_{max} (maksimum konsantrasyon) değeri, dozla orantılıdır. Emilim hızlı olup C_{max} değerlerinin %75'i bir saat içerisinde elde edilir ve plazma düzeyleri, sonraki 4–6 saat boyunca devam ettirilir. Gastrointestinal kanalda besinlerin varlığı, zolmitriptan emilimini etkilemez. Çoğul-doz kullanımında birikim olduğunu gösteren hiçbir kanıt yoktur.

Zolmitriptan vücuttan daha çok, karaciğerde biyotransformasyon geçirerek oluşan metabolitlerinin böbrekler yoluyla atılması şeklinde uzaklaştırılır. Zolmitriptan'ın başlıca üç metaboliti vardır: indol asetik asit (plazmadaki ve idrardaki ana metabolit), N-oksit ve N-desmetil analogları. Bunlardan N-desmetil metaboliti (183C91) aktiftir, diğerleri değildir. Plazmadaki 183C91 konsantrasyonları asıl ilacın yaklaşık yarısı olduğundan bu metabolitin, Zomig®'in terapötik etkisine katkıda bulunması beklenir. Bir oral dozun % 60'tan fazlası öncelikle indol asetik asit metaboliti olarak idrarla; %30 kadarı ise daha çok değişikliğe uğramamış asıl ilaç olarak dışkı yolu ile vücuttan uzaklaştırılır (SEABER ve ark., 1996; DIXON ve ark., 1997; SEABER ve ark., 1990; PECK ve ark., 1998; SEABER ve ark., 1998; DIXON ve ark., 1999; DIXON ve WARRANDER, 1997).

Karaciğer hastalığının zolmitriptan'ın farmakokinetiği üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan çalışmada, sağlıklı gönüllülerle orta veya ileri derecede karaciğer bozukluğu olan hastalar karşılaştırıldığında orta dereceli karaciğer bozukluğu olan hastaların AUC ve C_{max} değerleri sırasıyla % 94 ve % 50; ileri derecede karaciğer bozukluğu olan hastaların ise % 226 ve % 47 arttığı gösterilmiştir. Aktif metaboliti de dahil metabolitlerde azalma görülür. 183C91 metabolitinin AUC ve C_{max} değerleri orta dereceli karaciğer bozukluğu olan hastalarda sırasıyla % 33 ve % 44 ve ileri derecede karaciğer bozukluğu olanlarda ise % 82 ve % 90 azalmıştır (ZOMİG® PROSPEKTÜSÜ).

Zolmitriptan'ın plazma yarı ömrü ($T_{1/2}$) sağlıklı gönüllülerde 4.7 saat. orta derecede karaciğer bozukluğu olan hastalarda 7.3 saat ve ileri derecede karaciğer bozukluğu olanlarda ise 12 saattir. Buna karşılık 183C91 metabolitinin plazma yarı ömrü ($T_{1/2}$) sırasıyla 5.7; 7.5 ve 7.8 saattir (ZOMİG® PROSPEKTÜSÜ).

İntravenöz kullanımdan sonraki ortalama total plazma klirensi 10 ml/dakika/kg kadardır ve bunun üçte biri renal klirensir. Renal klirensin glomerüler filtrasyon hızından yüksek olması, renal tübüler sekresyon oluştuğunu akla getirmektedir. İntravenöz dozdan sonraki dağılım hacmi, 2.4 L/kg'dır. plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür (yaklaşık %25) (SEABER ve ark., 1996; DIXON ve ark., 1997; SEABER ve ark., 1990; PECK ve ark., 1998; SEABER ve ark., 1998; DIXON ve ark., 1999; DIXON ve WARRANDER, 1997).

Zolmitriptan'ın ortalama eliminasyon yarı ömrü 2.5 – 3 saat kadardır. Metabolitlerin yarı ömründe buna yakın olması, bunların eliminasyonlarının oluşum hızları ile sınırlandığını akla getirmektedir (SEABER ve ark., 1996; DIXON ve ark., 1997; SEABER ve ark., 1990; PECK ve ark., 1998; SEABER ve ark., 1998; DIXON ve ark., 1999).

Zolmitriptan'ın ve metabolitlerinin renal klirensi, orta - ileri derecede böbrek bozukluğu vakalarında sağlıklı deneklerdekinin 1/7 – 1/8'i kadardır ama asıl bileşiğin

ve aktif metabolitinin bu hastalardaki AUC değerleri yalnızca hafif bir yükselme gösterir (sırasıyla % 16 ve % 35); yarı ömür de 1 saat uzayarak 3 – 3.5 saate çıkar.

Bu parametreler, sağlıklı gönüllülerde görülen sınırlar içerisinde kalmaktadır. Zolmitriptan'ın ileri yaşıta, sağlıklı insanlardaki farmakokinetiği, sağlıklı genç gönüllülerdekine benzer bulunmuştur.

Endikasyonları: Auralı veya aurasız migren ataklarının akut tedavisinde endikedir.

Kontrendikasyonları: Zolmitriptan'a aşırı duyarlığı olanlarda, kan basıncı kontrol altında olmayan hipertansiyon olgularında, iskemik kalp hastalığında koroner, spazm / Prinzmetal anjina olgularında kontrendikedir (VADEMECUM, 2006).

Kullanım şekli ve dozu: Bir migren atağının tedavisinde önerilen Zomig® dozu 2.5 mg'dır. Eğer semptomlar devam eder veya 24 saat içerisinde tekrarlırsa, alınacak ikinci bir dozun etkili olduğu gösterilmiştir. İkinci bir doz gerekiyorsa bu, başlangıç dozundan en az 2 saat geçtikten sonra alınmalıdır. Eğer hasta 2.5 mg'lık dozlardan tatmin edici bir fayda görmüyorsa, daha sonraki ataklar 5 mg'lık Zomig®'in dozlarıyla tedavi edilebilir. Dozun alınmasını izleyen 1 saat içerisinde anlamlı bir etki görülür. Migren atağı sırasında alındığı zamanda aynı derecede etkili olan Zomig® tabletlerin migren atağı başladıktan sonra mümkün olan en kısa zamanda alınması önerilir. Tekrarlayan ataklar karşısında 24 saat içerisinde alınacak toplam Zomig® miktarı 15 mg'ı aşmamalıdır.

Çocuklarda kullanımı: Zomig®'in pediatrik hastalardaki ilaç emniyeti ve etkinliği saptanmış değildir.

65 yaş üzerindeki hastalarda kullanımı: Zomig®'in 65'in üzerinde olan

hastalardaki ilaç emniyeti ve etkinliği, sistematik olarak değerlendirilmiş değildir.

Karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanımı: Karaciğer yetmezliği olan hastalarda metabolizma azalır. Bundan dolayı orta veya ciddi karaciğer yetmezliği olan hastalarda, 24 saatte önerilen maksimum doz 5 mg'dır.

Böbrek yetmezliği olan hastalar: Doz ayarlanmasına ihtiyaç yoktur.

Yan etkiler ve alınacak tedbirler: Olası yan etkilerin, dozajın alınmasını izleyen 4 saat içinde görölme eğilimi vardır ve bunlar, tekrarlanan dozlardan sonra sıklaşmaz. Çok nadir olgularda anjina pektoris ve miyokard enfarktüsü rapor edilmiştir. Ençok bildirilen yan etkiler bulantı, göz kararması, somnolans, sıcaklık hissi, asteni, ağız kurumasıdır (VADEMECUM, 2006).

Zolmitriptan, Wolff-Parkinson-White sendromu veya kalp ile ilgili ritim bozukluğu olan hastalarda kullanımından sakınılmalıdır. Zolmitriptan'ın dozajı karaciğerinde sorun olan kişilerde azaltılmalıdır.

Yapılan bir çalışma da; orta veya şiddetli karaciğer bozukluğu olan hastalarda zolmitriptan'ın başlangıç dozajını azaltmaya gerek olmadığı gösterilmiştir. Bu tür hastaların karaciğerinde birikme tekrarlanan doz alımları ile olabildiğinden günlük toplam doz alımı azaltılmalıdır (DIXON ve ark., 2000).

50 yaşındaki bir kadında zolmitriptan kullanımına bağlı olarak omurilik lezyonu rapor edilmiştir. Klinik veriler, lezyonun iskemi tıkanıklığına sebep olduğunu göstermektedir (VIJAYAN ve PEACOCK, 2000).

Zolmitriptan ve metabolitlerinin böbrekten geçişi orta-şiddetli böbrek hastalarında azaltılmasına rağmen, sonucun etkisinin klinik öneminin olmadığı düşünölmektedir ve bu tür hastalarda zolmitriptan dozajının düzenlenmesine gerek

olmadığına karar verilmiştir (GILLOTIN ve ark., 1997).

Yapılan bir çalışmada zolmitriptan'ın genç ve yaşlı yetişkinlerde kalp damarları ve merkezi sinir sistemine etkileri incelenmiştir. Zolmitriptan'ın kalp atış hızını etkilemediği fakat genç yetişkinlerde sistolik kan basıncı üzerinde çok az bir etki yaptığı saptanmıştır. Yaşlılarda sistolik kan basıncı değeri 9 – 16 mm-Hg iken zolmitriptan ve yalancı ilaç verildiğinde, zolmitriptan alanların kan basıncı daha yüksek çıkmıştır. Ortalama diastolik basınç her iki yaş grubu içinde 6 – 10 mm-Hg olarak normalden yüksek bulunmuştur. Bu değişiklikler sürekli olmamaktadır. Kan basıncının artması ile bedensel değişiklikler doğaldır. Zolmitriptan'ın farmakokodinamik ve farmakokinetik özelliklerinin yaş ile değişmediği saptanmıştır. Veriler yaşa göre doz ayarlamasının gerekmediğini göstermektedir (PECK ve ark., 1998).

Yalnızca, migren tanısı konmuş hastalarda kullanılmalı ve önemli olabilecek diğer nörolojik durumların bulunmadığına dikkat edilmelidir. Gebe kadınlarda yalnızca, annede elde edilecek yararların, fetüsün karşı karşıya kalabileceği risklerden açıkça daha fazla olması durumunda kullanılmalıdır. Emziren annelerde kullanılması sırasında dikkatli olunmalıdır. Hastaların araç ya da makine kullanma yeteneğini bozma olasılığı yoktur ancak somnolans görülebileceği dikkate alınmalıdır (VADEMECUM, 2006).

Etkileşimleri: Zolmitriptan tedavisini izleyen 12 saat içinde diğer 5-HT_{1B/1D} agonistleri alınmamalıdır. Sumatriptanda olduğu gibi, 24 saat içinde zolmitriptan'ın maksimum dozajının simetidin alan hastalarda azaltılması önerilmiştir. Simetidin kullanan hastalarda 24 saatte maksimum 5 mg zolmitriptan kullanılması önerilir. Bu düşünce, zolmitriptan ve moklobemid gibi monoamin oksidaz tip A'nın inhibitörlerinin birlikte kullanımı ile değişmektedir. Bir MAO-A inhibitörünün alınmasından sonraki 24 saat içinde kullanılacak zolmitriptan miktarı 7.5 mg'ı aşmamalıdır. İngiltere'de üreticiler zolmitriptan'ın maksimum dozajının, monoamin oksidaz tip A'nın inhibitörleri ile kullanıldığı zaman azaltılmasını önerirlerken Amerika'daki üreticiler böyle kombinasyonlarla hastalığın alışlagelen tedavisinin

tatbik edilmesinin uygun olmadığını göstermişlerdir. Sitokrom P450 izoenzim CYP1A2'yi inhibite eden fluvaksamin ve siprofloksasin gibi ilaçlar ile verildiğinde zolmitriptan dozajında benzer bir azaltma yapılabilmektedir (MARTINDALE, 2002).

Bir migren atağının tedavisinde önerilen dozaj miktarı 2.5 mg'dır. Eğer semptomlar devam eder veya 24 saat içinde tekrarlırsa alınacak ikinci bir dozajın etkili olduğu gösterilmiştir. İkinci bir dozaj gerekiyorsa bu, başlangıç dozajından en az 2 saat sonra alınmalıdır. Eğer hasta 2.5 mg'lık dozlardan tatmin edici bir yarar görmüyorsa, daha sonraki ataklar 5 mg'lık Zomig® dozlarıyla tedavi edilebilir. Dozajın alınmasını izleyen 1 saat içinde anlamlı bir etki görülür. Migren atağı sırasında alındığı zaman da aynı derecede etkili olan Zomig® tabletlerin, migren atağı başladıktan sonra mümkün olan en kısa sürede alınması önerilir. Tekrarlayan ataklar karşısında 24 saat içinde alınacak toplam Zomig® miktarı 15 mg'ı aşmamalıdır (ZOMİG® PROSPEKTÜSÜ).

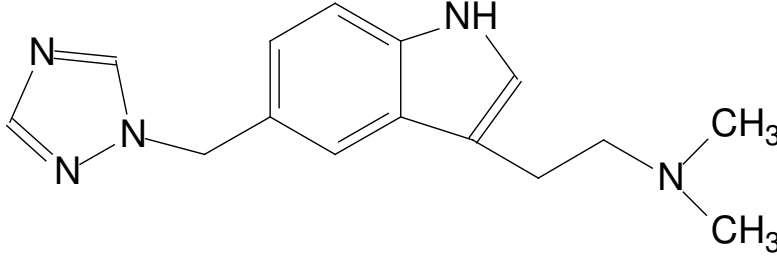
1.2.1.2.2. Farmakodinamik Özellikleri

Preklinik çalışmalarda zolmitriptan'ın, vasküler insan rekombinant 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptör alt tiplerinin selektif agonisti olduğu gösterilmiştir. Zolmitriptan, yüksek affiniteli bir 5-HT_{1B/1D} reseptör agonistidir ve ılımlı bir 5-HT_{1A} reseptör affinitesine sahiptir. Radyoligand bağlama çalışmalarının sonuçlarına göre zolmitriptan 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, alfa₁-, alfa₂- veya beta₁-adrenerjik; H₁-, H₂- histaminik; müskaridik, dopaminerjik₁ veya dopaminerjik₂ reseptörlerine anlamlı bir affiniteye veya farmakolojik aktiviteye sahip değildir.

5-HT_{1D} reseptörü predominant olarak trigeminal sinirin hem periferik hem de merkezi sinapslarına presinaptik olarak yerleşmiştir. Preklinik çalışmalar zolmitriptan'ın bu bölgelerin her ikisinde de etkili olabileceğini göstermiştir.

1.2.2. Rizatriptan (MERCK INDEX, 2001)

1.2.2.1. Kimyasal Yapısı



Şekil 1.2.2.1. Rizatriptanın molekül yapısı

Adlandırılması: N,N-Dimetil-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1H-indol-3-etanamin;

3-[2-(dimetilamino)etil]-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)indole;

N,N-dimetil-2-[5-(1,2,4-triazol-1-ilmetil)- 1H-indol-3il]etilamin.

Kapalı Formülü: C₁₅H₁₉N₅

Molekül Ağırlığı: 269.34

Elemental Analizi: % 66.89 C, %7.11 H, %26.00 N

İşlevi: Seçici serotonin 5-HT_{1D} reseptör agonisti.

Rizatriptan Benzoat; MK - 462; Maxalt.

Kapalı Formülü: C₁₅H₁₉N₅.C₆H₅COOH

Molekül Ağırlığı: 391.47

Erime Noktası: 178 – 180°C

Rizatriptan Benzoat (C₁₅H₁₉N₅.C₇H₆O₂ =391.5)'ın 14.54 mg'ı yaklaşık 10.00 mg Rizatriptan'a eşdeğerdir.

Çözünürlük: Su, metanol ve etanolde çözünür..

1.2.2.2. Farmakolojik Özellikleri (MARTINDALE, 2002)

1.2.2.2.1. Farmakokinetik Özellikleri

Rizatriptan ağızdan alındığında tamamen emilir. Rizatriptan tabletinin ortalama oral mutlak biyoyararlanımı yaklaşık % 45'tir ve C_{max} 'e yaklaşık 1 – 1.5 saatte ulaşılır. Migren baş ağrısının, rizatriptan'ın absorpsiyonunu veya farmakokinetikliğini etkilediği gösterilememiştir. Yemeğin rizatriptan'ın biyoyararlanımına önemli bir etkisi yoktur fakat C_{max} 'a ulaşımı 1 saat geciktirir. Klinik kullanımda, rizatriptan tabletler, yemek önemsenmeksizin kullanılmıştır. Rizatriptan'ın kadınlarda ve erkeklerde plazma yarı ömrü ortalama 2 – 3 saattir (MARTINDALE, 2002).

Rizatriptan ilk önce aktif olmayan indolasetikasit türevine metabolize olmaktadır. Bu metabolit aktif değildir. Aktif metabolit N-monodesmetil-rizatriptan önemsiz bir miktarda oluşurken, diğer metabolitlerde az miktarlarda oluşmaktadır. Diğer önemsiz metabolitler, N-oksit, 6-hidroksi bileşiği ve 6-hidroksi metabolitinin sülfat konjugatıdır, bunlar 5-HT_{1B/1D} reseptöründe aktif değildirler. Oral dozajın yaklaşık %14'ü değişmemiş rizatriptan, %51'i indolasetikasit metaboliti ve %1'i N-monodesmetil-rizatriptan metaboliti olarak idrar yolu ile vücuttan atılmaktadır. Plazmanın yarılanma süresi yaklaşık 2 – 3 saattir (MARTINDALE, 2002).

10 mg'lık rizatriptan tabletten 4 gün boyunca 3 doz olmak üzere her iki saatte bir alındığında, gün içinde rizatriptan'ın plazma konsantrasyonu tek bir 10 mg'lık doz alındığından 3 kat fazladır ve günden güne alınan ilacın plazmada birikimi olmamaktadır.

Rizatriptan'ın biyoyararlanımı ve C_{max} 'i rizatriptan tabletlerin ve dilimlerin alımlarında aynıdır fakat absorpsiyon hızı rizatriptan dilimlerle biraz daha yavaştır. Ortalama T_{max} 1.6 – 2.5 saattir. Rizatriptan'ın AUC (eğrinin altındaki alan) değeri kadınlarda erkeklere göre yaklaşık % 30 daha fazladır.

Dağılımın ortalama hacmi erkek deneklerde yaklaşık 140 L ve kadın deneklerde yaklaşık 110 L 'dir. Rizatriptan plazma proteinlerine çok az bağlanır (%14).

Tek 10 mg ağızdan alınan ^{14}C rizatriptan'ın dozlarının toplam radyoaktifliği 120 saat boyunca takip edildiğinde % 82'si idrarla % 12'si dışkı olarak atılmıştır. Ağızdan alınan ^{14}C rizatriptan'ın plazmadaki radyoaktiflik dağılımı yaklaşık % 17 olarak hesaplanmıştır. Dozun yaklaşık %14'ü değişmeden idrar ile atılırken, % 51'i ise indol asetik asit metaboliti olarak atılmıştır (VYAS ve ark., 2000).

Yüksek doz çalışmalarında (60 mg), 5 metabolit idrarla atılmış ve sıvı kromatografi -kütle spektrometri - kütle spektrometri ve NMR metotları ile bunlar belirlenmiştir; triazolmetil-indol-3-asetikasit, rizatriptan N^{10} -oksit, 6-hidroksi-rizatriptan, 6-hidroksi-rizatriptan sülfat ve N^{10} -monodesmetil-rizatriptan (VYAS ve ark., 2000).

Aşı ve ağız yolu ile alınan rizatriptan'dan sonra triazolmetil-indol-3-asetikasit'in idrarla atılımı doza göre % 35 - 51'i iken rizatriptan- N^{10} -oksit için bu değerler %2 - 4' tür. Aşıdan sonra plazmaya geçiş hızı (CL) $1325.0 \text{ mL.dak}^{-1}$, böbreğe geçiş hızı (CL_r) $349.0 \text{ mL.dak}^{-1}$ 'dir. Aynı CL_r değeri ($396.0 \text{ mL.dak}^{-1}$) ağızdan alındığında da elde edilmektedir. (VYAS ve ark., 2000)

Rizatriptan'ın eliminasyonu böbreğe daha ulaşmadan gerçekleşir. Çünkü rizatriptan'ın CL_r 'si toplam CL 'nin % 25'i olarak hesaplanmıştır. Ayrıca CL_r normal süzülme hızından (yaklaşık $130.0 \text{ mL.dak}^{-1}$) daha yüksektir. Bu da bu bileşiğin aktif olarak böbrek küçük tüplerinde gizlendiğini göstermektedir. Rizatriptan'ın absorpsiyonu yaklaşık % 90'dır fakat % 47'lik biyoyararlanım tahmin sonucu ile hafif ilk geçiş etkisi görülmektedir (VYAS ve ark., 2000).

Migreni olmayan sağlıklı yaşlı gönüllüler (yaşları 65 ile 77 arası) ile migreni olmayan daha genç gönüllülerde (yaşları 18 ile 45 arası) rizatriptanın farmakokinetikliği aynıdır.

Memeden besleme: Farelerde yapılan çalışmada süt içinde yüksek miktarda rizatriptan saptanmıştır. Üreticiler tedavi sonrası 24 saat memeden besleme yapılmadığında etkinin minimum olduğunu göstermişlerdir (MARTINDALE, 2002).

Etkileşimleri: Sumatriptanda olduğu gibi propranolol plazma-rizatriptan konsantrasyonunu artırmaktadır ve bu kombinasyonu alan hastalara rizatriptan'ın daha düşük dozajlarının kullanımı önerilmektedir (MARTINDALE, 2002).

Endikasyonları: Auralı veya aurasız migren ataklarının akut tedavisinde endikedir (VADEMECUM, 2006).

Kontrendikasyonları: Rizatriptan'a karşı aşırı duyarlılık ve MAO inhibitörleri ile birlikte ya da MAO inhibitör tedavisinin sonlandırılmısını izleyen 2 hafta içinde kullanımı kontrendikedir. Kontrol altına alınmamış hipertansiyon ile iskemik kalp hastalığı (angina pectoris, miyokard infarktüsü öyküsü ya da kanıtlanmış sessiz iskemi) dahil olmak üzere, kanıtlanmış koroner arter hastalığı, iskemikkalp hastalığının belirti ve bulguları, ya da Prinzmetal anginada da kontrendikedir. (VADEMECUM, 2006)

Kullanım şekli ve dozu: Rizatriptan sadece kesin migren tanısı konulmuş olan hastalara ve baziler ya da hemiplejik migreni olan hastalara uygulanmalıdır. Önerilen tek yetişkin dozu 5 mg'dır. En fazla önerilen tek doz miktarı 10 mg'dır. Klinik çalışmalar 10 mg'lık dozun 5 mg'lık dozdan daha fazla etki sağladığını gösterebilmektedir. Doz seçimi birey baz alınarak yapılmalıdır. 10 mg'lık dozla daha fazla yarar sağlanırken yan etkilerin artma riskide göz önünde bulundurulmalıdır. Serebrovasküler vazokonstriksiyonun zararlı olabileceği ciddi tıbbi durumlarla ilişkili atipik baş ağrılarında (inme, anevrizma, ruptütü gibi) kullanılmamalıdır. Rizatriptan, diğer 5-HT_{1B/1D} agonistleri ile birlikte kullanılmamalıdır. Rizatriptan'ın ergotamin içeren ilaçlardan herhangi biri alındıktan sonraki kullanıldığı 6 saat içinde kullanılması önerilmemektedir. Gebelikte rizatriptan ancak kesinlikle endike olduğunda kullanılmalıdır. Emziren annelere rizatriptan uygulanması gerektiğinde

özel bir dikkat gösterilmelidir. 18 yaşın altındaki çocuklarda kullanımı önerilmemektedir. Migren ya da rizatriptan tedavisi bazı hastalarda uyuklamaya neden olabilir. Rizatriptan alan bazı hastalarda sersemlikte bildirilmiştir. Bu nedenle hastaların, migren atakları sırasında ya da rizatriptan uygulandıktan sonra karmaşık işlevleri yerine getirmedeki yeterlilikleri değerlendirilmelidir. (VADEMECUM, 2006)

Yan etkileri ve alınacak tedbirler: En sık rastlanan yan etkileri baş dönmesi, uyuklama ve yorgunluktur. Diğer yan etkiler, göğüs ağrısı, karın ağrısı, çarpıntı, taşikardi, bulantı, kusma, ağız kuruluğu, diyare, hazımsızlık, susama, boyun ağrısı, sertlik, bölgesel ağırlık hissi, bölgesel sertlik, kas güçsüzlüğü, baş ağrısı, parestezi, azalmış zihinsel berraklık, uykusuzluk, hipestezi, tremor, ataksi, sinirlilik, baş dönmesi, oryantasyon bozukluğu, farenkste rahatsızlık hissi, kaşıntı, terleme, ürtiker, bulanık görme, sıcak basmaları. Senkop ve hipertansiyon nadiren görölmüştür (VADEMECUM, 2006).

Etkileşmeleri: Rizatriptan'ın MAO inhibitörü alan hastalarda kullanılması kontrendikedir. Rizatriptan'ın plazma konsantrasyonları propranolol ile birlikte kullanılması ile artış gösterebilir (VADEMECUM, 2006).

18 yaş ve üzeri erişkinlerde önerilen doz 10 mg'dır. Etkinin başlaması (baş ağrısının hafiflemesi ya da kaybolması) ilaç alımını izleyen 30 dakika içinde ortaya çıkabilir. Doz aralarında en az 2 saat olmalı, 24 saat içinde 30 mg'dan fazla alınmamalıdır (VADEMECUM, 2006).

Sumatriptanda olduğu gibi toksik epiderma nekrololiz rizatriptan ile de rapor edilmiştir. Rizatriptan ciddi karaciğer veya böbrek bozukluğu olan hastalarda kullanılmamalıdır. Hafif dereceli karaciğer ve böbrek rahatsızlıklarında hastaya tedbirli olarak verilmelidir (MARTINDALE, 2002).

1.2.2.2.2. Farmakodinamik Özellikleri

Rizatriptan selektif 5-HT_{1B/1D} reseptör agonistidir. Rizatriptan yüksek affinitesi ile 5-HT_{1B/1D} reseptörlerine bağlanır. Diğer 5-HT₁ reseptör alt tiplerine (5-HT_{1A}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}) ve 5-HT₇ reseptörlerine zayıf affinite gösterir. Ayrıca 5-HT₂, 5-HT₃, alfa ve beta adrenerjik, dopaminerjik, histaminerjik, muskarinik veya benzodiazepin reseptörlerde de önemli bir aktiviteye sahip değildir. Migrenin nedeni için var olan teoriler; semptomların lokal kafatasındaki damar genişlemesi ile veya aktif trigeminal sistemdeki hassas sinir uçlarından vasoaktif ve iltihap önleyici peptidlerin serbest kalması ile olduğunu önermektedir. Migrende rizatriptan'ın tedavi edici etkisi, beynin dışında kafatasının içindeki kan damarları üzerinde bulunan 5-HT_{1B/1D} reseptörlerindeki agonist etkileri ile oldukça ilgilidir. Migren atağı sırasında bu kan damarları ve trigeminal sistemdeki sinir uçları genişlemektedir. Bu reseptörlerin etkisiyle kafatasındaki damarlarda daralma olur, nöropeptitlerin serbest kalması önlenir ve trigeminal acı yollarındaki iletim azaltılır (MAXALT® PROSPEKTÜSÜ).

1.3. Zolmitriptan ve Rizatriptan İçin Uygulanan Analiz Yöntemleri

1.3.1. Zolmitriptan İçin Yapılmış Analiz Yöntemleri

1.3.1.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)

RAO ve ark. (2005), zolmitriptan miktar tayini için YPSK yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntemde Waters X Terra ters faz 1, 250 mm x 4,6 mm, 5µm kolonunu kullanmışlardır. Hareketli faz olarak A ve B çözeltilerini kullanmışlardır. A çözeltisi olarak fosfat tamponu (pH 9.85) : metanol: asetonitril (70: 20: 10, h / h / h) karışımı, B çözeltisi olarak da fosfat tamponu (pH 9,85) : asetonitril (30: 70, h / h) karışımı hazırlamışlardır. Akış hızını 1.0 mL.dak⁻¹'e. UV detektörün dalga boyunu da 226.0 nm'ye ayarlamışlardır. Geliştirilen yöntemle zolmitriptan ve safsızlıklar birbirinden ayırmışlardır. Zolmitriptan, hidroliz, oksidasyon, fotoliz ve ısısal bozunma koşullarına maruz bırakılmış ve bazik ortam ile yükseltgenme koşullarında büyük ölçüde bozunma gerçekleştirilmiştir. Aranılan numune miktarları bilinen standartlara karşı analiz edilmiştir ve kütle denkliliğini % 99.5'e yakın bulmuşlardır. Geliştirilen YPSK metodunun doğru, kesin ve güvenilir sonuçlar verdiğini göstermişlerdir.

SRINIVASU ve ark. (2005), zolmitriptan ve safsızlıkların miktarını tayin etmek için yeni, doğru ve güvenilir bir kiral YPSK yöntemi geliştirmişlerdir. Normal faz sıvı kromatografi yöntemini kullanarak ayırmayı gerçekleştirmişlerdir. Yöntemde hareketli faz olarak hekzan: izopropanol: metanol: dietilamin (75: 10: 15: 0.1; h / h / h / h) karışımını kullanmışlar, akış hızını 1.0 mL.dak⁻¹ olarak belirlemişler ve Chiralpak AD - H kolonunu kullanmışlardır. Geliştirilen yöntemin UV ışığı altında ve 60 °C de seçici olduğunu bulmuşlardır.

CHEN ve ark. (2004), insan plazmasındaki zolmitriptan'ın miktar tayininin yapılması için YPSK geliştirmişlerdir. Yöntemde hareketli faz olarak % 0.05 trietil amin (pH 2.75, % 85 fosforik asit ile ayarlanmış) : asetonitril (92: 8, h / h)

kullanılmıştır. Uyarılma dalga boyunu 225.0 nm, emisyon dalga boyunu 360.0 nm olarak seçmişler ve akış hızını da 1.5 mL.dak⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Yöntemde çalışma aralığını 0.2 - 40.0 ng.mL⁻¹ olarak hesaplamışlardır. Geliştirdikleri yöntemin bütün validasyon parametrelerini gözden geçirmişlerdir.

VISHWANATHAN ve ark. (2000), insan plazması içinde zolmitriptan, naratriptan ve sumatriptanın miktar tayini için sıvı-kromatografik ve kütle spektrometrik yöntem önermişlerdir. Önerdikleri yöntemin antimigren amaçlı kullanılan tüm ilaçların farmakokinetik profillerinin çıkarılmasında hızlı, hassas ve seçici yöntem olduğunu ispatlamışlardır. Yöntem için tüm validasyon parametrelerini tek tek incelemişlerdir.

CLEMENT ve FRANKLIN (2002), insan plazmasındaki zolmitriptan ve önemli metabolitlerinin N-desmetil zolmitriptan ve zolmitriptan N-oksidin aynı anda ölçümelerini YPSK'de gerçekleştirmişlerdir. Zolmitriptan, N-desmetil zolmitriptan, zolmitriptan N-oksit ve zolmitriptan'ın analogu bir iç standart katı faz ekstraksiyonu (SPE) ile plazmadan elde edilmiştir. Yöntemde kulometrik detektör kullanmışlardır. Çalışma grafiğinde zolmitriptan ve metabolitlerinin 2.0 - 20.0 ng.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında doğrusal olduklarını göstermişlerdir. Gün içi ve günler arası analizlerde ortalama varyasyon katsayısındaki değişimin % 11 den daha az olduğunu hesaplamışlardır. Mutlak ortalama geri kazanımı zolmitriptan için % 87, N-desmetil zolmitriptan için % 58 ve zolmitriptan N-oksit için % 77 olarak bulmuşlardır.

ZHANG ve ark. (2004) İnsan plazmasındaki zolmitriptan'ın kalitatif ve kantitatif tayini için YPSK - elektrosprey iyonlaştırma - kütle spektrometri yöntemi geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri yöntemde Lichrospher CN (150 mm x 2 mm x 5 µm) kolonu metanol: su, (78: 22 h / h) hareketli fazı kullanmışlardır. Çalışma aralığını 0.3 - 16.0 ng.mL⁻¹ olarak belirtmişlerdir. Önerdikleri yöntemin farmakokinetik, biyoyararlanım veya biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılabileceğini ispat etmişlerdir.

HU ve ark.(2004), zolmitriptan miktar tayini için YPSK yöntemi önermişlerdir. Yöntemde CLC - C₈ (150 mm x 6 mm x 10µm) kolonu ve hareketli faz olarak asetonitril: 10 mmol / L fosfat tamponu kullanmışlardır. Önerdikleri yöntemde UV detektörün 229.0 nm dalga boyunu kullanmışlardır. Çalışma aralığını 4.0 – 40.0 µg.mL⁻¹ olarak hesaplamışlardır. Bulunan sonuçları susuz ortam titrasyonu ile bulunan değerler ile karşılaştırmışlardır.

CHEN ve ark. (2006) zolmitriptan'ın miktar tayini için sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometri geliştirmişlerdir. Yöntemde iç standart olarak 0.5 mL difenhidramin kullanmışlar ve çalışma grafiğinde 0.05 – 30.0 ng.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında doğrusallık elde etmişlerdir. Yöntemde hareketli faz asetonitril: su: formik asit (70: 30: 0.5; h / h / h) karışımı olarak belirlenmiş ve akış hızı da 0.5 mL.dak⁻¹ olacak şekilde ayarlanmıştır. Gün içi ve günler arası kesinliği % 8.5 den, % hatayı ise % 2.5 den daha az olarak hesaplamışlardır. Yöntemin hassas ve seçici olduğunu göstermişlerdir. Farmakokinetik çalışmayı 20 gönüllüye 5 mg zolmitriptan vererek başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir.

Yapılan kaynak çalışmalarında zolmitriptan içeren preparatlarda etkin madde tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi dışında çalışılmış herhangi bir yönteme rastlanmamıştır.

1.3.2. Rizatriptan İçin Yapılmış Analiz Yöntemleri

1.3.2.1. Spektrofotometri ve Spektroflurimetri

ALTINÖZ ve ark. (2002), rizatriptan içeren tabletlerde etkin maddelerin miktar tayini için spektrofotometrik ve spektroflurimetrik yöntem geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri spektrofotometrik metodun ilkinde rizatriptan'ın sulu ortamdaki çözeltilerindeki maksimum absorpsiyonun olduğu 225.0 nm'deki absorbans değerini kullanmışlardır. Diğer spektrofotometrik yöntem de ise 1. türev spektrofotometri olup 232.0 nm'deki türev absorbans değerinden yararlanmışlardır. Çalışma aralığını UV için 0.10 – 15.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 1. dereceden UV spektrofotometri için 0.05 – 15.00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak saptamışlardır.

1.3.2.2. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)

RAO ve ark. (2006), saf haldeki rizatriptan'ın 0.5 N HCl, 0.1 N NaOH, % 3.0 H₂O ve 60°C ısı ve ışık bozunma ürünlerinin incelenmesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemini kullanmışlardır. Yöntemde hareketli faz olarak potasyum dihidrojen orta fosfat (pH'ı 3.4), asetonitril ve metanol karışımını kullanmışlardır. Sabit faz olarak Zorbax SB - CN (250 nm x 4.6 mm, 5 μm) kolonlarından yararlanmışlardır.

GUO ve ark. (2006), insan plazması içindeki rizatriptan'ın miktar tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemde analitler insan plazmasından sıvı - sıvı ekstraksiyonu ile çekildikten sonra Zorbax XDB C₈ kolonu (150x 4.6 mm) kullanılarak elektro spreylere ile tandem kütle spektrometrelerinde tayin edilmiştir. Yöntemde zolmitriptanı ise iç standart olarak kullanmışlardır. Geliştirdikleri yöntemin tüm validasyon parametrelerini incelemişler ve yöntemlerinin hassas ve doğruluğunu ispat etmişlerdir. Geliştirdikleri yöntemi 10

sağlıklı gönüllünün (kadın ve erkek) 5; 10; 15 mg'lık oral tabletleri almasından sonra başarılı bir şekilde rizatriptan'ın farmakokinetik profilini çıkarmak için kullanmışlardır.

XIN ve ark. (2005) rizatriptan benzoat'ın miktar tayinini YPSK ile gerçekleştirmişlerdir. Yöntemde kullanılan Kromasil C₁₈ (150 mm x 4.6 mm, 5 mm) kolonu ve UV detektör kullanmışlardır. Sonuçta çalışma grafiğinde doğrusallığın 5.0 -100.0 mg.mL⁻¹ konsantrasyon aralığında olduğunu bulmuşlardır (r=1). Standart sapma % 0.4–0.5 olarak bulunmuştur. Yöntem ile elde edilen sonuçların doğru, hızlı ve duyarlı olduğunu saptamışlardır.

CHEN ve ark. (2004) rizatriptan'ın insan plazmasındaki miktar tayini için YPSK geliştirmişlerdir. Plazmanın metil tersiyer bütül ile sıvı-sıvı ekstraksiyonunu yapmışlar ve analitleri 0.05 (h/h su) trietilamin (pH'ı 2.75; % 85 fosforik asit ile ayarlanmış) ve asetonitril (92: 8, h / h) hareketli fazını kullanarak ayırmışlardır. Miktar tayinini 225.0 nm dalga boyundaki ışıkla uyarılma ve 360.0 nm de dalga boyunun emisyon ölçümü ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışma grafiğinde doğrusallığın sağlandığı konsantrasyon aralığı 0.5 – 50 ng. mL⁻¹ olarak saptanmıştır. Metodun gün içi ve günler arası kesinliğinin % 8 den fazla olmadığı bulunmuştur. Rizatriptan için en düşük saptanma sınırı 0.5 ng. mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Bu metodun hassas, basit ve farmakokinetik çalışmalar için yeterince tekrarlanabilir olduğunu göstermişlerdir.

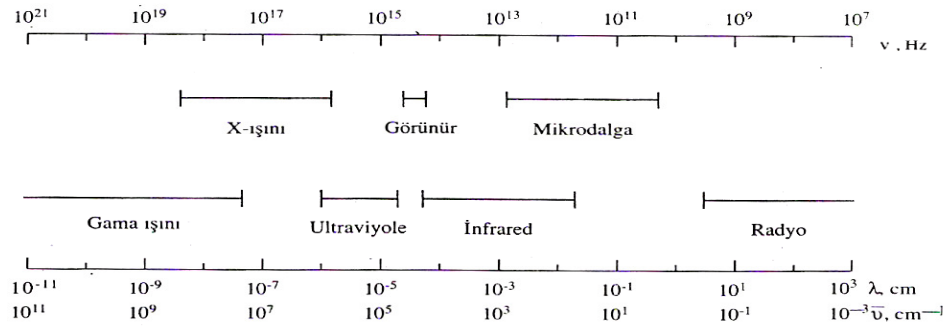
Yukarıda da anlatıldığı gibi yapılan kaynak çalışmaları sırasında rizatriptan içeren preparatlarda etkin madde tayini için sadece bir tane spektrofotometri ve spektrofotometrik çalışmaya ve dört tanede yüksek performanslı sıvı kromatografik yönteme rastlanmış, bunların dışında herhangi bir analiz yöntemine rastlanmamıştır.

1.4. Kullanılan Yöntemler

1.4.1. Spektrofotometri

Spektrofotometrik yöntemlerin temeli elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşmesine dayanır. Spektrofotometrik yöntemler atomik ve moleküler olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Atomlar için çizgi, moleküller için sürekli spektrumlar gözlenir. Moleküler spektrofotometriyle ilgili ayrıntılı teorik bilgi aşağıda sunulmaktadır.

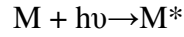
Elektromagnetik spektrum, çok geniş bir dalga boyu ve frekans aralığını içermektedir. Başlıca spektral bölgeler şekil 1.4.1.1. de gösterilmiştir. Gösterilen spektral bölgedeki ışınların elde edilmesi ve kuantum geçiş tipleri spektroskopik yöntemlerin temelini oluşturmaktadır. Ultraviyole, görünür bölge ve infrared ışınlarının kullanıldığı spektroskopik yöntemler optik yöntemler olarak adlandırılır (SKOOG ve ark.,1996; SKOOG ve LEARY 1992).



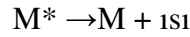
Şekil 1.4.1.1. Elektromagnetik spektrum bölgeleri.

Saydam ortamlarda kimyasal bir türün elektromagnetik ışıma ile etkileşmesi sonucunda bazı frekanslarda seçimli olarak şiddetinin azalması absorpsiyon olarak tanımlanmaktadır. Her atom, iyon veya molekül kendine özgü birtakım enerji hallerine sahiptir. Bunların en düşük enerjili olanı temel haldir. Oda sıcaklığında çoğu tür temel halde bulunmaktadır. Bir ışıma fotonu söz konusu tür ile

etkileştiğinde, fotonun enerjisi temel hal ile uyarılmış hallerden birinin enerjileri arasındaki farka tam olarak eşit ise, bu fotonun absorplanması mümkün olmaktadır. Fotonun enerjisi, atom, molekül veya iyonla aktararak, uyarılmış hal adı verilen daha yüksek enerjili hale geçirir. M türünün, uyarılmış hale (M^*) geçmesi, şu şekilde gösterilir (SKOOG ve ark.,1996):

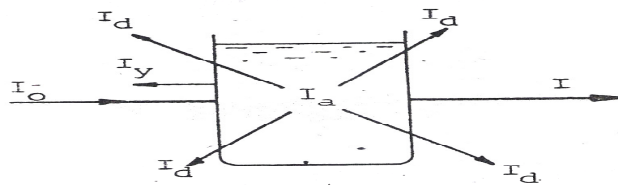


Uyarılmış türlerin (M^*) ortalama ömürleri çok kısadır, bu nedenle konsantrasyonu ihmal edilecek kadar düşüktür. $10^{-6} - 10^{-9}$ sn sonra, uyarılmış tür, fazla enerjisinden kurtularak temel haline döner ki, buna durulma (relaksasyon) denmektedir. Durulmaya uğrayan türün çevresinde hafif bir sıcaklık artışı olmaktadır:



Durulma, M^* türünün floresans ve fosforesans süreçleri ile ısımanın geri alınması yolu veya başka türlere enerjisini aktararak olabilmektedir. Durulmaya bağlı sıcaklık artışı genellikle ölçülemeyecek kadar küçük olmaktadır. Dolayısıyla, absorpsiyon ölçümü sırasında, ölçme yapılan sistemin özelliğindeki değişimin çok az olması da bir üstünlük sayılmaktadır (SKOOG ve ark., 1996).

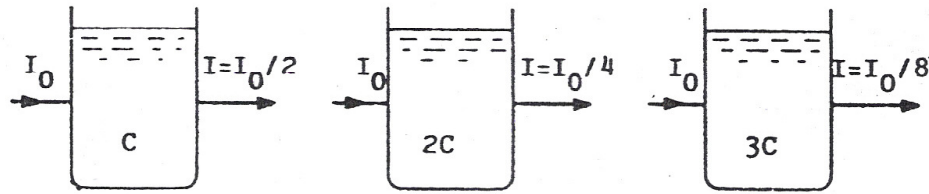
Bir kap içinde bulunan bir çözelti üzerine düşürülen I_0 şiddetindeki ışın demetinin bir kısmı çözeltide absorplanmakta (I_a), bir kısmı çözelti tarafından dağıtılmakta (I_d), bir kısmıysa yansımaktadır (I_y).



Şekil 1.4.1.2. I_0 şiddetindeki bir ışın demetinin çözeltiden geçmesi.

Buna göre, $I_0 = I + I_a + I_d + I_y$ olmaktadır. Bunlardan I_d ve I_y 'nin ihmal edilecek düzeyde olması istenmektedir. Bunun içinde I_0 ışın demeti bir defa saf çözücünden bir defa da çözeltiden geçirilerek bu iki faktör ortadan kaldırılmaktadır. Geriye $I_0 = I + I_a$ bağıntısı kalır ki bunlardan I_0 ile I arasındaki bağıntı bulunduğunda, dolaylı olarak I_0 ile I_a arasındaki bağıntı da bulunmaktadır (GÜNDÜZ, 1997).

Beer Kanunu: Beer'e göre aynı derinlikte bir çözeltiden geçen, çözelti tarafından absorplanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözeltinin konsantrasyonu ile logaritmik veya üstel veya geometrik olarak azalmaktadır.

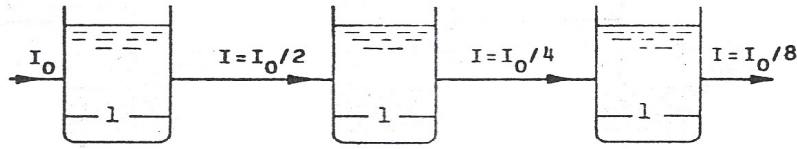


Şekil 1.4.1.3. Beer Kanunu, gelen ışığın şiddetinin çözeltilerden geçtikten sonra üstel olarak azalması.

Bu gerçek logaritmik olarak, $I = I_0 \cdot e^{-bC}$ veya $I = I_0 \cdot 10^{-aC}$ ($a = b/2,303$) şeklinde verilmektedir. I_0 gelen ışının şiddeti, a çözeltinin türüne ve monokromatik ışının dalga boyuna bağlı bir sabit, C ise çözeltinin konsantrasyonudur. Monokromatik bir ışın demetinin şiddeti I_0 , konsantrasyonu C , ve derinliği b olan bir çözeltiden geçince yarıya iniyorsa ($I_0 / 2$) aynı derinlikte konsantrasyonu $2C$ olan çözeltiden geçince dörtte bire ($I_0 / 4$), aynı derinlikte konsantrasyonu $3C$ olan bir çözeltiden geçince sekizde bire ($I_0 / 8$) inmektedir. Çözelti konsantrasyonu nC olunca I_0 ışın demetinin şiddeti ($I_0 / 2^n$) olmaktadır. Ayrıca I_0 ışın demetinin şiddeti konsantrasyonu C olan bir çözeltiden geçtiğinde üçte bire düştüğünden, konsantrasyonu nC olan çözeltiden geçtiğinde ise $I_0 / 3^n$ 'ye düşmektedir.

Lambert Kanunu: Lambert'e göre, bir çözeltiden geçen monokromatik bir ışın demetinin şiddeti, çözelti içinde aldığı yolla logaritmik veya üstel veya geometrik

olarak azalmaktadır. Bu gerçek logaritmik olarak, $I=I_0.e^{-bl}$ veya $I=I_0.10^{-al}$ ($a=b/2.303$) şeklinde gösterilmektedir. I_0 gelen ışın demetinin şiddeti, a çözeltiden geçen ışın demetinin dalga boyuna bağlı bir sabit, l çözeltinin derinliği olarak tanımlanmaktadır (GÜNDÜZ, 1997). Monokromatik ışın demetinin şiddeti, l cm'lik bir çözeltiden geçince yarıya ($I = I_0 / 2$) azaldığından, aynı çözeltinin $2l$ cm'lik kısmından geçince $I = I_0/4$ 'e, toplam nl cm'lik kısmından geçince $I = I_0 / 2^n$ 'ye azalmaktadır. Aynı ışın demetinin şiddeti başka bir çözeltinin l cm'lik kısmından geçtiğinde $I = I_0 / 3$ olduğundan nl cm'lik kısmından geçtiğinde $I = I_0 / 3^n$ ye inmektedir (GÜNDÜZ, 1997).

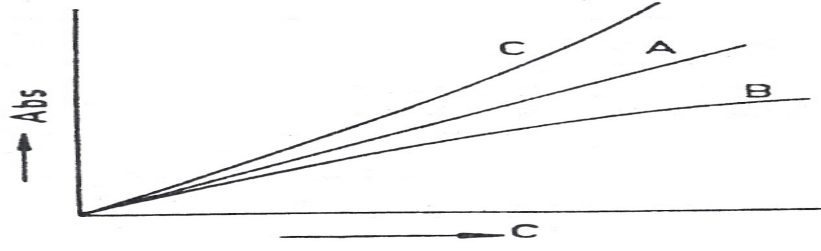


Şekil 1.4.1.4. Lambert Kanunu, gelen ışığın şiddetinin logaritmik olarak azalması.

İki kanun birleştirilerek, $I=I_0.10^{-\epsilon lC}$ şeklinde bir kanun olarak verilmektedir. Bu kanuna Lambert-Beer kanunu denmektedir. Eşitlikte I_0 , gelen ışın demetinin şiddeti, I , çözeltiden çıkan ışın demetinin şiddeti, ϵ , çözeltinin absorplama katsayısı, l , ışın demetinin içinden geçtiği, çözeltinin kalınlığı, C ise çözeltinin konsantrasyonudur. Eşitliğin eksi logaritması alındığında, $\log I_0 / I = \epsilon lC$ olmaktadır. $\log I / I_0$ 'a absorbans denmekte ve A ile gösterilmektedir (GÜNDÜZ, 1997).

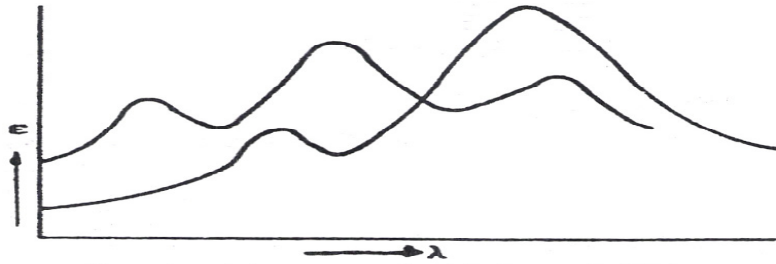
$$\log I_0 / I = A = \epsilon lC$$

ϵ sabitinin birimi çözelti konsantrasyonuna ve ışın yoluna göre değişmektedir. Konsantrasyon molarite, ışın demetinin geçtiği yol cm olarak alındığında, bulunan ϵ molarite ve cm başına absorplama veya kısaca molar absorplama olmaktadır. Buna göre, $A = \epsilon lC$ şeklinde verilmektedir. Bu bağıntıda A değeri C 'ye karşı grafiğe geçirilirse orijinden geçen ve eğimi ϵl olan bir doğru elde edilmektedir. Ancak, her zaman böyle düzgün bir doğru elde edilememektedir. Bunun nedenleri Lambert-Beer kanunundan sapmalardır (GÜNDÜZ, 1997).



Şekil 1.4.1.5. Beer Kanunu'ndan sapmalar.

ϵ değeri denel olarak bulunabilmektedir. Bunun için düşük konsantrasyonlu bir dizi çözelti hazırlanmakta ve bir cm kalınlığındaki ölçme kaplarına konarak belirli bir dalga boyunda absorpsiyonları ölçülmektedir. Absorpsiyon değerleri konsantrasyona (C) karşı grafiğe geçirilerek elde edilen doğrunun eğiminden ϵl bulunmaktadır. Kabin derinliği, l , sabit olduğundan ve ϵ hesaplanabilmektedir. Birimi cm ve mol başına litredir (L / mol.cm). Bu değer maddeden maddeye ve aynı madde için dalga boyuyla da değişmektedir (GÜNDÜZ, 1997).



Şekil 1.4.1.6. Absorplama katsayısının ışığın dalga boyuna bağlılığı.

Bir çözeltinin konsantrasyonu, molar absorplama katsayısı ϵ belliyse, absorbansı spektrofotometreyle ölçülerek bulunabilmektedir. Ölçüm yapılan kapların ışın geçme yolu bilinmektedir. Ancak bu bağıntıdan iyi sonuç alabilmek için üzerinde ölçüm yapılan çözeltinin absorbansının 0.2 – 0.9 arasında olması gerekmektedir (GÜNDÜZ, 1997).

Absorbans, I_0 ve I şiddetleri belirlenen dalga boyundaki çözelti ve saf çözücünden geçen ışın demetlerinin şiddetleri ölçülerek ve aralarındaki fark alınarak hesaplanabilmektedir. Saf çözücünden geçen ışın demetinin şiddeti I_0 olarak kabul edildiğinde, $A = \log I_0 / I = \log (I_{0\text{çözücü}} / I_{\text{çözelti}})$ eşitliği yazılabilir. Bu eşitlik şeffaf olan çözeltilere ve aynı zamanda gaz ve katılara da uygulanabilmektedir.

1.4.1.1. Lambert - Beer Kanunundan Sapmalar

Maddelerin absorpsiyon-konsantrasyon grafikleri çizildiğinde, her zaman bir doğru elde edilemeyebilir, kimi zaman doğruluktan sapmalar görülür. Böyle sapmaların çeşitli nedenleri olabilir. Bunlar başlıca;

- 1) Cihazdan gelen sapmalar,
- 2) Kimyasal maddelerden gelen sapmalar,
- 3) Analizci hatasından gelen sapmalardır.

Cihazdan kaynaklanan bir sorun olup olmadığını anlamak için; maksimum absorplama dalga boyu ve absorplama katsayısı bilinen saf bir maddenin uygun konsantrasyonla bir çözeltisi yapılmakta ve bu çözeltinin farklı kalınlıktaki kaplarda absorbansları ölçülmektedir. Bulunan absorbans değerleri çözelti kalınlıklarına karşı grafiğe geçirildiğinde, cihazda bir hata yoksa elde edilen grafiğin bir doğru olması gerekmektedir. Cihazdaki hatanın nedenleri aşağıda verilmektedir (GÜNDÜZ,1997);

- 1) Cihaza gelen potansiyelin düzgün olmaması,
- 2) Işın kaynağının iyi çalışmaması,
- 3) Detektör sisteminin iyi çalışmaması,
- 4) Kaçak ışınların olması,
- 5) Monokromatörün hatalı olması,
- 6) Slit aralığının iyi ayarlanmaması.

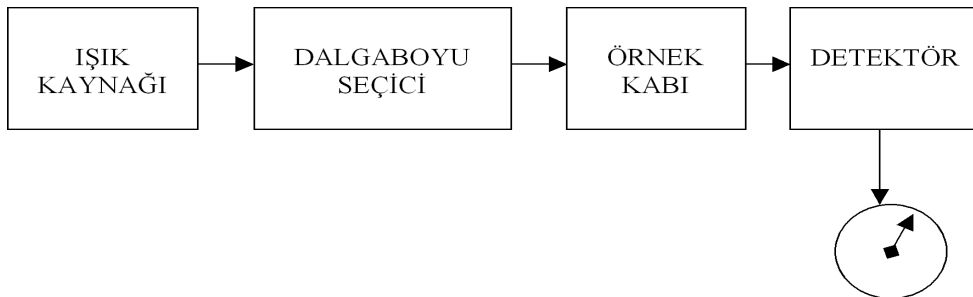
Lambert-Beer kanununa göre konsantrasyon absorpsiyon bağıntısı koordinatlar sisteminin sıfır noktasından geçen bir doğrudur fakat çözeltide meydana gelen bazı olaylar nedeniyle *kimyasal sapmalar* olabilmektedir. Bunun nedenleri şunlardır;

- 1) Disosiyasyon,
- 2) Asosiyasyon,
- 3) İyonlaşma,
- 4) pH Ayarlaması,
- 5) Fosforesans ve Floresans,
- 6) Çözücü Değişmesi,
- 7) Sıcaklık,
- 8) Analizci Hatasından İleri Gelen Sapmalar.

(GÜNDÜZ, 1997)

1.4.1.2. UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğin adıdır.



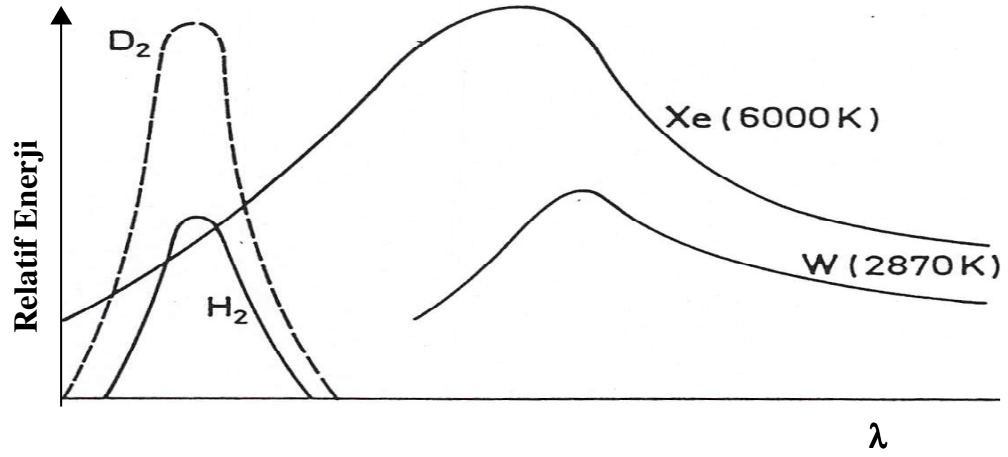
Şekil 1.4.1.2.1. Tek ışık yollu spektrofotometre cihazı

Bir spektrofotometre düzeneğinin ana bileşenleri başta ışık kaynağı olmak üzere, dalga boyu seçicisi ve dedektörden oluşmaktadır. Dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülmektedir.

Spektrofotometrelerde bu ana bileşenlerin dışında, mercekler, aynalar, ışık

bölücüleri, giriş ve çıkış aralıkları bulunmaktadır. Bunların kullanımı ile ışık toplanmakta, odaklanmakta, yansıtılmakta iki demete bölünmekte ve belli bir şiddette örnek üzerine gönderilmektedir. Örnek kapları, çalışılan dalga boyunun değerine bağlı olarak ışığı geçiren maddeden yapılmakta ve ışık yoluna yerleştirilmektedir (YILDIZ ve ark., 1997).

UV ve görünür bölgede D_2 , W, H_2 ve Xe gibi *sürekli ışık kaynakları* kullanılmaktadır. Şekilde bu dört lambanın yaydığı ışığın spektrumları görülmektedir (YILDIZ ve ark., 1997).



Şekil 1.4.1.2.2. D_2 , W, H_2 ve Xe lambalarının yaydıkları ışımının spektrumları.

Görünür ve yakın IR bölgede ışık yayan lamba tungsten flaman lambasıdır. Tungstenin elektrik akımı ile ısıtılmasıyla siyah cisim ışıması oluşur ve dalga boyları 320 nm ile 3000 nm arasında bulunmaktadır. Tungsten lambası 3000 K de çalışmaktadır ve yaydığı enerjinin ancak %15'i görünür bölgededir. Tungsten lambasının içine bir miktar iyot veya brom buharı ilavesi ile lambanın ömrü uzatılabilmekte ve bu tür lambalara tungsten-halojen lambası denmektedir. UV bölgede kullanılan lambalar, genelde hidrojen veya döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. UV ve görünür bölgenin tümünde (150 – 700 nm) kullanılabilen Xe ark lambası bir başka şiddetli ve sürekli ışık kaynağıdır. Ayrıca civa buhar lambası UV ve görünür bölgede ışıma yapabilen başka bir ışık kaynağıdır. Civa buhar lambası, sürekli spektrumun yanı sıra kesikli hatlar da içermektedir. Genelde luminesans

spektroskopisi yönteminde ksenon ve civa lambaları, ışık kaynağı olarak kullanılmaktadır (YILDIZ ve ark., 1997).

Kuartsın 200 – 320 nm arasında ultraviyole ışığı geçirmesinden dolayı UV bölgesindeki lambaların pencereleri, mercekler, örnek kaplarının duvarları ve dedektörün giriş penceresi kuartsdan yapılmaktadır. Görünür bölgede (320 – 700 nm) bu kısımların camdan yapılmış olması yeterli olmaktadır.

Maddenin ışık kaynağından gelen ışığın ne kadarını absorpladığını saptamak için çıkan ışığın şiddetinin ölçülmesini sağlayan bileşene dedektör denmektedir. Bir dedektör, ışığa karşı duyarlı olmalı, ışık şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretebilmeli, sinyal üretme süresi kısa olmalı, kararlı olmalı ve üretilen elektriksel sinyali yardımcı devrelerle çoğaltılabilmelidir. UV ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör bulunmaktadır (YILDIZ ve ark., 1997).

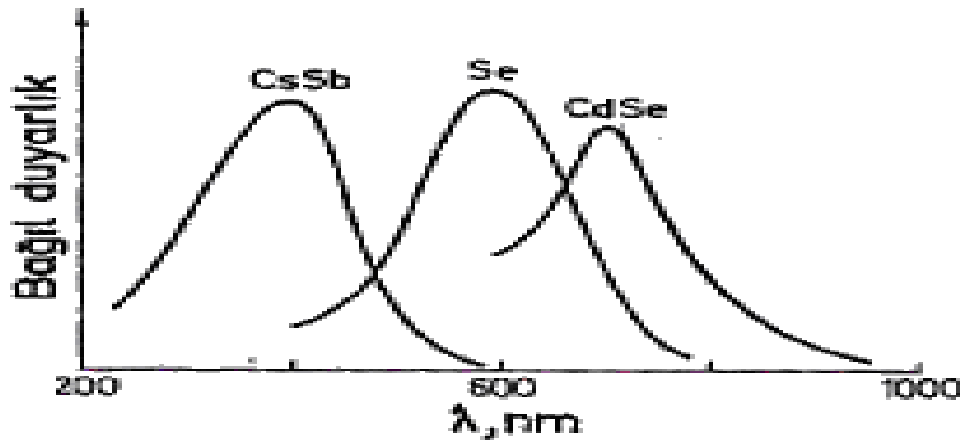
Fotovoltaik dedektörlerde Se veya Si gibi bir yarıiletken madde tarafından ışığın absorplanması sonucu iletkenlik bandına geçen elektronlar burada yarıiletkenle temasta alan metal filmi (Ag) ile bir gerilim farkı oluşturmaktadırlar. Fotoiletken dedektörler PbS, CdSe ve CdS gibi yarıiletken maddelerden yapılmışlardır. Bu tür dedektörlerde, ışık absorpsiyonu ile iletkenlik bandına çıkarılan elektronlar ışık şiddeti ile orantılı bir elektrik akımı oluşturmaktadırlar.

Fototüp ikinci tür dedektörlerdendir, alkali metal oksit filmlerden yapılan fotokatotlar üzerine düşen fotonlar bu yüzeyden elektron koparmakta ve elektronlar bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilmektedirler.

Fotoçoğaltıcı tüp olan üçüncü tür dedektörlerde fotonların fotokatot yüzeyine çarpması ile kopan elektronlar dinot adı verilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılmakta ve 3 – 5 elektron kopmasına daha neden olmaktadır, dinotlara

çarparak sayıları gitgide artan elektronlar anotta toplanarak elektrik akımı oluşturmaktadırlar.

Şekil 1.4.1.2.3.'de, bazı dedektörlerin dalga boyuna karşılık duyarlık spektral dağılımları görülmektedir. Kullanılan ışık kaynağı her dalga boyunda eşit şiddette ışık yaymamakta ve kullanılan dedektörün her dalga boyunu aynı duyarlıkta algılayamadığı görülmektedir (YILDIZ ve ark, 1997).

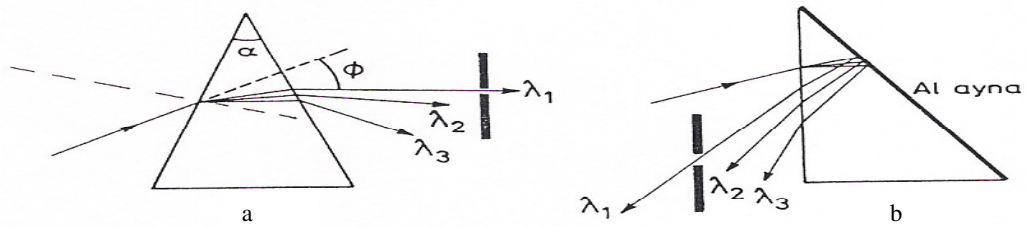


Şekil 1.4.1.2.3. Fotovoltaik (Se), fotoiletken (CdS) ve fotoemisif (CsSb) tür dedektörlerin ölçebildiği fotonların spektral dağılımları.

İncelenen örneğin absorpsiyon spektrumundaki değişimin kendine has olduğundan emin olabilmek için, absorbans ölçümünün yapıldığı her dalga boyunda kaynaktan yayılan ışığın eşit şiddette ve dedektörün duyarlığı her dalga boyunda aynı olmalıdır. Bu yüzden kaynağın şiddetinin az olduğu ve dedektörün duyarlığının düşük olduğu dalga boylarında ışığın geçtiği aralık geniş tutulmakta ve daha şiddetli ışık elde edilmektedir fakat ışığın bant genişliği büyük olduğu için monokromatiklikten sapmalar olmaktadır. Fotoçoğaltıcı dedektörlerle çok düşük şiddetteki ışımda bile, fotonları tek tek saymak mümkün olabilmektedir. Spektrofotometrik uygulamalarda giderek daha yaygın bir biçimde kullanılan bu yöntem *foton sayma* adı verilmektedir. Daha hızlı bir dedektör türü *fotodiyot dizisi*dir. Fotodiyot dizisi ile birden çok dalga boyu değerinde, eş zamanlı ve çok hızlı ölçüm yapılabilmektedir. Özellikle bilgisayarlı spektrofotometrelerde

kullanılırlar. Fotodiyot dizisindeki her bir fotodiyot farklı dalga boyundaki ışığın şiddetini ölçebilmektedir (YILDIZ ve ark, 1997).

Absorbans ölçülürken ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalga boyunda ışık seçilerek örneğe gönderilmektedir. *Monokromatör* (dalga boyu seçicileri) polikromatik ışıktan monokromatik ışık elde edilmesini sağlayan düzeneklere denilmektedir. Prizmalar veya optik ağlar monokromatör olarak kullanılmaktadır. Şekil 1.4.1.2.4., Cornu ve Littrow türü prizmalarda, polikromatik ışıktan monokromatik ışığın elde edilmesini göstermektedir.



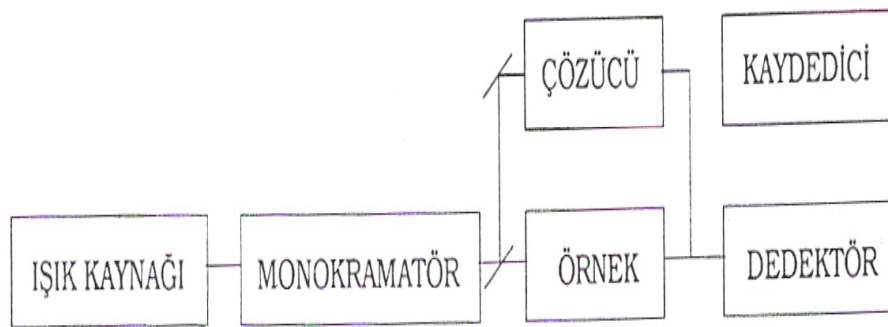
Şekil 1.4.1.2.4. a) Cornu ve b) Littrow türü prizmalarla dalga boyu seçimi.

Farklı dalga boylarındaki ışığın prizmaya girişte ve çıkışta farklı miktarlarda kırılmasından faydalanarak istenilen dalga boyu elde edilebilmektedir. Çeşitli dalga boyu değerlerine sahip ışığın bir aralıktan geçerek madde ile etkileşmesini sağlamak için prizma ışık kaynağına göre döndürülmelidir. Littrow prizmasında prizmanın bir yüzü Al ayna ile kaplıdır ve prizmaya giren ışık, geldiği yüzden ve çeşitli dalga boylarına ayrılarak prizmayı terk ederken, Cornu tipi prizmalarda, prizma içinde kırılmaya uğrayan ışık, prizmanın öteki yüzünden çıkmaktadır (YILDIZ ve ark, 1997).

Polikromatik ışık birbirinden eşit uzaklıklarla ayrılmış çıkıntılar bulunan bir yüzeyde yansdıktan sonra kırınımına uğramaktadır. Bu yüzeyler *optik ağ* adını almaktadır. Bir optik ağda her bir çıkıntı küçük bir ayna gibi davranmaktadır. Bu çıkıntılar mm de 50 – 2000 tanedir ve optik ağ 10 – 25 cm uzunluğundadır.

Çift ışık yollu spektrofotometreler her dalga boyunda "sıfır" ve "yüz" ayarlarının yapılmaması ve zaman tasarrufu için geliştirilmişlerdir. Spektrofotometrede monokromatörden çıkan ışık eşit şiddette iki demete bölünmektedir, biri örneğe diğeri ise sadece çözücünün bulunduğu kaba gönderilmektedir. Böylece örnekle çözücünün geçirgenlik değerleri sürekli olarak karşılaştırılmaktadır. İkiye ayrılan ışık iki ayrı dedektörle algılanmakta ve dedektörlerde oluşan sinyallerin oranı ölçülmektedir. Bu tür aletlere çift ışık yollu spektrofotometreler denmektedir. Burada iki dedektörün tam uyumlu olması yani eşit şiddetteki ışık ile aynı sinyali oluşturması gerekmektedir (YILDIZ ve ark.,1997).

Çift ışık yollu spektrofotometrelerde (Şekil 1.4.1.2.5.) tek dedektör kullanılarak da ölçüm yapılabilmektedir. Örnekten ve çözücünden geçen ışık demetleri dedektör üzerine, dedektör önüne yerleştirilmiş dönen bir ışık bölücü yardımıyla ve art arda gönderilmektedir. Art arda gelen bu ışık demetleri alternatif yani periyodik türden sinyaller üretmektedir. Işık bölücünün frekansına ayarlı bir elektronik çoğaltıcı yardımı ile bu alternatif sinyal kaydedilmektedir. Her iki ışık yolundan birbiri ardına gelen ışığın şiddetleri eşit ise dedektörde herhangi bir sinyal oluşmamaktadır. Örnek bölmesinden geçen ışığın absorpsiyon nedeniyle azaldığı zaman ise dedektöre gelen sinyal alternatif sinyal olarak algılanmaktadır. Çift ışık yollu spektrofotometrelerde ışık kaynağının şiddetinden kaynaklanan hatalar giderilmiş olmaktadır (YILDIZ ve ark.,1997).

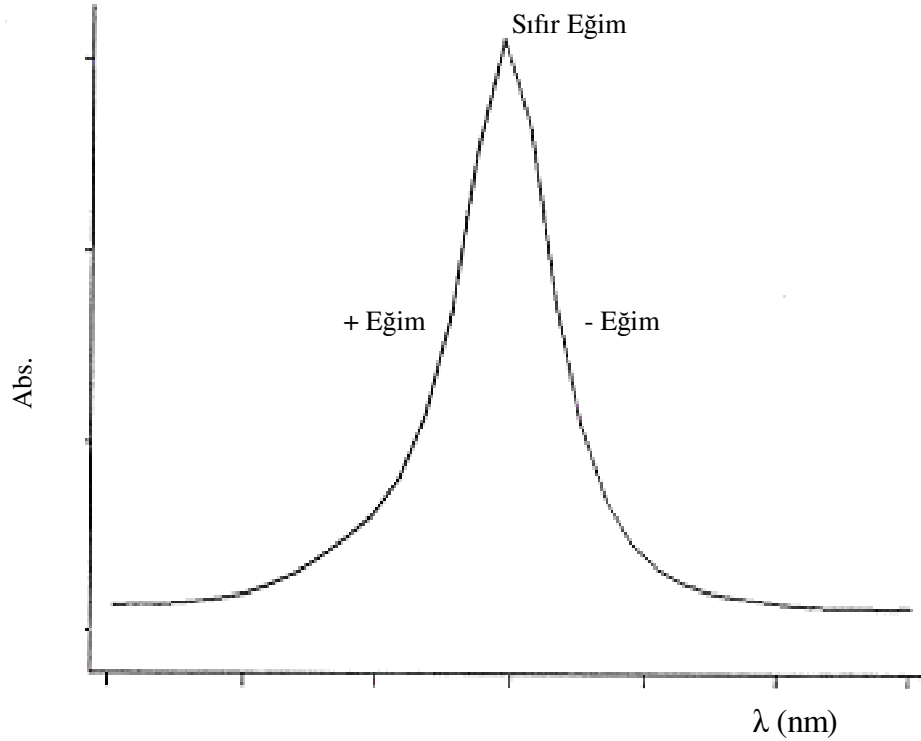


Şekil 1.4.1.2.5. Çift ışık yollu spektrofotometre cihazı.

Spektrofotometrelerde, iki ayrı monokromatör kullanılması ile iki farklı dalga boyundaki ışık, dönen bir ışık bölücü yardımı ile örnekle artarda etkileştirilmektedir. Bu tür çift ışık yollu spektrofotometrelere çift dalga boylu spektrofotometre adı verilmektedir. Örnekte, bu iki dalga boyunu absorplayacak iki bileşen varsa, bunların absorbanslarında zamanla oluşan değişimler, dalga boyu taraması yapılmaksızın izlenebilmektedir. Çift dalga boylu spektrofotometrede her iki monokromatör aralarında bir $\Delta\lambda$ değeri olacak şekilde beraberce tarandığında absorbans farkı, ΔA , ölçülmektedir. Bulanık çözeltiler de çift dalga boylu ölçümün uygulanabileceği bir başka örnek türlerindendir. Dalga boylarından biri çözeltideki maddenin absorplayacağı, diğeri ise absorplamayacağı değerlere ayarlanmaktadır. Bulanıklıktan dolayı her iki dalga boyunda aynı miktarda ışık kaybı olduğundan iki dalga boyunda yapılan ölçümlerin farkı sadece örneğin absorbansı ile ilişkili olmaktadır (YILDIZ ve ark., 1997).

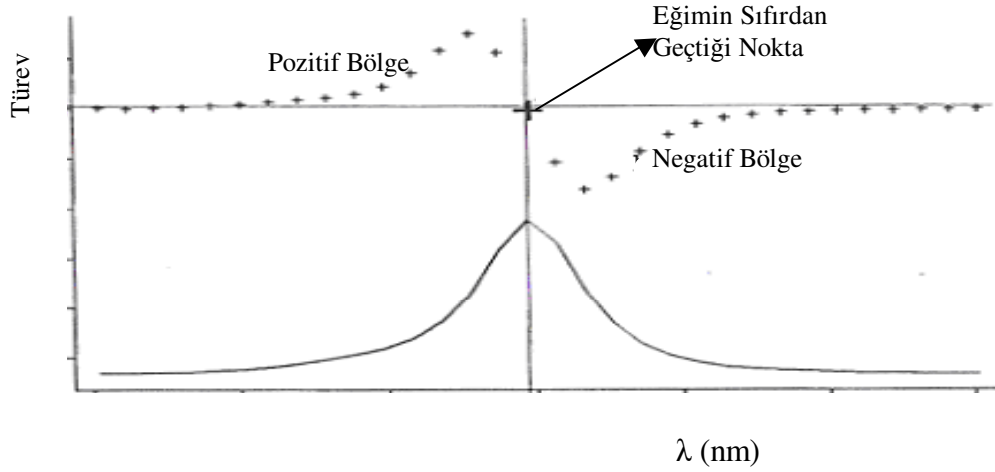
1.4.2. Türev Spektrofotometri (SMITH, 2002; ONUR ve YÜCESOY, 1983)

Matematiksel herhangi bir fonksiyonun eğimi hesapla yapılabileceği gibi türevi hesaplanarak da bulunabilmektedir. Spektrumda matematiksel bir fonksiyon olduğundan, spektral türevleri hesaplanabilmektedir (SMITH, 2002). Bir spektrumun birinci dereceden n. dereceye kadar türevi alınabilmektedir. Türev işlemi matematiksel olarak bir varyasyon işlemidir. Spektrumların türevi için günümüzde spektrofotometrelerde hazır bilgisayar programları kullanılmaktadır. Türev işlemlerinde temel problemlerden birisi, türev işlemi sırasında sinyallerin deformasyonudur. Bunun için çeşitli düzeltici yöntemler kullanılmaktadır. Türevleri hesaplamak için birçok algoritma bulunmaktadır. Bunlardan "Savitsky - Golay" algoritması yaygın olarak kullanılmaktadır. Tipik bir absorbans bandının eğiminin işaretleri Şekil 1.4.2.1.de görülmektedir. Dalga boyunun düşük olduğu yanda pik eğimi pozitif olmaktadır. Pikin en tepesindeki küçük bölgede pik düz ve eğim sıfır olmaktadır. Pikin dalga boyunun yüksek olduğu yanda ise eğim negatif olmaktadır.



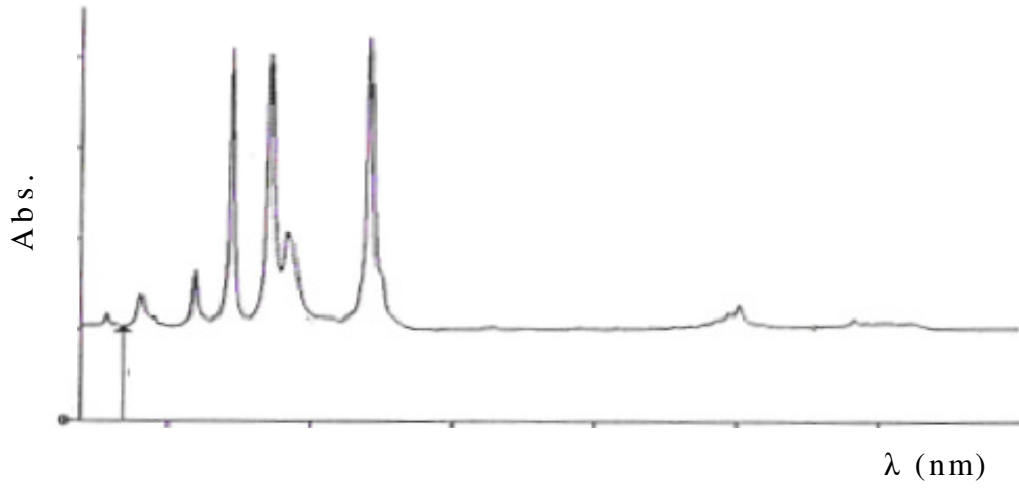
Şekil 1.4.2.1. Bir absorbans bandının eğim işaretleri.

Bant boyunca eğimdeki değişiklikler şu şekilde olmaktadır; önce pozitif bir bölge, pikin maksimum dalga sayısında sıfır ve sonra negatif bir bölge (SMITH, 2002).



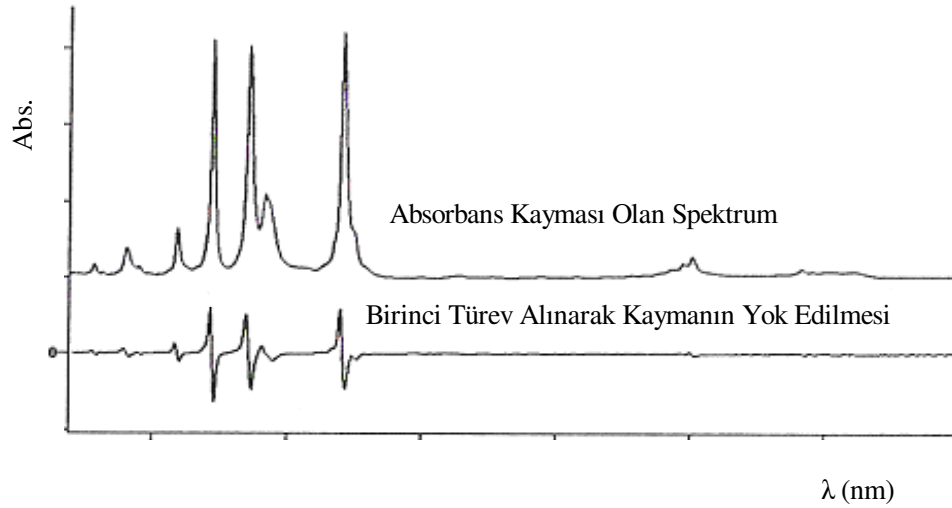
Şekil 1.4.2.2. Alta: Bir absorbans bandı, Üstte: Bu absorbans bandının birinci türevi.

Şekil 1.4.4.2. deki türevde beklenildiği gibi düşük dalga sayılarında pozitif bölge, sıfırdan geçtiğinde ve yüksek dalga sayılarında negatif bölge görülmektedir. Türev dalga sayısı ile daha düzgün olarak pikin tepesinde sıfırdan geçmektedir. Bu nedenle, türevler kimi zaman spektrumlarda pik yerleşimlerinin konumunu öğrenmede kullanılmaktadır. Sıfır çizgisinin düz olduğu spektrum bölümlerinde, yatay çizginin eğimi sıfır olduğundan türev sıfır olmaktadır. Sıfır çizgisinde ki değişiklikler absorbans ölçümlerinde istenmeyen değişiklikler üretmektedir. Şekil 1.4.2.3'deki spektrumda 0.5 birimlik absorbans kayması görülmektedir (SMITH, 2002).



Şekil 1.4.2.3. Bir absorbans spektrumundaki 0.5 birimlik absorbans kayması.

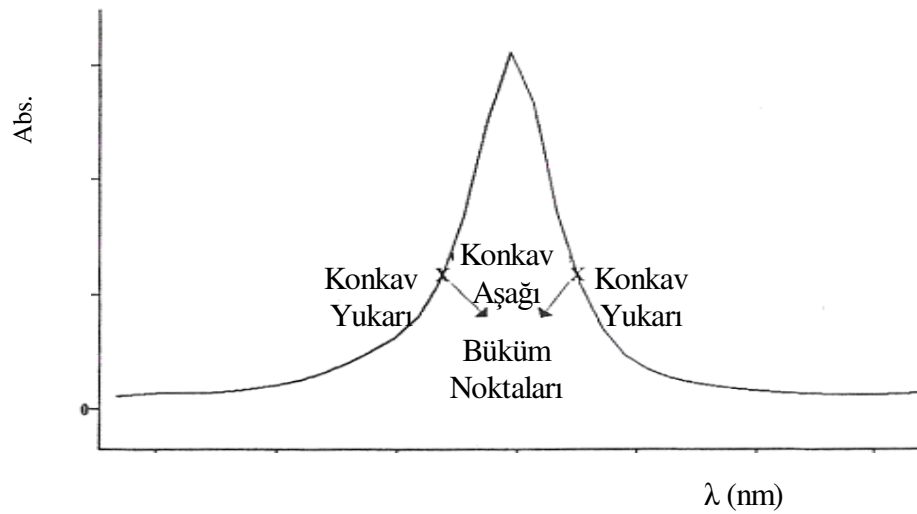
Aletsel veya numune alımlarının çoğu *sıfır çizgisinin* dengesizliğine neden olabilmektedir. Bu dengesizliği yok etmenin en iyi yolu spektrumun birinci türevini elde etmektir. Kaymanın nedeni spektrumdaki bütün absorbanslara sabit bir değerin ilavesinden kaynaklanmaktadır. Bir sabitin türevi sıfır olduğundan bu tür spektrumların birinci türevi alındığında kayma giderilmekte ve türevin sıfır çizgisi değeri de sıfır olmaktadır (SMITH, 2002).



Şekil 1.4.2.4. Absorbans kaymasının birinci türev alınarak yok edilmesi.

Şekil 1.4.2.3. ve Şekil 1.4.2.4.'de görülen kaymanın, spektrumun birinci türevi alınarak nasıl düzeltildiği gösterilmektedir. Birinci türevde pik alan bilgisi korunmaktadır, yani spektrum ve konsantrasyon arasındaki kantitatif bağ türev spektrumlarında hala vardır. Böylece spektral ayrıntılara sahip olmak absorbans ve konsantrasyonlar arasında ilişki kurmayı gerektirdiğinde, kalibrasyonda birinci türevlerin kullanılmasıyla sıfır çizgisindeki kayma giderilmektedir. Türevleri hesaplamada kullanılan bazı algoritmaların dezavantajı, sonuçlarında gürültüyü de içermesindendir. Bu da çalışma grafiğinin doğruluğunu azaltmakta ve türevin kullanım amacını da boşa çıkartmaktadır (SMITH, 2002).

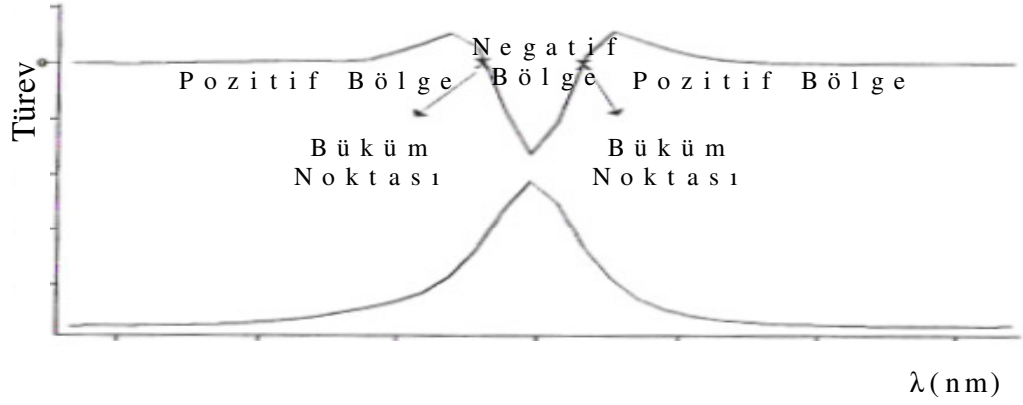
Birinci türeve ilaveten ikinci türevde hesaplanabilmektedir. İkinci türev fonksiyonun konkavlığının veya eğim derecesinin ölçümüdür. Tipik bir absorbans bandının konkavlığı Şekil 1.4.2.5.'de gösterilmektedir.



Şekil 1.4.2.5. Bir absorbans bandının konkav değişikliklerinin tanımlanması.

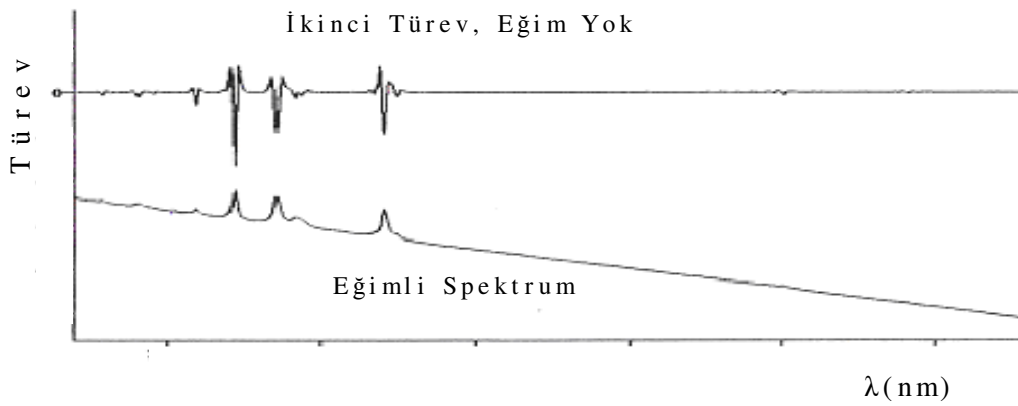
Pikin yanlarında, pik yükselmeye başlar ve eğim derecesi yukarıya doğru, pozitifdir. Pik gitgide daha uzun ve dik olmaktadır, konkavlık büküm noktası adı verilen geçiş noktası boyunca ilerlemekte ve büküm noktasında pikin türevi sıfır olmaktadır. Pikin tepesinde konkav aşağı veya negatiftir. Bu davranıştan ötürü, absorbans bandının ikinci türevinin pozitif loba sahip olması beklenmektedir. Büküm noktası sıfırdan geçmekte ve sonra negatif bir loba sahip olmakta, ikinci büküm noktasında tekrar sıfırdan geçmekte ve sıfır çizgisi noktasına gelmeden önce pozitif

bir loba sahip olmaktadır. Şekil 1.4.2.6.'da bu görülmektedir. İkinci türevde negatif lobun minimum noktası orijinal spektrumdaki maksimum absorbans bandının dalga sayısına karşılık gelmektedir (SMITH, 2002).



Şekil 1.4.2.6. Altta tipik bir absorbans bandı, üstte ise ikinci türevi görülmektedir.

İkinci türevin minimumunun absorbans bandının maksimumuna karşılık geldiği Şekil 1.4.2.6. da görülmektedir. Bu nedenle ikinci türevin spektrumları pik seçiminde veya örtüşen pik gruplarını ayırmada kullanılabilir. Birinci türevlerdeki gibi, ikinci türevlerde de sıfır çizgisi kayması sıfır olmakta yani Şekil 1.4.2.6.'da ikinci türevin sıfır çizgisindeki değeri de sıfırdır. Ayrıca ikinci türevlerin sıfır çizgisindeki eğimleri de sıfırdır. Şekil 1.4.2.7.'de bu gösterilmektedir (SMITH, 2002).



Şekil 1.4.2.7 Altta eğim içeren bir absorbans bandı, üstte bu spektrumun ikinci türevinin alınmasıyla eğimin yok edilmesi görülmektedir.

Orijinal spektrum, Şekil 1.4.2.7.'de altta gösterilmektedir, düşük dalga sayılarında eğim yukarı doğru olmaktadır. Spektrumun ikinci türevinde, üstte gösterilen, eğim yok olmakta ve sıfır çizgisinin değeri sıfıra düşmektedir. Pik alan bilgileri, spektral ölçüm ve konsantrasyon değerleri arasındaki ilişki ikinci türevlerde de korunmaktadır. Kalibrasyonda ikinci türevlerin kullanılması ile spektral bir veri serisinden hem spektral kaymanın hem de eğimin giderilmesi sağlanmaktadır. Birinci türevlerle sadece absorbanstaki kaymalar giderilmektedir. İkinci türevler önceki spektrumlardan daha gürültülü olmaktadır. Bu da çalışma grafiğinin doğrusallığını bozabilmekte ve ikinci türevlerin kullanılma amacını yok edebilmektedir. (SMITH, 2002).

1.4.2.1. Yöntemin Özellikleri

Türev yönteminin spektrofotometrik uygulamalardaki avantaj ve dezavantajları aşağıda sunulmaktadır (ONUR ve YÜCESOY, 1983).

1.4.2.1.1. Avantajları

- 1) Orijinal bir spektrumun türevi alınarak elde edilen eğriden, spektrumun eğimi, omuz ve dönüm noktaları belirginleşmektedir. Böylece daha kolay ve kesin olarak bir bileşik tanımlanabilmektedir.
- 2) Alınan spektrumda bir pik grubunun örtüşmesi söz konusu ise, spektrumun türevi alındığında absorpsiyon eğrileri belirginleşmekte ve bileşiklerin tek tek hangi dalga boyunda absorpsiyon yaptığı görülebilmektedir.
- 3) Bulanık çözeltilerde çalışıldığında çökme hızı, tanecik boyutu gibi etkenler hataya neden olmaktadır. Türev eğrileri ile bu etkenler giderilerek daha doğru sonuçlar elde edilmektedir.

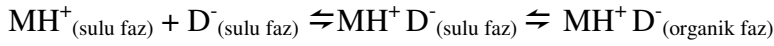
- 4) Karışım halinde bulunan maddeler kromatografi, ekstraksiyon gibi ayırma yöntemleri kullanılmadan analiz edilebilirler.
- 5) Aletten veya deneysel ortamdan kaynaklanan gürültü piklerinin yok edilmesini sağlamaktadırlar.

1.4.2.1.2. Dezavantajları (ONUR ve YÜCESOY, 1983)

- 1) Pahalı spektrofotometreler gerektirmesine rağmen kullanımı kolaydır.
- 2) Türev spektrumlarında türev derecesi arttıkça, pik sayısı da artmaktadır ve başka maddelerin varlığını ortaya çıkaran çok sayıda pikle de karşı karşıya kalınabilmektedir.

1.4.3. İyon Çifti Oluşumuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntem

Analitik kimyada yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisi iyon çifti oluşumu tekniğidir. Bu yöntemde analiz edilen maddenin sulu fazdan organik faza renkli asidik maddenin (reaktif) anyonik formu ile iyon çifti oluşturmaya dayanır. Bu ekstraksiyon dengesi ya da iyon çifti oluşumu aşağıdaki biçimde verilebilir:



Bu eşitlikte MH^+ protonlanmış etkin maddeyi D^- ise renkli maddenin (reaktifin) anyonik şeklini göstermektedir (PEREZ-RUIZ ve ark., 2001).

İyon çiftinin oluşumunda kullanılan reaktiflerden bazıları timol mavisi, bromtimol mavisi, fenol kırmızısı, brompirogallol kırmızısı, bromkrezol moru, bromkrezol yeşili, bromfenol mavisi ve alizarin kırmızısıdır. İyon çifti oluşumunda temel optimal koşullar olarak uygun pH ortamı ve kullanılan reaktifin konsantrasyonu gösterilebilir (ABDEL - GAWAD, 1997; ABDINE ve ark., 1998; AMAN ve ark., 1997; AMIN, 2002; BARARY ve WAHBI, 1991; BASAVAIAH ve ark., 2000; BLAIH ve ark., 2000; DINESH ve ark., 2002; EL-ANSARY ve 1999; EL-YAZBI ve ark., 2003; ISSA ve ark., 1997; KARAM ve ark., 1999; KELANI ve ark., 1999; MAHFOUZ ve EMARA, 1993; MISIUK, 2005; MISIUK ve TARASIEWICZ, 1996; MORANA ve SCHAPOVAL, 2001; NAGARAJA ve ark., 2001; NAGARAJA ve ark., 2003; PEREZ-RUIZ ve ark., 2001; RAHMAN ve HEJAZ-AZMI, 2000; RAHMAN ve ark., 2004; SASTRY ve NAIDU, 1998; SHAMA, 2002; VLADIMIROV ve ark., 1995; RAMESH ve ark., 2001; LIU ve ark., 2002; AL-GHANNAM ve ark., 2006).

2. DENEYSEL KISIM

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

- Spektrofotometre: Shimadzu UV 1601
- Spektrofotometre (IR) : FT/IR 420
- Duyarlı Terazı: Shimadzu, Libror AEG – 220
- Manyetik Karıştırıcı: Electro-Mag Type MS, Rühra-Man, Heidolph.
- Erime Noktası Tayin Cihazı: Electrothermal 9100
- Ultrasonik Karıştırıcı: Selecta, Ultrasons
- pH Metre: pH 538 WTW, MultiCal

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Zolmitriptan (Astra Zeneca)
- Rizatriptan (Merck Sharp&Dohme İlaçları Ltd. Şti.)
- Metanol (Merck)
- Hidroklorik Asit (Riedel-deHaën)
- Sodyum Hidroksit (Riedel-deHaën)
- Potasyum Biftalat (Merck)
- Monobazik Potasyum Fosfat (Riedel-deHaën)
- Potasyum Klorür (J.T. Baker Chemical Co.)
- Asetonitril (Merck)
- Eter (Merck)
- Dimetilformamit (Merck)
- Kloroform (Merck)
- Bromkrezol Moru (Riedel-DeHaën)
- Bromkrezol Yeşili (Merck)

2.3. Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Kullanılan standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır.

- Zolmitriptan'ın su içerisindeki 1 mg.mL⁻¹ lik çözeltisi
- Rizatriptan'ın su içerisindeki 1 mg.mL⁻¹ lik çözeltisi
- 0.2 M Potasyum Biftalat, KHC₆H₄(COO)₂
- 0.2 M Monobazik Potasyum Fosfat, KH₂PO₄
- 0.2 M Potasyum Klorür, KCl
- 0.1 g Bromkrezol Moru'nun 100 mL H₂O içerisindeki çözeltisi
- 0.1 g Bromkrezol Yeşili'nin 100 mL H₂O içerisindeki çözeltisi

2.4. Farmasötik Preparatlar

2005 Vademecum Modern İlaç Rehberi'nde zolmitriptan ve rizatriptan içeren preparatlar olarak Zomig® ve Maxalt® RPD bulunmaktadır.

I. ZOMIG® Film Tablet (Astra Zeneca)

Zolmitriptan 2.5 mg / tablet

II. MAXALT® RPD* Tablet (MSD)

Rizatriptan 10 mg /tablet

*RPD: (Rapidly dissolving or rapidly disintegrating) Ağızda eriyen tablet

2.5. Ortam Şartları ve Hesaplamalar

Spektrofotometrede ölçülen çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı gelen absorban değerlerinin, 0.200 ile 1.000 arasında olmasına ve analitik olarak doğrusallığı sağlamasına dikkat edilerek çalışıldı.

2.6. Analizi Yapılan Maddelerin Safılıklarının Araştırılması

Farmasötik preparatların safılıklarının tayin edilmesi için UV spektrumları, IR spektrumları alındı ve erime noktaları tayin edildi.

2.7. Zolmitriptan İçin Analiz Yöntemleri

2.7.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

2.7.1.1. Deneyin Yapılışı

2.7.1.1.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması

Zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 235.0 – 325.0 nm'ler arasındaki spektrumu alınıp, maksimum absorpsiyonun olduğu 282.7 nm'deki absorbans değerleri okundu. Okunan bu absorbans değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri hazırlandı. En küçük kareler yöntemi kullanılarak istatistiksel veriler elde edildi.

2.7.1.1.2. Kesinliğin Araştırılması

Basit bir validasyon işlemi olarak $17.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonunda hazırlanan zolmitriptan çözeltisinin oda koşullarında, karanlıkta ve soğukta gün içi 1'er saat arayla 7 kez belirli zaman aralıklarında, günler arasında ise 1. günden 7. güne kadar yeni hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri 282.7 nm'de okundu, elde edilen istatistiksel veriler Çizelge 3.2.1.2.'de gösterilmiştir.

2.7.1.1.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında zolmitriptan içeren çözeltiler kullanılarak konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı, elde

edilen sonuçlar Çizelge 3.2.1.3.'de verilmiştir.

2.7.1.1.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Farmasötik preparatın ambalajındaki toplam 5 adet tablet duyarlı terazi kullanılarak tartıldı ve havan içinde iyice toz haline getirildi. Elde edilen bu ince toz numuneden 1/2 tablete eşdeğer miktarda alınan toz balonjoje içerisine konularak 50 mL'ye distile su ile tamamlandıktan sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla 20 dakika karıştırıldı. Hazırlanan çözelti Whatman 42 süzgeç kağıdından süzüldü. Elde edilen süzüntüden, çalışma aralığının içine düşecek şekilde seyreltme işlemi yapıldıktan sonra yöntem uygulandı. Bu işlem beş defa tekrar edildi. Yöntemin farmasötik preparata uygulanmasından elde edilen sonuçlar çizelge 3.2.1.4. de gösterilmiştir.

2.7.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

2.7.2.1. Deneyin Yapılışı

2.7.2.1.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması

Standart zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinden hareketle 235.0 – 325.0 nm’de alınan spektrumlarının 1. türev eğrileri çizdirildi. Elde edilen türev spektrumlarının 264.0; 280.6; 288.2; 297.0 nm’lerdeki türev absorbans değerleri okundu ve konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edildi. Lineer regresyon analizinde elde edilen kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları Çizelge 3.2.2.1. de gösterilmiştir.

2.7.2.1.2. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında zolmitriptan içeren çözelti kullanılarak türev spektrumları çizdirildi. 264.0; 280.6; 288.2; 297.0 nm'lerdeki türev absorbans değerlerinden yararlanılarak konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı, elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.2.2.'de verilmiştir.

2.7.2.1.3. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.7.1.1.4.'de olduğu gibi deneyler yapılarak elde edilen spektrumların birinci türev absorbans değerleri okundu ve çizelgeler hazırlandı.

2.7.3. İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemleri

2.7.3.1. Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın Analizi

Zolmitriptan'ın farmasötik preparatlarda miktar tayini için bu etkin maddenin bromkrezol moruyla pH 6 ortamında ve kloroform fazı kullanıldığında oluşan renkli iyon çifti kompleksinin 398.0 nm'de okunan absorbans değerleri kullanıldı.

2.7.3.1.1. Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması

2.7.3.1.1.1. Uygun pH Seçimi

Ayırma hunileri içerisine standart zolmitriptan çözeltileri alındı, üzerilerine pH'ı 2'den 8'e kadar değişen aralıkta tampon çözeltilerden 1'er mL ayrı ayrı ilave edildi. Daha sonra 1 mL reaktif çözeltisi ve 10 mL organik faz ilave edilerek çözeltiler çalkalandı, 5 dakika beklendi. Organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı ve 398.0 nm deki absorbans değerleri okundu.

2.7.3.1.1.2. Uygun Bekleme Süresinin Seçimi

3 mL standart zolmitriptan içeren çözelti ayırma hunisinin içerisine konuldu. Üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL organik faz ilave edilip çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra değişen sürelerde beklenildi. Organik faz alınarak maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.7.3.1.1.3. Uygun Organik Faz Seçimi

3 mL zolmitriptan içeren standart çözeltiler üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1 mL reaktif konularak 5; 10; 15 ve 20 mL ayrı ayrı organik fazlar (eter, kloroform, dimetilformamit) ilave edilip, çalkalandı ve organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.7.3.1.1.4. Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi

3 mL zolmitriptan içeren standart çözelti üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu konularak 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 ve 2.5 mL değişen reaktif çözeltisi ile 10 mL organik faz ilavesi yapılarak çalkalandı. Oluşan iyon çiftlerinin kloroform fazında okunan absorbanslarının karşılaştırılması sonucu en yüksek değer 1.0 mL reaktif çözeltisi ile elde edildiği görüldü.

2.7.3.1.2. Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Değişen konsantrasyonlarda zolmitriptan içeren çözeltiler üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalanıp, 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 398.0 nm deki absorbans değerleri okunarak konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirilip kalibrasyon grafikleri hazırlandı. En küçük kareler yöntemi yardımıyla doğru denklemleri elde edildi.

2.7.3.1.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.3.2.'de verilmiştir.

2.7.3.1.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.7.1.1.4.'de olduğu gibi deney yapılarak elde edilen çözelti standart çözelti olarak kullanıldı. Çözelti üzerine (3 mL), 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalanıp, 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 398.0 nm deki absorbans değerleri okundu ve doğru denkleminde yerine konarak tablette bulunan etkin madde miktarı hesaplandı.

2.7.3.2. Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın Analizi

Zolmitriptan'ın farmasötik preparatlarda miktar tayini için bu etkin maddenin bromkrezol yeşili ile pH 4 fosfat tamponu ortamı ve kloroform fazında oluşturduğu iyon çifti kompleksinin 413.4 nm'deki absorbans değerleri kullanıldı.

2.7.3.2.1. Yöntemin Uygulanmasında Optimum Koşulların Sağlanması

2.7.3.2.1.1. Uygun pH Seçimi

Ayırma hunilerine alınan standart zolmitriptan çözeltileri üzerine pH'ı 2 den 8'e kadar değişen tampon çözeltileri ayrı ayrı ilave edildi. 1 mL reaktif çözeltisi ve 10 mL organik faz ilave edildikten sonra çözeltiler çalkalandı ve 5 dakika beklendi. Organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı ve 413.4 nm deki absorbans değerleri okundu.

2.7.3.2.1.2. Uygun Bekleme Süresinin Seçimi

Ayırma hunileri içerisine 3 mL standart zolmitriptan çözeltisi konuldu. Üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL organik faz ilave edilerek çalkalandı. Çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra belirlenen sürelerle beklenildi. Organik faz alınarak maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boylarında absorbans değerleri okundu.

2.7.3.2.1.3. Uygun Organik Faz Seçimi

3 mL zolmitriptan içeren standart çözelti üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif konularak 5; 10; 15 ve 20 mL ayrı ayrı organik fazlar (eter, kloroform, dimetilformamit) ilave edilerek çalkalandı, organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.7.3.2.1.4. Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi

3 mL zolmitriptan içeren standart çözelti üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu konularak 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 ve 2.5 mL değişen reaktif çözeltisi ile 10 mL organik faz ilavesi yapılarak çalkalandı. Kloroform fazında oluşan iyon çiftlerinin absorbanslarının okunması ve karşılaştırılması sonucu en yüksek değer 1.0 mL reaktif çözeltisi ile olduğu tespit edildi.

2.7.3.1.2. Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Artan konsantrasyonlarda zolmitriptan içeren çözeltiler üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalanıp, 5 dakika beklendi ve sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 413.4 nm de absorbans değerleri okunarak konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirildi ve kalibrasyon grafikleri elde edildi. Doğru denklemleri en küçük kareler yöntemi ile bulundu.

2.7.3.1.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.4.2.'de özetlenmiştir.

2.7.3.1.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.7.1.1.4.'de olduğu gibi deney yapılarak elde edilen çözelti standart çözelti olarak kullanıldı. Çözelti üzerine (3 mL), 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalanıp, 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 413.4 nm deki absorbans değerleri okundu ve doğru denkleminde yerine konularak tablet konsantrasyonu hesaplandı.

2.8. Rizatriptan İçin Analiz Yöntemleri

2.8.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

2.8.1.1. Deneyin Yapılışı

2.8.1.1.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması

Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 240.0 – 325.0 nm’ler arasındaki spektrumu alınıp, farklı konsantrasyonlar için maksimum absorpsiyonun olduğu 279.3 nm’deki absorbans değerleri okundu. Absorbans değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirildi. İstatistiksel verilerin elde edilmesinde en küçük kareler yöntemi kullanıldı.

2.8.1.1.2. Kesinliğin Araştırılması

Basit bir validasyon işlemi olarak 41.0 µg.mL⁻¹ konsantrasyonunda hazırlanan rizatriptan çözeltisinin oda koşullarında, karanlıkta ve soğukta gün içi 1'er saat aryla 7 kez belirli zaman aralıklarında, günler arasında ise 1. günden 7. güne kadar yeni hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri 279.3 nm'de okunmuş, elde edilen istatistiksel veriler Çizelge 3.3.1.2.'de gösterilmiştir.

2.8.1.1.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında hazırlanan çözeltilerin konulan ve bulunan konsantrasyon verilerinden % geri kazanım değerleri hesaplanıp, elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.1.3.'de verilmiştir.

2.8.1.1.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Farmasötik preparatın ambalajındaki toplam 5 adet tablet duyarlı terazi kullanılarak tartıldı ve havan içinde iyice toz haline getirildi. Elde edilen bu ince toz numuneden 1/2 tablete eşdeğer miktarda toz alınarak balonjoje içerisine konuldu. Distile su ile 50 mL'ye tamamlandıktan sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla 20 dakika karıştırıldı. Hazırlanan çözelti Whatman 42 süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntüden çalışma aralığı içine düşecek şekilde seyreltme işlemi yapıldıktan sonra yöntem uygulandı. Farmasötik preparata yöntemin uygulanması ile elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.1.4.'de sunulmuştur.

2.8.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

2.8.2.1. Deneyin Yapılışı

2.8.2.1.1. Kalibrasyon Grafiklerinin Hazırlanması

Standart rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinden hareketle 240.0 – 325.0 nm’de alınan spektrumlarının birinci türev eğrileri çizdirildi. Elde edilen türev spektrumlarından 266.8; 286.0; 295.3 nm’lerde türev absorbans değerleri okundu ve konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edildi. Lineer regresyon analizinde elde edilen kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları Çizelge 3.3.2.1.'de gösterilmiştir.

2.8.2.1.2. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığına düşecek miktarlarda hazırlanan rizatriptan çözeltilerinin türev spektrumları çizdirilip, 266.8; 286.0; 295.3 nm'lerdeki türev absorbans değerleri okunarak, konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.2.2.'de verilmiştir.

2.8.2.1.3. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.8.1.1.4.'de anlatıldığı gibi deneyler farmasötik preparata uygulanmış, elde edilen spektrumların birinci türev absorbans değerleri okunarak çizelgeler hazırlanmıştır.

2.8.3. İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemleri

2.8.3.1. Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın Analizi

Rizatriptan'ın farmasötik preparatlarda miktar tayini için, etkin maddenin bromkrezol moru ile pH 4 fosfat tamponlu ortamda ve kloroform fazı kullanıldığında oluşan renkli iyon çifti kompleksinin 401.9 nm'deki absorbans değerleri kullanıldı.

2.8.3.1.1. Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması

2.8.3.1.1.1. Uygun pH Seçimi

Ayrırma hunilerine alınan standart rizatriptan çözeltileri üzerine pH'ı 2'den 8'e kadar değişen aralıklardaki tampon çözeltilerden 1'er mL ilave edildi. 1 mL reaktif çözeltisi ve 10 mL organik faz da ilave edildikten sonra çözeltiler çalkalandı ve 5 dakika beklenildi. Organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülüp ve 401.9 nm'deki absorbans değerleri okundu.

2.8.3.1.1.2. Uygun Bekleme Süresinin Seçimi

3 mL standart rizatriptan içeren çözeltiler ayırma hunilerinin içerisine konuldu. Üzerilerine 1'er mL pH 6 fosfat tamponu, 1'er mL reaktif ve 10'ar mL organik faz ilave edilerek çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra değişen sürelerde beklenildi. Organik faz alınarak maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.8.3.1.1.3. Uygun Organik Faz Seçimi

3 mL standart rizatriptan çözeltisi üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1 mL reaktif konulup, 5; 10; 15 ve 20 mL ayrı ayrı organik fazlar (eter, kloroform, dimetilformamit) ilave edilerek çalkalandı ve organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 401.9 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okundu.

2.8.3.1.1.4. Uygun Reaktif Konsantrasyonun Seçimi

3 mL standart rizatriptan çözeltileri üzerine 1'er mL pH 6 fosfat tamponu ve 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mL değişen miktarlarda reaktif çözeltisi ilave edildi. 10 mL organik faz ilave edilerek çalkalandı, ayrılan organik fazın spektrumları karşılaştırıldığında 401.9 nm'de en yüksek absorbans değerinin 1.0 mL reaktif çözeltisi ile olduğu tespit edildi.

2.8.3.1.2. Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Farklı konsantrasyonlarda rizatriptan içeren çözeltiler üzerine 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalandı ve 5 dakika beklenildi. Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek ayrılan organik faz alınıp, maksimum absorbans değerleri okunarak konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirildi. En küçük kareler yöntemi kullanılarak doğru denklemleri elde edildi.

2.8.3.1.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından % geri kazanım değerleri hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.3.2.'de özetlenmiştir.

2.8.3.1.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.7.1.1.4.'de olduğu gibi deney yapılarak elde edilen çözelti standart çözelti olarak kullanıldı. 3 mL çözelti üzerine, 1 mL pH 6 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalandı. 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 401.9 nm deki absorbans değerleri okunup, doğru denkleminde yerine konularak tablet konsantrasyonu hesapladı.

2.8.3.2. Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın Analizi

Rizatriptan'ın farmasötik preparatlarda miktar tayininde, etkin maddenin organik faz ve pH 4 fosfat tamponu ortamında bromkrezol moru ile oluşturduğu renkli iyon çifti kompleksinin 420.0 nm'de okunan absorbans değerleri kullanıldı.

2.8.3.2.1. Yöntemin Uygulanmasında Optimal Koşulların Saptanması

2.8.3.2.1.1. Uygun pH Seçimi

pH'ı 2'den 8'e kadar değişen tamponlardan 1'er mL ayrı ayrı ayırma hunilerine alınan standart rizatriptan çözeltileri üzerine eklendi. Daha sonra 1 mL reaktif çözeltisi ve 10 mL organik faz ilave edilen çözeltiler çalkalanıp, 5 dakika beklenildi. Organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek diğer fazdan ayrıldı ve 420.0 nm'deki absorbans değerleri okundu.

2.8.3.2.1.2. Uygun Bekleme Süresinin Seçimi

Standart rizatriptan çözeltisinden 3'er mL ayırma hunilerinin içerisine konulup, üzerlerine 1'er mL pH 4 fosfat tamponu, 1'er mL reaktif ve 10'er mL organik faz ilave edildi. Çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra değişen sürelerde beklenildi. Ayrılan organik fazdan maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.8.3.2.1.3. Uygun Organik Faz Seçimi

3 mL rizatriptan içeren standart çözeltiye 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif eklendi. 5; 10; 15 ve 20 mL ayrı ayrı organik fazlar (eter, kloroform, dimetilformamit) ilave edilerek çalkalandı. Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alınan organik fazın maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

2.8.3.2.1.4. Uygun Reaktif Konsantrasyonunun Seçimi

3 mL reaktif içeren standart rizatriptan çözeltileri üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu ve değişen miktarlarda 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mL reaktif çözeltisi ilavesinden sonra 10 mL organik fazla çalkalanıp renkli iyon çifti kompleksinin oluşması sağlandı. 420.0 nm'de organik fazdan okunan absorbans değerlerine bakılarak, en yüksek absorbansın 1 mL reaktif ile olduğu saptandı.

2.8.3.2.2. Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Artan konsantrasyonlarda hazırlanan rizatriptan çözeltileri üzerine 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform eklenerek çalkalandı. 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzüldü. Maksimum absorpsiyonun olduğu 420.0 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerlerinden kalibrasyon grafikleri elde edildi.

2.8.3.2.3. Geri Kazanım Çalışmaları

Kalibrasyon çalışma aralığında konulan ve bulunan konsantrasyon miktarlarından %geri kazanım değerleri hesaplandı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.4.2.'de gösterilmiştir.

2.8.3.2.4. Yöntemin Farmasötik Preparata Uygulanması

Bölüm 2.7.1.1.4.'de olduğu gibi deney yapılarak elde edilen çözelti standart çözelti olarak kullanıldı. 3 mL çözelti üzerine, 1 mL pH 4 fosfat tamponu, 1 mL reaktif ve 10 mL kloroform ilave edilerek çalkalandı, 5 dakika beklendikten sonra organik faz Whatman 42 süzgeç kağıdından süzülerek alındı. Maksimum absorpsiyonun olduğu 420.0 nm deki absorbans değerleri okundu ve doğru denkleminde yerine konarak tablet konsantrasyonu hesaplandı.

3. BULGULAR

3.1. Etkin Maddelerin Saflık Kontrolü

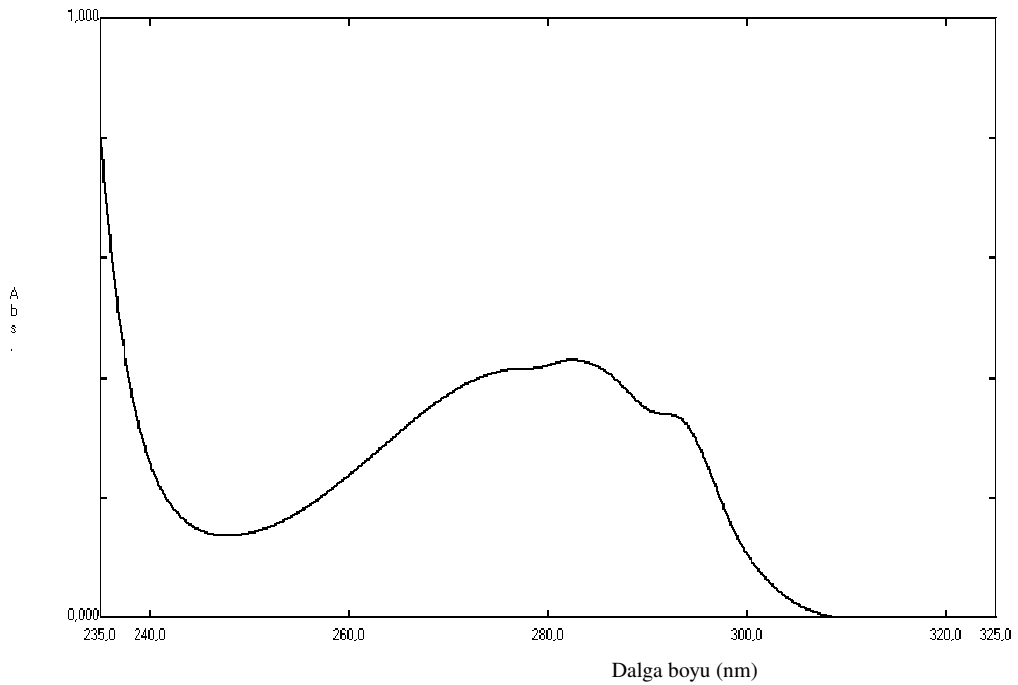
3.1.1. Zolmitriptan'ın Saflık Kontrolü Analiz Sonuçları

3.1.1.1. Erime Noktası:

Zolmitriptan'ın erime noktası 140 °C olarak tayin edilmiştir.

3.1.1.2. UV Spektrumu:

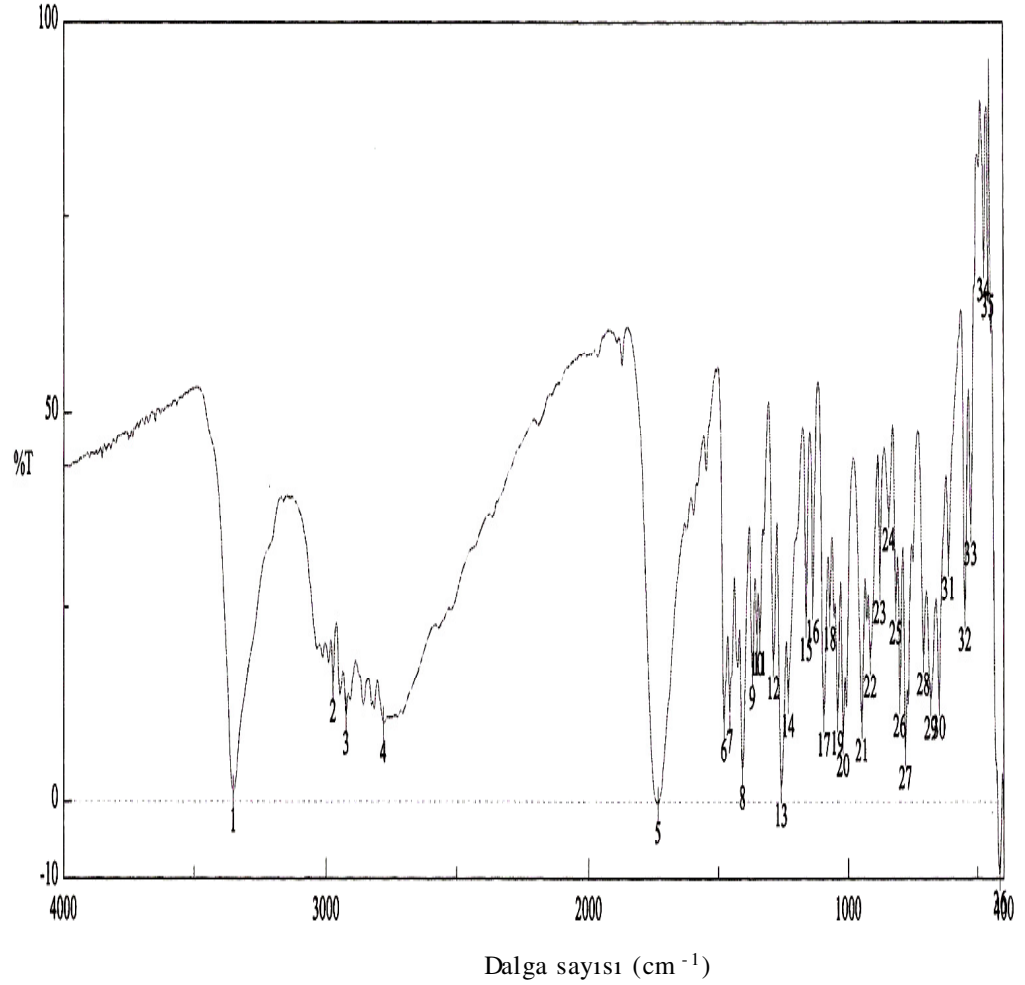
Zolmitriptan'ın su içerisinde 235.0 -325.0 nm'ler arasındaki UV spektrumu Şekil 3.1.1.2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1.1.2.1. Zolmitriptan'ın su içerisinde 23.1 µg.mL⁻¹ lik çözeltisinin UV spektrumu

3.1.1.3. IR Spektrumu:

KI ile disk haline getirilen Zolmitriptan'ın 4000.0 cm^{-1} ile 400.0 cm^{-1} arasındaki dalga sayısında alınan IR spektrumu Şekil 3.1.1.3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1.1.3.1. Zolmitriptan'ın IR spektrumu

Elde edilen spektrumlar ve erime noktası kullanılan standardın bu çalışmayı yürütecek saflıkta olduğunu göstermektedir.

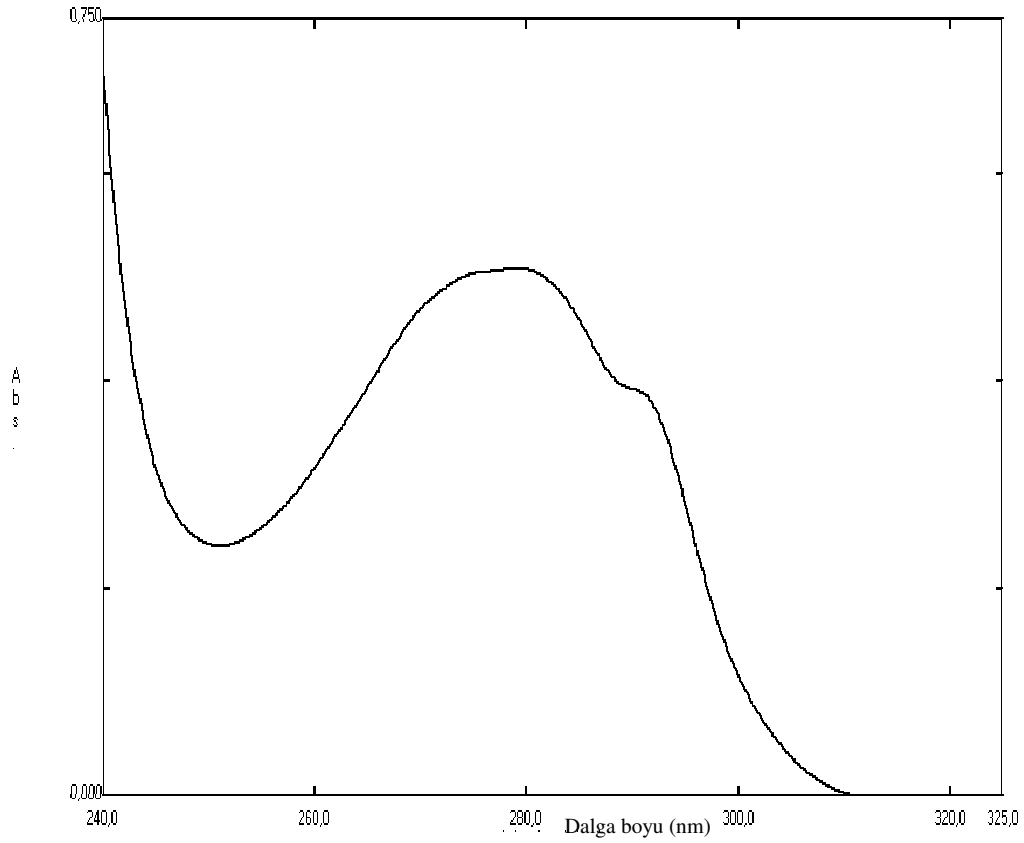
3.1.2. Rizatriptan'ın Safılık Kontrolü Analiz Sonuçları

3.1.2.1. Erime Noktası:

Rizatriptan'ın erime noktası 184 °C olarak tayin edilmiştir.

3.1.2.2. UV Spektrumu:

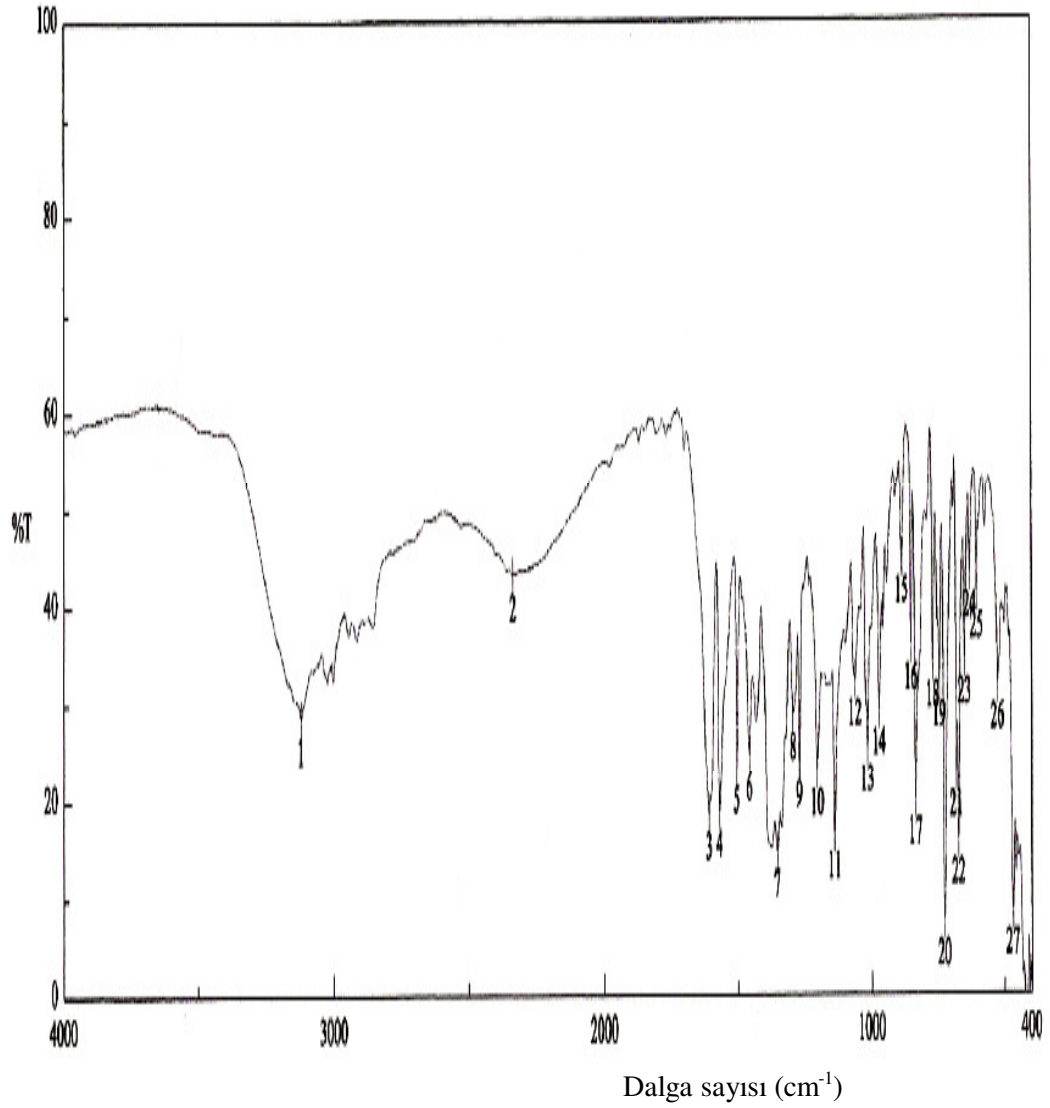
Rizatriptan'ın su içerisinde 240.0 – 325.0 nm'ler arasındaki UV spektrumu Şekil 3.1.2.2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1.2.2.1. Rizatriptan'ın su içerisindeki 40.4 µg.mL⁻¹ lik çözeltisinin UV spektrumu.

3.1.2.3. IR Spektrumu:

KI ile disk haline getirilen Rizatriptan'ın 4000.0 cm^{-1} ile 400.0 cm^{-1} arasındaki dalga sayısında alınan IR spektrumu Şekil 3.1.2.3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1.2.3.1. Rizatriptan'ın IR spektrumu.

Elde edilen spektrumlar ve erime noktası etkin maddenin çalışmayı yürütebilecek saflıkta olduğunu göstermektedir.

3.2. Zolmitriptan İçin Yöntemlerin Uygulanması ve Analiz Sonuçları

3.2.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

Zolmitriptan'ın analizinde değişik çözücü sistemleri olarak metanol, su ve 0.1 N HCl test edilerek uygun çözücü olarak su seçilmiştir. Şekil 3.1.1.1.'de görüldüğü gibi zolmitriptan'ın su içerisinde iki omuz içeren spektrumu elde edildi. Maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu ise 282.7 nm olarak gözlemlendi. Bu maksimuma karşılık gelen dalga boyunda absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek Çizelge 3.2.1.1 de gösterilen kalibrasyon denklemi ve istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir.

$$\text{Yakalama sınırı} = \frac{3.\text{standart sapma}}{m}$$

$$\text{Alt tayin sınırı} = \frac{10.\text{standart sapma}}{m}$$

Formülleri kullanılarak yakalama sınırı ve alt tayin sınırı hesaplanmıştır (SABRY ve ark., 2000).

Çizelge 3.2.1.1. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan için kalibrasyon verileri, n=5.

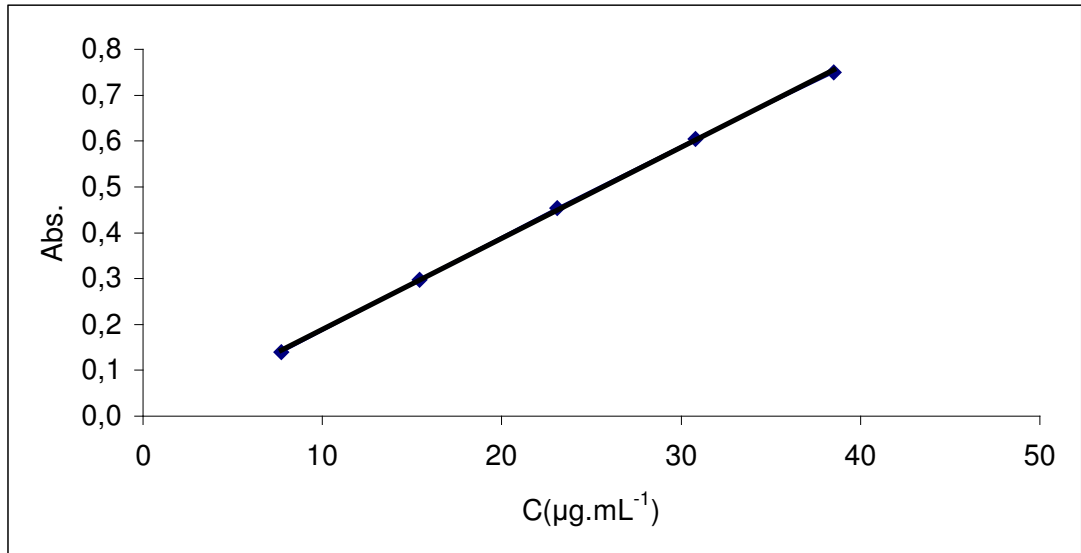
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
282.7	$y=2.02 \times 10^{-2}C - 3.54 \times 10^{-5}$	0.9985	7.7 – 38.5	0.16	0.54	0.9970

C= Zolmitriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.2.2.1.'de zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 282.7 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 4.2.1.1. Zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 282.7 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Yöntemde doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.2.1.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.1.2. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.

n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
5	0.9985	0.9970	0.0316	31.5981	2.78

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Zolmitriptan'ın gün içi ve günler arası çalışmaların sonucunda elde edilen analiz bulguları Çizelge 3.2.1.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.3. Zolmitriptan standartlarının gün içi ve günler arası analiz sonuçları (n=3).

Gün İçi Analiz

Konulan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Deneysel Koşullar	Bulunan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bağlı Hata	SS	BSS (%)
17.0	Oda sıcaklığında	17.3	1.76	0.36	2.08
	Karanlıkta	17.3	1.76	0.48	2.77
	Soğukta	16.9	0.59	0.19	1.11

SS: Standart sapma

BSS (%): Bağlı standart sapma

Günler Arası Analiz

Konulan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Deneysel Koşullar	Bulunan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bağlı Hata	SS	BSS (%)
17.0	Oda Sıcaklığında	16.8	1.18	0.26	1.55
	Karanlıkta	16.9	0.59	0.23	1.37
	Soğukta	16.6	2.35	0.38	2.28

Yöntemin doğruluğunun tespiti için % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde % geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları Çizelge 3.2.1.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.1.4. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları.

Numune No.	Konsantrasyon		Geri Kazanım (%)
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	7.7	7.8	101.3
2.	15.4	15.3	99.4
3.	23.1	23.4	101.3
4.	30.8	31.3	101.6
5.	38.5	38.3	99.5
$\bar{X} \pm \text{SH}$			100.6 $\pm$ 0.49
SS			1.10
BSS (%)			1.09

$\bar{X}$: Ortalama

SS: Standart sapma

BSS: % bağıl standart sapma

SH: Standart hata

Yöntem zolmitriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.1.5.'de gösterilmiştir.

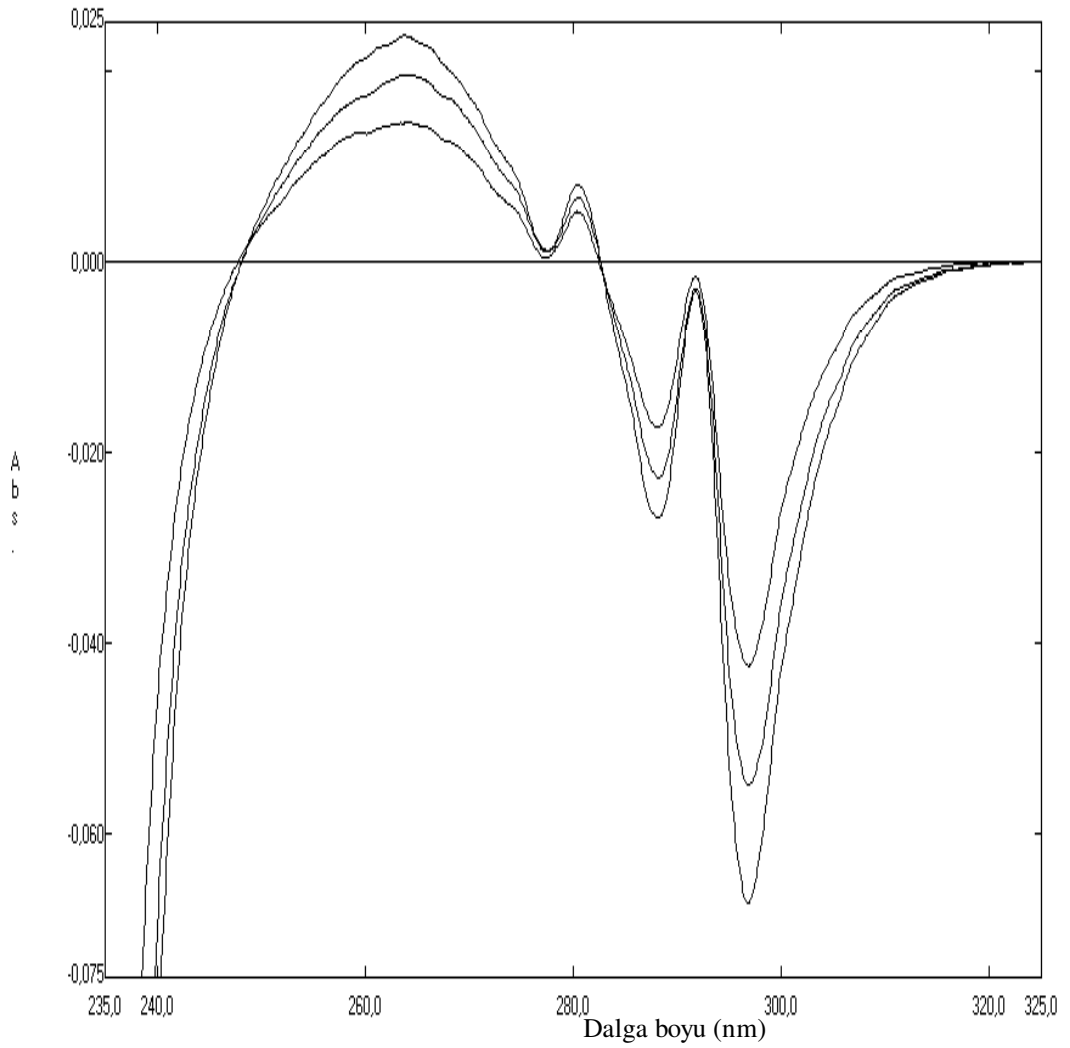
Çizelge 3.2.1.5. Doğrudan UV spektrofotometrinin zolmitriptan tayini için farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları, n=5 (Zomig® tablette etkin madde için etiket miktarı: 2.5 mg/tablet).

Numune No.	Analiz Sonuçları (mg / tablet)
1	2.54
2	2.54
3	2.55
4	2.56
5	2.56
$\bar{X} \pm SH$	2.55 ± 0.004
SS	0.01
BSS (%)	0.39
Güven sınırı (p=0.05 için)	2.55 ± 0.01

3.2.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

Zolmitriptan'ın analizinde doğrudan UV spektrofotometrik yöntemin uygulamasındaki spektral koşulda elde edilen spektrumlardan hareket edilerek birinci türev yöntemi uygulandı.

Zolmitriptan'ın miktar tayini için elde edilen birinci türev UV spektrumları Şekil 3.2.2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2.2.1. Zolmitriptan'ın 23.1; 30.8; 38.5 µg.mL⁻¹ lik su içerisindeki çözeltilerinin birinci türev UV spektrumları.

Birinci türev UV spektrumunun 264.0; 280.6; 288.2 ve 297.0 nm'lerde elde edilen türev eğrilerinin absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek doğru denklemleri elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon verileri Çizelge 3.2.2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.1. Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan için kalibrasyon verileri.

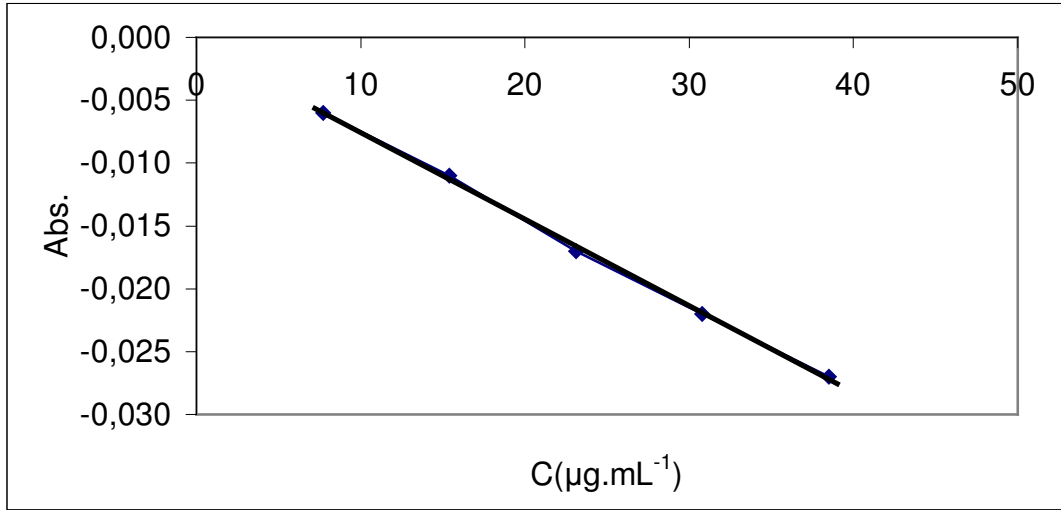
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı (µg.mL ⁻¹)	r ²
264.0	$y = 6.31 \times 10^{-4}C - 3.0 \times 10^{-7}$	0.9994	7.7 – 38.5	0.9988
280.6	$y = 2.12 \times 10^{-4}C + 1.0 \times 10^{-7}$	0.9955		0.9910
288.2	$y = -7.01 \times 10^{-4}C - 6.0 \times 10^{-7}$	0.9988		0.9976
297.0	$y = -1.76 \times 10^{-3}C - 9.0 \times 10^{-7}$	0.9992		0.9984

C= Zolmitriptan'ın µg.mL⁻¹ olarak konsantrasyonu

y = Türev absorbans değeri ($\frac{dA}{d\lambda}$)

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.2.2.2.'de 288.2 nm de su içerisindeki zolmitriptan çözeltisinin birinci türev absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.2.2.2. Zolmitriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 288.2 nm deki türev absorbansdeğerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.2.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.2. Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan zolmitriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.

Dalga boyu (nm)	n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
264.0	5	0.9994	0.9988	0.0200	49.9700	2.78
280.6	5	0.9955	0.9910	0.0540	18.4350	2.78
288.2	5	0.9988	0.9976	0.0283	35.2933	2.78
297.0	5	0.9992	0.9984	0.0231	43.2554	2.78

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun tespiti için % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.3. Birinci Türev UV spektrofotometrinin sentetik numunelere uygulaması ile elde edilen geri kazanım sonuçları, (n=5).

Numune No.	Konsantrasyon					Geri Kazanım (%)			
	Konulan (µg.mL ⁻¹)	Bulunan (µg.mL ⁻¹)							
		264.0 nm	280.6 nm	288.2 nm	297.0 nm	264.0 nm	280.6 nm	288.2 nm	297.0 nm
1.	7.7	7.8	7.8	7.7	7.9	101.3	101.3	100.0	102.6
2.	15.4	15.2	15.2	15.3	15.3	98.7	98.4	99.4	99.4
3.	23.1	22.7	23.2	23.4	23.4	98.3	100.3	101.2	101.4
4.	30.8	30.6	30.6	30.9	30.8	99.4	99.4	100.5	100.1
5.	38.5	38.5	38.3	38.3	38.4	100.0	99.5	99.5	99.7
X̄ ±SH						99.5 ± 0.53	99.8 ± 0.48	100.1 ± 0.34	100.6 ± 0.59
SS						1.19	1.07	0.77	1.34
BSS (%)						1.20	1.07	0.77	1.33

Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemin zolmitriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.2.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.2.4. Birinci Türev UV spektrofotometrinin zolmitriptan tayini için farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları. Seçilen dalga boyu 288.2 nm, n=5 (Zomig[®] tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 2.5 mg / tablet).

Numune No.	Analiz Sonuçları (mg / tablet)
1.	2.39
2.	2.54
3.	2.49
4.	2.54
5.	2.50
$\bar{X} \pm SH$	2.49 ± 0.03
SS	0.06
BSS (%)	2.41
Güven sınırı (p=0.05 için)	2.49 ± 0.08

3.2.3. İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemlerinin Uygulanması

3.2.3.1. Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın Analiz Sonuçları

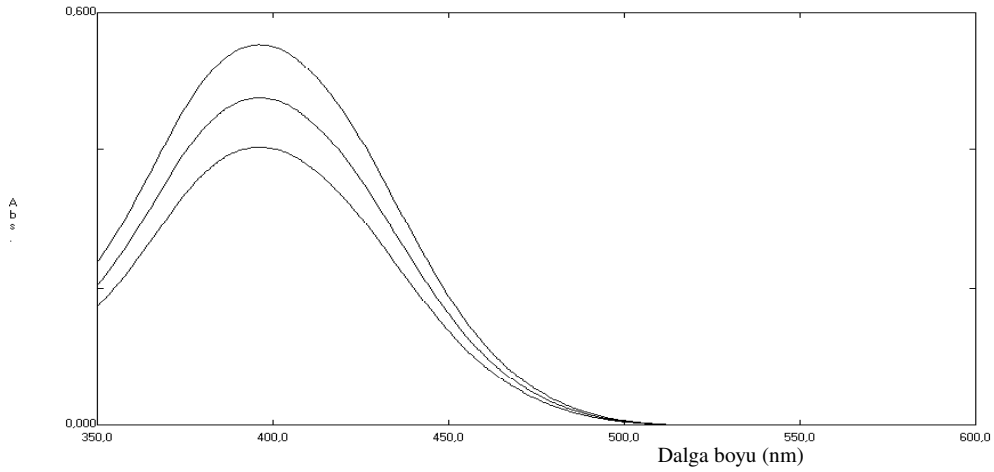
Yöntem için uygun pH seçimi deneyleri yapılmış pH'ı 2'den 8'e kadar değişen aralıkta okunan 398.0 nm'deki absorbans değerlerine bakılarak en iyi ortamın pH 6 fosfat tamponu olduğu tespit edilmiştir.

Yöntem uygulandıktan sonra değişik sürelerde bekleme yapılmış, en yüksek absorpsiyonun olduğu beklenme süresi 5 dakika olarak tespit edilmiştir.

Zolmitriptan çözeltisi üzerine reaktif ve tampon ilavesinden sonra organik faz olarak eter ve dimetilformamit ilave edildiğinde iyon çiftinin oluşmadığı fakat kloroform ilave edildiğinde iyon çiftinin oluştuğu saptanmıştır.

Değişen miktarlarda organik faz olarak kloroform ilave edildiğinde en yüksek absorbans 10 mL kloroformda tespit edilmiştir.

Standart zolmitriptan çözeltisi ilave edilen bromkrezol moru indikatörü ile oluşturduğu iyon çiftinden hareketle elde edilen spektrum Şekil 3.2.3.1.1. de gösterilmiştir.



Şekil 3.2.3.1.1. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu
(C=33.9; 41.2; 48.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Oluşan iyon çiftinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalgaboyu 398.0 nm olarak tespit edilmiştir. Çalışma konsantrasyon aralığında elde edilen absorbans değerlerinden hareketle Çizelge 3.2.3.1.1.'de gösterilen kalibrasyon verileri özetlenmiştir.

Çizelge 3.2.3.1.1. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.

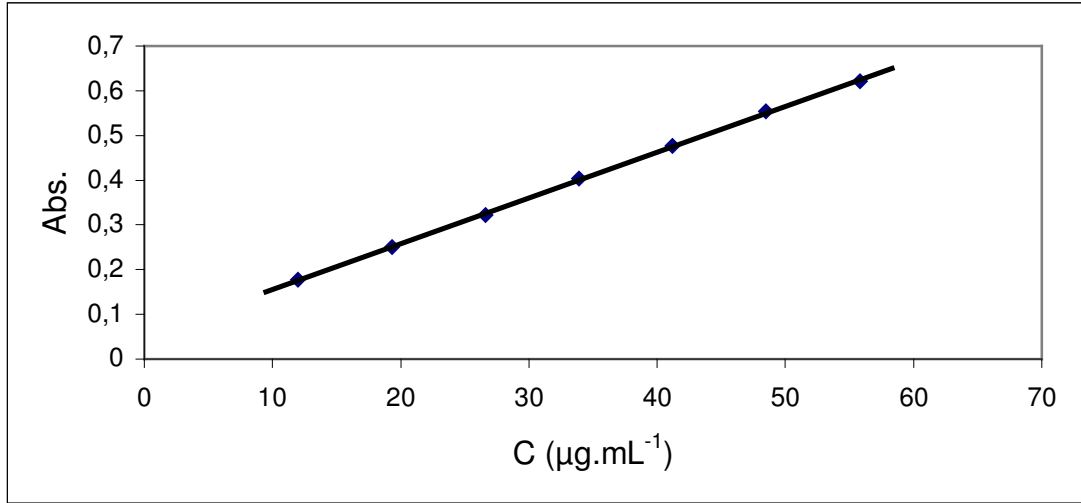
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
398.0	$y = 1.02 \times 10^{-2} C + 5.26 \times 10^{-2}$	0.9976	12.0 – 55.8	0.32	1.07	0.9952

C= Zolmitriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.2.3.1.2.'de bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 398,0 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.2.3.1.2. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 398.0 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.2.3.1.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.1.2. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.

Dalga boyu (nm)	n	r	r ²	S _r	t _H	t _T
398.0	7	0.9976	0.9952	0.0310	32.18	2.45

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r²: Tanımlayıcılık katsayısı

S_r: Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H: Hesaplanan t değeri

t_T: Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun ispatı için yapılan % geri kazanım değerleri Çizelge 3.2.3.1.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.1.3. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=7.

Numune No.	Konsantrasyon		Geri Kazanım (%)
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	12.0	12.3	102.5
2.	19.3	19.4	100.5
3.	26.6	26.4	99.2
4.	33.9	34.4	101.5
5.	41.2	41.5	100.7
6.	48.5	49.2	101.4
7.	55.8	55.7	99.8
$\bar{X} \pm \text{SH}$			100.8 $\pm$ 0.49
SS			1.10
BSS (%)			1.09

Yöntem zolmitriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.3.1.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.1.4. Bromkrezol moru ile zolmitriptan iyon çifti yönteminin farmasötik preparata uygulanması ve analiz sonuçları. n=5 (Zomig® tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 2.5 mg/tablet).

Numune No.	Analiz Sonuçları mg/tablet
1.	2.48
2.	2.51
3.	2.47
4.	2.53
5.	2.52
$\bar{X} \pm SH$	2.50 ± 0.01
SS	0.03
BSS (%)	1.03
Güven Sınırı(p=0.05)	2.50 ± 0.03

3.2.3.2. Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın Analiz Sonuçları

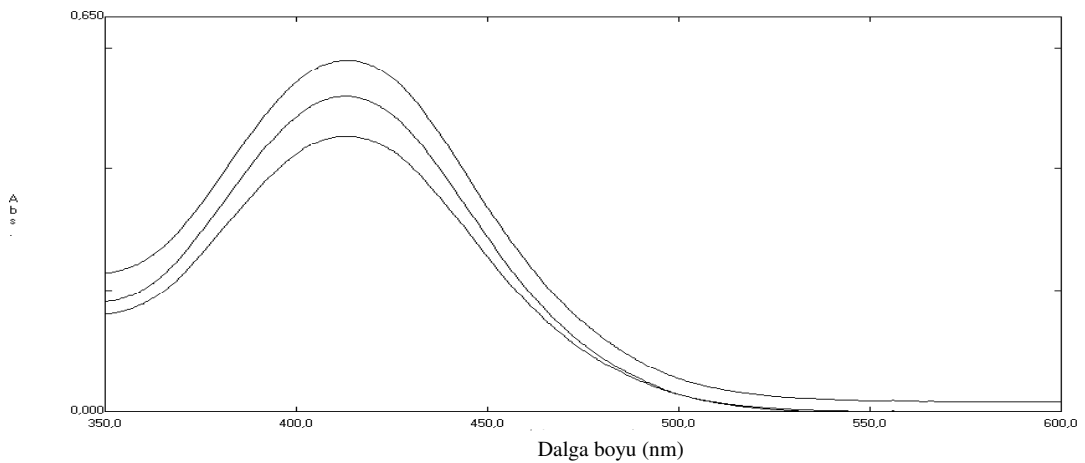
Yöntem için uygun pH seçimi deneyleri yapılmış pH 2'den 8'e kadar değişen aralıkta okunan 413.4 nm'deki absorbans değerlerine bakılarak en iyi ortamın pH 4 fosfat tamponu olduğu tespit edilmiştir.

Yöntem uygulandıktan sonra absorpsiyonun en yüksek olduğu bekleme süresinin 5 dakika olarak tespit edilmiştir.

Zolmitriptan çözeltisi üzerine reaktif ve tampon ilavesinden sonra organik faz olarak eter ve dimetilformamit ilave edildiğinde iyon çiftinin oluşmadığı fakat kloroform ilave edildiğinde iyon çiftinin oluştuğu saptanmıştır.

Değişen miktarlarda organik faz olarak kloroform ilave edildiğinde en yüksek absorbans değeri 10 mL kloroform ilavesinde olduğu tespit edilmiştir.

Standart zolmitriptan çözeltisinin ilave edilen bromkrezol yeşili indikatörü ile oluşturduğu iyon çiftinden hareketle elde edilen spektrum Şekil 3.2.3.2.1. de gösterilmiştir.



Şekil 3.2.3.2.1. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti kompleksinin spektrumu (C=32.0; 40.0; 48.0 µg.mL⁻¹).

Oluşan iyon çiftinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalgaboyu 413.4 nm olarak tespit edilmiştir. Çalışma konsantrasyon aralığında elde edilen absorbans değerlerinden hareketle Çizelge 3.2.3.2.1.'de gösterilen kalibrasyon verileri özetlenmiştir.

Çizelge 3.2.3.2.1. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.

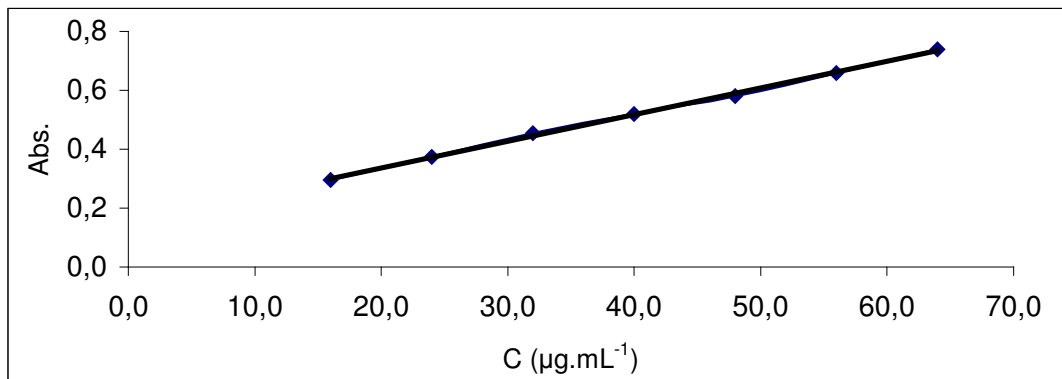
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
413.4	$y = 9.00 \times 10^{-3}C + 1.56 \times 10^{-1}$	0.9992	16.0 – 64.0	0.35	1.17	0.9984

C = Zolmitriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.2.3.2.2.'de bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 413.4nm dalga boyunda absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.2.3.2.2. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde 413.4 nm deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.2.3.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.2.2. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.

Dalga boyu (nm)	n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
413.4	7	0.9992	0.9984	0.01789	55.8524	2.45

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun ispatı için yapılan % geri kazanım değerleri Çizelge 3.2.3.2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.2.3. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=7.

Numune No.	Konsantrasyon		% Geri Kazanım
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	16.0	15.8	98.8
2.	24.0	24.2	100.8
3.	32.0	32.1	100.3
4.	40.0	40.5	101.3
5.	48.0	47.2	98.3
6.	56.0	55.9	99.8
7.	64.0	64,0	100.0
$\bar{X}$			99,90
SS			1,05
BSS (%)			1,05

Yöntem zolmitriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2.3.2.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2.3.2.4. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yönteminin farmasötik preparata uygulaması ve analiz sonuçları, n=5 (Zomig® tabletteki etkin madde için etiket miktarı:2.5 mg /tablet).

Numune	Analiz Sonuçları mg/tablet
1.	2.53
2.	2.50
3.	2.47
4.	2.49
5.	2.54
$\bar{X} \pm SH$	2.51 ± 0.01
SS	0.03
BSS (%)	1.15
Güven Sınırı(p=0.05 için)	2.51 ± 0.03

3.2.4. Zolmitriptan İçin Önerilen Yöntemlerin Karşılaştırılması

Tez projesi kapsamında Zomig® tablet preparatındaki zolmitriptan miktar tayini için önerilen spektrofotometrik analiz sonuçları hiçbir literatür yöntemi bulunmadığı için birbirleri ile t-testi ve F-tablo değerleri kullanılarak kıyaslanmış sonuçlar Çizelge 3.2.4.1. ve Çizelge 3.2.4.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.2.4.1. Zolmitriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının t-tablo değerleri ile karşılaştırılması.

	Doğrudan UV Spekt.	Birinci Türev UV Spekt.	Bromkrezol Moru İyon Çifti Yöntemi	Bromkrezol Yeşili İyon Çifti Yöntemi
Deney sayısı	5	5	5	5
$\bar{X}$	2.55	2.49	2.50	2.51
Hesaplanan t-değeri Doğrudan UV Spekt.	2.31	2.21	3.54	2.83
Hesaplanan t-değeri Birinci Türev UV Spekt.	2.21	2.31	0.33	1.33
Hesaplanan t-değeri Bromkrezol Moru İyon Çifti Yöntemi	3.54	0.33	2.31	0.53
Hesaplanan t-değeri Bromkrezol Yeşili İyon Çifti Yöntemi	2.83	1.33	0.53	2.31

Teorik t değeri 2.31 dir.

Çizelge 3.2.4.2. Zolmitriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının F-tablo değerleri ile karşılaştırılması.

	Doğrudan UV Spekt.	Birinci Türev UV Spekt.	Bromkrezol Moru İyon Çifti Yöntemi	Bromkrezol Yeşili İyon Çifti Yöntemi
Deney sayısı	5	5	5	5
$\bar{X}$	2.55	2.49	2.50	2.51
Hesaplanan - F değeri Doğrudan UV Spekt.	6.39	36.00	9.00	9.00
Hesaplanan F-değeri Birinci Türev UV Spekt.	36.00	6.39	4.00	4.00
Hesaplanan F-değeri Bromkrezol Moru İyon Çifti Yöntemi	9.00	9.00	6.39	1.00
Hesaplanan F-değeri Bromkrezol Yeşili İyon Çifti Yöntemi	4.00	4.00	1.00	6.39

Teorik F değeri 6.39 dur.

3.3. Rizatriptan İçin Yöntemlerin Uygulaması ve Analiz Sonuçları

3.3.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

Rizatriptan'ın analizinde değişik çözücü sistemleri olarak metanol, su ve 0,1 N HCl test edilerek uygun çözücü olarak su seçilmiştir. Şekil 3.1.2.1.'de görüldüğü gibi zolmitriptan'ın su içerisinde tek omuz içeren spektrumu elde edildi. Maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu ise 279.3 nm olarak gözlemlendi. Bu maksimuma karşılık gelen dalga boyunda absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek Çizelge 3.3.1.1.'de gösterilen kalibrasyon denklemi ve istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 3.3.1.1. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan için kalibrasyon verileri, n=5.

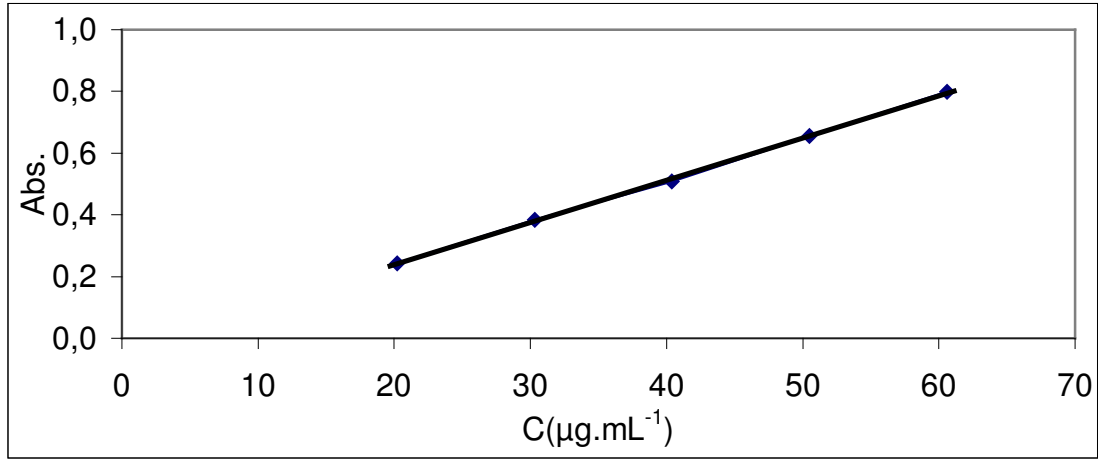
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
279.3	$y = 1.36 \times 10^{-2}C - 2.98 \times 10^{-5}$	0.9997	20.2 – 60.6	0.17	0.56	0.9994

C = Rizatriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.3.1.1.'de rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 279.3 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.3.1.1. Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 279.3 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Yöntemde doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.3.1.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.1.2. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.

Dalga boyu (nm)	n	r	r ²	S _r	t _H	t _T
279.3	5	0.9997	0.9994	0.0141	70.90	2.78

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r²: Tanımlayıcılık katsayısı

S_r: Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H: Hesaplanan t değeri

t_T: Tablodan bulunan t değeri

Rizatriptan'ın gün içi ve günler arası çalışmaların sonucunda elde edilen analiz bulguları Çizelge 3.3.1.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3.1.3. Rizatriptan standartlarının gün içi ve günler arası analiz sonuçları,
n=3.

Gün İçi Analiz

Konulan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Deneyisel Koşullar	Bulunan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bağıl Hata	SS	BSS (%)
41.0	Oda sıcaklığında	40.9	0.24	0.29	0.70
	Karanlıkta	41.0	0	0.49	1.20
	Soğukta	41.1	0.24	0.15	0.37

Günler Arası Analiz

Konulan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Deneyisel Koşullar	Bulunan Miktar ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bağıl Hata	SS	BSS (%)
41.0	Oda Sıcaklığında	40.3	1.70	1.09	2.69
	Karanlıkta	41.1	0.24	0.36	0.87
	Soğukta	40.9	0.24	0.14	0.33

Yöntemin doğruluğunun tespiti için % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde % geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları Çizelge 3.3.1.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.1.4. Doğrudan UV spektrofotometrik yöntemde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=5.

Numune No.	Konsantrasyon		Geri Kazanım (%)
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	20.2	20.0	99.0
2.	30.3	30.4	100.3
3.	40.4	40.0	98.3
4.	50.5	50.5	100.0
5.	60.6	61.0	100.7
$\bar{X} \pm \text{SH}$			99.8 $\pm$ 0.34
SS			0.76
BSS (%)			0.76

$\bar{X}$: Ortalama

SS: Standart sapma

BSS : % bağıl standart sapma

Yöntem rizatriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.1.5.'de gösterilmiştir.

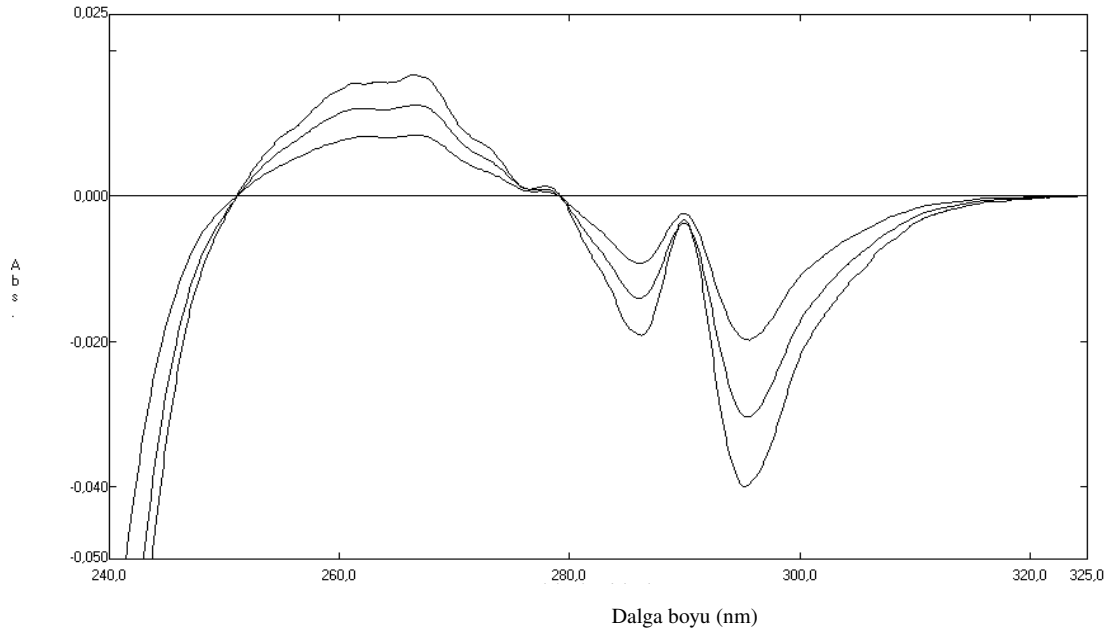
Çizelge 3.3.1.5. Doğrudan UV spektrofotometrinin rizatriptan tayini için farmasötik preparata uygulaması ve analiz sonuçları, n=5 (Maxalt® RPD tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 10.0 mg/tablet).

Numune No.	Analiz Sonuçları (mg/tablet)
1.	11.0
2.	11.5
3.	11.7
4.	11.5
5.	11.0
$\bar{X} \pm SH$	11.3 ± 0.14
SS	0.32
BSS (%)	2.83
Güven sınırı (p=0.05 için)	11.3 ± 0.39

3.3.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

Rizatriptan'ın analizinde doğrudan UV spektrofotometrik yöntemin uygulamasındaki spektral koşulda elde edilen spektrumlardan hareket ederek birinci türev yöntemi uygulandı.

Rizatriptan'ın miktar tayini için elde edilen birinci türev UV spektrumları Şekil 3.3.2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3.2.1. Rizatriptan'ın 20.2; 30.3; 40.4 µg.mL⁻¹ lik su içerisindeki çözeltilerinin birinci türev UV spektrumları.

Birinci türev UV spektrumunun 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'lerde elde edilen türev eğrilerinin absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek doğru denklemleri elde edilmiştir. Elde edilen kalibrasyon verileri Çizelge 3.3.2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.2.1. Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan için kalibrasyon verileri, n=5.

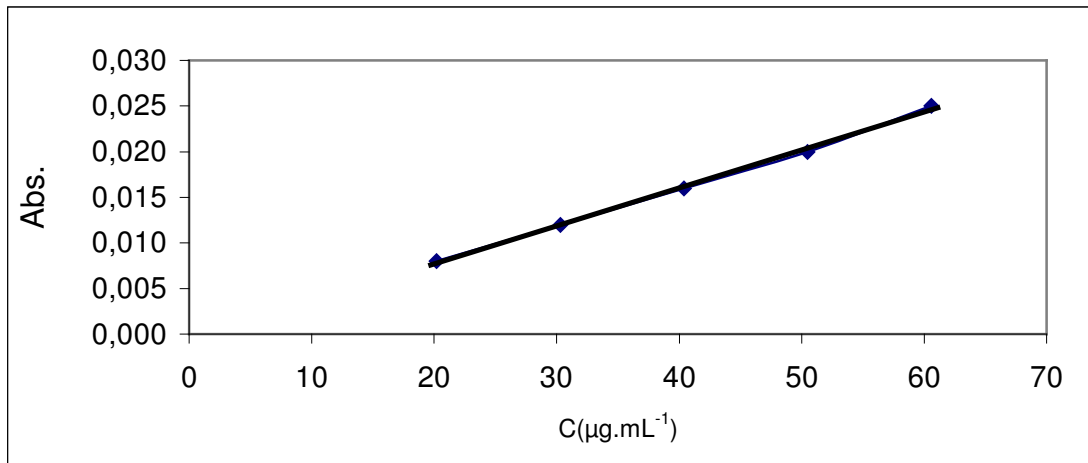
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
266.7	$y = 4.19 \times 10^{-4} C - 5.00 \times 10^{-7}$	0.9993	20.2 – 60.6	0.9986
286.0	$y = -4.95 \times 10^{-4} C - 7.00 \times 10^{-7}$	0.9985		0.9970
295.3	$y = -1.04 \times 10^{-3} C - 1.20 \times 10^{-6}$	0.9987		0.9974

C = Rizatriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

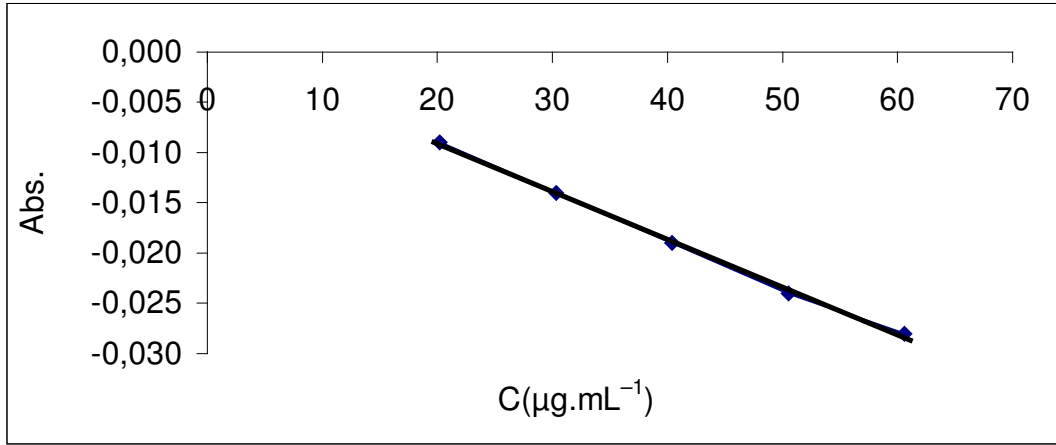
y = Türev absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

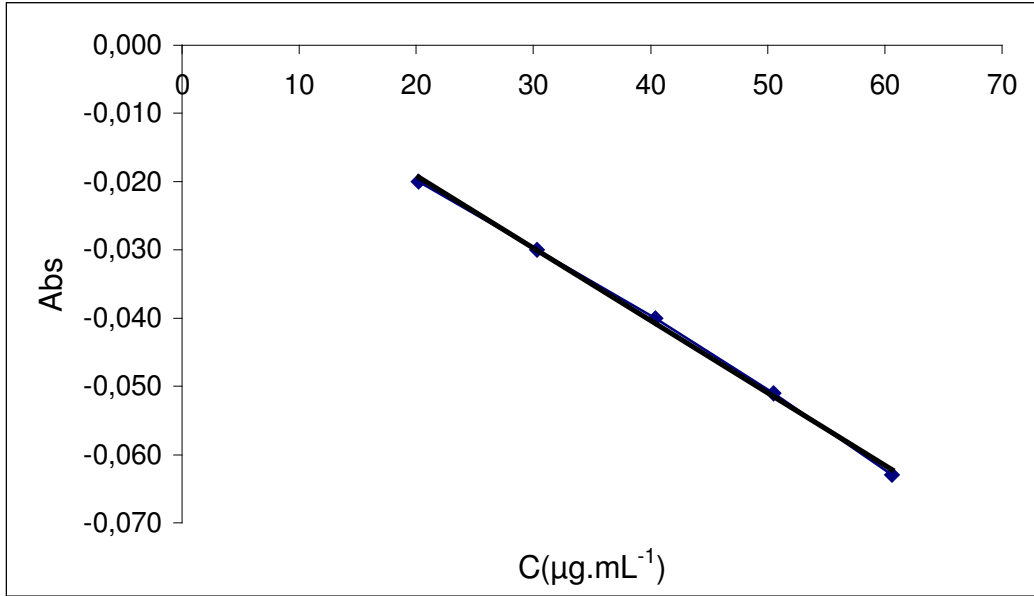
Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltilerinin 266.7; 286.0 ve 295.0 nm dalga boylarındaki türev absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafikleri Şekil 3.3.2.2.; Şekil 3.3.2.3. ve Şekil 3.3.2.4.'de görülmektedir.



Şekil 3.3.2.2. Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 266.7 nm'deki türev absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.



Şekil 3.3.2.3. Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 286.0 nm'deki türev absorbands değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.



Şekil 3.3.2.4. Rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinin 295.0 nm'deki türev absorbands değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.3.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.2.2. Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde kullanılan rizatriptan'ın elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=5.

Dalga boyu (nm)	n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
266.7	5	0.9993	0.9986	0.0216	46.2639	2.78
286.0	5	0.9985	0.9970	0.0316	31.5981	2.78
295.3	5	0.9987	0.9974	0.0294	33.9694	2.78

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun tespiti için % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.2.3. Birinci Türev UV spektrofotometrinin sentetik numunelere uygulaması ile elde edilen geri kazanım sonuçları, n=5.

Numune No.	Konsantrasyon				Geri Kazanım (%)		
	Konulan (µg.mL ⁻¹)	Bulunan (µg.mL ⁻¹)					
		266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm	266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm
1	20.2	20.3	19.9	20.4	100.5	98.5	101.2
2	30.3	29.9	30.2	30.1	98.5	99.7	99.2
3	40.4	39.4	40.3	39.7	97.5	99.8	98.3
4	50.5	51.4	49.9	50.3	101.7	98.8	99.6
5	60.6	60.9	62.0	61.9	100.5	102.3	102.1
$\bar{X} \pm \text{SH}$ SS BSS (%)					99.7 ± 0.76	99.8 ± 0.66	100.1 ± 0.69
					1.70	1.49	1.54
					1.70	1.50	1.54

Birinci türev UV spektrofotometrik yöntemin rizatriptan içeren farmasötik preparata uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.2.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.2.4. Birinci Türev UV spektrofotometrinin rizatriptan tayini için farmasötik preparata uygulaması ve analiz sonuçları, n=5 (Maxalt® RPD tabletteki etkin madde için etiket miktarı: 10.0 mg / tablet).

Numune No.	Analiz Sonuçları (mg/tablet)		
	266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm
1.	10.3	9.5	10.7
2.	10.4	10.3	10.2
3.	9.7	10.3	9.7
4.	10.4	10.7	9.5
5.	10.5	9.9	9.6
$\bar{X} \pm SH$	10.3 ± 0.14	10.3 ± 0.24	9.9 ± 0.22
SS	0.32	0.54	0.50
BSS (%)	3.13	5.19	5.06
Güven sınırı (p=0.05 için)	10.3 ± 0.39	10.3 ± 0.67	9.9 ± 0.61

3.3.3. İyon Çifti Kompleks Oluşum Yöntemlerinin Uygulaması

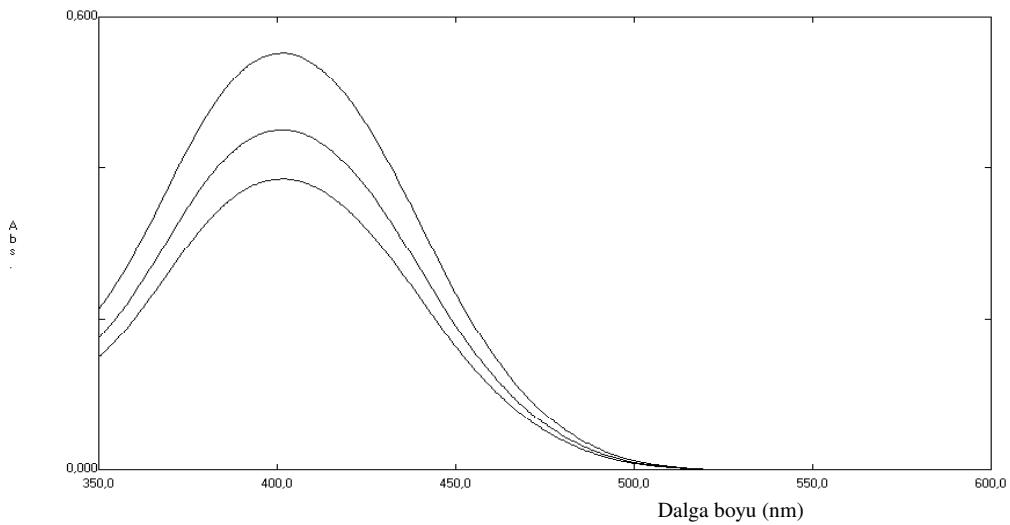
3.3.3.1. Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın Analiz Sonuçları

Yöntem için uygun pH seçimi deneyleri yapılmış pH 2'den 8'e kadar değişen aralıkta okunan 401.9 nm'deki absorbans değerlerine bakılarak en iyi ortamın pH 6 fosfat tamponu olduğu tespit edilmiştir.

Yöntem uygulandıktan sonra değişik sürelerde bekleme yapılmış, en yüksek absorpsiyonun olduğu beklenme süresi 5 dakika olarak tespit edilmiştir.

Rizatriptan çözeltisi üzerine reaktif ve tampon ilavesinden sonra organik faz olarak eter ve dimetilformamit ilave edildiğinde iyon çiftinin oluşmadığı fakat kloroform ilave edildiğinde iyon çiftinin oluştuğu saptanmıştır. Değişen miktarlarda organik faz olarak kloroform ilave edildiğinde en yüksek absorbans 10 mL kloroform ile elde edilmiştir.

Standart rizatriptan çözeltisi ilave edilen bromkrezol moru indikatörü ile oluşturduğu iyon çiftinden hareketle elde edilen spektrumu Şekil 3.3.3.1.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3.3.1.1. Bromkrezol moru ile rizatriptanın iyon çifti kompleksinin spektrumu (C= 75.0; 112.5; 150.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Oluşan iyon çiftinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalgaboyu 401.9 nm olarak tespit edilmiştir. Çalışma konsantrasyon aralığında elde edilen absorbans değerlerinden hareketle Çizelge 3.3.3.1.1.'de gösterilen kalibrasyon verileri özetlenmiştir.

Çizelge 3.3.3.1.1. Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.

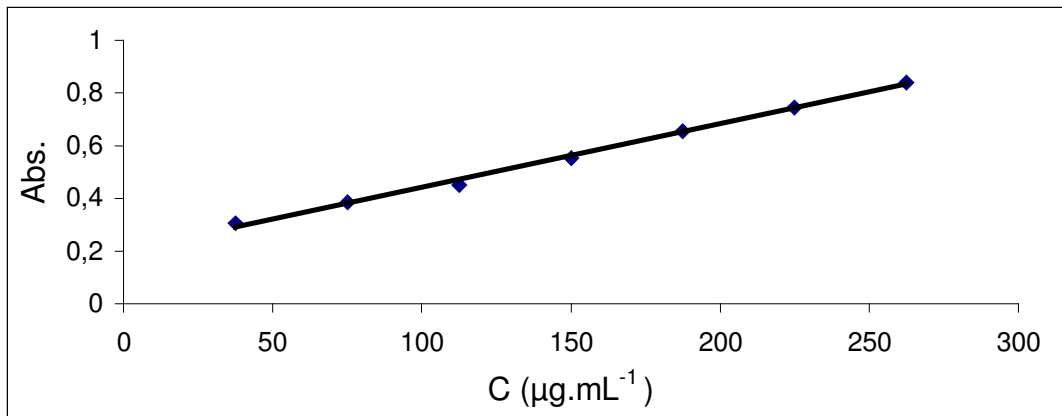
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
401.9	$y = 2.40 \times 10^{-3}C + 2.01 \times 10^{-1}$	0.9983	37.5 – 262.5	1.56	5.20	0.9966

C= Rizatriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.3.3.1.2.'de bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde 401.9 nm dalga boyunda absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.3.3.1.2. Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde 401.9 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.3.3.1.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.3.1.2. Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.

Dalga boyu (nm)	n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
401.9	7	0.9983	0.9966	0.0261	38.2490	2.45

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun ispatı için yapılan % geri kazanım değerleri Çizelge 3.3.3.1.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.3.1.3. Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları, n=7.

Numune No.	Konsantrasyon		Geri Kazanım (%)
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	37.5	38.0	101.3
2.	75.0	77.0	101.7
3.	112.5	112.0	99.6
4.	150.0	147.5	98.3
5.	187.5	189.5	101.1
6.	225.0	227.1	100.9
7.	262.5	266.6	101.6
$\bar{X} \pm \text{SH}$			100.3 ± 0.56
SS			1.25
BSS (%)			1.24

Türkiye ilaç piyasasında bulunmadığı için Almanya'dan getirttiğimiz farmasötik preparattan yeterli miktarda elimizde bulunmadığından farmasötik preparata uygulanamamıştır.

3.3.3.2. Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın Analiz Sonuçları

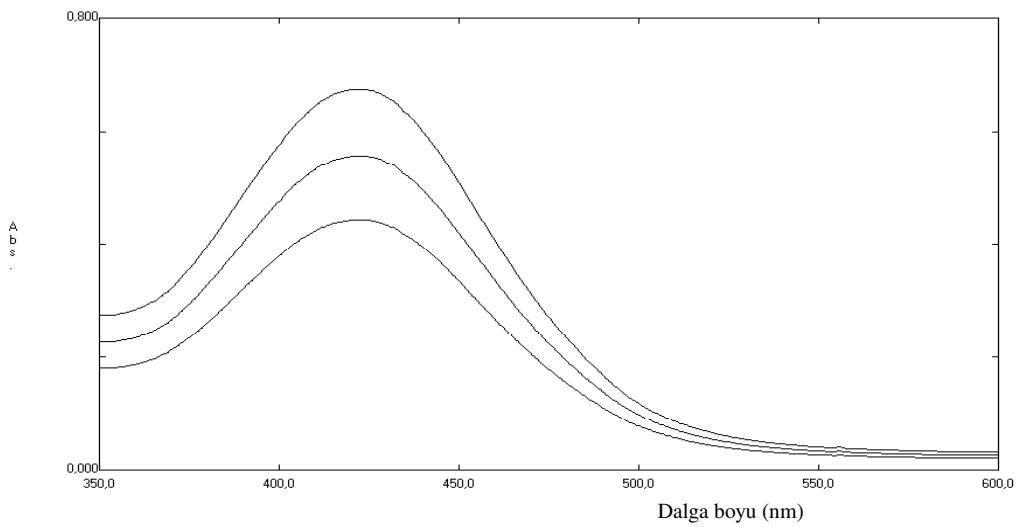
Yöntem için uygun pH seçimi deneyleri yapılmış pH 2'den 8'e kadar değişen aralıkta okunan 420.0 nm'deki absorbans değerlerine bakılarak en iyi ortamın pH 4 fosfat tamponu olduğu tespit edilmiştir.

Yöntem uygulandıktan sonra absorpsiyonun en yüksek olduğu bekleme süresi 5 dakika olarak tespit edilmiştir.

Rizatriptan çözeltisi üzerine reaktif ve tampon ilavesinden sonra organik faz olarak eter ve dimetilformamit ilave edildiğinde iyon çiftinin oluşmadığı fakat kloroform ilave edildiğinde iyon çiftinin oluştuğu saptanmıştır.

Değişen miktarlarda organik faz olarak kloroform ilave edildiğinde en yüksek absorbans değeri 10 mL kloroform ile elde edilmiştir.

Standart rizatriptan çözeltisinin ilave edilen bromkrezol yeşili indikatörü ile oluşturduğu iyon çiftinden hareketle elde edilen spektrum Şekil 3.3.3.2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3.3.2.1. Bromkrezol yeşili ile rizatriptanın iyon çifti kompleksinin spektrumu (C=100.0; 125.0; 150.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Oluşan iyon çiftinin maksimum absorpsiyon yaptığı dalgaboyu 420.0 nm olarak tespit edilmiştir. Çalışma konsantrasyon aralığında elde edilen absorbans değerlerinden hareketle Çizelge 3.3.3.2.1.'de gösterilen kalibrasyon verileri özetlenmiştir.

Çizelge 3.3.3.2.1. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yöntemi için kalibrasyon verileri, n=7.

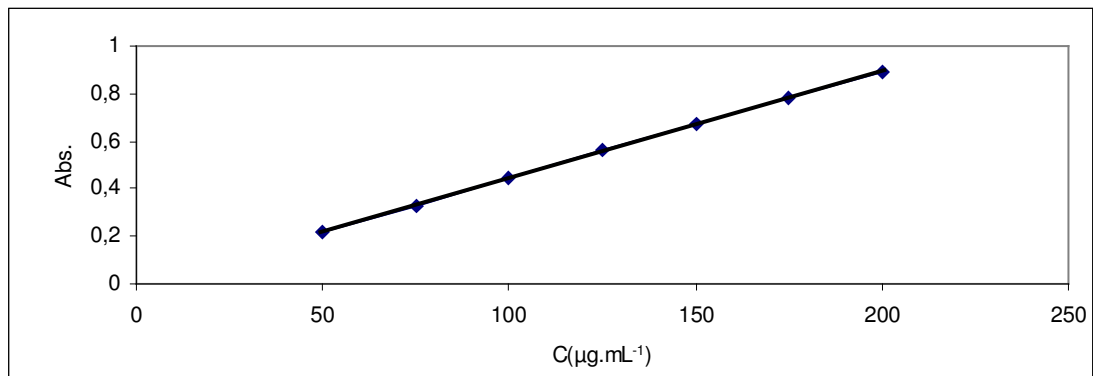
Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon Eşitliği	r	Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Yakalama Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Alt Tayin Sınırı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	r^2
420.0	$y=4.50 \times 10^{-3}C$ -9.20×10^{-3}	0.9998	50.0 – 200.0	0.55	1.82	0.9996

C= Rizatriptan'ın $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak konsantrasyonu

y = Absorbans değeri

r = Korelasyon katsayısı

Şekil 3.3.3.2.2.'de bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın oluşturduğu iyon çifti kompleksinin 420.0 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşı çizilen konsantrasyon grafiği görülmektedir.



Şekil 3.3.3.2.2. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde 420.0 nm'deki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler çizelge 3.3.3.2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.3.2.2. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde oluşan iyon çifti kompleksinden elde edilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısının önem kontrolüne ait istatistiksel değerlendirmeler, n=7.

Dalga boyu (nm)	n	r	r^2	S_r	t_H	t_T
420.0	7	0.9998	0.9996	0.0089	112.3370	2.45

n: Deney sayısı

r: Korelasyon sayısı

r^2 : Tanımlayıcılık katsayısı

S_r : Korelasyon katsayısı standart hatası

t_H : Hesaplanan t değeri

t_T : Tablodan bulunan t değeri

Yöntemin doğruluğunun ispatı için yapılan % geri kazanım değerleri Çizelge 3.3.3.2.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3.3.2.3. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın iyon çifti yönteminde geri kazanım değerleri ile elde edilen analiz sonuçları.

Numune No.	Konsantrasyon		Geri Kazanım (%)
	Konulan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Bulunan ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
1.	50.0	50.9	101.9
2.	75.0	74.5	99.3
3.	100.0	100.7	100.7
4.	125.0	126.3	101.0
5.	150.0	151.6	101.1
6.	175.0	175.8	100.5
7.	200.0	200.0	100.0
$\bar{X}$			100.6
SS			0.82
BSS (%)			0.81

Türkiye ilaç piyasasında bulunmadığı için Almanya'dan getirttiğimiz farmasötik preparattan yeterli miktarda elimizde bulunmadığından farmasötik preparata uygulanamamıştır.

3.3.4. Rizatriptan İçin Önerilen Yöntemlerin Karşılaştırılması

Tez projesi kapsamında Maxalt® farmasötik preparattaki rizatriptan miktar tayini için önerilen spektrofotometrik analiz sonuçları, birinci türev UV spektrofotometrik yöntemde 267.7 nm'deki değerler temel alınarak diğer yöntemin sonuçları ile kıyaslanmış veriler Çizelge 3.3.4.1. ve Çizelge 3.3.4.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.3.4.1. Rizatriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının t-tablo değerleri ile karşılaştırılması.

	Doğrudan UV Spekt.	Birinci Türev Spekt.		
		266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm
Deney sayısı	5	5	5	5
$\bar{X}$	11.3	10.3	10.3	9.9
Hesaplanan t-değeri Doğrudan UV Spekt.	2.31	4.94	3.56	5.27
Hesaplanan t-değeri Birinci Türev UV Spekt.(266.7 nm)	4.94	2.31	0	1.51
Hesaplanan t-değeri Birinci Türev UV Spekt.(286.0 nm)	3.56	0	2.31	1.22
Hesaplanan t-değeri Birinci Türev UV Spekt (295.3 nm)	5.27	1.51	2.84	2.31

Teorik t değeri 2.31 dir.

Çizelge 3.3.4.2. Rizatriptan içeren tabletlerde önerilen spektrofotometrik analiz sonuçlarının F-tablo değerleri ile karşılaştırılması.

	Doğrudan UV Spekt.	Birinci Türev Spekt.		
		266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm
Deney sayısı	5	5	5	5
$\bar{X}$	11.3	10.3	10.3	9.9
Hesaplanan F-değeri Doğrudan UV Spekt.	6.39	1.00	2.85	2.44
Hesaplanan F-değeri Birinci Türev UV Spekt.(266.7 nm)	1.00	6.39	2.85	2.44
Hesaplanan F-değeri Birinci Türev UV Spekt.(286.0 nm)	2.85	2.85	6.39	1.17
Hesaplanan F-değeri Birinci Türev UV Spekt (295.3 nm)	2.44	2.44	1.17	6.39

Teorik F değeri 6.39 dur.

4. TARTIŞMA

Tez kapsamında antimigren etkili ilaçlar sınıfında yer alan zolmitriptan ve rizatriptan etkin maddeleri için kolay, ekonomik ve yeni kantitatif analiz yöntemleri geliştirilmiştir ve bu yöntemlerin klasik doğrudan ve türev spektrofotometrik yöntemlerle karşılaştırılması yapılmıştır.

4.1. Farmasötik Preparatlarda Zolmitriptan'ın Tayini İçin Önerilen Yöntemler

Zolmitriptan'ın miktar tayini için yöntem geliştirme işlemlerine başlamadan önce etkin maddenin sağlanması ve diğer ön işlemler aşağıda sunulmaktadır.

Astra Zeneca Firmasından temin edilen etkin maddenin öncelikle saflık kontrolü yapılmıştır. Bunun için Erime noktası tayini yapılmış (140 °C), UV ve IR spektrumları alınmış ve elde edilen sonuçlar standartlarla karşılaştırılarak etkin maddelerin saf olduğu tespit edilmiştir.

Etkin maddenin çeşitli ortamlarda HCl, NaOH, CH₃OH ve H₂O içerisindeki çözünürlükleri incelenerek en iyi çözündüğü ortam su olarak seçilmiş ve bu nedenle tüm deneylerde çözücü olarak su seçilmiştir.

4.1.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

Zolmitriptan'ın $23.1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ 'lik su içerisindeki 235.0 – 325.0 nm'ler arasındaki UV spektrumu alınmış ve son derece geniş ve yayvan bir pikinin olduğu gözlenmiştir. Şekil 3.1.1.1.'de görülen UV spektrumu incelendiğinde maksimum absorbansın olduğu dalga boyu 282.7 nm olarak tespit edilmiştir. 282.7 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları elde edilmiş, kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, $t_H=31.5981$ olarak bulunduğundan korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ,1998). Elde edilen veriler Çizelge 4.1.1. de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1.1. Zolmitriptan Miktar Tayini İçin Önerilen Yöntemler ve Sonuçları.

	Doğrudan UV Spektrofotometri	Birinci Türev UV Spektrofotometri	Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi	Bromkrezol Yeşili ile Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi
Çalışılan Dalga boyları	282.7 nm	288.2 nm	398.0 nm	413.4 nm
Kalibrasyon Eşitliği	$y = 2.02 \times 10^{-2} \cdot C - 3.54 \times 10^{-5}$	$y = -7.01 \times 10^{-4} \cdot C - 6.00 \times 10^{-7}$	$y = 1.02 \times 10^{-2} C + 5.26 \times 10^{-2}$	$y = 9.00 \times 10^{-3} C + 1.56 \times 10^{-1}$
% Geri Kazanım	100.6	100.1	100.8	100.1
Yöntemdeki Bağlı Standart Sapma	1.09	0.77	1.09	1.05
Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	7.7 – 38.5	7.7 – 38.5	12.0 – 55.8	16.0 – 64.0
Korelasyon Katsayısı	0.9985	0.9988	0.9976	0.9992
Farmasötik preparata uygulandığında bulunan miktarlar, n=5 (mg/tablet)	2.55	2.49	2.50	2.51

Teorik olarak bilindiği gibi elde edilen çalışmada deneylerin kesinliği için gün içi ve günler arası değerlendirmeler yapılmalıdır. Tarafımızdan nerilen yöntemde günler arası ve gün içi deneyler sonucu bağıl standart sapma ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Bulunan % bağıl standart sapma değerlerinin % 1.11 ile % 2.77 arasında % bağıl hata değerlerinin ise % 0.59 ile % 1.76 arasında olduğu bulunmuştur. Bu değerler doğrultusunda % bağıl standart sapmanın % 5.00 den kk olması geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Yöntemin duyarlılığı için alt tayin sınırı 0.54 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yöntemdeki gözlenebilme ya da yakalama sınırı 0.16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Yöntemdeki doğruluğun tespiti için bilinen miktarlarda maddeler alınarak geri kazanım deneyleri yapılmış, deneylerin değerlendirilmesi sonucu ortalama geri kazanım değerleri % 100.9 olarak bulunmuştur. Standart sapma değerleri ise 1.10; % bağıl standart sapma ise % 1.09 olarak hesaplanmıştır.

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz laktoz, titanyumdioksit ve sarı demir oksit gibi yardımcı maddeler kullanılarak çalışılan dalga boyundaki absorbands değerinin olup olmadığı incelenmiş ve hiçbir absorbands değerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik formülasyona uygulanmış $p=0.05$ için güven sınırı 2.55 ± 0.01 mg/tablet olarak bulunmuştur.

4.1.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

Zolmitriptan'ın UV spektrumunun son derece geniş bir pike sahip olduğundan bahsedilmiştir. Elimizdeki imkanlarla bu spektrumların birinci türev UV spektrumları alınabilmektedir. Alınan türev UV spektrumları kullanılarak etkin maddenin 264.0; 280.6; 288.2 ve 297.0 nm'deki birinci türev absorbans değerlerinden yararlanılarak etkin madde miktar tayini yapılabileceği tespit edilmiştir ve bu dalga boylarındaki birinci türev absorbans değerlerinden yararlanılarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. 264.0; 280.6; 288.2 ve 297.0 nm deki birinci türev absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğruları elde edilmiş, kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değerleri incelenerek korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ, 1998).

Yöntemdeki geri kazanım değerleri bahsedilen dalga boylarında ayrı ayrı incelenmiş ve incelenme sonucunda tüm dalga boylarında elde edilen ortalama % geri kazanım değerlerinin 264.0 nm'de % 99.5; 280.6 nm'de %99.8; 288.2 nm'de %100.1 ve 297.0 nm'de % 100.6 olduğu hesaplanmıştır. Bu değerlerin bu şekilde olması yöntemin doğruluğunun bir tespiti olarak değerlendirilmiştir. Yalnız yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında ise 288.2 nm'deki türev absorbans değerlerinden hareket edildiğinde elde edilen tüm veriler Çizelge 4.1.1. de özetlenmiştir.

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz laktoz, titanyum dioksit ve sarı demir oksit gibi yardımcı maddeler kullanılarak çalışılan dalga boylarındaki türev absorbans değerlerinin olup olmadığı incelenmiş ve hiçbir absorbans değerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Yardımcı maddelerin yöntemimizi hiçbir şekilde etkilemediğini tespit ettik.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında $\bar{X} \pm SH$ değeri 2.49 ± 0.03 mg/tablet; standart sapma değeri 0.06 ve $p=0.05$ için güven sınırı 2.49 ± 0.05 mg/tablet olarak hesaplanmıştır. Bu veriler doğrultusunda önerilen yöntemin hem kesinliğinin hem de doğruluğunun yüksek olduğu görülmektedir.

Geliştirilen yöntem rutin kontrol laboratuvarlarında kolaylıkla basit ve zaman almadan uygulanabilecek yöntem olarak önerilmektedir.

4.1.3. Bromkrezol Moru İle Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi

Zolmitriptan bromkrezol moru indikatörü ile pH 6 fosfat tamponlu ortamda 398.0 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon veren iyon çifti oluşturmaktadır. Öncelikle aynı miktarda zolmitriptan içeren çözeltiden hareketle pH 2'den 8'e kadar değişen pH aralığında fosfat, Britton - Robinson tampon sistemleri denenmiş ve pH 6 tamponunda stabil ve organik faza geçen bir iyon çiftinin varlığı tespit edilmiştir. Değişik organik fazlar denenmiş ancak kloroform fazında iyon çiftine rastlanmıştır. Diğer organik fazlarda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın oluşturduğu kompleksin 398.0 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun korelasyon katsayısı 0.9976 olarak bulunmuştur. Tanımlayıcılık katsayısı, r^2 0.9952 olarak hesaplanmıştır. 398.0 nm deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değeri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ,1998). Elde edilen veriler Çizelge 4.1.1. de özetlenmiştir.

Yöntemin doğruluğunun tespiti için bilinen ve çalışma kalibrasyon aralığındaki konsantrasyonda madde içeren numunelerle % geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri ortalama % 100.8 olarak bulunmuştur, standart sapma değerinin de 1.10 olarak bulunması yöntemin son derece iyi bir yöntem olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler Çizelge 4.1.1. de özetlenmiştir. Bağlı standart sapma değerleri % 5.00 den küçük olduğu için geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz laktoz, titanyum dioksit ve sarı demir oksit gibi yardımcı maddeler kullanılarak çalışılan dalga boyunda absorbans değerlerinin olup olmadığı

incelenmiş ve hiçbir absorbans değerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Yardımcı maddelerin yöntemimizi hiçbir şekilde etkilemediğini tespit ettik.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında $p=0.05$ için güven sınırı 2.50 ± 0.03 mg/tablet olarak tespit edilmiştir.

Geliştirilen yöntem rutin kontrol laboratuvarlarında kolaylıkla basit ve zaman almadan uygulanabilecek yöntem olarak önerilmektedir.

4.1.4. Bromkrezol Yeşili İle Zolmitriptan'ın İyon Çifti Yöntemi

Zolmitriptan bromkrezol yeşili indikatörü ile pH 4 fosfat tamponlu ortamda organik faza geçebilen iyon çifti oluşturmaktadır. Oluşan bu bileşik 413.4 nm'de maksimum absorbansa sahiptir.

40.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki zolmitriptan'ın sulu çözeltisinden hareketle pH 2'den 8'e kadar değişen pH'da fosfat ve Britton - Robinson tampon çözeltileri kullanılarak iyon çiftinin oluşumu gözlenmiştir. Yöntem için en uygun tamponun fosfat pH 4 tamponu olduğu bulunmuştur. Ayrıca bekleme süresinin 5 dakika olması ve organik faz olarak kloroformun kullanılması ideal şart olarak belirlenmiştir. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın oluşturduğu kompleksin 413.4 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun korelasyon katsayısı 0.9992 olarak bulunmuştur. Tanımlayıcılık katsayısı, r^2 değeri 0.9984 olarak hesaplanmıştır. 413.4 nm deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değeri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ, 1998). Yöntemin doğruluğunun tespiti için bilinen ve çalışma kalibrasyon aralığındaki konsantrasyonda madde içeren numunelerle % geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri ortalama % 99.9 olarak bulunmuştur, standart sapma değerinin de 1.05 olarak bulunması yöntemin son derece kullanılabilir bir yöntem olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler Çizelge 4.1.1. de özetlenmiştir. Bağlı standart sapma değerleri % 5.00 den küçük olduğu için geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz laktoz, titanyum dioksit, sarı demir oksit gibi yardımcı maddeler kullanılarak oluşturulan organik fazda çalışılan dalga boyunda absorbans değerlerinin olup olmadığı incelenmiş ve hiçbir absorbans değerine sahip olmadıkları

tespit edilmiştir. Yardımcı maddelerin yöntemimizi hiçbir şekilde etkilemediğini tespit ettik.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında $p=0.05$ için güven sınırı 2.51 ± 0.03 mg/tablet olarak tespit edilmiştir.

Geliştirilen yöntem rutin kontrol laboratuvarlarında kolaylıkla basit ve zaman almadan uygulanabilecek yöntem olarak önerilmektedir.

4.2. Farmasötik Preparatlarda Rizatriptan'ın Miktar Tayini İçin Önerilen Yöntemler

Merck Firmasından getirilen spesifikasyonunda % 99.9 saf olduğu belirtilen etkin maddenin ilk önce saflık kontrolü gerçekleştirilmiştir. Etkin maddenin saflığını saptamak için erime noktası tayini yapılmış (184 °C), UV ve IR spektrumları alınarak standartlarla karşılaştırılmıştır.

Etkin maddenin çeşitli ortamlar, HCl, NaOH, CH₃OH ve H₂O içerisindeki çözünürlükleri incelenmiş, en iyi su ortamında çözündüğü saptanmış ve çözücü olarak su ortamı seçilmiştir.

4.2.1. Doğrudan UV Spektrofotometri

Rizatriptan'ın 200.0 – 325.0 nm aralığında spektrumu alındığında 225.0 ve 279.3 nm'lerde iki maksimum absorpsiyon noktası verdiği gözlenmiştir. Bizim yaptığımız spektral çalışmalarda Rizatriptan için 240.0 – 325.0 nm spektrum aralığı kullanılmıştır. Tablet analizinde dolgu maddelerinden gelebilecek herhangi bir girişimin etkisinden kurtulmak maksadıyla 200.0 – 325.0 nm yerine 240.0 – 325.0 nm spektral aralık çalışmalarda tercih edilmiştir. ALTINÖZ ve ark.(2002), rizatriptan'ın su içerisindeki çözeltisinden hareketle maksimum absorpsiyonun olduğu 225.0 nm'de çalışmışlardır. Rizatriptan'ın 40.0 µg.mL⁻¹ lik su içerisindeki 240.0 – 325.0 nm'ler arasında alınan UV spektrumunun tek omuz içeren geniş bir pik olduğu Şekil 3.1.2.1. de görülmektedir. Yöntemin uygulanması sonucunda elde edilen tüm veriler Çizelge 4.2.1. de özetlenmiştir. 279.3 nm deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değeri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir (t_H>t_T) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ,1998). Rizatriptan içeren Maxalt® RPD tablet preparata yöntem uygulandığında da elde edilen tüm veriler yine Çizelge 4.2.1. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.1. Rizatriptan Miktar Tayini İçin Önerilen Yöntemler ve Sonuçları.

	Doğrudan UV Spektrofotometri	Birinci Türev UV Spektrofotometri			Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi	Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi
Çalışılan Dalga boyları	279.3 nm	266.7 nm	286.0 nm	295.3 nm	401.9 nm	420.0 nm
Kalibrasyon Eşitliği	$y = 1.36 \times 10^{-2} \cdot C - 2.98 \times 10^{-5}$	$y = 4.19 \times 10^{-4} \cdot C - 5.00 \times 10^{-7}$	$y = -4.95 \times 10^{-4} \cdot C - 7.00 \times 10^{-7}$	$y = -1.04 \times 10^{-3} \cdot C - 1.20 \times 10^{-6}$	$y = 2.40 \times 10^{-3} \cdot C + 2.01 \times 10^{-1}$	$y = 4.50 \times 10^{-3} \cdot C - 9.20 \times 10^{-3}$
% Geri Kazanım	99.8	99.7	99.8	100.1	100.3	100.6
Yöntemdeki Bağlı Standart Sapma	0.76	1.70	1.50	1.54	1.24	0.81
Doğrusal Konsantrasyon Çalışma Aralığı ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	20.2 – 60.6	20.2 – 60.6	20.2 – 60.6	20.2 – 60.6	37.5 – 262.5	50.0 – 200.0
Korelasyon Katsayısı	0.9997	0.9993	0.9985	0.9987	0.9983	0.9998
Farmasötik preparata uygulandığında bulunan miktarlar (n=5)(mg/tablet)	11.3	10.3	10.3	9.9	–	–

Teorik olarak bilindiği gibi elde edilen çalışmada deneylerin kesinliği için gün içi ve günler arası değerlendirmeler yapılmalıdır. Tarafımızdan önerilen yöntemde günler arası ve gün içi deneyler sonucu bağıl standart sapma ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Bulunan % bağıl standart sapma değerleri % 0.37 ile % 1.20 arasında % bağıl hata değerleri ise % 0.24 ile % 1.70 arasında olduğu bulunmuştur. Bu değerler doğrultusunda bağıl standart sapmanın % 5.00 den küçük olduğu için geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Yöntemin duyarlılığı için alt tayin sınırı $0.56 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Yöntemdeki gözlenebilirlik ya da yakalama sınırı $0.17 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Yöntemdeki doğruluğun tespiti için bilinen miktarlarda maddeler alınarak geri kazanım deneyleri yapılmış, deneylerin değerlendirilmesi sonucu ortalama geri kazanım değeri % 99.8 olarak bulunmuştur. Standart sapma değeri ise 0.76; % bağıl standart sapma ise % 0.76 olarak hesaplanmıştır.

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz jelatin, manitol, glisin, aspartam ve nane aroması gibi yardımcı maddeler kullanılarak çalışılan dalga boyundaki absorbans değerinin olup olmadığı incelenmiş ve hiçbir absorbans değerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik formülasyona uygulanmış $p=0.05$ için güven sınırı $11.3 \pm 0.39 \text{ mg/tablet}$ olarak bulunmuştur.

4.2.2. Birinci Türev UV Spektrofotometri

Rizatriptan'ın elde edilen UV spektrumlarından yararlanılarak birinci türev UV spektrumları da alınmıştır. Etkin maddenin 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'ler deki birinci türev absorbans değerlerinden yararlanılarak etkin madde miktar tayini yapılabilineceği tespit edilmiştir ve bu dalga boylarındaki birinci türev absorbans değerlerinden yararlanılarak kalibrasyon eşitlikleri hesaplanarak, sonuçlar Çizelge 4.2.1. de özetlenmiştir. 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'ler deki birinci türev absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değerleri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ, 1998).

Yöntemdeki geri kazanım değerleri bahsedilen dalga boylarında ayrı ayrı incelenmiş ve inceleme sonucunda tüm dalga boylarında elde edilen ortalama % geri kazanım değerlerinin 266.7 nm'de %99.7; 286.0 nm'de %99.8 ve 295.3 nm'de %100.1 olduğu hesaplanmıştır. Bu değerlerin yöntemin doğruluğunun bir ispatı olarak değerlendirilmiştir. Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'lerdeki türev absorbans değerlerinden hareketle farmasötik preparatın içerisindeki ortalama miktarlar sırasıyla 10.3 mg/tablet, 10.3 mg/tablet ve 9.9 mg/tablet olarak bulunmuştur. Elde edilen standart sapma değerleri 266.7 nm için 0.32; 286.0 nm için 0.54 ve 295.3 nm için ise 0.50 olarak hesaplanmıştır.

Kullanılan deney şartlarında tabletlerde yardımcı madde olarak kullanılan tespit edebildiğimiz jelatin, manitol, glisin, aspartam ve nane aroması gibi yardımcı maddeler kullanılarak çalışılan dalga boylarındaki türev absorbans değerlerinin olup olmadığı incelenmiş ve hiçbir absorbans değerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Yardımcı maddelerin yöntemimizi hiçbir şekilde etkilemediğini tespit ettik.

Yöntem etkin maddeyi içeren farmasötik preparata uygulandığında $\bar{X} \pm SH$ değerleri 266.7 nm de 10.3 ± 0.14 mg/tablet; 286.0 nm de 10.3 ± 0.24 mg/tablet ve 295.3 nm de 9.9 ± 0.22 mg/tablet olarak hesaplanmıştır. Standart sapma değerleri ise sırasıyla 0.32; 0.54 ve 0.50 olarak bulunmuştur. $p=0.05$ için güven sınırı 10.3 ± 0.39 mg/tablet, 10.3 ± 0.67 mg/tablet ve 9.9 ± 0.61 mg/tablet olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler doğrultusunda önerilen yöntemin hem kesinliğinin hem de doğruluğunun yüksek olduğu görülmektedir.

Geliştirilen yöntem rutin kontrol laboratuvarlarında kolaylıkla basit ve zaman almadan uygulanabilecek yöntem olarak önerilmektedir.

ALTINÖZ ve ark. (2002), birinci türev UV spektrofotometri de tek bir dalga boyu olarak 232.0 nm'de çalışmışlardır. Tarafımızdan önerilen yöntemde ise daha alternatifli olarak 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'lerde de çalışmanın yapılabileceği tez kapsamındaki yöntemin uygulamasından görülmektedir. Geliştirilen yöntem rutin kontrol laboratuvarlarında basit ve zaman almadan uygulanabilecek yöntem olarak önerilmektedir.

4.2.3 Bromkrezol Moru İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi

Rizatriptan bromkrezol moru indikatörü ile pH 6 da 401.9 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon veren iyon çifti oluşturmaktadır. Öncelikle aynı miktarda rizatriptan içeren çözeltiden hareketle pH 2'den 8'e kadar değişen pH aralığında fosfat, Britton Robinson tampon sistemleri denenmiş ve pH 6 fosfat tamponunda stabil ve organik faza geçen bir iyon çiftinin varlığı tespit edilmiştir. Farklı organik fazlar denenmiş, oluşan iyon çiftine kloroform fazında rastlanmıştır. Diğer organik fazlarda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bromkrezol moru ile rizatriptan'ın oluşturduğu kompleksin 401.9 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun korelasyon katsayısı 0.9983 olarak bulunmuştur. Tanımlayıcılık katsayısı, r^2 0.9966 olarak hesaplanmıştır. 401.9 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değeri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ,1998).

Yöntemin doğruluğunun tespiti için bilinen ve çalışma kalibrasyon aralığındaki konsantrasyonda madde içeren numunelerle % geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri ortalama % 100.3 olarak bulunmuştur, standart sapma değerinin de 1.25 olarak bulunması yöntemin son derece iyi bir yöntem olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler Çizelge 4.2.1. de özetlenmiştir. Bağlı standart sapma değerleri % 5.00 den küçük olduğu için geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Türkiye ilaç piyasasında bulunmadığı için Almanya'dan getirtilen farmasötik preparattan yeterli miktarda elimizde olmadığı için farmasötik preparata uygulanması gerçekleştirilememiştir.

4.2.4. Bromkrezol Yeşili İle Rizatriptan'ın İyon Çifti Yöntemi

Rizatriptan, pH 4 fosfat tamponlu ortamda bromkrezol yeşili indikatörü ile organik faza geçebilen iyon çifti oluşturmaktadır. Oluşan bu bileşik 420.0 nm'de maksimum absorbansa sahiptir.

Aynı konsantrasyondaki rizatriptan'ın sulu çözeltisinden hareketle pH 2'den 8'e kadar değişen pH'da fosfat ve Britton - Robinson tampon çözeltileri kullanılarak iyon çiftinin oluşumu gözlenmiştir. Yöntem için en uygun tampon fosfat pH 4 tamponu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 5 dakikalık bekleme süresi ve organik faz olarak kloroformun kullanılması ideal şart olarak belirlenmiştir. Bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın oluşturduğu kompleksin 420.0 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun korelasyon katsayısı 0.9998 olarak bulunmuştur. Tanımlayıcılık katsayısı, r^2 0.9996 olarak hesaplanmıştır. 420.0 nm'deki absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon verilerinden hareketle korelasyon katsayısının önem kontrolü yapılmış, hesaplanan t_H değeri göz önüne alınarak korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir ($t_H > t_T$) (SÜMBÜLOĞLU, 1997; KESİCİ ve KOCABAŞ, 1998).

Yöntemin doğruluğunun tespiti için bilinen ve çalışma kalibrasyon aralığındaki konsantrasyonda madde içeren numunelerle % geri kazanım deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değeri ortalama % 100.6 olarak bulunmuştur, standart sapma değerinin de 0.82 olarak bulunması yöntemin son derece kullanışlı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler Çizelge 4.2.1. de özetlenmiştir. Bağlı standart sapma değerleri % 5.00 den küçük olduğu için geliştirilen yöntemin kesinliği ve tekrar edilebilir olduğunu göstermektedir (USP 23th).

Türkiye ilaç piyasasında bulunmadığı için Almanya'dan getirttiğimiz farmasötik preparattan elimizde yeterince olmadığı için farmasötik preparata uygulanması gerçekleştirilememiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında antimigren etkili ilaçlardan olan zolmitriptan içeren Zomig® tablet ve rizatriptan içeren Maxalt® RPD tablet için geliştirdiğimiz yöntemler birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Zolmitriptan içeren Zomig® tablet preparatında bulunan ortalama değerler göz önüne alınarak yöntemler birbirleri ile karşılaştırıldığında doğrudan UV spektrofotometri ile bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi arasında hesaplanan t değerinin 3.54 olduğu bulunmuştur. Doğrudan UV spektrofotometri ile bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemlerin ortalamaları karşılaştırıldığında ise hesaplanan t değerinin 2.83 olduğu hesaplanmıştır. Bu değerler tablo t-değeri 2.31'den büyük olduğu için ortalamalar arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Diğer yöntemlerin birbirleri ile karşılaştırılmalarında yöntemler arasında ortalamalar yönünden hiçbir fark bulunmamaktadır.

Zolmitriptan içeren Zomig® tablet preparatında bulunan standart sapma değerleri göz önüne alınarak yöntemler birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Doğrudan UV spektrofotometri ile birinci türev UV spektrofotometri; doğrudan UV spektrofotometri ile bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi; birinci türev UV spektrofotometri ile bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi arasındaki fark anlamlıdır. Bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi ile doğrudan UV spektrofotometri; birinci türev UV spektrofotometri ve bromkrezol moru ile zolmitriptan'ın iyon çifti yöntemi için yapılan karşılaştırmaların sonucunda standart sapmalar arasındaki farkın anlamsız olduğu bulunmuştur.

Rizatriptan içeren Maxalt® RPD tablet preparatında bulunan ortalama değerler göz önüne alınarak yöntemler birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Doğrudan UV spektrofotometri ile 266.7 nm'deki birinci türev UV spektrofotometri arasındaki t-değeri 4.94; 286.0 nm'deki birinci türev UV spektrofotometri ile arasındaki t-değeri 3.56; 295.3 nm deki birinci türev UV spektrofotometri ile arasındaki t-değeri 5.27

olarak hesaplanmıştır. Doğrudan UV spektrofotometri ile 266.7; 286.0 ve 295.3 nm'lerde birinci türev UV spektrofotometri yöntemleri arasındaki fark anlamlıdır. 295.3 nm'de birinci türev UV spektrofotometri temel alınarak yapılan karşılaştırmalarda 286.0 nm'de birinci türev UV spektrofotometri ile arasındaki farkın anlamsız olduğu bulunmuştur.

Rizatriptan içeren Maxalt[®] tablet preparatında bulunan standart sapma değerleri göz önüne alınarak bütün yöntemler birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Yöntemlerin karşılaştırılması sonucu hesaplanan F değerlerinin tablo-F değeri olan 6.39'dan küçük bulunması yöntemlerin hiçbirinde standart sapmalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir.

Önerilen yöntemler rutin kontrol laboratuvarlarında kolayca, ekonomik, duyarlılıkla uygulanabilecek yöntemlerdir.

ÖZET

RİZATRIPTAN VE ZOLMITRIPTAN İÇEREN PREPARATLARDA ETKİN MADDE MİKTAR TAYİNLERİ

Tez kapsamında antimigren etkili ilaçlar sınıfından olan zolmitriptan ve rizatriptan'ı tek başına içeren farmasötik preparatlarda zolmitriptan ve rizatriptanın miktar tayinleri için spektrofotometrik yöntemler geliştirilmiştir.

Zolmitriptan içeren preparatlarda;

Doğrudan UV spektrofotometri'de zolmitriptan'ın sulu çözeltisinin UV spektrumlarında 282.7 nm'deki absorbens değerleri ölçülmüş ve konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Çalışma aralığı 7.7 – 38.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

Birinci türev UV spektrofotometride, zolmitriptan'ın sulu çözeltisinin UV spektrumlarının birinci türevi alınmıştır. Kalibrasyon denklemleri bu spektrumların 264.0; 280.6; 288.2 and 297.0 nm'lerde ölçülen dA/d λ değerlerinin konsantrasyona karşı grafiğe geçirilmesi ile hesaplanmıştır. Yöntemdeki çalışma aralığı 7.7 – 38.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

İki iyon çifti yöntemi geliştirilmiştir. İlk yöntemde, pH 6 da kloroform fazında bromkrezol moru ile zolmitriptanın oluşturduğu iyon çiftinin 350.0 – 600.0 nm aralığındaki spektrumunda 398.0 nm'deki absorbens değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon denklemleri absorbens değerlerine karşı konsantrasyonun grafiğe geçirilmesi ile hesaplanmıştır. Yöntemdeki çalışma aralığı 12.0 – 55.8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. İkinci yöntemde bromkrezol yeşili ile zolmitriptan'ın kloroform fazında pH 4 de oluşturduğu iyon çiftinin 350.0 – 600.0 nm aralığındaki spektrumunda 413.4 nm'deki absorbens değerleri okunmuştur. Kalibrasyon denklemleri absorbens değerlerine karşı konsantrasyonun grafiğe geçirilmesi ile elde edilmiştir. Yöntemdeki çalışma aralığı 16.0 - 64.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

Geliştirilen ve yukarıda anlatılan tüm yöntemler zolmitriptan içeren Zomig® tabletine uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Rizatriptan içeren preparatlarda ;

Doğrudan UV spektrofotometri'de rizatriptan'ın sulu çözeltisinin UV spektrumlarının 279.3 nm'deki absorbens değerleri ölçülmüş ve konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Yöntemdeki çalışma aralığı 20.2-60.6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

Birinci türev UV spektrofotometride rizatriptan'ın sulu çözeltisinin UV spektrumlarının birinci türevi çizdirilmiştir. Bu spektrumlarda 266.7; 286.0 ve 295.3

nm'lerdeki dA/dλ değerleri konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Yöntemin çalışma aralığı 20.2- 60.6 µg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur.

İki iyon çifti yöntemi geliştirilmiştir. İlk yöntemde, pH 6 da kloroform fazında bromkrezol moru ile rizatriptanın oluşturduğu iyon çiftinin 350.0 – 600.0 nm aralığındaki spektrumda 401.9 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon denklemleri absorbans değerlerine karşı konsantrasyonun grafiğe geçirilmesi ile hesaplanmıştır. Yöntemdeki çalışma aralığı 37.5 – 262.5 µg.mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. İkincisinde ise bromkrezol yeşili ile rizatriptan'ın kloroform fazında pH 4 de oluşturduğu iyon çiftinin 350.0 – 600.0 nm aralığındaki spektrumunda 420.0 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. Kalibrasyon denklemleri absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiğe geçirilerek elde edilmiştir. Yöntemdeki çalışma aralığı 50.0 - 200.0 µg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur.

Rizatriptanı tek başına içeren Maxalt® tablete doğrudan UV spektrofotometri ve birinci türev UV spektrofotometri uygulanmıştır.

Etkin maddeler için önerilen tüm yöntemler birbirleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmışlar ve sonuçlar yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Birinci Türev UV Spektrofotometri; Bromkrezol Moru; Bromkrezol Yeşili; Rizatriptan; Zolmitriptan;

SUMMARY

DETERMINATION OF ACTIVE INGREDIENTS IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING RIZATRIPTAN AND ZOLMITRIPTAN

In this thesis, spectrophotometric methods were developed for the determination of zolmitriptan and rizatriptan in pharmaceutical preparations containing zolmitriptan and rizatriptan alone that are belong to strong anti- migraine drugs group.

In preparations containing zolmitriptan:

In the direct UV spectrophotometry; the absorbance values were measured at 282.7 nm in UV spectra of aqueous solution of zolmitriptan and calibration curve was obtained by tracing absorbance values versus concentrations. The working range was found as 7.7 - 38.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

In the first derivative UV spectrophotometry, first derivative of UV spectra of the aqueous solution of zolmitriptan was traced. Calibration equations were calculated by installing $dA/d\lambda$ values measured at 264.0; 280.6; 288.2 and 297.0 nm in these spectra versus concentration. In the method working range was found as 7.7 – 38.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Two ion pair methods were developed. In the first method, the absorbance values were measured at 398.0 nm in the 350.0 - 600.0 nm range spectrum of the ion pair formed between bromcresol purpur and zolmitriptan in chloroform phase in pH 6. Calibration equations were calculated by plotting absorbance values versus concentration. The working range of this method was found as 12.0-55.8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. In the second, the absorbance values were measured at 413.4 nm in the spectrum range of 350.0 - 600.0 nm for the ion pair of bromcresol green and zolmitriptan in chloroform phase in pH 4. Calibration equations were established by installing absorbance values versus concentration. The working range was found as 16.0-64.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

All developed and above-mentioned methods were successfully applied to the Zomig[®] tablet containing zolmitriptan and obtained good results.

In preparations containing rizatriptan:

In the direct UV spectrophotometry, the absorbance values were measured at 279.3 nm in UV spectra of aqueous solution of rizatriptan and calibration curve was obtained by tracing absorbance values versus concentrations. The working range was found as 20.2 - 60.6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

In the first derivative UV spectrophotometry, first derivative of UV spectra of the aqueous solution of rizatriptan was traced. Calibration equations were calculated by installing $dA/d\lambda$ values measured at 266.7; 286.0 and 295.3 nm in these spectra versus concentration. In the method working range was found as 20.2 - 60.6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Two ion pair methods were developed. In the first method, the absorbance values were measured at 401.9 nm in the 350.0 - 600.0 nm range spectrum of the ion pair formed between bromcresol purpur and rizatriptan in chloroform phase in pH 6. Calibration equations were calculated by plotting absorbance values versus concentration. The working range of this method was found as 37.5-262.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. In the second, the absorbance values were measured at 420.0 nm in the spectrum range of 350.0 - 600.0 nm for the ion pair of bromcresol green and rizatriptan in chloroform phase in pH 4. Calibration equations were established by installing absorbance values versus concentration. The working range was found as 50.0-200.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Direct UV spectrophotometry and first derivative UV spectrophotometry were applied to Maxalt[®] tablet containing rizatriptan alone.

All proposed methods for ingredients compared with each other's as a statistical and the results obtained were criticised.

Key words: Bromcresol Green, Bromcresol Purpur, First Derivative UV Spectrophotometry, Rizatriptan, Zolmitriptan

KAYNAKLAR

- ABDEL-GAWAD, F.M. (1997). Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives through charge-transfer and ion-pair complexation reactions. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15** : 1679-1685.
- ABDINE H.H., EL-YAZBI, F.A., BLAIH, S.M., SHAALAN, R.A. (1998). Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for the determination of terazosin in dosage forms. *Spectroscopy Letters*, **31 (5)** : 969-980.
- ADELMAN, J.U., MANNIX L.K., VON SEGGERN R.L. (2000). Rizatriptan tablet versus wafer: patient preference. *Headache* **40** : 371 - 2.
- ADELMAN, J.U., LEWIT, E.J. (2001). Comparative aspects of triptans in treating migraine. *Clinical Cornerstone*, **4 (3)** : 53 - 64.
- AHRENS, S.P., FARMER M.V., WILLIAMS D.L., WILLOUGHBY E., JIANG K., BLOCK G.A., VISSER W.H. (1999). Efficacy and safety of rizatriptan wafer for the acute treatment of migraine. *Cephalalgia*, **19 (5)**: 525 - 30.
- AL-GHANNAM, S.M. (2006). A simple spectrophotometric method for the determination of β -blockers in dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **40** : 151-156
- ALTINOZ, S., UCAR. G., YILDIZ, E. (2002). Determination of rizatriptan in its tablet dosage forms by UV spectrophotometric and spectrofluorimetric methods. *Anal. Lett.*, **35 (15)** : 2471-2485.
- AMAN, T., RASHID, A., KHOKHAR, I., IQBAL, J. (1997). Spectrophotometric determination of chlorpromazine . *Anal .Lett.*, **30 (1)** : 109-119.
- AMIN, A.S. (2002). Spectrophotometric determination of piroxicam and tenoxicam in pharmaceutical formulations using alizarin. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **29** : 729-736.

ANONYMOUS (1998). Managing migraine. *Drug Ther. Bull.*, **36** (6) :41-4.

ANONYMOUS (1998). New triptans and other drugs for migraine. *Med. Lett. Drugs Ther.*, **40** : 97 - 100.

ANONYMOUS (1998). Zolmitriptan for migraine. *Med. Lett. Drugs Ther.*, **40**: 27-8.

BAHRA, A., GAWEL M.J., HARDEBO J.E., MILLSON D., BREEN S.A., GOADSBY P.J. (2000). Oral zolmitriptan is effective in the acute treatment of cluster headache. *Neurology.*, **54** (9) : 1832-9.

BARTLESON, J.D. (1999). Treatment of migraine headaches. *Mayo Clin. Proc.*, **74** (7) : 702 - 8.

BLAIH, S.M., ABDINE, H.H., EL-YAZBI, F.A., SHAALAN, R.A. (2000). Spectrophotometric determination of enalapril maleate and ramipril in dosage forms. *Spectroscopy Letters*, **33** (1) : 91-102.

CAPOBIANCO, DJ., CHESHIRE, W.P., CAMPBELL, J.K. (1996). An overview of the diagnosis and pharmacologic treatment of migraine. *Mayo Clin. Proc.*, **71** (11) :1055-66.

CHEN, X., LIU, D., LUAN, Y., JIN, F., ZHONG, D. (2006). Determination of zolmitriptan in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry method: Application to a pharmacokinetic study. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **832** (1) : 30-5.

CHEN, J., JIANG, X., JIANG, W., MEI, N., GAO, X., ZHANG, Q. (2004). Liquid chromatographic method for the determination of rizatriptan in human plasma. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **805** (1) : 169-173.

CHEN, J., JIANG, X.G., JIANG, W.M., MEI, N., GAO, X.L., ZHANG, Q.Z. (2004). High performance liquid chromatography analysis of zolmitriptan in human plasma using fluorescence detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **35** (3) : 639-645

- CLEMENT, E.M., FRANKLIN, M. (2002). Simultaneous measurement of zolmitriptan and its metabolites N-desmethylzolmitriptan and zolmitriptan N-oxide in human plasma by high performance liquid chromatography with coulometric detection. *J. Chromatog. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **766** (2) : 339-343.
- DAHLOF, C.G.H., RAPOPORT, A.M., SHEFTELL, F.D., LINES, C.R. (1999). Rizatriptan in the treatment of migraine. *Clin. Ther.*, **21** (11) : 1823-36.
- DIENER, H.C., KAUBE, H., LIMMROTH, V. (1998). A practical guide to the management and prevention of migraine. *Drugs* , **56** (5) : 811-24.
- DINESH, N.D., NAGARAJA, P., GOWDA N.M.M., RANGAPPA, K.S. (2002). Extractive spectrophotometric methods for the assay of sildenafil citrate (Viagra) in pure form and in pharmaceutical formulations. *Talanta*, **57** : 757-764.
- DIXON, R., FRENCH, S., KEMP, J., SELLERS, M., LECLERC, V., DELVAUX, M., RAUTUREAU, J. (2000). Effect of hepatic impairment on the pharmacokinetics of zolmitriptan. *J. Clin. Pharmacol.* **38** (8) : 694 - 701.
- DIXON, R., ENGLEMAN K., KEMP, J., RUCKLE, J.L. (1999). A comparison of the pharmacokinetics and tolerability of the novel antimigrain compound zolmitriptan in adolescents and adults. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol* ,**9** (1) : 35 - 42.
- DIXON, R. (1998). The metabolism of zolmitriptan: effects of an inducer and an inhibitor of cytochrome P450 on its pharmacokinetics in healthy volunteers. *Clin. Drug Invest.*, **15** : 515 - 22.
- DIXON, R., WARRANDER, A. (1997). The clinical pharmacokinetics of zolmitriptan. *Cephalalqia*, **18**:15-20.
- DIXON, R., GILLOTIN C., GIBBENS M., POSNER, J., PECK, R.W., (1997). The pharmacokinetics and effects on blood pressure of multiple doses of the novel anti-migrain drug zolmitriptan (311C90) in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*,**43** (3) :273 - 81.

- DOOLEY, M., FAULDS, D. (1999). Rizatriptan: a review of its efficacy in the management of migraine. *Drugs*, **58** (4) : 699 - 723.
- EL-ANSARY, A.L., ISSA, Y.M., SELIM, W. (1999). Spectrophotometric determination of trimethoprim in pure form and in pharmaceutical preparations using bromothymol blue, bromocresol green and alizarin red S. *Anal. Lett.*, **32** (5) : 955-969.
- EL-YAZBI, F.A., GAZY, A.A., MAHGOUB, H., EL-SAYED, M.A., YOUSSEF, R.M. (2003). Spectrophotometric and titrimetric determination of nizatidine in capsules. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **00** : 1-8.
- FERRARI, MD.(1998). Migraine. *Lancet*, **351** (9108) : 1043 - 51.
- GIJSMAN, H., KRAMER, M.S., SARGENT, J., TUCHMAN, M., MATZURA-WOLFE, D., POLIS, A., TEALL, J., BLOCK, G., FERRARI, M.D. (1997). Double-blind, placebo -controlled, dose-finding study of rizatriptan (MK - 462) in the acute treatment of migraine. *Cephalalgia*, **17** (6) : 647 - 51.
- GILLOTIN, C., BAGNIS C., MAMET, J.P., PECK, R.W., DERAY, G. (1997). No need to adjust the dose of 311C90(zolmitriptan), a novel anti-migren treatment in patients with renal failure not requiring dialysis. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **35** (11) :522 - 6.
- GOADSBY, PJ. 2003. Migraine : diagnosis and management. *Intern. Med. J.*, **33** (9-10) : 436 - 42.
- GUO, J.F., ZHANG, A.J., ZHAO ,L., SUN, X.H., ZHAO, Y.M., GAO, H.Z., LIU, Z.Y., QIAO, S.Y. (2006). Determination of rizatriptan in human plasma by liquid chromatographic - electrospray tandem mass spectrometry : application to a pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.* **20** (1) : 61 - 6.
- GÜNDÜZ, T. (1997). *İnstrümental Analiz, 3. Baskı..* Bilge Yayıncılık Tercüme ve Dağıtım, ANKARA, s : 18 - 30.
- HU, Y.Z., YAO, T.W., WANG, .J. (2004). HPLC determination of zolmitriptan and its related substances. *Medical Sciences* **33** (1) : 37 - 40.

- ISSA, Y.M., ABDEL-GAWAD, F.M., ABOU TABLE, M.A., HUSSEIN, H.M. (1997). Spectrophotometric determination of ofloxacin and lomefloxacin hydrochloride with some sulphonphthalein dyes. *Anal. Lett.* **30 (11)** : 2071-2084.
- KARAM, H., EL-KOUSY, N., TOWAKKOL, M. (1999). Colorimetric and fluorimetric methods for the determination of some antihistaminics using acid dyes and charge transfer techniques. *Anal. Lett.*, **32 (1)** : 79-96.
- KELANI, K., BEBAWY, L.I., ABDEL-FATTAH, L. (1999). Determination of astemizole, terfenadine and flunarizine hydrochloride by ternary complex formation with eosin and lead (II). *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **18** : 985-992.
- KAYAALP, O. (1982). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Cilt-2, Nüve Matbaası, ANKARA, s. : 987.
- KAYAALP, O. (1989). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Cilt-3, 4. Baskı, ANKARA, s. : 2276 - 2279.
- KESİCİ, T., KOCABAŞ, Z. (1998). *Biyoistatistik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayın No: 79, ANKARA
- KUMAR, K.L., COONEY, T.G. (1995). Headaches. *Med. Clin. North. Am.*, **79 (2)** : 261 - 86.
- LANCE, J.W. (1992). Treatment of migraine. *Lancet*, **339 (8803)** : 1207 - 9.
- LIPTON, R.B., STEWART, W.F., STONE, A.M., LAINEZ, M.J., SAWYER, J.P., (2000). Stratified care vs step care strategies for migraine: the Disability in Strategies of Care (DISC) Study, A randomised trial. *JAMA.*, **284 (20)** : 2599 - 2605.
- LIU, S., ZHANG, Z., LIU, Q., LUO, H., ZHENG, W. (2002). Spectrophotometric determination of vitamin B₁ in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30** : 685-694.
- MACGREGOR, EA.(1993). Prescribing for migraine. *Prescribers J.*, **33 (2)** : 50 - 8.

MARCUS, D.A., 2001. Establishing a standard of speed for assessing the efficacy of the serotonin (1B/1D) agonists (triptans). *Arch Neurol* , **58 (7)** :1056 - 1058.

MARTINDALE (2002), The Complete Drug Reference 33rd Edition, Pharmaceutical Press, p. : 449 - 458.

MATHEW, N.T., KAILASAM, J., GENTRY, P., CHERNYSHEV, O., (2000). Treatment of nonresponders to oral sumatriptan with zolmitriptan and rizatriptan: a comparative open trial. *Headache*, **40 (6)** : 464 - 5.

MAUSKOP, A., FARKKILA, M., HERING-HANIT, R., RAPOPORT, A., WARNER, J. (1999). Zolmitriptan is effective for the treatment of persistent and recurrent migraine headache. *Curr. Med. Res. Opin.*, **15 (4)** : 282 - 9.

MAXALT PROSPEKTÜSÜ, 2006.

MERCK INDEX 13rd EDITION (2001), An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals , Merck Research Laboratories Division Of Merck& CO., USA, p 1480, 1816 - 1817.

MISIUK; W. (2005). Extractive spectrophotometric methods for the determination of doxepin hydrochloride in pharmaceutical preparations using titanium (IV) and iron (III) thiocyanate complexes. *Il Farmaco*, **60** : 61-69.

MISIUK ,W., TARASIEWICZ, M. (1996). Spectrophotometric determination of perazine and thioridazine in pharmaceutical preparations. *Pharmazie*, **51** : 62.

MORANA, H.R.N., SCHAPOVAL, E.E.S. (2001). Spectrophotometric determination of sparfloxacin in pharmaceutical formulations using bromothymol blue. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **26** : 501-504.

NAGARAJA, P., VASATHA, H.S., YATHIRAJAN, H.S. (2003). Sensitive spectrophotometric method for the determination of indomethacin in capsules. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **00** : 1-7.

- NAGARAJA, P., VASANTHA, R.A., SUNITHA, K.R. (2001). A sensitive and selective spectrophotometric estimation of catechol derivatives in pharmaceutical preparations. *Talanta*, **55** : 1039-1046.
- ONUR, F., YÜCESOY C. (1983). Türev spektrofotometresi, *Fabad J.Pharm. Sci.*, **13** :462
- OMMATY, R. (2005). Vademecum Modern İlaç Rehberi + ATC Index, 27. Baskı, s. : 819, 1322.
- PECK, RW., SEABER, E.J., DIXON R.M., LAYTON, G.R., WEATHERLEY, B.C., JACKSON, S.H, ROLAN, P.E., POSNER, J. (1998). The pharmacodynamics and pharmaco- kinetics of the 5 - HT 1B/1D agonist zolmitriptan in healthy young and elderly men and women. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **63**:342 - 53
- PEREZ-RUIZ T., MARTINEZ-LOZANO C., TOMAS, V., SANZ, A., SAHUQUILLO, E. (2001). Flow - injection extraction - spectrophotometric method for the determination of ranitidine in pharmaceutical preparations. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **26** : 609-615.
- PRYSE-PHILLIPS, W.E.M., DODICK, D.W., EDMEDS, J.G., GAWEL, M.J., NELSON, R.F., PURDY, R.A., ROBINSON, G., STIRLING, D., WORTHINGTON, I. (1997). Guidelines for the diagnosis and management of migraine in clinical practice. *Can. Med.Assoc. J* , **156**: 1273 - 87.
- RAHMAN, N., KHAN, N.A., AZMI, S.N.H. (2004). Extractive spectrophotometric methods for the determination of nifedipine in pharmaceutical formulations using bromocresol green, bromophenol blue, bromothymol blue and eriochrome black T. *Il Farmaco*, **59** : 47-54.
- RAHMAN, N., HEJAZ-AZMI, S.N. (2000). Extractive spectrophotometric methods for determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, bromophenol blue and bromocresol green. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **24** : 33-41.

- RAMESH, K.C., GOWDA, B.G, MELWAKI, M.B., SEETHARAMAPPA, J., KESHAVAYYA, J. (2001). Extractive spectrophotometric determination of antiallergic drugs in pharmaceutical formulations using bromopyrogallol red and bromothymol blue. *Analytical Sciences*, **17** : 1101-1103
- RAO, M.B., SANGARAJU, S., SRINIVASU, M.K., MADHAVAN, P., DEVI, L.M., KUMAR, R.P., CHANDRASEKHAR, KB, ARPITHA, C.H, BALAJI, S.T. (2006). Development and validation of a specific stability indicating high performance liquid chromatographic method for rizatriptan benzoate. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **41(4)**:1146 - 51.
- RAO, B.M., SIRINIVASU, M.K., SRIDHAR, G., KUMAR, P.R., CHANDRASEKHAR, K.B., ISLAM, A.,(2005). A stability indicating LC method for zolmitriptan. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **39 (3 - 4)** : 503 - 509.
- RAPOPORT, A.M., RAMADAN, N.M., ADELMAN, J.U., MATHEW, N.T., ELKIND, A.H., KUDROW, D.B., EARL, N.L. (1997) Optimizing the dose of zolmitriptan (Zomig, 311C90) for the acute treatment of migraine: a multicenter, double-blind, placebo-controlled dose range-finding study. *Neurology*, **49 (5)** : 1210 - 18.
- REMINGTON 20th EDITION (2001). The Science and Practice Of Pharmacy, the University of the Sciences in Philadelphia, USA, Chapter 76, p : 1356.
- SABRY, S.M., ABDEL-HAY, M.H., BARARY, M.H., BELAL, T.S. (2000). Sensitive spectrofluorimetric and spectrophotometric methods for the determination of thonzylamine hydrochloride in pharmaceutical preparations based on coupling with dimethylbarbituric acid in presence of dicyclohexylcarbodiimide. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **22**: 257-264
- SASTRY, C.S.P., NAIDU, P.Y. (1998). Spectrophotometric determination of astemizole. *Talanta*, **45** : 795-799.

- SEABER, E.J., PECK R.W., SMITH, D.A., ALLONSON, J., HEFTING, N.R., VAN LIER, J.J., SOLLIE, F.A., WEMER, J., JONKMAN, J.H. (1998). The absolute bioavailability and effect of food on the pharmacokinetics of zolmitriptan in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **46** (5) : 433 - 9.
- SEABER, E., ON, N., DIXON, R.M., GIBBENS, M., LEAVENS, W.J., LIPROT, J., CHITTICK, G., POSNER, J., ROLAN, P.E., PACK, R.W. (1997). The absolute bioavailability and metabolic disposition of the novel antimigraine compound zolmitriptan (311C90). *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **43** (6) : 579 - 87.
- SEABER, E., ON, N., PHILLIPS, S., CHURCHUS, R., POSNER, J., ROLAN, P. (1996). The tolerability and pharmacokinetics of the novel antimigrain compound 311C90 in healthy male volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **41** (2) : 141 - 7.
- SHAMA, S.A. (2002). Spectrophotometric determination of phenylephrine HCl and orphenadrine citrate in pure and in dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30** : 1385-1392.
- SILBERSTEIN, S.D., MOSSIOU H., LE JEUNNE, C., JOHNSON - PRATT, L., MCCARROLL K.A., LINES, C.R., (2000). Rizatriptan in the treatment of menstrual migraine. *Obstet Gynecol* , **96** (2) : 237 - 42.
- SRINIVASU, M.K., RAO B.M., SRIDHAR G., KUMAR, P.R., CHANDRASEKHAR, K.B., ISLAM, A. (2005). A validated chiral LC method for the determination of zolmitriptan and its potential impurities. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **37** (3) : 453 - 460.
- SKOOG, D.A., WEST, D.M., HOLLER, F.J. (1996). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (Seventh Edition). Saunders College Publishing, USA.
- SKOOG, D.A., LEARY J.J., (1992) *Principles Of Instrumental Analysis* (Fourth Edition). Saunders College Publishing, Philadelphia, USA.
- SMITH, B.C.(2002). Quantitative Spectroscopy Theory and Practice, Academic Press, USA, p. 43 - 82.

- SOLOMON, G.D., CADY, R.K., KLAPPER, J.A., EARL, N.L., SAPER, J.R., RAMADAN, N.M. (1997). Clinical efficacy and tolerability of 2.5 mg zolmitriptan for the acute treatment of migraine. *Neurology* , **49 (5)** : 1219 - 25.
- SOLOMON, G.D.(1993). Therapeutic advances in migraine. *J. Clin. Pharmacol.*, **33 (3)** : 200-209.
- SPENCER, C.M., GUNASEKARA, N.S., HILLS, C. (1999). Zolmitriptan: a review of its use in migraine.*Drugs*, **58 (2)** : 347 - 74.
- SÜMBÜLOĞLU, K. (1997). *Biyoistatistik*, ANKARA, Hatiboğlu Yayınevi
- TEPPER, S.J., DONNAN, G.A., DOWSON, A.J., BOMHOF, M.A., ELKIND, A., MELOCHE, J., FLETCHER, P.E., MILLSON, D.S., (1999). A long-term study to maximise migraine relief with zolmitriptan. *Curr. Med. Res. Opin.*, **15 (4)** : 254 - 71.
- TFELT-HANSEN, P., DE VRIES, P., SAXENA, P.R. (2000). Triptans in migraine: a comparative review of pharmacology, pharmacokinetics and efficacy. *Drugs*, **60 (6)** : 1259 - 87.
- THE INTERNATIONAL 311C90 LONG-TERM STUDY GROUP (1998), The long term tolerability and efficacy of oral zolmitriptan (Zomig. 311C90) in the acute treatment of migraine: an international study. *Headache*, **38 (3)** : 173 - 83.
- TUCHMAN, M., EDVINSSON, L., GERAUD, G., KORCZYN, A., MAUSKOP, A., PFAFFENRATH, V. (1999). Zolmitriptan provides consistent migraine relief when used in the long - term. *Curr. Med. Res. Opin.*, **15 (4)** :272 - 81.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA 23th Ed., *United States Pharmacopeial Convention*, Rockville, MD 1995, p. 1982 - 1984.
- VADEMECUM İÇİN İLAÇ REHBERİ, GÜNEŞ, B.(EDİTÖR), 2006. *Farmalist Türkiye İlaç Rehberi*. Farma Tıp Yayıncılık, Ertem Matbaası, s:696-697; 1235-1236.

- VIJAYAN, N., PEACOCK J.H., (2000). Spinal cord infarction during use of zolmitriptan : a case report. *Headache*, **40** (1) : 57 - 60.
- VISHWANATHAN, K., BARTLET, M.G., STEWART, J.T. (2000). Determination of antimigraine compounds rizatriptan, zolmitriptan, naratriptan and sumatriptan in human serum by liquid chromatography / electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **14** (3):168 - 172.
- VISSER, W.H., TERWINDT, G.M., REINES, S.A., JIANG, K., LINES, C.R., FERRARI, M.D. (1996). Rizatriptan vs sumatriptan in the acute treatment of migraine: a placebo-controlled, dose - ranging study. *Arch. Neuro.*, **53** (11) : 1132 - 7.
- VLADIMIROV, S., BRBORIC, J., SVONJA, M., ZIVANOV-STAKIC, D. (1995). Spectrophotometric determination of nizatidine in pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **13** : 933-936.
- VYAS, KP., HALPIN, RA., GEER, LA., ELLIS, JD., LIU, L., CHENG, H., CHAVEZ-ENG, C., MATUSZEWSKI, BK., VARGA, SL., GUIBLIN, AR., ROGERS, JD. (2000). Disposition and pharmacokinetics of the antimigraine drug, rizatriptan, in humans. *Drug. Metab. Dispos.*, **28**(1):89-95.
- WELCH, K.M. (1993). Drug therapy of migraine. *N. Engl. J. Med.*, **329** (20): 1476 - 83.
- XIN Z.H., SONG M.W.(2005).Quantification of rizatriptan benzoate by HPLC. *Chinese Journal Of New Drugs*, **14** (8) : 1031 - 1033.
- YILDIZ, A., GENÇ, Ö., BEKTAŞ, S. (1997). *Enstrümantal Analiz Yöntemleri* (İkinci Baskı). Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, ANKARA, s.: 44 - 55.
- ZHANG, Z., XU, F., TIAN, Y., LI, W., MAO, G.,(2004). Quantification of zolmitriptan in plasma by high performance liquid chromatography - electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatog. B.Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **813** (1-2) : 227-233.
- ZOMIG® PROSPEKTÜSÜ, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Engin

Soyadı: Çiçek

Doğum yeri ve tarihi: ANKARA, 21.10.1976

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

Askerlik durumu: Yapıldı

İletişim adresi ve telefonu: Yaşamkent Mah. 47. Cad. 997. S. Ataşehir
Sitesi 3. Bl. 5/8, Çayyolu/ANKARA (312)2406056

II- Eğitimi:

1999 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

III- Ünvanları:

Kimyager

IV- Mesleki Deneyimi:

- Yakupoğlu Tic.: Kalite Kontrol Laboratuvarı, Kimyager ,2000-2001
- Toprak Tük. Mall. Paz. ve San. A.Ş.: Ankara Bölge Müdürlüğünde Satış Sorumlusu 2001-2004

V- Bilimsel İlgi Alanları (Katılan Poster Çalışmaları)

- Rizatriptan'ın yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile kantitatif tayini, 05–07 Temmuz 2006, **III. ULUSAL ANALİTİK KİMYA KONGRESİ, ÇANAKKALE**
- Extractive Spectrophotometric Study Of Rizatriptan and Its Determination In Bulk and In Pharmaceutical Formulations, **ISOPS 8** (International Symposium On Pharmaceutical Sciences), **ANKARA, 2006**
- UV Spectrophotometric Study for the Quantitative Determination Of Moexipril Hydrochloride and Hydrochlorothiazide, **ISOPS 8, ANKARA, 2006**
- Extractive Spectrophotometric Determination of Anti-migraine Drug Zolmitriptan In Pure and In Dosage Forms, **RDPA 2005 - (11th Meeting On Recent Developments In Pharmaceutical Analysis), RIMINI, ITALY.**