



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**METOKLOPRAMİD HİDROKLORÜR MONOHİDRAT VE
RİZATRİPTAN BENZOAT İLE OLUŞTURULAN METAL
KOMPLEKSLERİNİN SPEKTROFOTOMETRİK OLARAK
İNCELENMESİ VE METOT VALİDASYONU**

Murat KAĞIZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi SERAP KARADERİ

İSTANBUL

2019

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Analitik Kimya ABD

Tez Sahibi : Murat KAĞIZ

Tez Başlığı : "Metoklopramid hidroklorür monohidrat ve rizatriptan benzoat ile oluşturulan metal komplekslerinin spektrofotometrik olarak incelenmesi ve metod validasyonu"

Sınav Yeri : Analitik Kimya ABD

Sınav Tarihi : 04.07.2019

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Serap KARADERİ

Kurumu

Marmara Üniversitesi Eczacılık
Fakültesi Analitik Kimya ABD

İmza



Sınav Jüri Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Serap KARADERİ

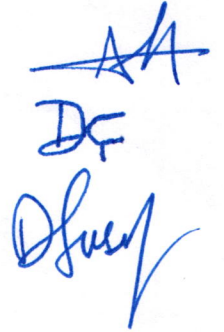
Danışman, Marmara Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya ABD

Dr. Öğr. Üyesi Deniz ÇIKLA YILMAZ

Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Analitik Kimya ABD

Dr. Öğr. Üyesi Duygu TAŞKIN

Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Analitik Kimya ABD)



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 3.1./EYK/2019 tarih ve 63 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü 7

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Murat KAĞIZ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalıőmamın her safhasında, ilgisini, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Serap KARADERİ'ye sonsuz őükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim üyelerinin Yüksek Lisans Tez kapsamında göstermiş oldukları ilgiden dolayı kendilerine őükranlarımı sunuyorum.

Çalıőmamın her safhasında yanımda olup, desteklerini esirgemeyen sevgili eőime çok teőekkkür ederim.

Yüksek Lisans Tez çalışmam sırasında, tecrübesini ve bilgisini esirgemeyen Müge BAKLA, Elif SAYIN ve Caner MAZI'ya, ayrıca kendisi ile çalıőmaktan onur duyduğum yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisinden ve tecrübesinden istifade ettiğim değerli hocam Dr. Filiz ARIÖZ'e sonsuz őükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP - 121218-0628 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii-iv
KISALTMALAR ve SİMGELER	v-vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii-ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
1.ÖZET.....	1
2.SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3-4
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Migren.....	5-6
4.2. Migrenin tedavisi	6-8
4.2.1. Rizatriptan benzoat	8
4.2.1.1. Rizatriptan benzoatın fiziksel ve kimyasal özellikleri	8
4.2.1.2. Rizatriptan benzoatın farmakodinamik özellikleri.....	9
4.2.1.3. Rizatriptan benzoatın farmakokinetik özellikleri.....	9-10
4.2.1.4. Rizatriptan benzoatın kullanım şekli ve yan etkileri.....	10-13
4.2.2. Metoklopramid hidroklorür monohidrat	13
4.2.2.1. Metoklopramid hidroklorür monohidratın fiziksel ve kimyasal özellikleri..	13
4.2.2.2. Metoklopramid hidroklorürün farmakodinamik özellikleri	14
4.2.2.3. Metoklopramid hidroklorürün farmakokinetik özellikleri	14
4.2.2.4. Metoklopramid hidroklorürün kullanım şekli ve yan etkileri	15-19
4.3. Metaller	20
4.3.1. Bakır (Cu)	20
4.3.2. Magnezyum (Mg).....	20
4.3.3. Çinko (Zn).....	21
4.3.4. Kadmiyum (Cd)	21
4.3.5. Kalsiyum(Ca)	22
4.4. Işının Absorpsiyonu (Soğurulması) ve Spektroskopisi	22
4.4.1. Spektroskopik yöntemler	24
4.4.2. Absorpsiyon Kanunları	27

4.4.2.1. Lambert kanunu	27
4.4.2.2. Beer kanunu	28
4.4.2.3. Lambert-Beer kanunu.....	28
4.4.3. Moleküler absorpsiyon ve emisyon	28-30
4.5. Kompleks stokiyometrisinin tayini	31
4.5.1. Mol oran yöntemi.....	31
4.5.2. Job yöntemi (Sürekli değişme yöntemi)	32
4.6. Validasyon (Yöntemin geçerlilik testleri).....	33
4.6.1. Analitik Yöntem Validasyonu.....	33
4.6.1.1. Doğruluk ve geri kazanılabilirlik	34
4.6.1.2. Doğrusallık ve kalibrasyon eğrisi	34
4.6.1.3. Seçimlilik ve duyarlılık	35
4.6.1.4. Sağlamlık	35
4.6.1.5. Kararlılık	36
4.6.1.6. Kesinlik ve tekrarlanabilirlik	36
4.6.1.7. Çalışma aralığı	37
4.6.1.8. Tutarlılık	37
4.6.1.9. Miktar tayini alt sınırı (LOQ).....	37
4.6.1.10. Teşhis sınırı (LOD)	38
5. GEREÇ VE YÖNTEM	39
5.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	39
5.1.1. Kullanılan cihazlar	39
5.1.2. Kullanılan kimyasallar	39
5.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Stok Çözeltilerin Hazırlanması.....	40
5.2.1. Rizatriptan benzoatın 5×10^{-3} M çözeltisi	40
5.2.2. Metoklopramid hidroklorürün 5×10^{-3} M çözeltisi	40
5.2.3. Stok kalsiyum (II) çözeltisi	41
5.2.4. Stok kadmiyum (II) çözeltisi.....	41
5.2.5. Stok bakır (II) çözeltisi.....	41
5.2.6. Stok magnezyum (II) çözeltisi	42
5.2.7. Stok çinko (II) çözeltisi.....	42
5.3. Kompleks Oluşumunun En Uygun Koşullarının Belirlenmesi.....	42-43

5.3.1. pH.....	44
5.3.2. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi	44
5.4. Metoklopramid Hidroklorürün Plasebo Tabletteki Geri Kazanımı	45
5.5. Rizatriptan Benzoat'ın Plasebo Tabletteki Geri Kazanımı	46-47
6. BULGULAR.....	48
6.1. Kompleks Oluşumunda En Uygun Deneysel Koşullarının Belirlenmesi.....	48
6.1.1. RB, MCP ve ligand-metal karışımlarının spektrumları	48-60
6.1.2. Kompleks bileşiminin belirlenmesi için optimum deneysel koşullar	61
6.2. Kompleks Bileşiminin (Stokiyometrisinin) Tayini.....	62-67
6.3. Geçerlilik Testi (Validasyon) Parametreleri	68
6.3.1. Doğrusallık ve kalibrasyon eğrisi	68-71
6.3.2. Ölçüm sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ).....	72
6.3.3. Kesinlik ve tekrarlanabilirlik.....	72-73
6.3.4. Plasebo tablette rizatriptan benzoatın geri kazanımı.....	74
6.3.5. Metoklopramid hidroklorürün plasebo tabletten geri kazanımı.....	74
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	75-76
8. KAYNAKLAR	77-86
9. ÖZGEÇMİŞ	87

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

Ca	: Kalsiyum
Cd	: Kadmiyum
Cu	: Bakır
CTZ	: Kemoreseptör tetikleyici bölge
Dk	: Dakika
D₀	: Sıfırıncı türev
D₁	: Birinci türev
D₂	: İkinci türev
FDA	: A.B.D. gıda ve ilaç idaresi
GLP	: İyi laboratuvar uygulamaları
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ICH	:İnsanda kullanılan ilaçların ruhsatlandırılması için teknik gerekliliklerin uyumlandırılması uluslararası birliği
L	: Ligand
LOD	: Tespit sınırı
LOQ	: Tayin sınırı
M	: Metal
MCP	: Metoklopramid
Mg	: Magnezyum
µg/mL	: Mikrogram/mililitre
ng/mL	: Nanogram/mililitre
nm	: Nanometre
RB	: Rizatriptan benzoat

RE	: Rölafif (Bağıl) hata
RSD	: Bağıl standart sapma
RP-HPLC	: Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi
S	: Standart sapma
sn	: Saniye
UV	: Ultra-violet
VIS	: Visible
Zn	: Çinko
\bar{x}	: Ortalama
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Rizatriptan benzoatın kimyasal yapısı	9
Şekil 2.	Metoklopramid hidroklorür monohidratın kimyasal yapısı.....	14
Şekil 3.	Elektromanyetik dalga spektrumu	23
Şekil 4.	Tek ışın yollu UV-Vis spektrofotometrenin yapısı.	25
Şekil 5.	Çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometre yapısı.....	26
Şekil 6.	Şematik olarak Lambert Yasası'nın gösterimi	27
Şekil 7.	Enerji seviyeleri ve elektonların geçişleri.....	29
Şekil 8.	Varsayımsal enerji diyagramı	30
Şekil 9.	Mol oran yöntemi grafiği.....	31
Şekil 10.	Job yöntemi ile kompleks bileşimi tayini	32
Şekil 11.	Rizatriptan benzoatın ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu.....	48
Şekil 12.	Metoklopramid hidroklorür ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu	49
Şekil 13.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu, b) MCP hidroklorür monohidrat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu.....	49
Şekil 14.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu b) MCP hidroklorür monohidrat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu c) RB ($5,0 \times 10^{-5}$ M) - MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımı spektrumu	50
Şekil 15.	Rizatriptan benzoat-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu.....	50
Şekil 16.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat-Ca(II)($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları	51
Şekil 17.	Rizatriptan benzoat-Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu.....	51
Şekil 18.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat- Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	52
Şekil 19.	Rizatriptan benzoat-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu.....	52
Şekil 20.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	53
Şekil 21.	Rizatriptan benzoat-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu.....	53
Şekil 22.	a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	54

Şekil 23. Rizatriptan benzoat-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu.....	54
Şekil 24. a) RB'nin $5,0 \times 10^{-5}$ M konsntrasyonundaki spektrumu, b) RB-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	55
Şekil 25. Metoklopramid hidroklorür ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu	55
Şekil 26. MCP-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu	56
Şekil 27. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	56
Şekil 28. MCP-Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu	57
Şekil 29. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	57
Şekil 30. MCP-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu	58
Şekil 31. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	58
Şekil 32. MCP-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu	59
Şekil 33. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	59
Şekil 34. MCP-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu	60
Şekil 35. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları.....	60
Şekil 36. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Ca^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 280$ nm).....	63
Şekil 37. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Cd^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 280$ nm).....	63
Şekil 38. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Cu^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 280$ nm).....	64
Şekil 39. Mol oran yöntemi ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Mg^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 280$ nm).....	64
Şekil 40. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Zn^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 280$ nm).....	65
Şekil 41. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $[Ca^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{max} = 272$ nm).....	65

Şekil 42. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Cd^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$).....	66
Şekil 43. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Cu^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$).....	66
Şekil 44. Mol oran yöntemi ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Mg^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$).....	67
Şekil 45. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Zn^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$).....	67
Şekil 46. Rizatriptan benzoatın ölçü eğrisi	68
Şekil 47. a) RB (39,15 $\mu\text{g/mL}$), b) RB(29,41 $\mu\text{g/mL}$), c) RB (19,62 $\mu\text{g/mL}$), d) RB (9,80 $\mu\text{g/mL}$), e) RB (1,96 $\mu\text{g/mL}$) ait spektrumlar	69
Şekil 48. Metoklopramid hidroklorürün ölçü eğrisi	70
Şekil 49. a) MCP (17,70 $\mu\text{g/mL}$) b) MCP (14,24 $\mu\text{g/mL}$) c) MCP (10,61 $\mu\text{g/mL}$), d) MCP (7,09 $\mu\text{g/mL}$), e-) MCP (3,52 $\mu\text{g/mL}$) ait spektrumlar..	71

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Deneysel çalışmada kullanılan kimyasallar.....	40
Tablo 2. Rizatriptan benzoat ile metal iyonları arasındaki kompleks stokiyometrisinin tayini için belirlenen optimum şartlar.....	61
Tablo 3. Metoklopramid hidroklorür ile metal iyonları arasındaki kompleks stokiyometrisinin tayini için belirlenen optimum koşullar.....	62
Tablo 4. Rizatriptan benzoatın kalibrasyon eğrisinin istatistiksel sonuçlar	69
Tablo 5. Metoklopramid hidroklorüre ait kalibrasyon eğrisinin istatistiksel sonuçları	71
Tablo 6. Rizatriptan benzoat için UV-Vis spektrofotometri metoduna göre gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk parametrelerinin istatistiksel sonuçları	73
Tablo 7. Metoklopramid hidroklorür için UV-Vis spektrofotometri metoduna göre gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk parametrelerinin istatistiksel sonuçları	73
Tablo 8. Rizatriptan benzoatın plasebo tabletteki geri kazanımı	74
Tablo 9. Metoklopramid hidroklorürün plasebo tabletteki geri kazanımı	74

Metoklopramid Hidroklorür Monohidrat ve Rizatriptan Benzoat ile Oluşturulan Metal Komplekslerinin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi ve Metot Validasyonu

Öğrencinin Adı: Murat KAĞIZ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serap KARADERİ

Anabilim Dalı: Analitik Kimya Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) gibi metal iyonlarının arasında oluşabilecek komplekslerin stokiyometrisini belirlemek için doğru ve basit bir UV-Vis spektrofotometrik yöntem geliştirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, metoklopramid hidroklorür ve rizatriptan benzoat ile ayrı ayrı Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) metal iyonları arasında oluşan komplekslerin 190-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Daha sonra, mol oran metodu kullanılarak komplekslerin stokiyometrisi belirlendi. Yöntemin doğruluğu ve uygunluğu istatistiksel validasyon parametreleri ile test edildi.

Bulgular: Rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür için sırasıyla, 1,96-39,15 µg/mL ve 3,52-17,70 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu bulundu. Mol oran yönteminden elde edilen sonuçlara göre her iki etkin madde ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) metal iyonları arasında oluşturduğu komplekslerin stokiyometrisi 1:1 olarak tayin edildi. Rizatriptan benzoatın ortalama geri kazanımı %97,45 iken; metoklopramid hidroklorürün ortalama geri kazanımı ise %95,90 bulundu.

Sonuçlar: Geliştirilen UV-Vis spektrofotometrik yöntemin sonuçlarına göre, yöntemin doğru, kesin ve tekrarlanabilir olduğu tespit edildi. Her iki etkin maddenin metal iyonlarıyla oluşturduğu komplekslerin, ilaç tedavilerine olumlu ya da olumsuz etkisi olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Metoklopramid hidroklorür, Rizatriptan benzoat, Migren, Mol oran yöntemi, Metal kompleks.

Spectrophotometric Investigation and Method Validation of Metal Complexes Formed out with Metoclopramide Hydrochloride Monohydrate and Rizatriptan Benzoate.

Student's Name: Murat KAĞIZ

Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Serap KARADERİ

Department: Department of Analytical Chemistry

2. SUMMARY

Aim: By using mole ratio method, developing a accurate, simple UV-Vis spectrophotometric method for determining stoichiometric ratios of the complexes which occurred between rizatriptan benzoate, metoclopramide hydrochloride and metal ions like Ca(II), Cu(II), Cd(II), Mg(II), Zn(II).

Material and Method: In this study, the spectra of the complexes formed between metoclopramide hydrochloride, rizatriptan benzoate and metal ions like Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) were taken at the 190-400 nm wavelength. Subsequently, stoichiometry of the complexes were determined using the mole ratio method. The method has been validated using statistical validation parameters.

Results: For rizatriptan benzoate and metoclopramide hydrochloride respectively, it was found that they are linear between 1,96-39,15 $\mu\text{g/mL}$ and 3,52-17,70 $\mu\text{g/mL}$ concentration range. In accordance with mole ratio method, the stoichiometry of the complexes between the both substance and the metal ions of Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) is determined as 1:1. The percentage recovery for the rizatriptan benzoate and metoclopramide hydrochloride were found 97.45 % and 95.90 %, respectively.

Conclusions: According to the results of UV-Vis spectrophotometric method developed, the method was found to be accurate, precise and reproducible. We think that the complexes formed by the metal ions of both active substances will have a positive or negative effect on drug treatments.

Key words: Metoclopramide hydrochloride, Rizatriptan benzoate, Migraine, Mole ratio method, Metal complex.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Migren bir baş ağrısı türü olarak tanımlansa da bilinen en eski hastalıklardandır. Diğer baş ağrısı türlerinden farkı 3 gün sürebilmesi ve başın belli bir bölgesinde yoğunlaşan şiddetli bir acıya sebebiyet vermesidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre dünyada ağır iş kaybına yol açan 20 hastalıktan biri kabul edilmiştir. Özellikle çalışan kesim olan genç bireyleri daha çok etkilemesi nedeniyle, toplumlarda ciddi bir sosyal ve ekonomik yük bırakmaktadır (Çakır, 2008; Çiçek, 2006)

Patofizyolojisi tam olarak açıklanamamış olan migrenin en çok görülen 2 türü auralı migren ve aurasız migrendir. Migren ataklarına bağlı olarak ışığa ve sese duyarlılık, şiddetli baş ağrısı, sindirim sistemi rahatsızlıkları görülebileceği gibi nadir olarak kısmi felç de görülebilmektedir (Kacperski ve O'Brien, 2012).

Migrenin önleyici tedavisinde belirtiler başlamadan alınan adrenerjik blokerler etkili olabilmesine rağmen yan etkilerinden dolayı kullanımı sınırlıdır. Bazı migren hastalarının atakları başladığında alınan basit ağrı kesiciler ile tedavisi mümkün olabilirken, bazı hastaların ise daha karmaşık etki mekanizmasına sahip triptan grubu ilaçlar kullanılması gerekebilir. Bu triptan grubu ilaçlara örnek olarak rizatriptan benzoat gösterilebilir (Kacperski ve O'Brien, 2012).

Eğer migren ataklarının ilk anında tedavisi ertelenirse, atakların sebebiyet verdiği sindirim sistemi hareketinin yavaşlaması ile birlikte midenin boşalması gecikebilir. Bunun sonucunda bulantı ve kusma gerçekleşebilir. Antimigren ilaç formülasyonları genelde kusmaya karşı etkili ilaçları (antiemetik ilaçları) da içerebilmektedirler. Bu antiemetik ilaçlara örnek olarak metoklopramid verilebilir. Metoklopramid temel olarak mide bağırsak hareketini arttırarak midenin daha hızlı boşalmasını sağlar (Sweetman, 2002).

İnsan metabolizması için hayati önem taşıyan kalsiyum (Ca), çinko (Zn), magnezyum (Mg) gibi önemli biyoelementlerin mutlaka belirli bir konsantrasyonda olması gerekmektedir. Bunun gibi bazı ağır metallerin katyonlarının ise belirli

konsantrasyonun üzerinde olması durumunda toksik etkileri söz konusudur. Bu metallere örnek olarak kadmiyum (II) ve bakır (II) katyonları verilebilir. Bu yüzden, rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorürün Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) gibi metal iyonlarıyla oluşturabileceği kompleksler, metabolizmanın işleyişi açısından oldukça önemlidir.

Bu açıdan, metal iyonları ile rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür arasında oluşabilecek kelatların, ilaçların migren ve kusmaya karşı tedavilerine katkısı olabileceği gibi metabolizma için önemli olan metallerin de konsantrasyonlarını düşürerek vücutta metal eksikliğine neden olabileceği tahmin edilmektedir.

Bu çalışmanın asıl amacı, rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür ile ayrı ayrı Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal iyonları arasında oluşabilecek kelatların kompleks stokiyometrisinin UV-visible spektrofotometre cihazında mol oran yöntemi geliştirilerek belirlemek ve bu geliştirilen yöntemden elde edilen sonuçlarla önemli bir literatür bilgisi elde etmektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Migren

Migren, sadece birey üzerinde değil aynı zamanda bir bütün olarak aileleri ve toplumlar üzerinde de önemli bir etkisi olan oldukça yaygın bir baş ağrısı hastalığıdır (Winner ve Hershey, 2007). Migren, onlarca yıldır üzerinde çalışılan primer bir baş ağrısı türü olmasına rağmen yine de tam fizyopatolojisi belirsizliğini korumaktadır. Migrenin patogenezinin bir zamanlar, kafatası içindeki damarların genişlemesinden kaynaklandığı düşünülmekteydi (Lewis, 2010). Bununla birlikte, migrenin fizyolojik nedenlerine odaklanan araştırmalar, baş ağrılarının nedeni olarak sinirsel ve damarsal bir bileşen olduğunu ortaya koymuştur. Nörokimyasal değişiklikler, üçlü sinir düğümündeki nöronlardan nöropeptitlerin gevşemesi, beyin ve omuriliği saran zarlardaki kan damarlarının iltihaplanması gibi acı veren damar genişlemeleri, migren baş ağrısının oluşumunda önemli bileşenler olarak tanımlanmıştır. Bu bileşenlerin serotoninin, histaminin, nöropeptit içeren damar aktif maddelerin serbest kalması ile yok edilebileceği görülmüştür (Silberstein, Lipton ve Dodick, 2001).

Migren atakları ilk olarak ışık ve ses hassasiyeti ile kendini gösterirken, bunu geçici körlük, ışık çakması ve kulak çınlaması izleyebilir. Bu öncü belirtilere bir kaç saat veya günlerce süren baş ağrısı eşlik edebilmektedir. Son olarak alınganlık, bitkinlik ve asabi bir ruh haline sahip olunabilmektedir. Migrenin 4 tipi bulunmaktadır.

1. **Auralı migren;** ışık çakması gibi görsel belirtilere eşlik eden kısa süreli baş ağrısı ile tanımlanır.
2. **Aurasız migren;** en sık karşılaşılan migren tipidir. Migren ataklarından önce uyarıcı belirtileri olmaktadır.

3. **Genetik kısmi felçli migren;** çok az görülen auralı migren tipidir. Bu tür kendisini kafa karışıklığı, konuşamama ve kısmi inme gibi belirtilerle gösterir.
4. **Basit migren;** bilinç kaybı, baş dönmesi ve çift görme gibi sorunlarla kendisini gösteren auralı migren tipidir (Çiçek, 2006).

Migren baş ağrılarının yönetimi, hem baş ağrısı yükünü hem de iş göremezlik halini göz önünde bulunduran uyarlanmış bir farmakolojik ve davranışsal önlemler rejimini gerektirir. Uzun vadeli migren tedavisinin belirlenmiş hedefleri aşağıdakileri içermelidir:

- Baş ağrısı sıklığı, şiddeti, süresinde azalma;
- Kötü tolere edilen, etkisiz veya istenmeyen akut farmakoterapilere güvenmenin azaltılması;
- Hastanın yaşam kalitesinin iyileştirilmesi;
- Akut baş ağrısı ilaç tüketimi artışının önlenmesi;
- Eğitim ile hastaların kendi hastalıklarını yönetmelerini sağlamak;
- Baş ağrısı ile ilişkili rahatsızlığın ve psikolojik semptomların azaltılması (Silberstein, 2000).

4.2. Migrenin tedavisi

Migren ataklarının belirtilerini tedavi etmek için bazı ilaçlar kullanılmaktadır. Özellikle migren ataklarının ilk anlarında alınırsa daha etkili olabilen bu ilaçlar, ergotaminleri, iltihap önleyici ajanları, narkotik ağrı kesicileri, triptan bileşikleri (örneğin zolmitriptan, sumatriptan, rizatriptan) içermektedir. Migrenin önleyici tedavisinde kullanılan FDA (A.B.D. Gıda ve İlaç İdaresi) onayı olan tek ilaç grubu ergotaminlerin içinde olduğu adrenerjik blokerlerdir. FDA onaylı olmayan diğer önleyici ilaçlar ise mono amin oksidaz inhibitörler (MAO-I'ler), kalsiyum kanal blokerleri, bazı antidepresan ilaçlardır (Remington ve Gennaro, 2001).

Tedavinin ilk zamanlarında parasetamol ve aspirin gibi basit ağrı kesiciler tercih edilirken, bu ilaçlara yanıt vermeyen ataklarda ise seçici serotonin (5-HT₁) agonistleri (örneğin sumatriptan, rizatriptan, zolmitriptan) veya ergotamin gibi ilaçlar ile tedaviye devam edilir. Ancak ergot türevi ilaçlar ve seçici serotonin agonistlerinin biyoyararlanımı düşük olduğundan ve istenmeyen birçok yan etkiye sahip olduğundan kullanımını sınırlı kalmaktadır (Sweetman, 2002).

Araştırmalar neticesinde, 1972'de hem damar daraltıcı etkiye sahip hem de iyi oral biyoyararlanıma sahip olan ilk triptan ilacı sumatriptan'ın keşfedilmesi sağlanmıştır. Sumatriptan ilk olarak 1991'de Hollanda'da piyasaya sürülmüş ve 1993'te ABD'de kullanıma sunulmuştur (Humphrey, 2007). Sınıfında öncü bir ilaç olarak sumatriptan, migren tarihinde en çok çalışılan ajan olmuştur. Bunu hızlı bir şekilde zolmitriptan, naratriptan, rizatriptan, eletriptan, almotriptan ve frovatriptan izlemiştir (Silberstein, Lipton ve Dodick, 2001).

Bu ikinci nesil triptanlar farklı formülasyonlarda bulunur ve farklı etkilere sahiptir. Bir bütün olarak triptanlar deri altı enjeksiyonlar, oral tabletler, ağızda dağılan tabletler, burun spreyleri ve rektal fitiller olarak formüle edilmiştir. Rizatriptan 1998 yılında FDA onayı almıştır ve ağızda dağılan tabletlerin yanı sıra oral tablet olarak da temin edilebilmektedir (Wellington ve Jarvis, 2002). Bunu, aynı yıl daha uzun süre etki ve daha yüksek bir oral kullanılabilirliğe sahip olduğu bulunan naratriptan takip etmiştir (Mannix ve ark., 2007). Almotriptan, frovatriptan ve eletriptan ise sadece tabletlerde bulunur. 2011 yılında rizatriptanın, 6-17 yaşları arasındaki pediatrik baş ağrısı hastalarında kullanımını FDA tarafından onaylanmıştır

(https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/m/maxalt/maxalt_pi.pdf Erişim tarihi 26.05.2019).

Triptan seçiminde ideal triptanın kısa sürede etki etmesi, az yan etkiye sahip olması, migren ataklarının tekrarlama oranını düşürmesi ve hastanın yaşına uygun olması gerekmektedir. Her ne kadar deri altı formülasyonları hızlı sonuç verseler de, yan etkilerde artış, yüksek maliyet ve enjeksiyon yapma gerektirdiğinden özellikle 12-17 yaş pediatrik hastalarda olumsuz karşılanmaktadır. Eğer migren atağı ile birlikte mide bulantısı oluyorsa rizatriptanın ağızda eriyen tableti hızlı rahatlama sağlayarak faydalı olabilmektedir (Çiçek, 2006).

4.2.1. Rizatriptan benzoat

4.2.1.1. Rizatriptan benzoatın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kimyasal olarak adı: (IUPAC ismi), benzoik asit, N, N-dimetil-2- [5- (1,2,4-triazol-1-ilmetil) -1 H-indol-3-il] etanamin'dir.

Kapalı formülü: $C_{15}H_{19}N_5.C_7H_6O_2$ 'dur.

Molekül ağırlığı: 391,5 g/mol'dür.

Fiziksel olarak: Bej beyaz renkli pudradır. Erime derecesi 178 -180 °C'dir.

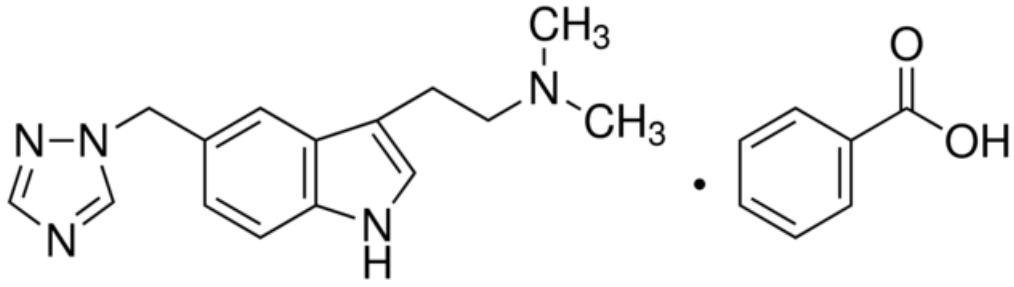
Çözünürlük bakımından: Suda, metanolde ve etanolde çözünür.

Stabilite (kararlılık) koşulları: Ticari olarak satılan ağızda eriyen tablet, nemsiz ortamda, oda sıcaklığında 36 ay boyunca saklanabilirken, rizatriptan benzoat standardı -20 °C'de derin dondurucuda saklanmalıdır

(https://www.msd.com.tr/static/pdf/MAXALT_10mg_Rapidisc_Tablet_KUB.pdf)

Erişim tarihi: 21.05.2019;

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rizatriptan-benzoate> Erişim tarihi: 21.05.2019).



Şekil 1. Rizatriptan benzoatın kimyasal yapısı

4.2.1.2. Rizatriptan benzoatın farmakodinamik özellikleri

Rizatriptan seçici bir 5-HT_{1B/1D} (serotonin) agonistidir. Yani insanda bulunan 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptörlerine yüksek bağlanma gücü ile bağlanır. 5HT₂, 5HT₃, alfa veya beta adrenerjik, histaminerjik H₁, dopaminerjik D₁, D₂, benzodiazepin veya muskarinik reseptörler üzerinde ise farmakolojik olarak önemli bir aktivitesi yoktur. Rizatriptan'ın migren tipi baş ağrısını tedavi edici etkisi, migren atağı esnasında genişlediği düşünülen beyin ile kafatası arasındaki kan damarlarında ve bu damarlar üzerinde onları sinirsel olarak uyaran duyu sinirleri üzerindeki 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptörlerine agonist etkisi ile ilgilidir. 5-HT_{1B} ve 5-HT_{1D} reseptörlerinin aktifleşmesi ile migren atağı sırasında genişleyen damarlarda daralma oluşurken, nöronlar tarafından salıverilen protein benzeri moleküllerin salınımı engellenerek yüz bölgesinde ani gelişen ağrı sinyal iletiminde azalma gerçekleşir (https://www.msd.com.tr/static/pdf/MAXALT_10mg_Rapidisc_Tablet_KUB.pdf Erişim tarihi: 21.05.2019).

4.2.1.3. Rizatriptan benzoatın farmakokinetik özellikleri

Oral uygulamada tamamen emilen rizatriptan'ın biyoyararlanımı yaklaşık %45'tir ve bu oran migren atağından etkilenmemektedir. Maksimum konsantrasyona yaklaşık 60-90 dakikada ulaşılırken, yemeklerle birlikte alındığında ise bu süre 1 saat

gecikmektedir. Rizatriptanın klinik kullanımında plazma yarı ömrü hem erkeklerde hem kadınlarda ortalama 2-3 saattir (Sweetman, 2002).

Rizatriptan monoamin oksidaz A izoenzimi ile inaktif indol asetik asit türevine metabolize olur. Buna ek olarak, birkaç inaktif metabolit daha oluşur. Ana bileşiğinkine benzer farmakolojik aktiviteye sahip aktif bir metabolit olan N-monodesmetil-rizatriptan ise çok az bir miktar oluşur. Oral dozun yaklaşık %51'i indol asetik asit metaboliti, %14'ü değişmemiş olarak ve %1'i N-monodesmetil-rizatriptan metaboliti olarak idrar ile birlikte metabolizmadan atılmaktadır (Sweetman, 2002).

4.2.1.4. Rizatriptan benzoatın kullanım şekli ve yan etkileri

Rizatriptan benzoatın (RB) ticari formları 5,00 mg (7,27 mg RB'ye eşdeğer) ve 10,00 mg (14,53 mg RB'ye eşdeğer) dozlarında tablet ve ağızda eriyen tablet (rapidisc tablet) şeklindedir. Merck firmasının Türkiye'de "MAXALT® 10,00 mg rapidisc tablet" ve "MAXALT® 5,00 mg rapidisc tablet" ticari isimleriyle ruhsat aldığı ağızda eriyen tabletler, oral yolla alınmalı ve dil üstünde bekletilmelidir. Sıvı alımına ihtiyaç duymayan bu tabletler ağızda tükürükle çözünerek yutulmalıdır.

Auralı veya aurasız migren ataklarının tedavisinde, hem yetişkinlerde hem de 12-17 yaş arası hastalarda etkili olan rizatriptan, herhangi bir migren atağı olmadan kullanılmamalıdır. Yetişkinlerde önerilen doz 10,00 mg olup iki doz arası 2 saatten az olmamak şartıyla 24 saat içerisinde 2 doz aşılmamalıdır. Migren atağı için alınan doz etkili olmadığında aynı atak için ikinci bir dozun alınması önerilmez. Ancak yine erişkin hastalarla yapılan klinik çalışmalarda, bir atakta etkili olmayan dozun diğer ataklarda etkili olabildiği görülmüştür. 12-17 yaş arası hastalarda ise vücut ağırlığı 40 kg'dan fazla olanların 24 saat içinde tek doz (10,00 mg) kullanmaları önerilmektedir. 40 kg'dan daha düşük kiloya sahip pediyatrik hastalarda ise rizatriptan kullanımı önerilmemektedir

(https://www.msd.com.tr/static/pdf/MAXALT_10mg_Rapidisc_Tablet_KUB.pdf

Erişim tarihi: 21.05.2019).

En çok karşılaşılan yan etkileri yorgunluk, baş dönmesidir. Diğer karşılaşılan yan etkiler ise çarpıntı, bulantı, kusma, baş ağrısı, uykusuzluk, terleme, kaşıntı, görmede bulanıklıktır. En nadir görülen yan etkisi ise yüksek tansiyondur.

Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri kullanan hastalarda, şiddetli karaciğer ya da böbrek yetmezliği olan hastalarda, orta derece şiddetli hipertansiyon hastalarında kontrendikedir. Ayrıca bir beta-bloker olan propranolol ile birlikte kullanıldığında rizatriptanın plazmadaki konsantrasyonu artabilir. Bu yüzden propranolol alan hastalarda rizatriptan kullanımı önerilmemektedir (Sweetman, 2002).

Madrakian ve ark, RB'nin tayini için hassas ve seçici bir elektrokimyasal sensör önermiştir. Camsı bir karbon elektrodu, çok amaçlı karbon nanotüpler ve Fe₃O₄ nanopartiküllerin nanokompoziti ile modifiye edilmiştir. Elde edilen sonuçlar geliştirilen modifiye elektrodun RB tayini için hassasiyetini geliştirdiğini göstermiştir. Üretilen sensörün morfolojisi ve elektroanalitik performansı, taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), X-ışını kırınımı (XRD), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), kare dalga voltametri (SWV) ve siklik voltametri (CV) ile karakterize edilmiştir. Ayrıca, deneysel ve enstrümantal parametrelerin sensör yanıtına etkisi değerlendirilmiştir. Elektrodun RB'ye kare dalga voltametik yanıtı optimum koşullar altında 0.09 µmol.L⁻¹ algılama sınırı ile 0.5–100.0 µmol.L⁻¹ aralığında doğrusal bulunmuştur. İncelenen yöntem iyi stabilite, yeniden üretilebilirlik ve tekrarlanabilirlik göstermiştir. Önerilen sensör, ilaçlardaki RB tayinine ve gerçek hayattaki kan serumu örneklerine başarıyla uygulanmıştır (Madrakian ve ark., 2016).

Kumari ve ark, bir antimigren ajanı olarak kullanılan RB'nin ilaç preparatlarından rutin tayini için üç basit, hassas, doğru ve ekonomik UV spektrofotometrik yöntemler geliştirmişler ve doğrulamışlardır. İlacın 227 nm ve 281 nm'de maksimum emilim gösterdiğini ve sırasıyla 227 nm'de 0.5-20 µg/ml ve 281 nm'de 0.5-80 µg/ml konsantrasyon aralığında Lambert-Beer yasasına uyduğunu bildirmişlerdir. Aynı spektrumun birinci dereceden (D₁) ve ikinci dereceden türevi (D₂) alınmıştır. Genlik D₁ için 233 nm, D₂ için 238 nm ölçülmüştür. D₁ ve D₂ metodlarında ilaç 0.5-20 µg/ml konsantrasyonda doğrusallık göstermiştir. Doğrusal

regresyon denklemleri D_0 için 227 nm'de $y=0.1182x+0.003(R^2=0.9997)$, D_0 için 281 nm'de $y=0.0135x+0.0094(R^2=0.9991)$, D_1 için $y=0.0467x-0.0005(R^2=0.9998)$ ve D_2 için $y=0.0238x+0.0031(R^2=0.9993)$ hesaplanmıştır. Piyasadaki tablet formülasyonlarının tahmini sonuçlarında bağıl standart sapma (%RSD) 97.51 ± 0.0381 - 101.58 ± 0.223 aralığında %2 den daha az bulunmuştur. Geri kazanım çalışmaları, önceden analiz edilmiş tablet çözeltisine bilinen miktarda standart etkin madde ilave edilerek gerçekleştirilmiş ve 97.104 ± 0.094 - 100.035 ± 0.193 geri kazanım bulunmuştur. Yöntemler daha sonra aralık, hassasiyet, doğruluk, özgüllük, sağlamlık ve dayanıklılık ile ilgili iyi sonuçlar veren ICH kurallarına göre istatistiksel olarak doğrulanmıştır (Kumari ve ark., 2010).

Altinoz ve ark, Rizatriptanın tablet formlarında belirlenmesi için spektrofotometrik ve spektroflorimetrik iki yöntem geliştirmişlerdir. Rizatriptanı, sulu çözeltilerinde spektrofotometrik yöntemle 200-450 nm dalga boyunda, spektroflorimetrik yöntemle ise 200-350 nm dalga boyunda belirlemişlerdir. Rizatriptanın, 225 nm'de maksimum absorpsiyon noktasını, 232 nm'de birinci derece türev sinyalini (D_1), 362 nm'de bir floresan absorpsiyon pikini gösterdiğini bildirmişlerdir. Doğrusal aralığı UV spektrofotometrik için 0.10 – $15.00 \mu\text{g.mL}^{-1}$, UV spektrofotometrik D_1 için 0.05 – $15.00 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ve spektroflorimetrik yöntem için ise 0.03 – $10.00 \mu\text{g.mL}^{-1}$ bulunmuştur. Miktar tayini sınırı UV spektrofotometrik için $0.1 \mu\text{g.mL}^{-1}$, UV spektrofotometrik D_1 için 17 ng.mL^{-1} ve spektroflorimetrik yöntem için ise 28 ng.mL^{-1} olarak tespit edilmiş iken, tespit limiti aynı sıra ile 72 ng.mL^{-1} , 5.6 ng.mL^{-1} ve 8.6 ng.mL^{-1} hesaplanmıştır. Seçilen dalga boylarında ve analiz koşullarında herhangi bir yardımcı madde ile etkileşim gözlenmemiştir. Geliştirilen yöntemler doğrulanmış, iyi bir keskinlik ve tekrarlanabilirlik göstermiştir. Önerilen yöntemler, rizatriptanın tablet dozaj formlarında tayinine başarıyla uygulanmış ve basit, hızlı, hassas, doğru ve nispeten ucuz olarak değerlendirilmiştir (Altinoz, Uçar ve Yıldız, 2002).

Devprakash ve ark, Rizatriptan için spektroskopik yöntem geliştirmişlerdir. Rizatriptanı, 0.1 N HCl çözeltisinde 220 - 400 nm dalga boyu aralığında belirlemişlerdir. Rizatriptan 226 nm 'de bir maksimum absorpsiyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Doğrusal aralığı UV sıfırıncı türev spektrofotometrisi için 1 - $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ bulunmuştur. Miktar tayini limiti $0.0944 \mu\text{g.mL}^{-1}$ saptanmış iken tespit

limiti $0.0311 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ hesaplanmıştır. Analiz koşullarında ve seçilen dalga boylarında plasebo maddeleri ile herhangi bir etkileşim görülmediğini bildirmişlerdir. Geliştirilen yöntemler doğrulanmış, iyi bir keskinlik ve tekrarlanabilirlik göstermiştir. Önerilen yöntem rizatriptanın saf ve dozaj formlarının tayinine hassas, hızlı, doğru ve nispeten ucuz bir şekilde başarıyla uygulanmıştır (Devprakash ve ark., 2011).

4.2.2. Metoklopramid hidroklorür monohidrat

4.2.2.1. Metoklopramid hidroklorür monohidratın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kimyasal olarak adı: 4-amino-5-kloro- N - [2- (dietilamino) etil] -2- metoksibenzamid; hidrat; hidroklorür'dür.

Kapalı formülü: $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ 'dur.

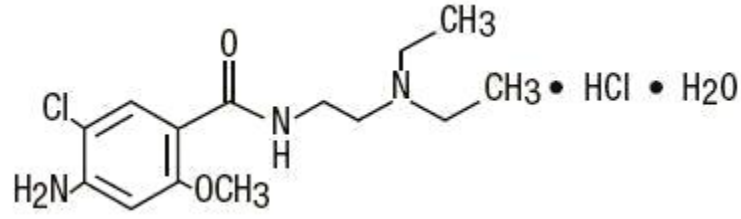
Molekül ağırlığı: 354,27 g/mol'dür.

Fiziksel olarak: Beyaz ya da kirli beyaz renkli kristalimsi bir tozdur. Erime derecesi $182,5 - 184 \text{ }^\circ\text{C}$ 'dir.

Çözünürlük bakımından: Suda, etanolde, kloroformda iyi çözünürken eterde ise pratikte çözünmez.

Stabilite (kararlılık) koşulları: Metoklopramid hidroklorürün maksimum kararlılık gösterdiği pH 7.6 iken maksimum bozunma koşulundaki pH 2'dir. Metoklopramid hidroklorür ışığa duyarlı olduğundan karanlık ortamda oda sıcaklığında saklanmalıdır. Ticari olarak satılan tabletler 3 yıl boyunca kararlıdır (Güzel, 2000;

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/441347#section=3D-Conformer> Erişim tarihi: 07.05.2019).



Şekil 2. Metoklopramid hidroklorür monohidratın kimyasal yapısı

4.2.2.2. Metoklopramid hidroklorürün farmakodinamik özellikleri

Süstitüe bir benzamid olan metoklopramid hidroklorür kusma tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Kusmaya karşı etkisi merkezi sinir sistemindeki iki mekanizma ile gerçekleştiği tespit edilmiştir. Birincisi apomorfine bağlı kusmada etkilenen santral sinir sistemindeki kusma merkezi ile, kemoreseptör tetikleyici bölge (CTZ)'de dopaminerjik D₂ reseptörlerinin birbirinin etkisini azaltmasıdır. İkincisi ise kemoterapiye bağlı kusmadan etkilenen serotoninin 5HT₃ ve 5HT₄ reseptörleri üzerine inhibe etkisidir. Merkezi etkisinin dışında Metoklopramid'in, mide ve ince bağırsak hareketi üzerine uyarıcı etkisi bulunmaktadır. Bu etki ile midenin daha hızlı boşalması sağlanmaktadır

(<http://www.recordati.com.tr/Urunler/127-metpamid%C2%AE-10-mg-tablet-ila%C3%A7-prospekt%C3%BCs/66/> Erişim tarihi: 14.05.2019).

4.2.2.3. Metoklopramid hidroklorürün farmakokinetik özellikleri

Oral uygulamadan 1 saat içinde plazmada maksimum konsantrasyona ulaşan metoklopramidin ortalama olarak 20,00 ve 40,00 mg dozlarından 1 saat sonra sırasıyla yaklaşık 40 ve 80 ng/mL konsantrasyona ulaşmaktadır. Ancak karaciğerde ilk geçiş etkisinden dolayı bireyler arasında farklılıklar olabilmektedir. Metoklopramidin oral yolla alımından 2 saat sonra, plazmadaki konsantrasyonunun aşırı yükselmesi durumunda, anne sütüne kolaylıkla geçebilmektedir. Oral dozun %80'i ya değişikliğe uğramadan ya da konjuge olarak 24 saat içinde atılmaktadır.

Atılma yarı ömrü sağlıklı bireylerde 2 ila 5 saat, orta şiddette böbrek yetmezliği olan hastalarda ise yaklaşık 14 saat olmaktadır (Harrington ve ark., 1983).

4.2.2.4. Metoklopramid hidroklorürün kullanım şekli ve yan etkileri

Metoklopramid 1960'lı yılların başlarında deneme metoduyla dopamin inhibitörü olarak geliştirilmiş olup ilk kullanımının ise J.Besancon tarafından 1964 yılında olduğu bildirilmiştir. 1968'lerde Avrupa'da çok yaygın bir şekilde, özellikle gebeliğe bağlı bulantı ve kusmalarda kullanıldığı bildirilmiştir.

Metoklopramid asıl olarak hamilelik esnasında oluşan bulantının tedavisi için geliştirilmesine rağmen, kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmada da etkili olduğu görülmüştür. Radyolojik uygulamalarda ince bağırsakların görüntülenmesi kolaylaştırdığı bildirilmiştir. 3. faz araştırma düzeyi olan burun içine uygulanan kemoterapi ilaçlarının neden olduğu bulantı da araştırıldığı bildirilmiştir. MCP'nin sesamid ve neu-sesamid formları santral sinir sistemi tümörü ve büyük hücreli akciğer kanserlerinin tedavisinde radyasyona duyarlı bir ajan olarak kullanıldığı bildirilmiştir. A.B.D. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından MCP'nin kullanımına 1979'da izin verildiği bildirilmiştir (Keşkül, 2006; Parlak, 2002).

Metoklopramid genellikle ameliyattan sonra oluşabilen bulantı ve kusmanın önlenmesinde kullanılmakla birlikte, migren tipi baş ağrısı, diyabetik mide tembelliği gibi çeşitli durumlarda etkin bir şekilde kullanıldığı belirtilmiştir. Acil servislerde bulantı-kusma tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardan biri olan metoklopramid, vertigonun tedavisinde de kullanılabilirdiği belirtilmiştir. Ağrı kesici, kusma önleyici ve peristaltik hareketleri arttırarak yemeklerin ince bağırsağa iletimini kolaylaştırıcı özellikleri olduğu bildirilmektedir. Dopamin inhibitörü olan MCP, lokal anestezi bir ilaç olan prokainamidin benzen halkasının 2. karbonuna metoksi aril grubu ve 5. karbonuna klor bağlanması ile oluşturulduğu belirtilmiştir. Yapısal olarak prokainamid ile benzer olmasına rağmen lokal anestezi ve ritim bozukluğunu önlemede bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Yıldız, 2017).

Kusma önleyici olarak, ameliyat sonrasında, radyasyona, kemoterapiye ve kronik böbrek yetmezliğine bağlı kusmalarda, endoskopi incelemelerinde, anestezi esnasında, auralı migren tedavisinde genellikle oral yolla günde 4 kez 10,00 mg aç karnına ve yatarken verilir (Reynolds, 1993).

Metoklopramid'in günlük dozunun 500 µg/kg'ı aştığı durumlarda bazı yan etkiler görülebilir. Bu yan etkilere uykusuzluk, halsizlik, ağızda ve ciltte kuruluk, düşük ya da yüksek tansiyon örnek verilebilir. Bununla birlikte aşırı hassasiyet reaksiyonları ve idrar yapmada zorlanma da olabilmektedir.

Sodyum bikarbonat, kloramfenikol ve sefalosporinlerle geçimsizlik gösterirken, cisplatin, metotreksat sodyum ve doksorubisin hidroklorür ile kullanıldığında ise ilacın derişimine, sıcaklığına ve pH'ına dikkat edilmesi gerekir (Gilman ve ark, 1991).

Revanasiddappa, hem saf hem de dozaj formlarında metoklopramid hidroklorür (MCP) ve dapson (DAP)' nin kantitatif tayini için hızlı, duyarlı ve seçici bir spektrofotometrik yöntem geliştirmiştir. Yöntem, bir alkalın ortam içinde yeni bir bağlama maddesi, dibenzoil metan ile ilaçların diazo birleştirme reaksiyonuna dayanmaktadır. Elde edilen renkli azo boyaları MCP'nin $2,85 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ konsantrasyonunda 440 nm'de, DAP'nin $1,71 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ konsantrasyonunda 470 nm'de maksimum absorpsiyon göstermiştir. Tüm değişkenler optimize edilmiştir. Yardımcı maddelerden hiçbir etkileşim gözlenmemiş ve yöntemin geçerliliği referans yöntemine karşı test edilmiştir (Revanasiddappa, 2001).

Wadher ve ark., parasetamol ve metoklopramid hidroklorürün tablet dozaj formundan eşzamanlı olarak tayin edilebilmesi için iki hızlı, doğru, basit ve ekonomik spektrofotometrik metot geliştirmişlerdir. Geliştirilen ilk yöntemde, denklemlerin oluşumu için iki dalga boyu olarak 248.6 nm ve 275.6 nm kullanılarak eşzamanlı denklemlerin oluşturulması ve çözülmesini kullanmışlardır. İkinci yöntemde ise, seçilen dalga boylarının izo-absorptif noktası olarak 265,6 nm ve parasetamolün max dalga boyu olarak 275.6 nm olduğu absorbans değerlerini kullanmışlardır. Hem ilaçlar hem de karışımlarının, belirli konsantrasyon aralıklarında seçilen dalga boylarında Lamberts-Beer yasasına uyduğunu ortaya

koymuşlardır. Yöntemler istatistiksel validasyon parametrelerine göre doğrulanmıştır (Wadher ve ark., 2008).

Royo ve ark., Metoklopramid hidroklorürü, bir akış enjeksiyon tertibatında, Bratton-Marshall yöntemi ile spektrofotometrik olarak belirlemişlerdir. Gereken nitrit, katı fazlı bir bakırlı kadmiyum reaktörü yardımıyla bir nitrat çözeltisini indirgemek suretiyle akış tertibatında on-line olarak hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafiği, saatte 51 numune üzerinden, % 0.89 bağıl standart sapma (RSD) ile 0,5–85 mg/L aralığında lineerdir. Yöntem kolay ve basittir ve bazı farmasötik formülasyonlarda metoklopramidin belirlenmesine uygulanmaktadır. Yöntemin kararsız nitrit çözeltilerinin sık sık hazırlanması ihtiyacını ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir (Royo, Romero ve Calatayud, 1998).

El-Gendy, Metoklopramidin saptanması için geliştirdikleri basit ve hassas spektrofotometrik yöntemde pi alıcılar olarak kloranil ve bromanil kullanılarak şarj-transfer komplekslerinin oluşumuna dayanarak tanımlamışlardır. Bu komplekslerin elektronik spektrumda yoğun absorpsiyon bantları sergilediğini ortaya koymuşlardır. Reaktiflerin komplekslerdeki moleküler oranlarını oluşturmuş ve maksimum yükleme-transfer bantlarına yol açan deney koşullarını da araştırmışlardır. Önerilen prosedürün saf örneklerle ve ilaç formülasyonlarına iyi bir hassasiyetle uygulandığını bildirmişlerdir. Önerilen yöntemin geçerliliği, standart ekleme tekniğine ek olarak farmakope yöntemiyle elde edilen sonuçlar ile karşılaştırmalı bir çalışmaya başvuruyla kontrol edilmiştir (El-Gendy, 1992).

Abdel-Gawad ve El-Guindi, geliştirdikleri iki spektrofotometrik yöntem, ilaç ve inorganik kompleksler, Mo (V) ve Co (II) tiosiyanatlar arasında iki farklı iyon çiftinin oluşmasını ve ardından sırasıyla diklormetan ve o-nitrotoluen ile ekstraksiyonunu içerir. İyon çifti oluşumu için optimum koşullar belirlemişlerdir. Yöntemler sırasıyla Mo (V) ve Co (II) tiosiyanatları kullanarak 1-20 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ve 20-240 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ konsantrasyon aralığında metoklopramid ve oksibuprokain hidroklorürlerin belirlenmesine izin verdiğini tespit etmişlerdir. İlacın Mo (V) veya Co (II) 'ye molar oranı, aşırı tiosiyanat konsantrasyonu varlığında çalışılan iki ilaç için 2: 1 oranını gösterdiğini tespit etmişlerdir. İlaç etken maddelerinin ve bunların

dozaj formlarının önerilen metotlarla analiz sonuçları resmi yöntemlerle elde edilenlerle iyi bir uyum içinde olduğunu bildirmişlerdir (Abdel-Gawad ve El-Guindi, 1995).

Shah ve ark., Metoklopramidin belirlenmesi için basit ve hızlı bir spektrofotometrik yöntem açıklamışlardır. Metot, bağlayıcı reaktif olarak nitrit ve anilin ile basit diazotizasyon reaksiyonlarına dayandığını belirtmişlerdir. Absorbans 410 nm olarak ölçülmüştür. Yöntemin asitlik, gereken reaktif miktarı ve sodyum hidroksit miktarı için optimize edildiğini bildirmişlerdir. Lineerlik aralığı 0.5–12.0 µg/mL bulunmuştur. Metot, farmasötik preparatlarda metoklopramidin ortak ekşiyanlardan herhangi bir şekilde etkilenmeden belirlenmesinde başarıyla uygulanmıştır (Shah, Resul ve Khan, 2005).

Chetana ve ark., Metoklopramid (MCP) ligandı olan yeni bir dizi kobalt (II) komplekslerinin termal kararlılık ve bozunma kinetiklerini, termogravimetrik analiz cihazı kullanarak ölçmüşlerdir. Komplekslerin iletkenliği ve element analizi yapılmıştır. Horowitz-Metzger, Coats-Redfern ve Broido yöntemlerini kullanarak Co(II)-MCP kompleksleri için termal bozunmanın her aşaması için kinetik parametreler elde etmişlerdir. Termal bozunma işlemi için komplekslerin aktivasyon enerjisi (E_a), sırasıyla Horowitz-Metzger, Coats – Redfern ve Broido yöntemleri için 31-168, 23-161 ve 33-170 kJ/mol aralığındadır (Chetana, Siddaramaiah ve Ramappa, 2005).

Güzel ve Salman, iki farklı tablet preparatındaki dapson ve metoklopramid HCl'in tayini için spektrofotometrik metot geliştirmişlerdir. Oda sıcaklığında gerçekleşen reaksiyonlar dapson için 9, metoklopramid HCl için 20 dakikada tamamlanmaktadır. Dapsonun maksimum absorbansı 548 nm ve metoklopramid HCl'nin ise 553 nm'de gözlenmiştir. Dapson için 4-12 µg/mL ve metoklopramid HCl için 4-24 µg/mL konsantrasyon aralıklarında doğrusallık elde edilmiştir. Molar absorbtiviteyi dapson için 3.12×10^3 ; metoklopramid HCl için 2.582×10^4 L.mol⁻¹.cm⁻¹ bulunmuştur. Dapson için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,04 µg/mL ve 0,13 µg/mL; metoklopramid HCl için ise sırasıyla 1,12 ve 3,74 µg/mL olarak bulunmuştur. Bildirilen metodun dapson veya metoklopramid HCl içeren tabletlerin

kalite kontrol ve rutin analizleri için uygun olduğu bildirilmiştir (Güzel ve Salman, 2007).

Shekho, metoklopramid hidroklorürün saf halde ve farmasötik olarak belirlenmesi için hızlı, doğru, hassas ve basit bir spektrofotometrik metot önermişlerdir. Metot metoklopramid hidroklorür ve seryum (IV) iyonu arasındaki oksidasyon - indirgeme reaksiyonuna dayanmaktadır, zira asidik ortamda seryum (III) ve arsenazo III reaktifinin sonraki reaksiyonunda üretilen, kararlı, suda çözünebilen mavi-mor kompleks 9.36×10^4 L/mol.cm'lik bir konsantrasyonda 654nm'de maksimum emilime sahiptir. Beer kanununa, metoklopramid hidroklorürün 25 ml'lik son hacminde 1-30 μg (0,04-1,2 ppm) konsantrasyon aralığında, bağıl standart sapma (RSD) ($\pm\%$ 1,80 -% 3,98), tespit limiti (LOD) 0.0095 $\mu\text{g/ml}$ ve kantitatif sınır (LOQ) 0.0317 $\mu\text{g/ml}$ değerlerinde uymaktadır. Metot, genellikle dozaj formlarında bulunan diğer bileşenlerin varlığında metoklopramid hidroklorür tayini için uygundur ve geri kazanım % 97.60-101.00 aralığında elde edilir. Önerilen yöntemin ilaç preparatlarında başarılı bir şekilde uygulanabildiğini bildirmişlerdir (Shekho, 2013).

Güzel, dapson, metoklopramid ve sisapridin yapısında bulunan amin grubundan schiff bazı oluşturarak miktar tayini yöntemi geliştirmiştir. Yöntem etkin maddelerin p-dimetilaminosinnamaldehyd ile tepkimeye sokulması ve oluşan renk şiddetinin ölçülmesine dayanır. Miktar tayini için en uygun tepkime koşulları dapson için; metanollü ortamda, pH 1 tampon çözeltisi kullanılarak ve oda sıcaklığında 9 dakika bekletilmesiyle, metoklopramid HCl için metanollü ortamda, 6 N hidroklorik asid kullanılarak ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletilmesiyle, sisaprid için ise metanollü ortamda, 6 N hidroklorik asid kullanılarak ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmesiyle oluştuğu belirlenmiştir. Oluşan rengin şiddeti sırasıyla 548, 553 ve 552 nm de ölçülmüş ve 6 deney üzerinden kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Oluşan renklerin her üç madde için de en az 1 saat dayanıklı olmasıyla yeterli ölçüm süresine sahip olunmuştur. Sisaprid için 4-24 $\mu\text{g/ml}$, dapson için 4-12 $\mu\text{g/ml}$, metoklopramid için 4-24 $\mu\text{g/ml}$ derişimlerde Beer kanununun geçerli olduğu saptanmıştır (Güzel, 2000).

4.3. Metaller

4.3.1. Bakır (Cu)

Doğada minerallerde ve kayaların yapısında bulunan bakır, insan vücuduna alınması zorunlu bir biyoelementtir. Bakır, vücuda solunan havayla, içilen sularla, yenilen gıdalarla ya da bakır içeren bileşiklerin cilde teması yoluyla alınabilir. Saç, kemik ve iç organlardan bazılarının yapısında bulunur. İnsan metabolizmasında biyokatalizör olarak birçok görevi vardır. Demirin kan dolaşımında hemoglobine bağlanmasında önemli bir rolü vardır. Memelilerin dokularında birikebilen ve dokulardaki derişimi kritik değerlere ulaştığında toksik etkiler gösterebilen bir element olarak bilinir. Vücutta bakır eksikliğinde ise, zeka gelişiminde bozukluk, kansızlık, cilt ve kemik rahatsızlıkları oluşabildiği belirtilmektedir. Bakırın, insan metabolizmasına bu etkilerinden dolayı tayin edilebilmesi çok önemlidir. Bu nedenle bakırın kantitatif olarak spektroskopik veya başka yüksek duyarlıklı analitik tekniklerden faydalanılarak tayinleri yapılmıştır (Özbolat ve Tuli, 2016).

4.3.2. Magnezyum (Mg)

Magnezyum, deniz ürünleri, et, lifli yeşil sebzeler ve tahıllarda bulunan önemli bir biyoelementtir. Magnezyum, metabolizmada birçok enzimin aktivitesinde, protein sentezinde, glikoz yıkımında ve hücre içi enerji metabolizmasında önemli fonksiyonlara sahip olduğundan eksikliği tıbbi açıdan önem taşır. Yeterli ve dengeli beslenenlerde eksikliği görülmemekle birlikte vücutta magnezyum eksikliğine başlıca diüretik ilaçlar, halsizlik, sindirim sistemi rahatsızlıkları ve kusma sayılabilir. Magnezyum eksikliğinin erken tanısında iştahsızlık, bulantı ve kusma görülebileceği belirtilmiştir. Magnezyum eksikliğinin yükselmesi durumunda, dikkat eksikliği ve şiddetli kas kasılmaları oluşabileceği belirtilmiştir. Bundan dolayı, vücuttaki magnezyum miktarının belirli bir seviyenin altına düşürülmemesi öneriliyor (Özgürtaş, 2002).

4.3.3. Çinko (Zn)

Bitki ve hayvanlarda önemli fizyolojik etkileri olan çinko, insan metabolizmasında demirden sonra en çok bulunan iz elementtir. KÜmes hayvanları, süt ürünleri, kabuklu deniz ürünleri ve tüm hububatta bolca bulunur. İnsan metabolizmasında 300 enzimin yapısında bulunan çinko, DNA senteziyle büyüme ve gelişmeye kadar çok sayıda metabolik faaliyete katılmaktadır. Vücut sıvısında da bulunabilen çinko proteinlerin yapısına destek sağlar ve hücrel metabolizmada önemli görevlere sahiptir. Özellikle antioksidan özelliği sayesinde bağırsak ortamında gerçekleşen sindirim reaksiyonlarında serbest radikallerin yol açabileceği hasarı engeller. Fazla alınması durumunda, vücuda toksik etkisi olabilen çinkonun eksikliğinde ise yaraların uzun sürede iyileşmesi, büyüme ve gelişme bozukluğu, tat ve koku duyusunda azalma gibi bozukluklar meydana gelebileceği belirtilmiştir (Akdeniz, 2016).

4.3.4. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum, plastik ve boya yapımında, batarya yapımında ve metal kaplamacılıkta kullanılan, insan metabolizmasında toksik etkileri bilinen bir ağır metaldir. Atmosferde biriken kadmiyum tozlarının yağmur suları ile tarım alanlarına karışması sonucu toprakta yetişen kerevizde, havuçta, yeşil sebzelerde, patatesten ve tahıllarda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Kabuklu deniz canlılarında, yabani birçok mantar türünde ve yumuşakçalarda da kadmiyum derişimi çok yüksektir. İnsan metabolizmasında bulunması gereken demir, bakır, kalsiyum, çinko, gibi biyoelementlerin yeterli düzeyde olmaması sonucu kadmiyum derişiminin arttığı belirtilmiştir. Metabolizmada kanda, idrarda, saç ve tırnakta bulunabilen kadmiyum anne sütüne geçebilmektedir. Hayvanlarla yapılan deneylerde kadmiyumun düşük konsantrasyonlarında dahi teması sonucu iskelet bozukluklarına, öğrenme güçlüğüne ve kemik kaybına yol açabildiği belirtilmiştir (Örün, 2011).

4.3.5. Kalsiyum (Ca)

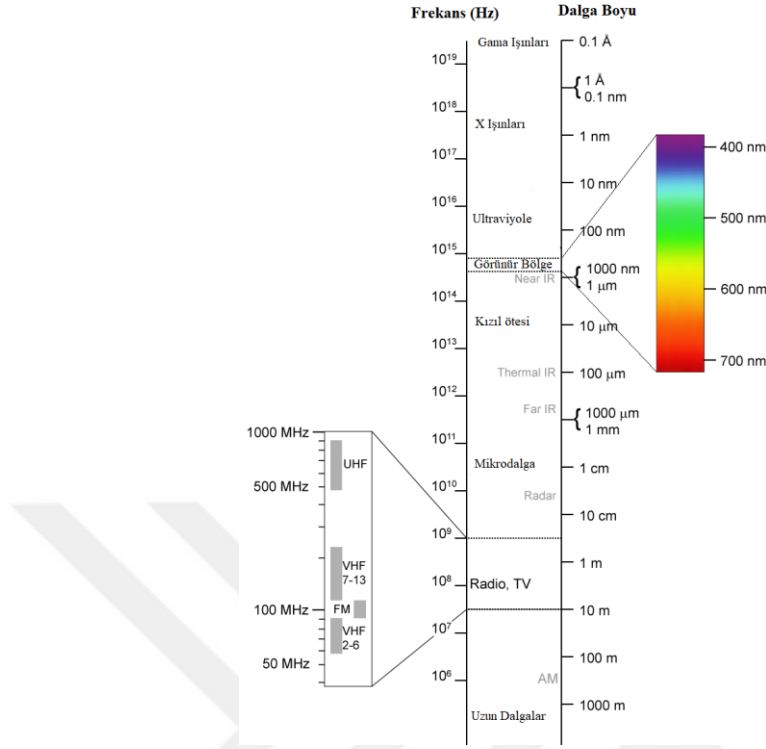
Kalsiyum, yetişkin bir insan ağırlığının yaklaşık kırkta birini oluşturur. Bu kalsiyumun büyük kısmı kemiklerde ve dişte bulunur. Kararlı Ca(II) iyonlarının temel fonksiyonu kemik mineralleşmesine katılmasıdır. Kemik sağlığı için gerekli bir vitamin olan D vitamininin, kalsiyumun vücutta emiliminin gerçekleşebilmesi için çok önemli bir rolü vardır. Fazla D vitamini kemik sertleşmesine ve kireçlenmelere yol açarken, eksikliğinde ise kemik mineralleşmesi bozularak özellikle büyüme evresindeki çocuklarda raşitizm, büyüklerde ise kemik yumuşaması, yaşlılarda ise kemik erimesi görülür. Kalsiyum bakımından zengin olan süt ürünlerinin, yumurta ve pekmez gibi besinlerin aşırı tüketilmesi durumunda ise, yüksek tansiyon, eklemlerde kireçlenme ve böbrek taşı oluşumuna neden olur (Kotan, 2010).

4.4. Işının Absorpsiyonu (Soğurulması) ve Spektroskopi

Madde ile ışının etkileşmesi sonucu oluşabilecek en önemli olay ışının soğurulmasıdır. Çeşitli dalga boylarında ışın içeren bir demet, saydam bir ortamdan geçirildiğinde, bazı dalga boylarına sahip ışınların kaybolduğu görülür. Işının absorplanması denilen bu olayda, belli dalga boylarındaki ışınların enerjisi maddeye geçer. Maddenin moleküllerinin, atomlarının, elektronlarının daha yüksek enerjili hale geçmesi ile sonuçlanan bu olaya “uyarılma” denir.

Çözünebilen bir maddenin nicel analizi, analizi yapılan maddenin ışını soğurma miktarından hesaplanarak yapılabilir. Temel hal ile uyarıldıktan sonraki enerji seviyesi farkı her maddede farklı olabileceğinden, her maddenin kendine has absorpsiyon spektrum bandı bulunmaktadır.

Sekil 3.'teki gibi çok geniş enerji veya dalga boyu aralığını kapsayan elektromanyetik dalga spektrumundaki ışınımlar; ışının türü, enerjisi, dalga boyu ve frekansı gibi özelliklere göre sınıflandırılır (Tunalı ve Özkar, 2011; Altınata ve ark., 1997).



Şekil 3. Elektromanyetik dalga spektrumu

Spektroskopi, ışın demeti ile madde arasındaki etkileşimlerin neticesinde maddenin soğurduğu ya da yayımladığı fotonların incelenerek maddenin iç yapısının aydınlatılmasını sağlayan bilim dalıdır (Erdik, 1998). Çok bileşenli karışımların kimyasal tayini, kısa sürede ve minimum hata ile spektroskopi yöntemlerinden faydalanılarak yapılabilmektedir.

Spektroskopik çalışmalarda, maddenin soğurduğu ya da yayımladığı ışınımların dalga boylarının tespiti için uygulanan işlemlere “spektrofotometri” denir (Sarıkaya, 2011; Tunalı ve Özkar, 2011).

4.4.1. Spektroskopik Yöntemler

4.4.1.1. Ultraviyole (UV) ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisi

Elektronik dalga spektrumunda, farklı dalga boyu ve enerjili ışının madde ile etkileşimi neticesinde molekülde elektronik geçişe neden olduğu bölgeye Uv- görünür bölge denir. Bu alana denk gelen ışının enerjisi, maddenin yapısındaki atomların değerlik elektronlarının uyarılmasına neden olur. Bu elektronik geçişi inceleyen moleküler absorpsiyon spektroskopisi sayesinde moleküllerin kantitatif olarak belirlenmesi ve moleküldeki fonksiyonel grupların incelenmesi mümkün kılınmaktadır.

UV bölgesi, uzak ultraviyole 10-200 nm, yakın ultraviyole 200-400 nm dalga boyu aralığında bulunurken, görünür bölge ise 400-800 nm dalga boyu aralığında bulunmaktadır. Genel olarak 190-900 nm dalga boyu aralığı UV ve görünür bölge olarak adlandırılır. Temelleri Lambert Beer Kanunu'na dayanan moleküler absorpsiyon spektroskopisinde, belirli bir ışık yolu kalınlığındaki çözeltilen geçen ışın demetinin absorbansı ya da geçirgenliği (transmittansı) 160-780 nm dalga boyu aralığında ölçülür.

$$T = \frac{I_{\text{çözeltili}}}{I_{\text{çözücü}}} = \frac{I_0}{I}$$

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot b \cdot C = A$$

$$-\log T = A$$

T: Transmittans (Geçirgenlik)

A: Absorbans

C: Çözeltinin derişimini ifade eder. Birimi mol.L⁻¹'dir.

I₀: Çözeltiyeye gelen ışın demetinin şiddetini ifade eder.

I: Çözeltiden çıkan ışın demetinin şiddetini ifade eder.

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısını ifade eder. Birimi $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 'dir.

b: Işığın geçtiği çözeltinin yolunu ifade eder. Birimi cm 'dir.

Ultraviyole ve görünür bölgedeki geçiş türleri:

- Koordinasyon bileşiklerinin d ve f orbitalleri arasında gerçekleşen geçişler.
- Organik moleküllerde ve koordinasyon bileşiklerinde gerçekleşen yük transferi geçişleri.
- Organik moleküllerde bulunan σ , π ve n moleküler orbitallerinin arasında oluşan soğurmalar:

$\pi \rightarrow \pi^*$ soğurması: Doymamış bileşiklerin yapısındaki π bağlarında bulunan elektronlar ile gerçekleşen soğurmadır.

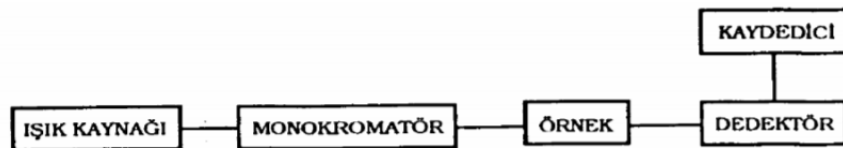
$n \rightarrow \pi^*$ soğurması: Doymamış bileşiklerdeki bağ oluşumuna katılmayan elektronlara sahip heteroatomlu yapılarda bulunan n elektronları ile gerçekleşen soğurmadır.

$n \rightarrow \sigma^*$ soğurması: Doymuş bileşiklerdeki bağ oluşumuna katılmayan elektronlara sahip heteroatomlu yapılarda bulunan n elektronları ile gerçekleşen soğurmadır.

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ soğurması: Doymuş bileşiklerde C-C ve C-H arasındaki σ bağlarındaki elektronlar ile gerçekleşen soğurmadır.

a-) Tek ışın yollu UV-Vis spektrofotometre

Bu spektrofotometreler genellikle ışık kaynağı, monokromatör ve dedektör olmak üzere üç kısımdan oluşur (Şekil 4.). Bu spektrofotometrelerde tek bir ışın demeti kullanılır. Ölçüm işlemleri ve sıfır ayarı ayrı ayrı yapılır. Basit ve ucuz olması tercih sebebi olmakla birlikte özellikle kantitatif tayinler için oldukça uygun cihazlardır.



Şekil 4. Tek ışın yollu UV-Vis spektrofotometrenin yapısı.

Işık kaynağı: UV ve görünür bölgede iki farklı ışık kaynağı kullanır. Döteryum lamba ile 185-390 nm aralığında tarama yaparken, tungsten lamba ile 350-800 nm aralığında tarama yapar.

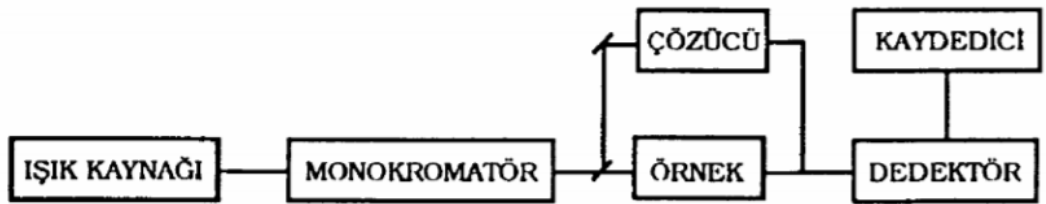
Monokromatör: Çeşitli dalga boylarından oluşan ışın demetini tek dalga boylu ışın demeti haline dönüştürmek için kullanılır. Kuvars malzemeli prizma kullanılır.

Dedektör: Maddenin ışığı soğurup soğurmadığını anlayabilmek için kaynaktan gelen ışığın şiddetini ölçmek için kullanılan bileşendir. Fotoelektrik tüp kullanılır.

b-) Çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometre

Bu spektrofotometrelerde oldukça zaman alıcı bir işlem olan 0 ve 100 ayarlaması yapılmaz. Monokromatörden çıkan ışık eşit şiddete sahip iki demete ayrılarak biri çözücünün bulunduğu kaba gönderilirken, diğer demet ise ölçülecek analite gönderilir. İkiye ayrılan ışın demeti iki ayrı dedektörde algılanarak, oluşan sinyallerin oranı ölçülür. Böylece örnekteki transmittans değeri, çözücünün transmittans değeri ile sürekli olarak kıyaslanmış olur. Çift ışın demetli spektrofotometrelerin en büyük avantajı voltaj değişiminden etkilenmemesi ve zaman tasarrufudur. Tek ışın demetli cihazlara göre daha karışık olan bu cihaza ait bileşenler basitçe şekil 5.'de gösterilmiştir

(http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Spektrofotometre.pdf Erişim tarihi: 18.05.2019; Saygılı, 2009).

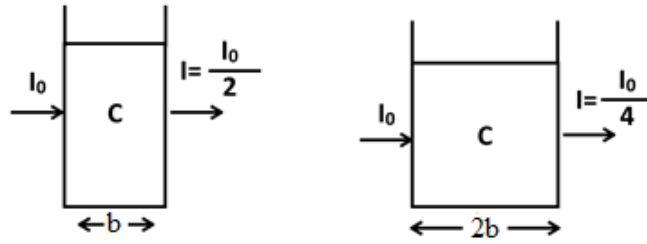


Şekil 5. Çift ışın yollu UV-Vis spektrofotometre yapısı

4.4.2. Absorpsiyon kanunları

4.4.2.1. Lambert kanunu

Monokromatik (tek dalga boylu) bir ışın demetinin şiddeti, çözeltinin bulunduğu ortamda aldığı yol ile logaritmik veya üstel olarak azalmaktadır. Bu durumun matematiksel ifadesi $I=I_0e^{-kb}$ şeklindedir.



Şekil 6. Şematik olarak Lambert Yasası'nın gösterimi

Şekil 6.'dan anlaşılacağı üzere, tek dalga boylu bir ışın demetinin şiddeti, yol uzunluğu b cm olan bir çözelti ortamından geçtiğinde yarı yarıya düşerken, çözelti ortamının yol uzunluğu $2b$ cm'e çıkarıldığında ise dörtte bir oranına düşmektedir.

- I_0 : Gelen ışın demetinin şiddetini ifade eder.
- I : Ortamdan çıkan monokromatik ışın demetinin şiddetini ifade eder.
- b : Çözeltinin bulunduğu ortamın kalınlığını ifade eder. Birimi cm'dir.
- k : Çözeltinin türüne ya da monokromatik ışın demetinin dalga boyuna bağlı sabit bir katsayıdır.

4.4.2.2. Beer kanunu

Soğurucu ortamı geçen tek dalga boylu ışın demetinin şiddeti ile çözeltinin konsantrasyonu logaritmik ya da üstel olarak ters orantılıdır. Bu durumun matematiksel ifadesi; $I=I_0e^{-kc}$ şeklindedir.

Lambert Kanunu'ndan farklı olarak, c konsantrasyonu ifade eder. Monokromatik bir ışın demetinin şiddeti, b ortam kalınlığında konsantrasyonu c olan bir çözeltiden geçirildiğinde ışın demetinin şiddeti yarıya düşerken, aynı ışın demeti, aynı ortam kalınlığında ancak konsantrasyonu 2c olan bir çözelti ortamına gönderildiğinde ise ışın demetinin şiddeti dörtte birine düşer. Bu ifade, Beer Kanunu olarak tanımlanır.

4.4.2.3. Lambert-Beer kanunu

Beer Kanunu'na ait eşitlik ile Lambert Kanunu'na ait eşitlik matematiksel olarak birleştirilirse;

$$\log \frac{I_0}{I} = a. c. b$$

eşitliği elde edilir.

Bu eşitliğe göre a molar absorptivite katsayısını ifade eder. Birimi $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ 'dir. Lambert-Beer Kanunu'na göre, tek dalga boylu bir ışın demeti b ortam kalınlığına sahip bir çözeltiye gönderildiğinde, ışın demetinin şiddeti çözeltinin konsantrasyonu ve ortam kalınlığı ile ters orantılı olacak şekilde değişir (Açıkalm, 1996).

4.4.3. Moleküler absorpsiyon ve emisyon

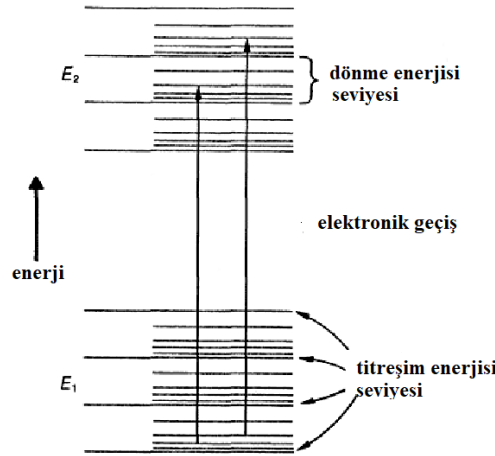
Moleküller de atomların uygun enerjiye sahip fotonlarla etkileşmesine benzer şekilde fotonları soğurarak uyarılırlar. Uyarılmış haldeki, yüksek enerjili ve kararsız moleküllerin fazla olan enerjilerini yayarak tekrar kararlı hale geçmesine moleküler

emiyon denir. Diatomik moleküllerin spektrum bantlarında veya soğurma hatlarında elektronik, dönme ve titreşim düzeylerindeki geçişler de yer alır. Buna göre, bir moleküle ait toplam enerji,

$$E_T = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{dönme}} + E_{\text{titreşim}}$$

eşitliği ile verilir. Moleküldeki bağlayıcı elektronlardan herhangi birinin fotonu absorplamasıyla, molekülün elektronik, dönme veya titreşim enerji düzeyleri değişebilir. Bundan dolayı, moleküler absorpsiyon spektrumu atomik absorpsiyon spektrumlarından farklı olarak, keskin spektrum hatları değil daha geniş spektrum bantlarına sahip olur. Böylece atomik absorpsiyon spektrumu ile atomik absorpsiyon spektrumu kolaylıkla ayırt edilebilir. Dönme enerjisindeki değişim, 10^{-13} - 10^{-14} sn aralığında, titreşim enerjisine ait değişim 10^{-14} sn, elektronik etkileşime ait değişim ise 10^{-15} sn gibi çok kısa sürelerde gerçekleşir (Gündüz, 2002;

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_\(Roberts_and_Caserio\)/09%3A_Separation%2C_Purification%2C_and_Identification_of_Organic_Compounds/9.09%3A_Electronic_Spectra_of_Organic_Molecules](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_(Roberts_and_Caserio)/09%3A_Separation%2C_Purification%2C_and_Identification_of_Organic_Compounds/9.09%3A_Electronic_Spectra_of_Organic_Molecules) Erişim tarihi: 18.05.2019).

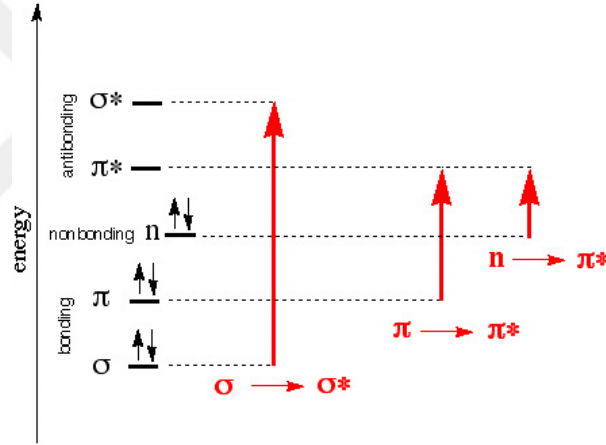


Şekil 7. Enerji seviyeleri ve elektronların geçişleri.

Moleküler orbitaller iki atomik orbitalin örtüşmesiyle oluşur. Elektronlar, bu moleküler orbitallere Hund Kuralı'na ve Pauli Dışlama İlkesi'ne göre dizilirler. Yani eş enerjili orbitallere önce birer tane elektron aynı spinli olarak yerleşirken, aynı

orbitale gelen ikinci elektron ise zıt spinli olarak yerleşir. Diatomik bir molekülde, farklı enerjiye sahip iki moleküler orbital oluşur. Bu orbitallerin az enerjili ve kararlı olanı bağlayıcı moleküler orbitaldir. Diğeri ise, atomik orbitallere göre yüksek enerjili ve kararsız antibağ moleküler orbitalidir.

İki atomun s orbitallerinin örtüşmesi ile bağlayıcı σ ile σ^* antibağ moleküler orbitaller oluşur. Bir p_x orbitalinin başka bir atomun p_x orbitali ile örtüşmesi sonucu ise enerjisi düşük ancak kararlı σ moleküler orbitali ile yüksek enerjili ve kararsız σ^* antibağ moleküler orbitalleri oluşur. Bir p_z orbitali ile başka bir atomun P_Y orbitalinin örtüşmesi ile π moleküler bağ orbitali ile π^* antibağ moleküler orbitali oluşur. Bununla birlikte moleküllerde bağ yapımına katılmayan serbest elektronların gösterimi ise n orbitali şeklindedir (Sarıkaya, 2011; Tunalı ve Özkar, 2011; Altınata ve ark., 1997; Uyar, Aksoy ve İnam, 2009; Kılıç, Köseoğlu ve Yılmaz, 2000).



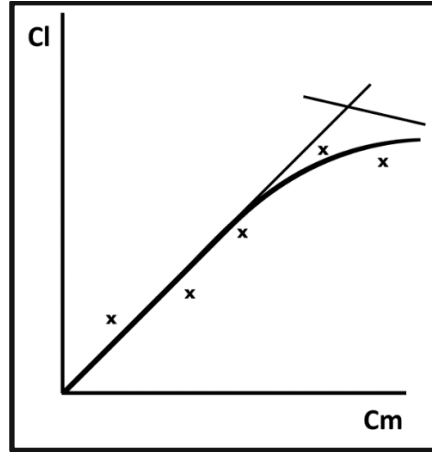
Şekil 8. Varsayımsal enerji diyagramı

4.5. Kompleks Stokiyometrisinin Tayini

Komplekslerin stokiyometrisinin belirlenmesi için, mol oran yöntemi ve sürekli değişimler yöntemi (Job yöntemi) kullanılmaktadır.

4.5.1. Mol oran yöntemi

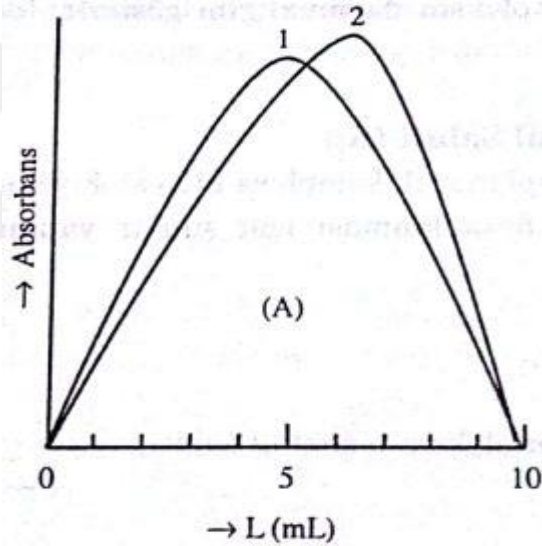
Bu metotta, metal iyonunun sabit derişimine karşı ligand derişimi belirli oranlarda değiştirilerek kompleks çözelti serisi hazırlanır. Bu kompleks çözeltilerin optimum dalga boyunda tek tek absorbansı ölçülür. Bu absorbans değerleri ile ligandın farklı konsantrasyon değerleri şekil 10.'daki gibi grafiğe geçirilir. Elde edilen grafikteki bükülme noktalarının her iki tarafından doğrular çizilerek birbirine doğru uzatılır ve kesiştirilir. Kesişim noktalarından apsise bir dikme indirilerek kesim noktasındaki C_L/C_M oranı bulunur. Bu oran, kompleksin stokiyometrik oranıdır (Bağdu, 2009).



Şekil 9. Mol oran yöntemi grafiği

4.5.2. Job yöntemi (Sürekli değişim yöntemi)

Spektrofotometrik ölçme işlemlerinde ışını soğuran bir B grubu metal katyonu kompleksinde bulunan metal / ligand oranı belirlenebilir. Bunun için ilk olarak bu kompleksin bir çözeltisi hazırlanır. Daha sonra, maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu belirlenir. Daha sonra, ligand ve metal iyonunun 0:10 ile 10:0 derişim oranları arasında bir dizi kompleks çözeltiler hazırlanır. Bu çözelti dizisinin her birinin absorpsanları, maksimum dalga boyunda ölçülür ve kaydedilir. Komplekslerdeki ligandin hacmi ile bulunan absorpsan değerleri şekil 11.'deki gibi grafiğe geçirilir. Bu grafikten elde edilen 1. eğri kompleks oranının 1:1 olduğunu, 2. eğri ise kompleks oranının 1:2 olduğunu ifade eder (Dölen, 2002).



Şekil 10. Job yöntemi ile kompleks bileşimi tayini

4.6. Validasyon (Yöntemin geçerlilik testleri)

Validasyon, elde edilecek ürünün veya sonucun, kullanılan yöntem veya cihazda meydana gelebilecek değişikliklerden sınırlı etkilendiğini; bu etkilerin belirli spesifikasyon limitlerinin içinde olduğunu göstermek amacıyla yapılan çalışmaların tümü olarak bilinir. Yöntem geçerlilik testleri ile sürekli aynı şartlarda ve kalitede üretim yapılması veya sonuç alınması sağlanmaktadır. GLP (İyi Laboratuvar Uygulamaları) kurallarından biri olan validasyon, değişkenliği en aza indirir, proseslerde sistematik bir veri akışı içerisinde ürünün ve sürecin kalitesini garantiler. Verimliliği de arttıran validasyon işlemleri sayesinde hatalar en aza indirilerek, tekrar üretim veya analiz maliyetinin azalması sağlanır. GLP kurallarına göre validasyon; temizlik validasyonu, ekipman validasyonu, proses validasyonu ve analitik yöntem validasyonu olmak üzere 4 başlıkta incelenir (Küçükkaraca, 2014).

4.6.1. Analitik Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, analiz edilecek analitin analizinde kullanılan yöntemde doğru sonuçlar elde edildiğini ve sistemin güvenilirliğini kanıtlamak için yapılması gereken testlerin tümüdür. Bu testlerin parametrelerinde bazı kurumlara göre farklılıklar olmakla birlikte bu parametreler literatürde ve uluslararası komitelerce tanımlanmıştır. Parametrelerin işlem sırası hakkında resmi bir yönerge olmadığından, yöntemin özelliğine göre işlem sırası değişebilir. Literatürde en çok kabul edilen analitik yöntem validasyonu parametreleri şu şekildedir (Savaş, 2019; HacıMustafa, 2019):

1. Doğruluk ve geri kazanılabilirlik
2. Doğrusallık ve ölçü eğrisi
3. Seçimlilik ve duyarlılık
4. Sağlamlık
5. Kararlılık

6. Kesinlik ve tekrarlanabilirlik
7. Çalışma aralığı
8. Tutarlılık
9. Miktar tayini alt sınırı (LOQ)
10. Teşhis sınırı (LOD)

4.6.1.1. Doğruluk ve geri kazanılabilirlik

Analitik bir yöntemin sonuçları ile gerçek değer arasındaki farkın uygunluğunun bir ölçüsü olan doğruluğun değerlendirilmesi için birçok yola başvurulabilir:

1. Örnek yöntem ile referans yöntem karşılaştırılarak yapılabilir.
2. Derişimi belli olan bir örnek analizi ile kontrol edilerek yapılabilir. Ölçülmüş doğru değer ile sertifikalı örnek karşılaştırılır.

Elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığının ölçülmesi % geri kazanım ile değerlendirilir. Sertifikalı standart örnek yoksa boş çözeltilere bilinen derişimde analit eklenir. Daha sonra aynı analit ekstraksiyon ile tekrar elde edilerek standart çözeltilere göre % geri kazanımı hesaplanır. Böylece boş çözeltilere ilave edilen analitin ne kadarının geri kazanılabildiği anlaşılmış olur. Analit derişimi büyük olduğunda geri kazanım limiti 100 ± 3 olmalı iken, analit derişimi çok düşük olduğunda ise bu limitler genişleyebilir.

4.6.1.2. Doğrusallık ve kalibrasyon eğrisi

En düşük ve en yüksek konsantrasyon aralığında bir seri çözeltiler hazırlanarak yöntemin doğrusal olduğu aralığın tespitine doğrusallık denir. Bu aralığın tespiti için etken maddenin konsantrasyonu % 25-150 aralığında olacak şekilde en az 5 farklı konsantrasyonda çözeltiler hazırlanır ve cihaza okutulur. Analit derişimi ile cihazın verdiği cevaplar grafiğe geçirilerek ölçü eğrisi oluşturulur ve regresyon analizi

yapılır. Ölçü eğrisinden elde edilen verilere göre, doğru eğimi ve her bir kesim noktasına ait standart sapmalar (s), korelasyon katsayısı (r^2), regresyon doğru denklemi ($y=mx+n$) hesaplanabilmektedir. Doğrusallığın matematiksel bir ölçüsü kabul edilen korelasyon katsayısı 0,997'den büyük ya da eşit olmalıdır (HacıMustafa, 2019; Ertaş ve Kayalı, 2005; Savaş, 2019).

4.6.1.3. Seçimlilik ve duyarlılık

Analitik yöntemin seçiciliği; girişim yapan maddelerin yanında analitin doğru ve hassas bir şekilde ölçülebilirliğinin göstergesidir.

Duyarlılık ise; kalibrasyon eğrisinin eğimi olarak bilinir ve test işleminin derişimindeki en küçük değişimleri kayıt etme kapasitesidir (Green, 1996; Lang ve Bolton, 1991).

4.6.1.4. Sağlamlık

Bir analitik yöntemin sağlamlığı, değişen küçük parametrelerden etkilenmemesi olarak tanımlanabilir. Analitik yöntemin parametrelerinden herhangi birinde değişiklik olmuşsa, yöntem için yeni bir validasyona ihtiyacının olup olmadığını gösterir. Sağlamlığı etkileyen bazı faktörler;

- Farklı laboratuvar,
- Farklı cihazlar,
- Farklı analist,
- Farklı ortam koşulları olabilir (Bakla, 2018; Ertaş ve Kayalı, 2005; Lavanya ve ark., 2012).

4.6.1.5 Kararlılık

Kararlılık, analit ile yardımcı maddelerin parçalanmasından sonra oluşan ürünlerin ve bu ürünlerin miktarlarının birbirinden ayrı şekilde tayin edilebilmesidir. Ayrı ayrı tespit edilse bile metot sonuçlarına herhangi bir negatif etki olmaması için analitin bozunmadan kaldığı süre belirlenmeli ve literatürdeki sonuçlar ile kıyaslanmalıdır (Mazı, 2018; Kılıç ve Yılmaz, 2004).

4.6.1.6. Kesinlik ve tekrarlanabilirlik

Bir analitik yöntemde kullanılan cihazda peş peşe enjeksiyon yapıldığında, elde edilen analiz sonuçlarının birbirine yakınlığı yöntemin kesinliğini gösterir. Elde edilen sonuçların % bağıl standart sapma değeri (%RSD) yöntemin kesinliğini ifade eder. Kesinlik için kabul edilebilir değer ilaç analizlerinde %2'den küçük iken, gıda ve çevre analizleri için ise değişkenlere bağlı olarak, %2 ile %20 arasında bir değerde olabilmektedir.

a. Gün içi tekrarlanabilirlik

Aynı laboratuvarında, aynı analistin, aynı ekipman ile kısa sürede yaptığı analizin sonuçlarının tutarlılığıdır. 2 ya da 3 farklı konsantrasyonda aynı standartlarla hazırlanan çözeltilerin 3 ya da 4 kere yapılan analizinin %RSD'si hesaplanır.

b. Günler arası tekrarlanabilirlik

Aynı analistin, aynı laboratuvarında, aynı ekipman ile farklı günlerde yaptığı analizin sonuçlarının tutarlılığıdır. 2 ya da 3 farklı konsantrasyonda aynı standartlarla hazırlanan çözeltilerin, farklı günlerde, 3 ya da 4 kere yapılan analizinin %RSD'si hesaplanır.

c. Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik

Farklı laboratuvarlarda, farklı çevresel şartlarda, farklı analist ile ancak aynı yöntemin analiz sonuçlarının tutarlılığıdır. Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği etkileyen etmenler; sıcaklık ve nem farkı, analistin tecrübesi ve gayreti, malzeme

koşullarının çeşitliliği, farklı üreticilerden temin edilen kimyasallar, farklı özelliklerdeki donanım sayılabilir (Demir, 2017; Mazı, 2018; Behera ve ark., 2012).

4.6.1.7. Çalışma aralığı

Doğruluk, kesinlik ve doğrusallık testleri yapılırken kullanılan analitik yöntemin çalışma aralığıdır. Örneğin analizindeki derişim yöntemin çalışma alt ve üst sınırlarını belirler (HacıMustafa, 2019).

4.6.1.8. Tutarlılık

Aynı analiz yönteminin uzun bir süre sonra, farklı bir analist tarafından farklı koşullarda uygulanarak, yöntemin uzun zamandan dolayı ve farklı koşullarda oluşan değişikliklerden etkilenip etkilenmediğinin ölçülmesi tutarlılık olarak ifade edilir (Savaş, 2019).

4.6.1.9. Miktar tayini alt sınırı (LOQ)

Numune içindeki analitin uygun kesinlik ve doğruluk ile tayin edilebilen en düşük derişim miktar tayini alt sınır değeri olarak ifade edilir. Miktar tayini alt sınırı genellikle %95 ya da %99 güvenilirlik sınırı içinde ölçülebilen minimum madde miktarı olmakla birlikte yöntemlerin özelliklerine göre farklı yollarla belirlenmektedir. Özellikle, safsızlıkların veya parçalanma ürünlerinin tespit edilebilmesi için kullanılır (Sentürk, 2013).

4.6.1.10. Teşhis sınırı (LOD)

Bir analitik yöntemin teşhis sınırı, bir analit numunesinde tespit edilebilen fakat tam bir kantitatif değeri olmayan en düşük analit derişimidir. Teşhis sınırı kullanılan yöntemin özelliklerine göre farklı yollarla belirlenmektedir. Görsel olarak değerlendirilebileceği gibi özellikle kromatografik yöntemlerde, pik yüksekliği / gürültü yüksekliği oranının 3 olduğu konsantrasyon teşhis sınırı olarak değerlendirilmektedir (Lavanya ve ark., 2012; Kılıç ve Yılmaz, 2004).



5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

5.1.1. Kullanılan cihazlar

Deneysel çalışmalarda aşağıda belirtilen cihazlar kullanıldı.

- Çift ışın yollu Shimadzu UV-2550 spektrofotometre
- Mettler Toledo Mp-220 pH metre
- GLF-2004 marka saf su cihazı
- Scaltec Sba31 analitik terazi
- Hassas terazi
- HP deskjet 3000 yazıcı
- Vorteks

5.1.2. Kullanılan kimyasallar

İlaç etkin maddelerinin metallerle meydana getirdiği kompleks stokiyometrisinin tayininde yüksek analitik saflığa sahip metal tuzları ile metoklopramid hidroklorür monohidrat ve rizatriptan benzoat kullanıldı.

Tablo 1. Deneysel çalışmada kullanılan kimyasallar

Kullanılan kimyasallar	Üretici firma	Safılık derecesi
Rizatriptan benzoat	Sigma	% 99
Metoklopramid hidroklorür monohidrat	Sigma	%99
Metanol	Merck	% 99
Kadmiyum(II) nitrat tetrahidrat	Merck	%99
Bakır(II) nitrat trihidrat	Merck	% 99
Çinko (II) nitrat heksahidrat	Merck	% 99
Kalsiyum (II) nitrat tetrahidrat	Merck	% 99
Magnezyum(II) nitrat heksahidrat	Merck	%99

5.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Stok Çözeltilerin Hazırlanması

5.2.1. Rizatriptan benzoatın $5,0 \times 10^{-3}$ M stok çözeltisi

Deneysel işlemlerde kullanılacak ligantlardan rizatriptan benzoat çözeltisi için, 0.0978 g RB standardı tartıldı. Daha sonra ultra saf su ile çözündürülüp 50mL'lik balon jodede ultra saf su ile limit çizgisine tamamlanarak hazırlandı. Hazırlanan bu ana stok çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak RB'nin $5,0 \times 10^{-5}$ M çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.2. Metoklopramid hidroklorürün $5,0 \times 10^{-3}$ M stok çözeltisi

Deneysel işlemlerde kullanılacak diğer ligant olan metoklopramid hidroklorür çözeltisi için, 0.0886 g metoklopramid hidroklorür monohidrat standardı tartıldı. Daha sonra ultra saf su ile çözündürülüp 50,0 mL'lik balon jodede ultra saf su ile limit çizgisine tamamlanarak hazırlandı. Hazırlanan bu ana stok çözeltisinden uygun

seyreltmeler yapılarak metoklopramid hidroklorürün $5,0 \times 10^{-5}$ M çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.3. Stok kalsiyum (II) çözeltisi

Hassas terazide 0,0590 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tuzu tartıldı. Tartılan metal tuzu 50,0 mL'lik bir balon jøjeye ultra saf su ile çözündürülerek alındı. Limit çizgisine ultra saf su ile tamamlanarak $5,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'nun stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'nun $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.4. Stok kadmiyum (II) çözeltisi

Hassas terazide 0,0770 g $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tuzu tartıldı. Tartılan metal tuzu 50,0 mL'lik bir balon jøjeye ultra saf su ile çözündürülerek alındı. Limit çizgisine ultra saf su ile tamamlanarak $5,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'nun stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'nun $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.5. Stok bakır (II) çözeltisi

Hassas terazide 0,0605 g $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tuzu tartıldı. Tartılan metal tuzu 50,0 mL'lik bir balon jøjeye ultra saf su ile çözündürülerek alındı. Limit çizgisine ultra saf su ile tamamlanarak $5,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'nun stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 'nun $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.6. Stok magnezyum (II) çözeltisi

Hassas terazide 0,0640 g $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ tuzu tartıldı. Tartılan metal tuzu 50,0 mL'lik bir balon jøjeye ultra saf su ile çözündürülerek alındı. Limit çizgisine ultra saf su ile tamamlanarak $5,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'nun stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'nun $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.2.7. Stok çinko (II) çözeltisi

Hassas terazide 0,0745 g $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ tuzu tartıldı. Tartılan metal tuzu 50,0 mL'lik bir balon jøjeye ultra saf su ile çözündürülerek alındı. Limit çizgisine ultra saf su ile tamamlanarak $5,0 \times 10^{-3}$ M konsantrasyonda $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'nun stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 'nun $5,0 \times 10^{-5}$ M konsantrasyondaki çalışma çözeltisi hazırlandı.

5.3. Kompleks Oluşumunun En Uygun Koşullarının Belirlenmesi

Metoklopramid hidroklorür ve rizatriptan benzoat ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal iyonları arasında oluşan komplekslerin bileşiminin belirlenmesinin amaçlandığı deneysel işlemler şu şekilde gerçekleştirildi.

Analiz için en uygun konsantrasyonu belirlemek amacıyla ilaç etkin maddelerinin (MCP ve RB'nin) hazırlanan ilk stok çözeltilerinin ($5,0 \times 10^{-3}$ M) 190-400 nm dalga boyu aralığında şahit deney çözeltisine karşı spektrumu alındı. Elde edilen absorbans değerine göre, $5,0 \times 10^{-3}$ M MCP ve RB çözeltilerinden uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm aralığında spektrumları alındı. Elde edilen absorbans değerlerine göre çalışma çözeltilerinin konsantrasyonu $5,0 \times 10^{-5}$ M olarak tayin edildi.

Metoklopramid hidroklorürün metal iyonlarıyla oluşturduğu komplekslerin stokiyometrisini belirleyebilmek amacıyla en uygun dalga boyu belirleme çalışmaları yapıldı. İlk olarak, $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ MCP çözeltisi 5 deney tüpüne aktarıldı. Daha sonra, tüplere sırasıyla $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ konsantrasyondaki Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal katyonu çözeltilerinden ilave edildi. Kapakları kapatılan farklı metal iyonları içeren her bir tüp yaklaşık 5 dakika vorteksle karıştırıldı. Daha sonra, sırasıyla her bir tüpteki çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Absorbansları ölçülen kompleks çözeltilerin optimum dalga boyları da belirlendi. RB için de aynı işlemler aynı sıra ile yapıldı. İlk olarak, rizatriptan benzoatın $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ 'lık çalışma çözeltisi 5 deney tüpüne aktarıldı. Daha sonra, her bir deney tüpüne sırasıyla $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ konsantrasyondaki Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal katyonu çözeltileri ilave edildi. Kapakları kapatılan her bir tüp yaklaşık 5 dakika vorteksle karıştırıldı. Daha sonra, sırasıyla her bir tüpteki çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. Absorbansları ölçülen kompleks çözeltilerin optimum dalga boyları da belirlendi.

Metoklopramid hidroklorürün LOD (ölçüm sınırı) ve LOQ (tayin sınırı) değerlerinin belirlenmesi için farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı ve şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm dalga boyu aralığında absorbansları ölçüldü ve ölçümler kaydedildi. Bu hazırlanan çözeltilerden 3 farklı konsantrasyon için ölçümler gün içi ve günler arası 3'er kez tekrarlandı.

Benzer şekilde, rizatriptan benzoatın LOD (ölçüm sınırı) ve LOQ (tayin sınırı) değerlerinin belirlenmesi için farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Şahit deney çözeltisine karşılık 190-400 nm dalga boyu aralığında absorbansları ölçüldü ve kaydedildi. Bu hazırlanan çözeltilerden 3 farklı konsantrasyon için ölçümler gün içi ve günler arası 3'er kez tekrarlandı.

5.3.1. pH

Optimum pH belirleme çalışması için öncelikle, $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ MCP ve $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ RB ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal iyonlarının $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ konsantrasyondaki karışımları hazırlanarak beherlere aktarıldı. pH metre ile bu kompleks çözeltilerin pH'sına bakıldı. Ölçümler sonucu MCP ile metal iyonları arasında oluşan kompleksler için pH 5,72 iken, RB ile metal iyonları arasında oluşan kompleksler için ise, pH 7,03 olarak belirlendi.

5.3.2. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi

MCP ile ayrı ayrı Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) komplekslerinin stokiyometrisi için mol oran metodu kullanıldı. Bu amaçla, $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimindeki her bir metal katyonu çözeltisi ve $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ MCP çözeltileri hazırlandı. Deney tüplerine MCP'nin Ca(II) metal katyonuna hacim oranı 0-2,5 aralığında bir dizi standart kompleksleşme çözeltileri hazırlandı. Ağzı kapatılan tüplerdeki çözeltiler yaklaşık 5 dakika kadar vorteksle karıştırıldı ve belirlenen optimum dalga boyunda tüpteki kompleks çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı absorbansları ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri ve ligant/metal mol oranlarından bir grafiğe elde edildi. Bu grafikten bölüm 4.5.1.'de anlatıldığı gibi kompleksin stokiyometrisi belirlendi. Diğer metal iyonları için de benzer işlemler aynı şartlar altında gerçekleştirildi.

RB ile ayrı ayrı Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) komplekslerinin stokiyometrisi de benzer işlemler aynı şekilde uygulanarak belirlendi. Bu amaçla, $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ derişimindeki her bir metal katyonu çözeltisi ve $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ RB çözeltileri hazırlandı. Deney tüplerine RB'nin Ca(II) metal katyonuna hacim oranı 0-2,5 aralığında bir dizi standart kompleksleşme çözeltileri hazırlandı. Ağzı kapatılan tüplerdeki çözeltiler yaklaşık 5 dakika kadar vorteksle karıştırıldı ve belirlenen optimum dalga boyunda tüpteki kompleks çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı absorbansları ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri ile ligant/metal mol oranlarından elde edilen grafikten bölüm 4.5.1.'de anlatıldığı gibi kompleksin stokiyometrisi

belirlendi. Diğer metal iyonları için de benzer işlemler aynı şartlar altında gerçekleştirildi.

5.4. Metoklopramid Hidroklorürün Plasebo Tabletteki Geri Kazanımı

MCP'nin plasebo tabletteki geri kazanımının hesabı için, öncelikle $5,0 \times 10^{-5} \text{M}$ MCP çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiden pipet ile 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 mL alınarak 5,0 mL'lik ölçülü balon jodelere aktarıldı ve ultra saf su ile son hacimlerine tamamlandı. 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan tüm çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm dalga boyu aralığında, üçer kez absorbansları ölçüldü ve ortalama absorbanslar hesaplandı. Bulunan ortalama absorbans değerleri ile konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek ölçü eğrisi oluşturuldu. Ölçü eğrisi üzerinde regresyon doğru denklemi hesaplatıldı.

MCP'nin plasebo tabletten geri kazanımı için 5 adet Metpamid tablet tartılarak ortalama 1 tabletin ağırlığı hesaplandı. İçinde ilaç etkin madde olmadan yardımcı maddelerden eşit ağırlıkta ortalama 15 tablet ağırlığında bir plasebo hazırlandı. 5 tabletteki metoklopramid hidroklorür monohidrat ilaç etkin maddesinin %80, %100 ve %120'sine eşdeğer miktarlarda ilaç etken madde ayrı ayrı tartılarak, üzerlerine 5 tabletin ağırlığına tamamlanacak şekilde plasebodan tartıldı ve karıştırıldı. Toz haline getirilen karışımlardan ayrı ayrı ortalama 1 tablet ağırlığı tartılarak, 100,0 mL'lik ölçülü bir balon jodeye aktarıldı ve ultra saf su ile çözündürüldü. 100,0 mL'ye ultra saf su ile tamamlanan karışımlar siyah bant süzgeç kağıdı ile süzüldü. Süzülen karışımlardan 5,0'er mL alınarak 50,0 mL'lik ölçülü balon jodelere aktarıldı. Ultra saf su ile son hacme tamamlanan çözeltilerin üç defa absorbansı ölçüldü ve %80, %100 ve %120 için absorbans değerlerinin ortalaması alındı. Bulunan ortalama absorbans değerleri, daha önce ölçü eğrisinde hesaplatılan regresyon doğru denkleminde yerlerine konularak, her bir plasebo tabletteki MCP'nin konsantrasyonu bulundu. Bulunan değerler aşağıdaki eşitlikte kullanılarak, MCP hidroklorür monohidrat miktarı belirlendi ve geri kazanım eşitliğinden MCP'nin %80, %100 ve %120 düzeyinde geri kazanımı hesaplandı.

$$n \text{ (mg)} = (C \text{ mol/L}) \times (\text{Molekül ağırlığı}) \times (100,0 \text{ mL}) \times (50 \text{ mL} / 5 \text{ mL}) = \dots \text{ mg}$$

$$\% \text{ geri kazanım} = (\text{Bulunan MCP hidroklorür monohidrat miktarı}) / (\text{Tartılan MCP hidroklorür monohidrat miktarı}) \times 100$$

5.5. Rizatriptan Benzoatın Plasebo Tabletteki Geri Kazanımı

RB'nin plasebo tablette geri kazanımı hesabı için, ilk olarak $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ RB çözeltisi hazırlandı. Daha sonra, bu çözeltilerden alınan 0,5, 2,5, 5,0, 7,5 mL hacimler, 10,0 mL'lik ölçülü balon jöjelere aktarıldı ve ultra saf su ile son hacimlerine tamamlandı. 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan tüm çözeltilerin şahit deney çözeltisine karşı 190-400 nm aralığında, üçer kez absorbansları ölçüldü ve ortalama absorbanslar hesaplandı. Bulunan ortalama absorbans değerleri ile konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek ölçü eğrisi oluşturuldu. Ölçü eğrisi üzerinde regresyon doğru denklemi hesaplatıldı.

Rizatriptan benzoat'ın plasebo tabletten %100 geri kazanımı için 5 adet Maxalt tablet tartılarak ortalama 1 tablet ağırlığı hesaplandı. 5 tablet ağırlığına denk gelen etkin madde ile plasebo tartıldı ve havanda iyice karıştırıldı. Toz haline getirilen karışımdan ortalama 1 tablet ağırlığı tartılarak, 100,0 mL'lik ölçülü bir balon jöjeye alındı ve ultra saf su ile çözündürülmesi sağlandı. Ultra saf su ile 100,0 mL'ye tamamlanan karışım siyah bant süzgeç kağıdı ile süzüldü. Süzülen bu karışımdan 5,0 mL alınarak 25,0 mL'lik balon jöjeye aktarıldı. Ultra saf su ile son hacme tamamlanan karışımın 190-400 nm aralığında üç defa absorbansı ölçülerek absorbans ortalaması alındı. Bulunan ortalama absorbans değeri daha önce ölçü eğrisinden hesaplanan regresyon doğru denkleminde kullanılarak RB'nin konsantrasyonu bulundu. Aşağıdaki eşitlik ile RB'nin geri kazanımı hesaplandı.

Benzer işlemler RB'nin %80 ve %120 geri kazanımı için yapıldı. Bunun için ilaç etkin maddesinin tablet ağırlığının %80'i ve %120'si için tartım yapılarak ortalama tablet ağırlığına plasebo ile tamamlandı. Diğer işlemler sırasıyla RB'nin %100 geri kazanımında olduğu gibi tekrarlandı. Elde edilen sonuçlar ile aşağıdaki eşitlikten RB'nin %80 ve %120 geri kazanımı hesaplandı.

$$n \text{ (mg)} = (C \text{ mol/L}) \times (\text{Molek\u00fcl a\u011frılı\u011fı}) \times (100,0 \text{ mL}) \times (25 \text{ mL} / 5 \text{ mL}) = \dots \text{ mg}$$

$$\% \text{ geri kazanım} = (\text{Bulunan RB miktarı}) / (\text{Tartılan RB miktarı}) \times 100$$

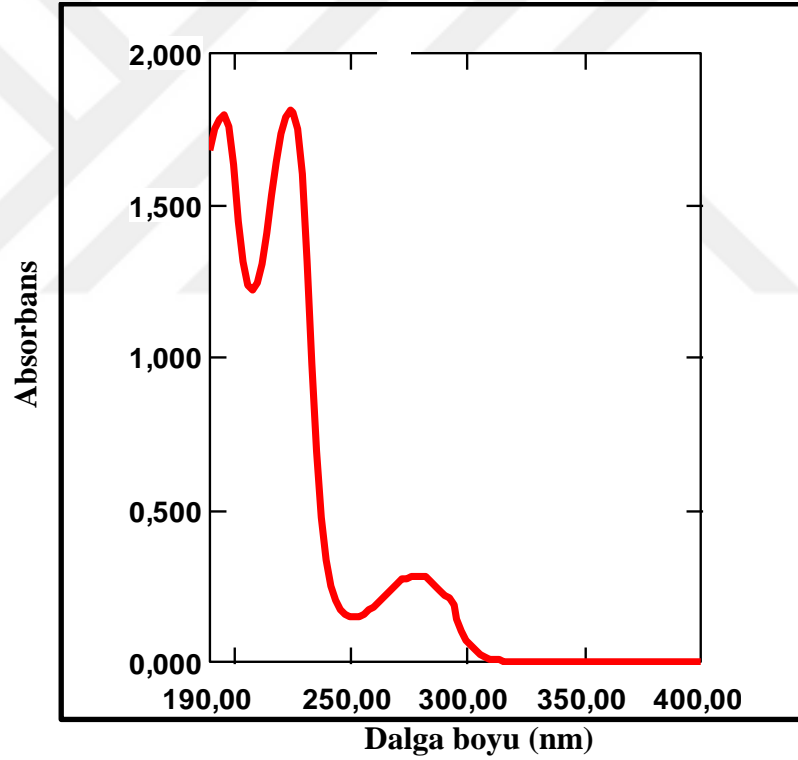


6. BULGULAR

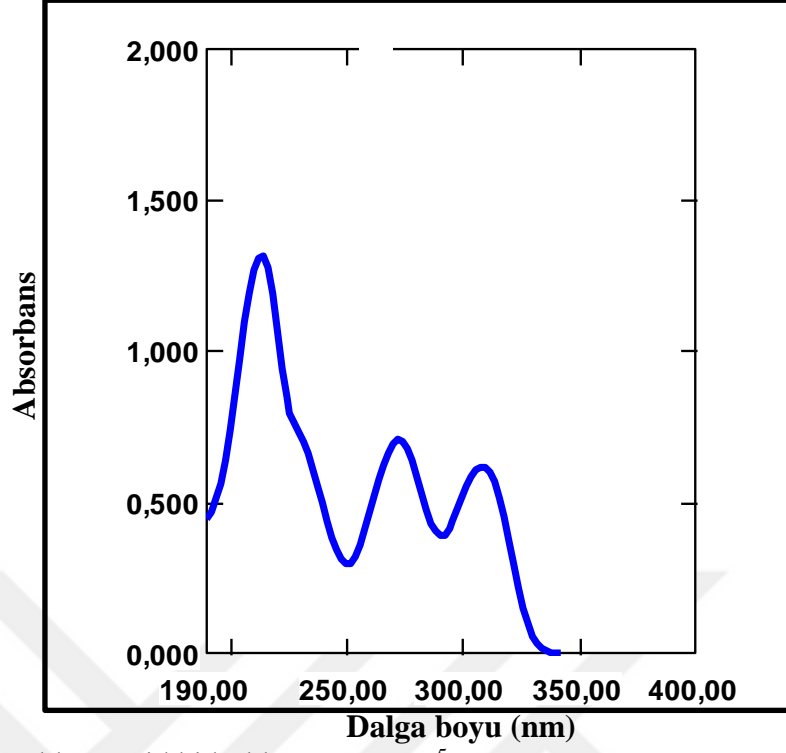
6.1. Kompleks Oluşumunun En Uygun Deneş Koşullarının Belirlenmesi

6.1.1. RB, MCP ve ligand-metal karışımlarının spektrumları

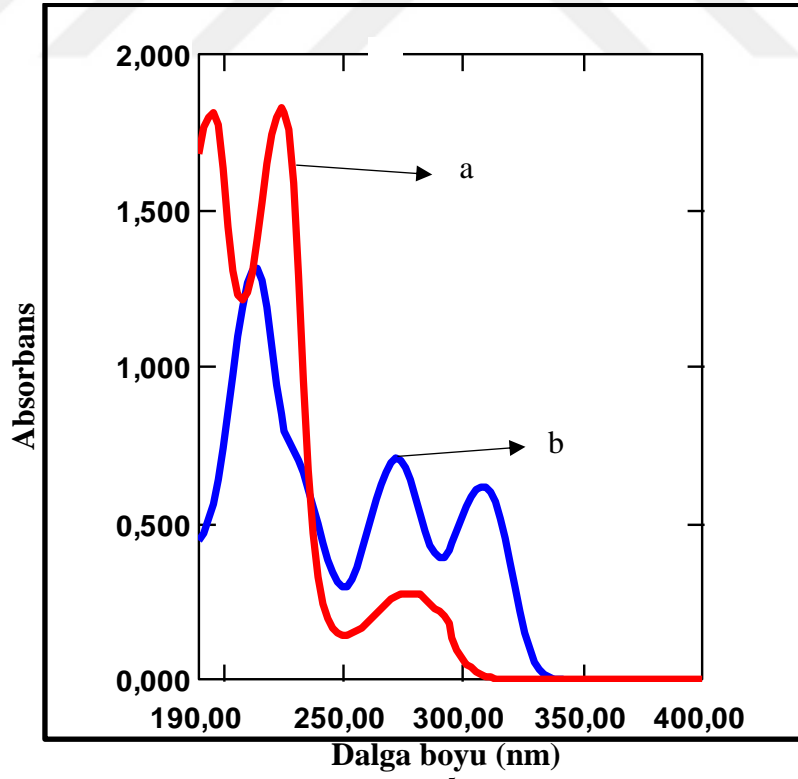
Bölüm 5.3.'te anlatıldığı gibi, ilk olarak hazırlanan çalışma çözeltilerinin 190-400 nm aralığında şahit deneş çözeltisine karşı spektrumları alındı.



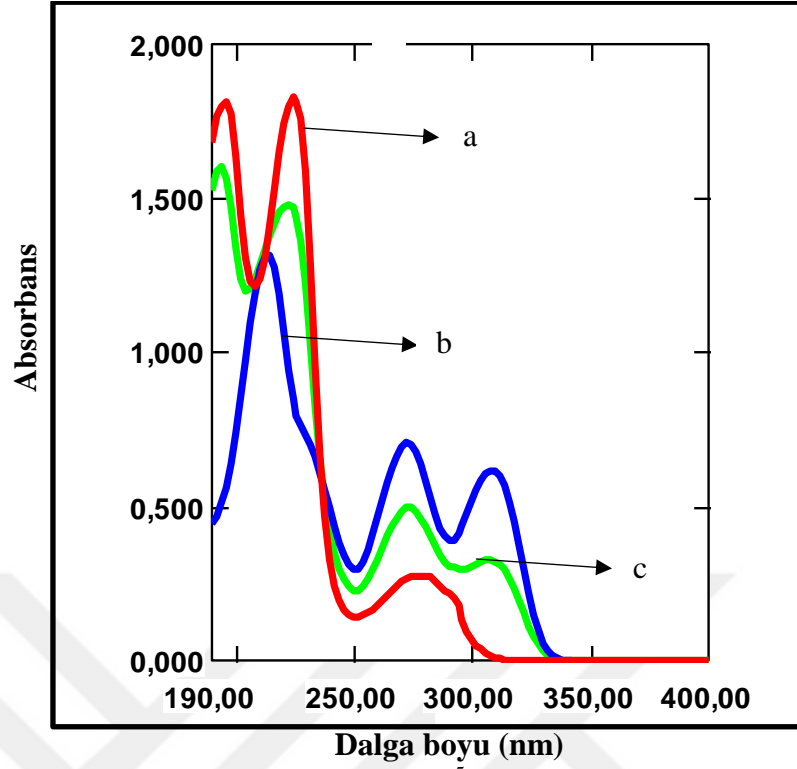
Şekil 11. Rizatriptan benzoatın ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu



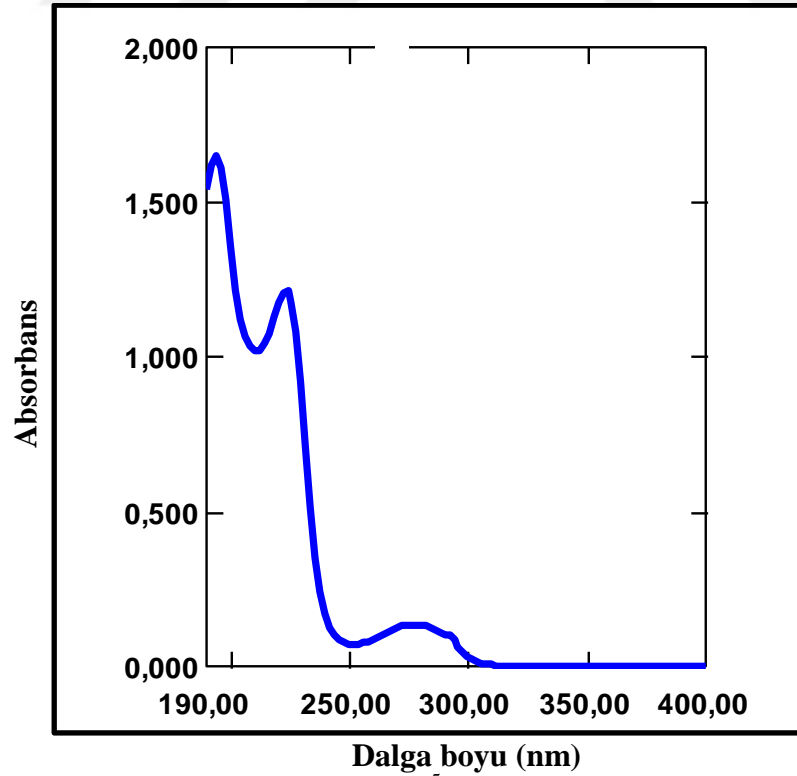
Şekil 12. Metoklopramid hidroklorür ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu



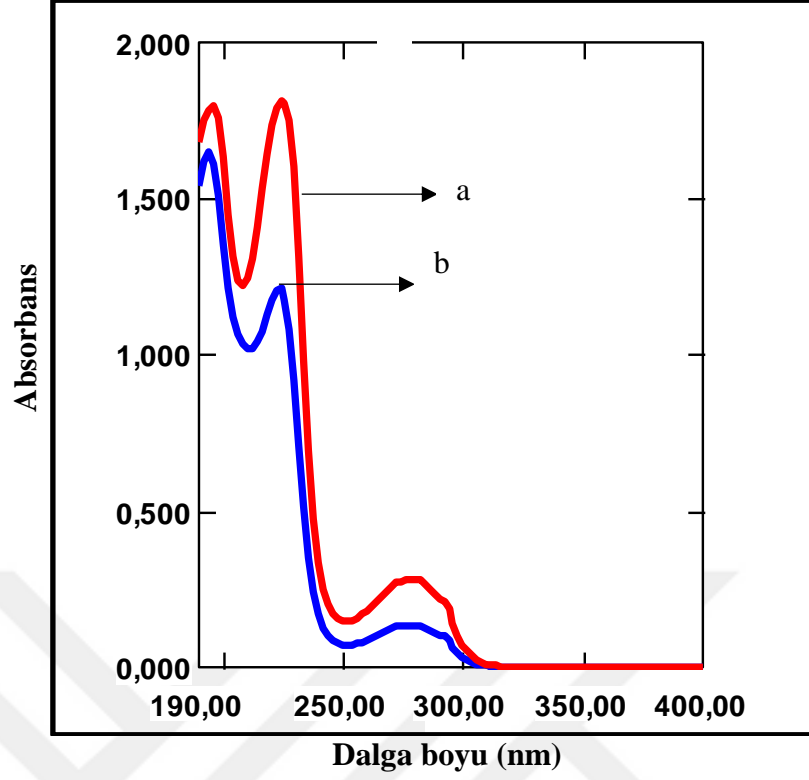
Şekil 13. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu, b) Metoklopramid hidroklorür ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu



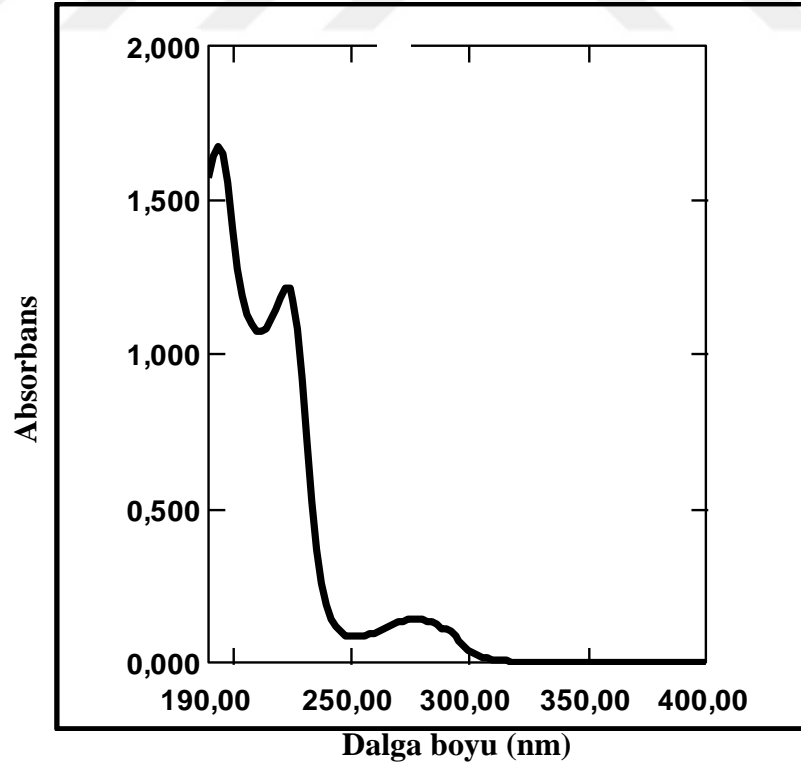
Şekil 14. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu, b) Metoklopramid hidroklorür ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu, c) RB ($5,0 \times 10^{-5}$ M)–MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımı spektrumu



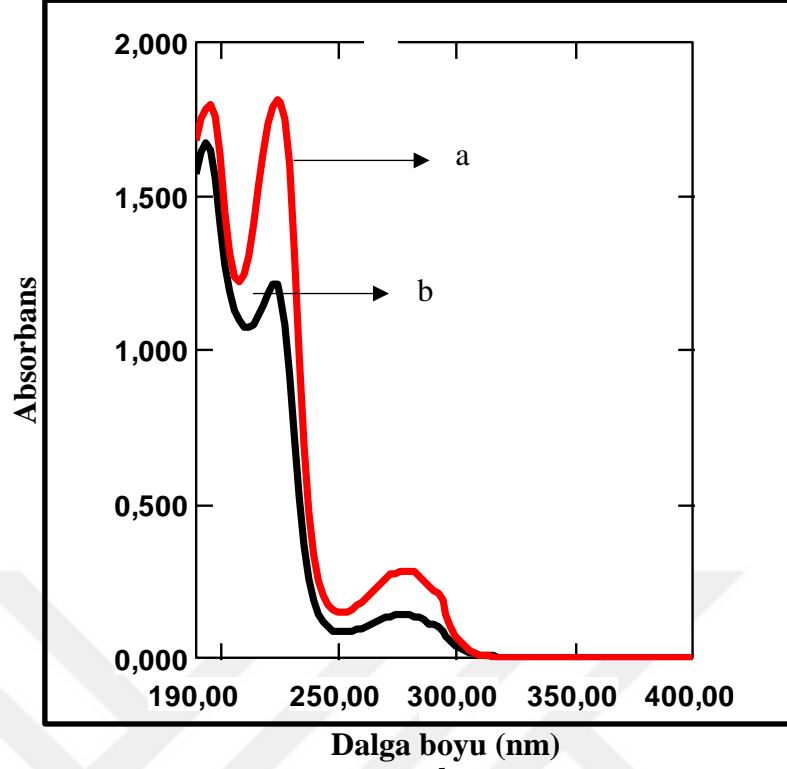
Şekil 15. Rizatriptan benzoat-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



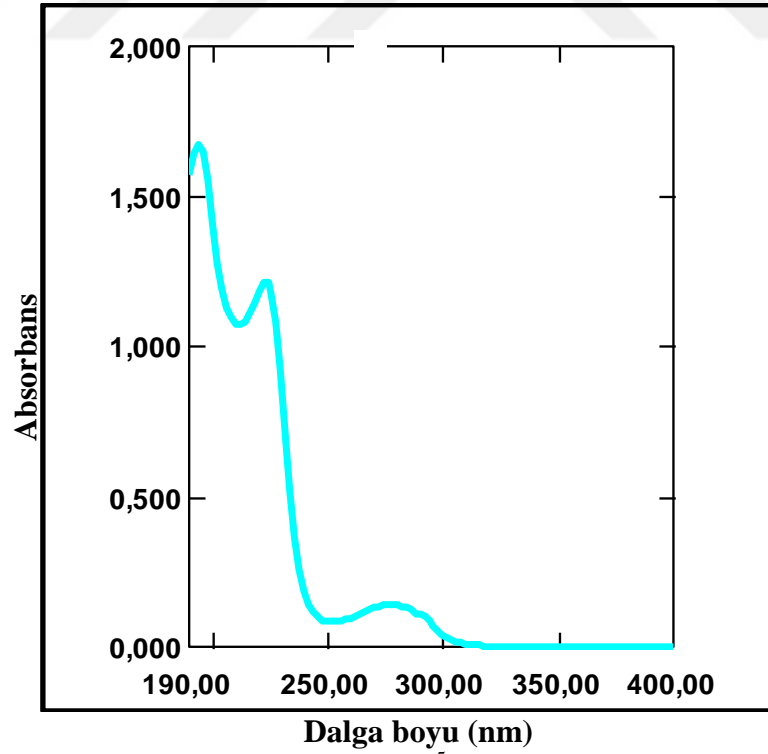
Şekil 16. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



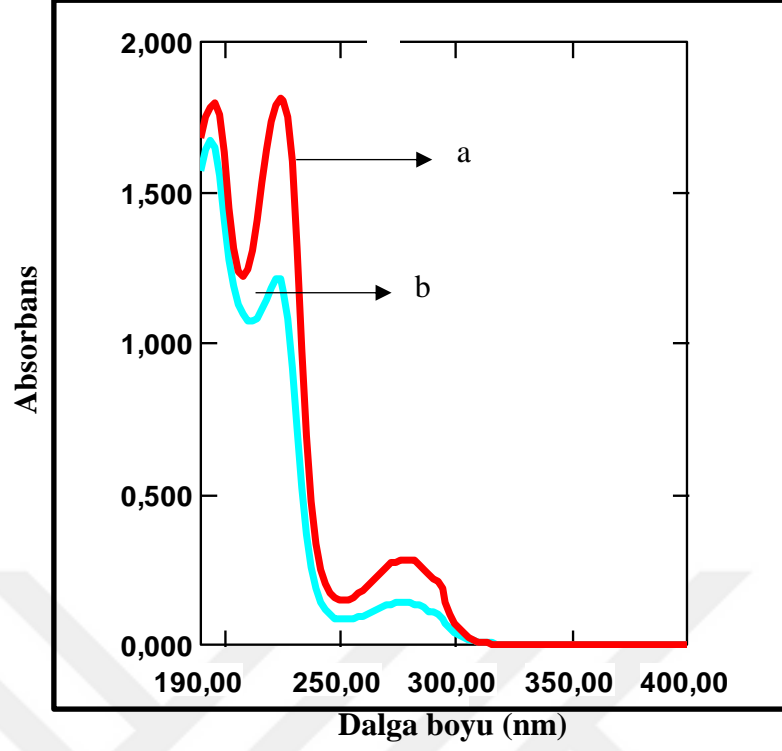
Şekil 17. Rizatriptan benzoat-Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



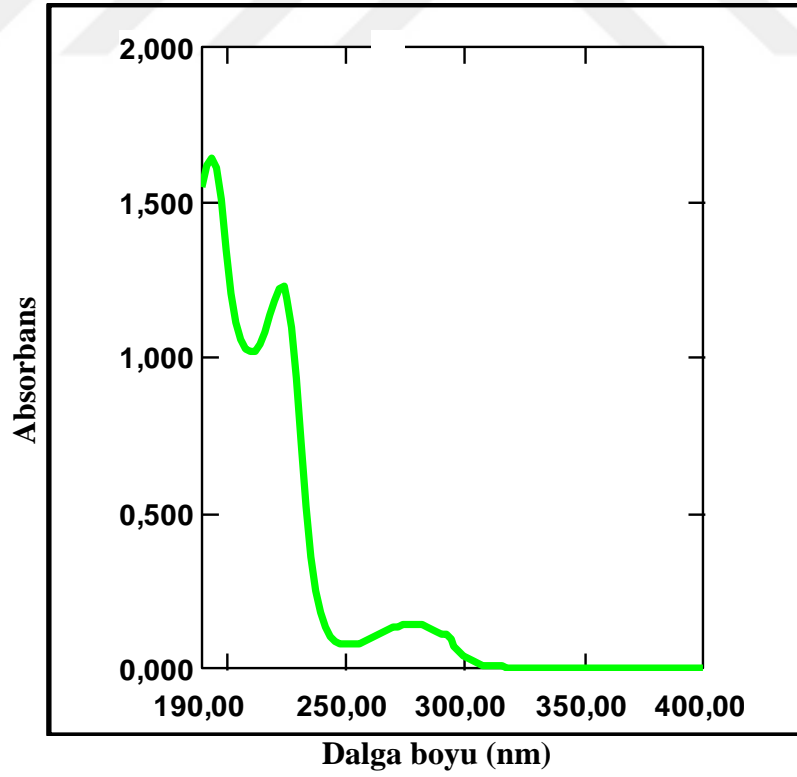
Şekil 18. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat - Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



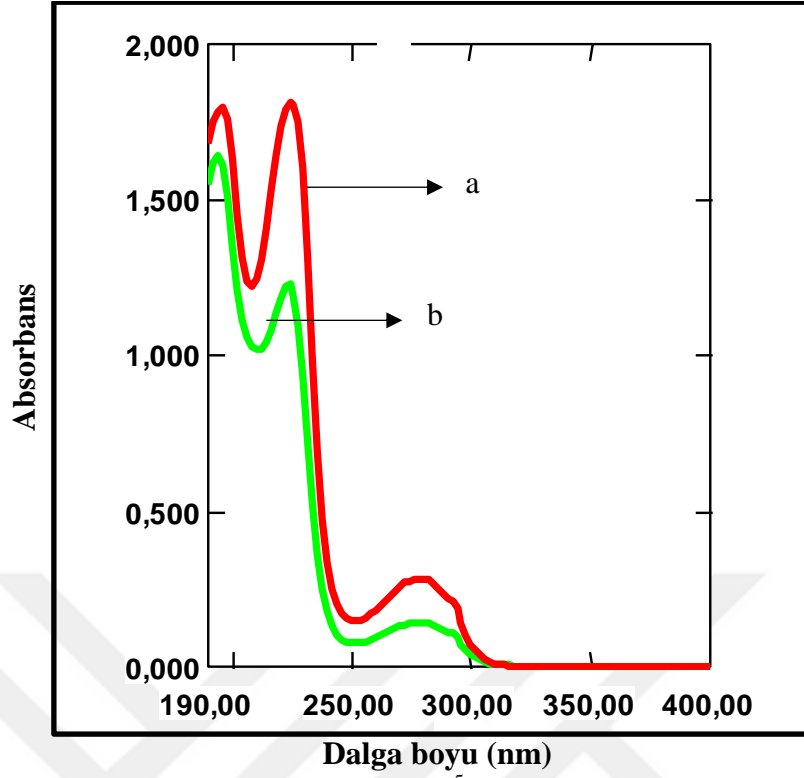
Şekil 19. Rizatriptan benzoat-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



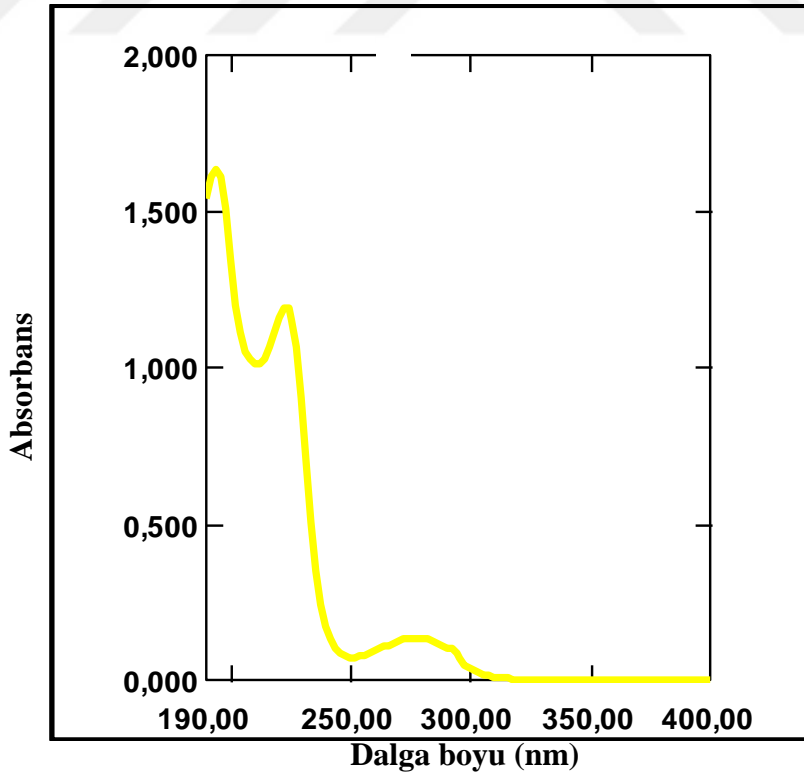
Şekil 20. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat - Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



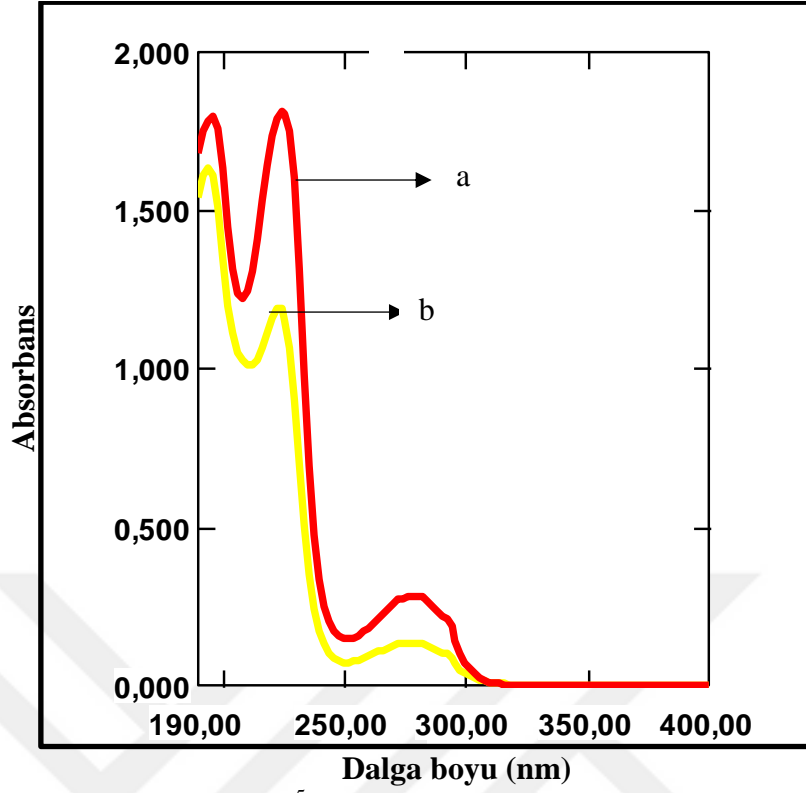
Şekil 21. Rizatriptan benzoat-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



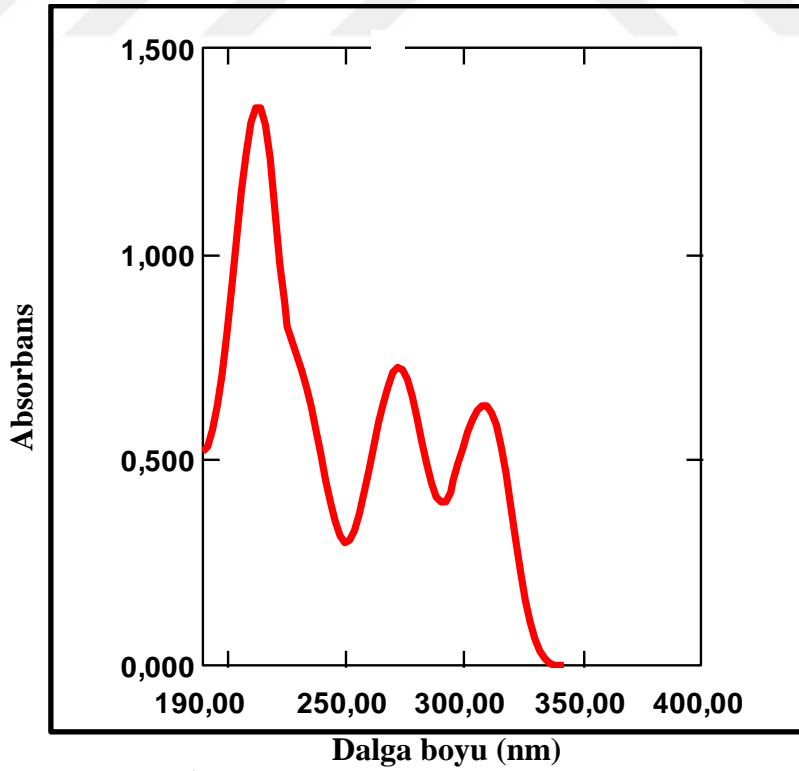
Şekil 22. a) Rizatriptan benzoat ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) Rizatriptan benzoat - Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



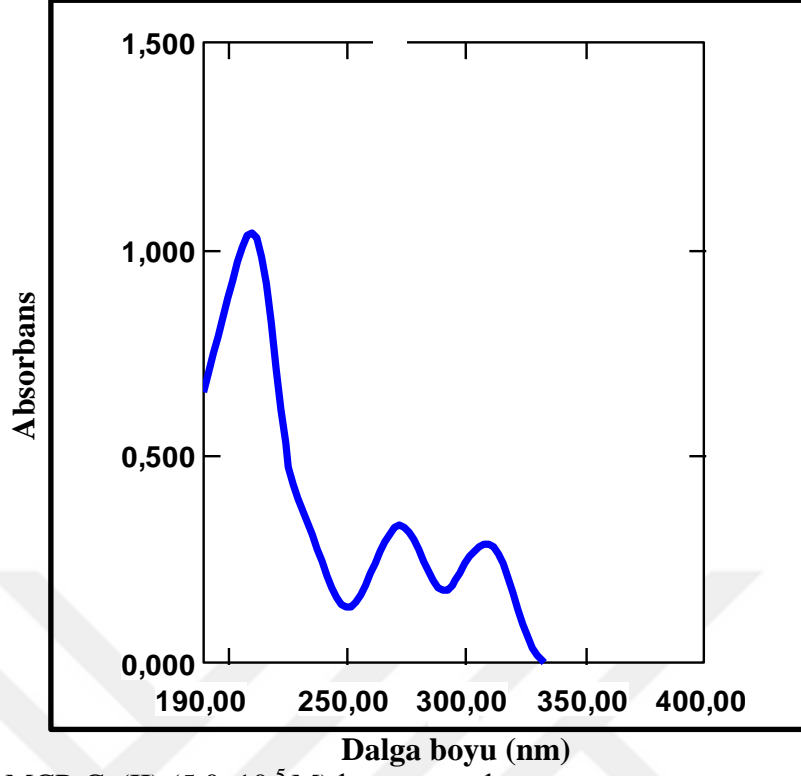
Şekil 23. Rizatriptan benzoat-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



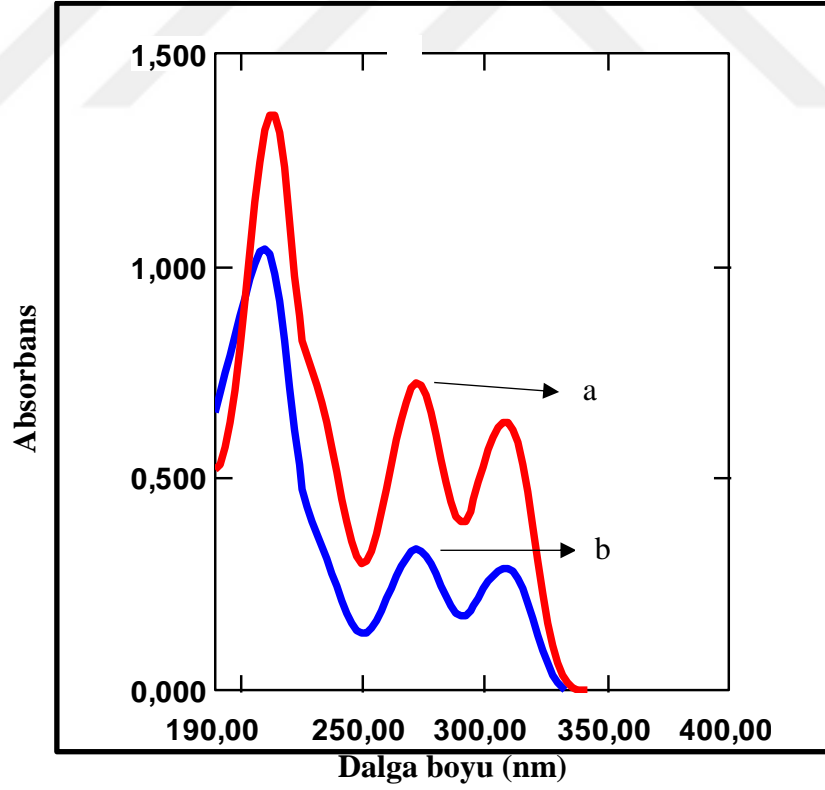
Şekil 24. a) RB'nin $5,0 \times 10^{-5}$ M konsntrasyonundaki spektrumu, b) RB-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



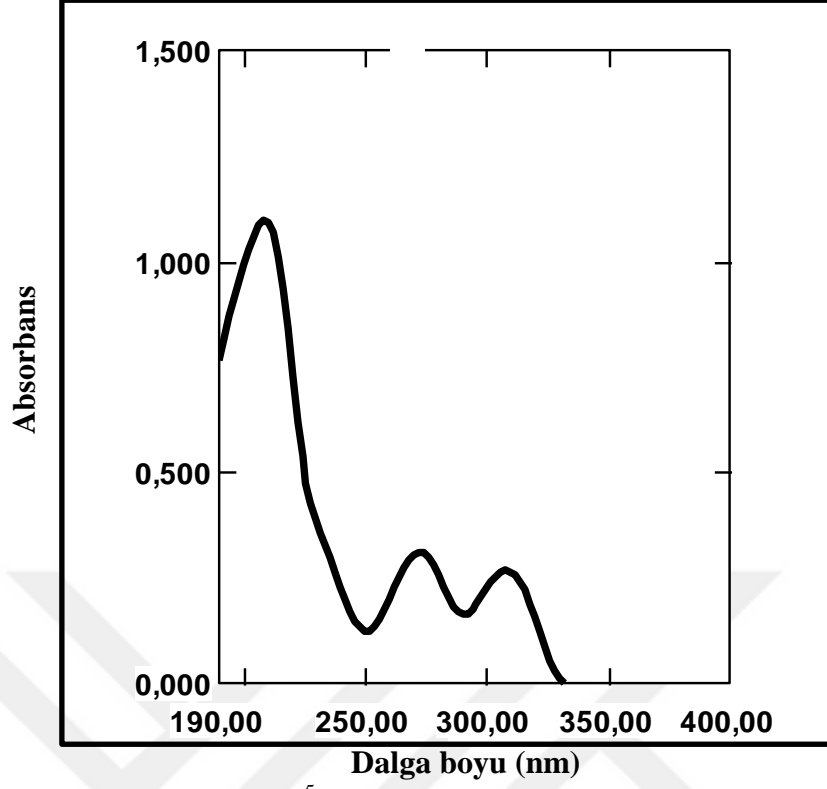
Şekil 25. MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M) spektrumu



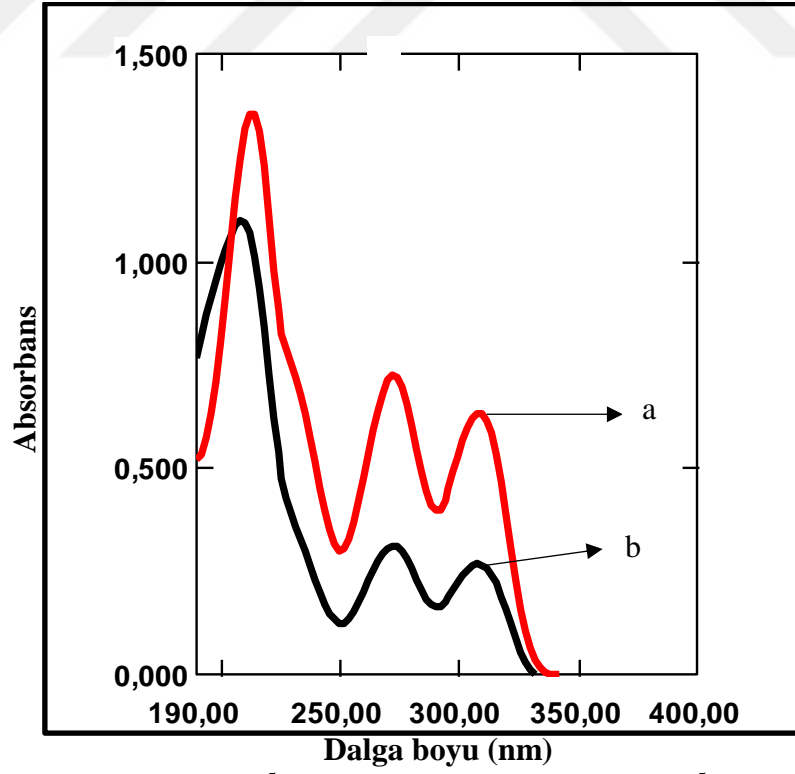
Şekil 26. MCP-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



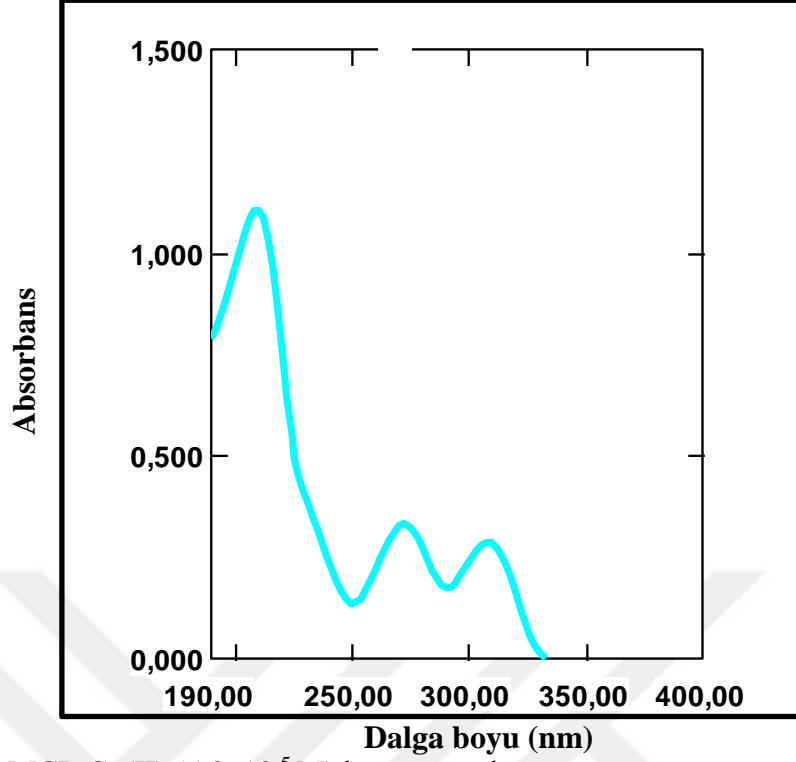
Şekil 27. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Ca(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerin spektrumları



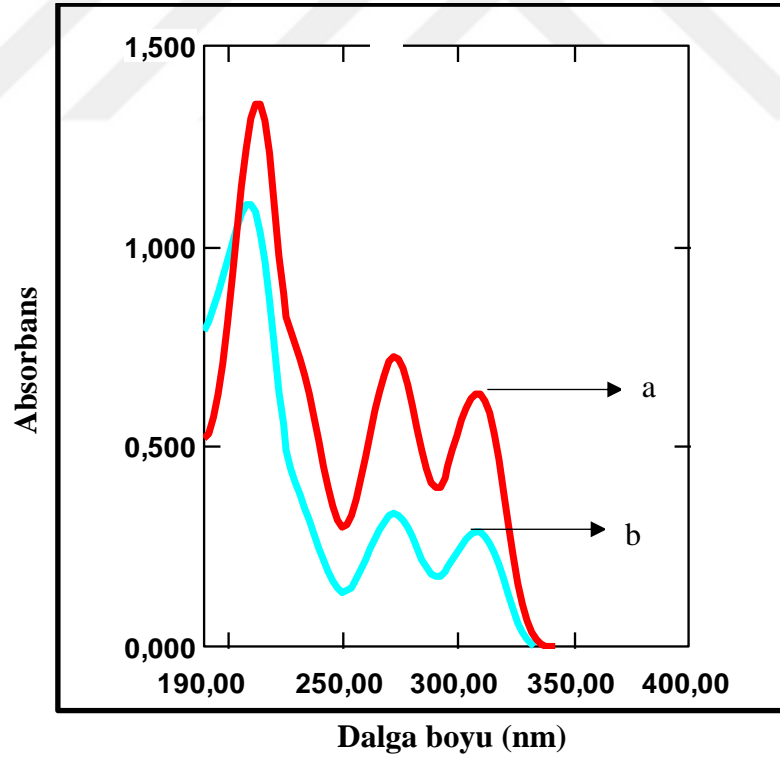
Şekil 28. MCP -Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



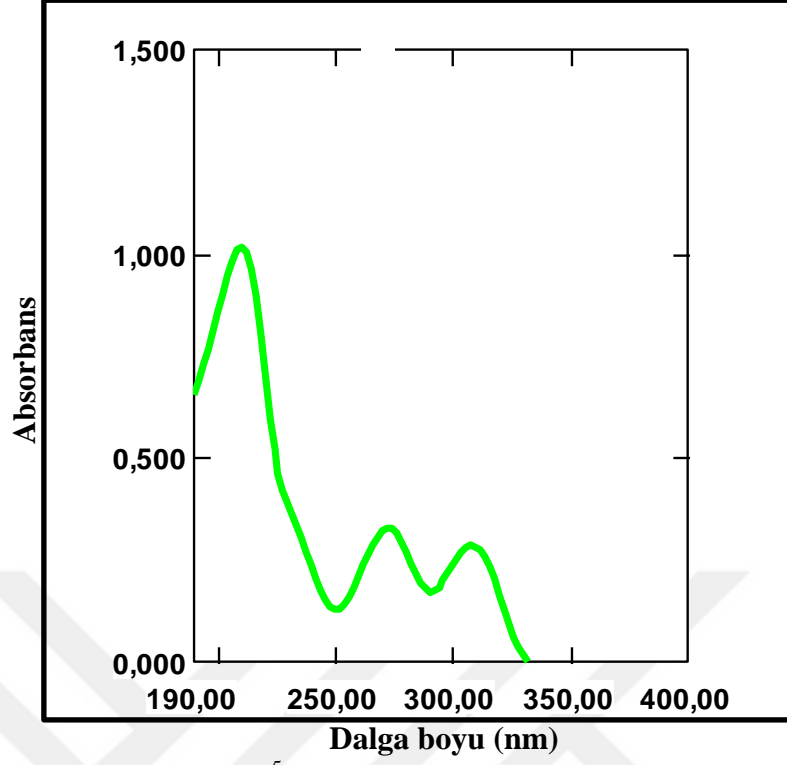
Şekil 29. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Cd(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerin spektrumları



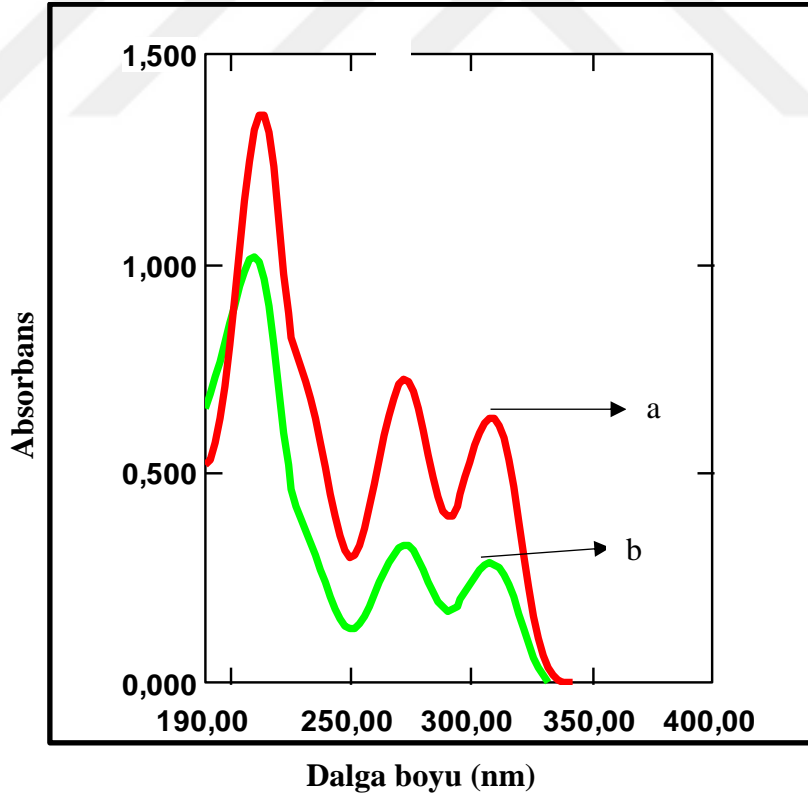
Şekil 30. MCP-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



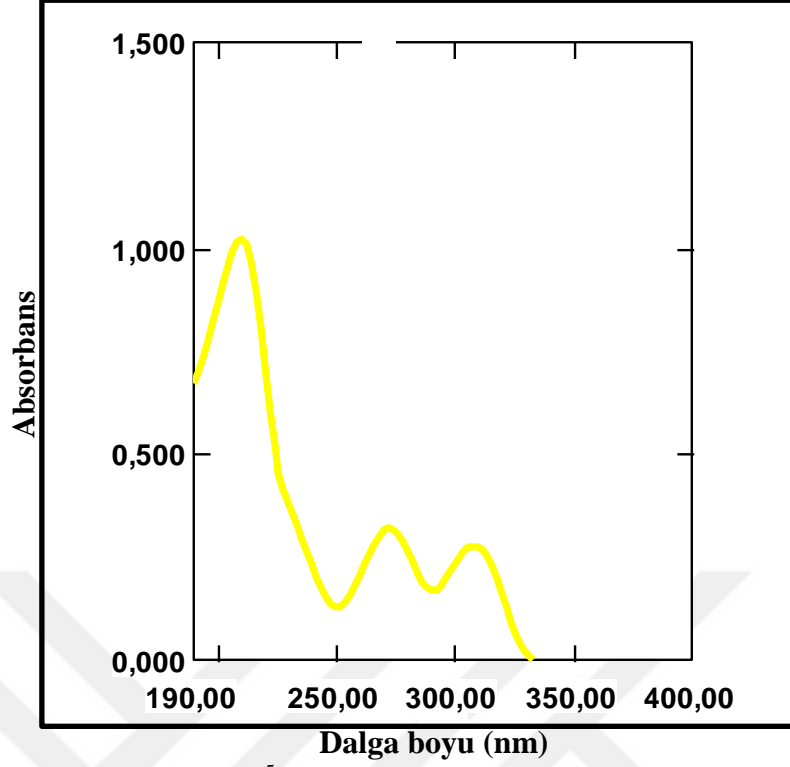
Şekil 31. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Cu(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerin spektrumları



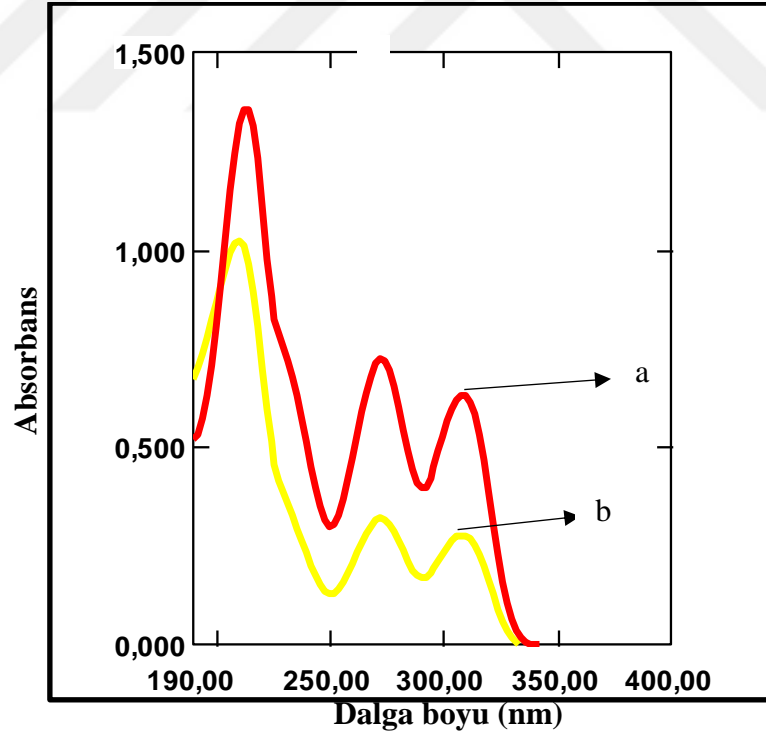
Şekil 32. MCP-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



Şekil 33. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Mg(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları



Şekil 34. MCP-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışım spektrumu



Şekil 35. a) MCP ($5,0 \times 10^{-5}$ M), b) MCP-Zn(II) ($5,0 \times 10^{-5}$ M) karışımına ait çözeltilerinin spektrumları

6.1.2. Kompleks bileşiminin belirlenmesi için optimum deneysel koşullar

Rizatriptan benzoatın Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) metal iyonlarıyla meydana getirdiği kompleksler için belirlenen optimum koşullar tablo 2.'de verilmiştir.

Tablo 2. Rizatriptan benzoat ile metal iyonları arasındaki kompleks stokiyometrisinin tayini için belirlenen optimum şartlar

Kelat (Kompleks)	Dalga boyu (nm)	Absorbans (A)	En uygun Derişim (M)	İdeal Çözücü
Ca(II)-RB	224 280	1,212 0,134	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Cd(II)-RB	224 280	1,214 0,134	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Cu(II)-RB	224 280	1,213 0,138	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Mg(II)-RB	224 280	1,227 0,140	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Zn(II)-RB	224 280	1,191 0,135	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su

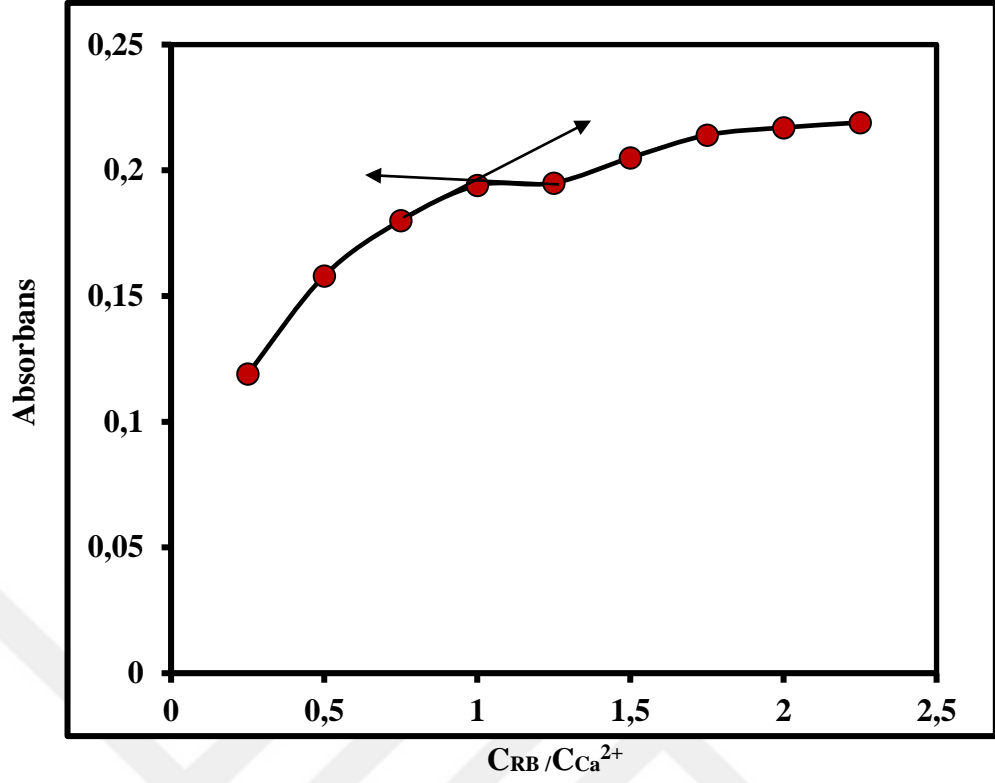
MCP'nin Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), Zn(II) gibi metal iyonlarıyla meydana getirdiği kompleksler için belirlenen optimum deney koşulları ise tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Metoklopramid hidroklorür ile metal iyonları arasındaki kompleks stokiyometrisinin tayini için belirlenen optimum koşullar

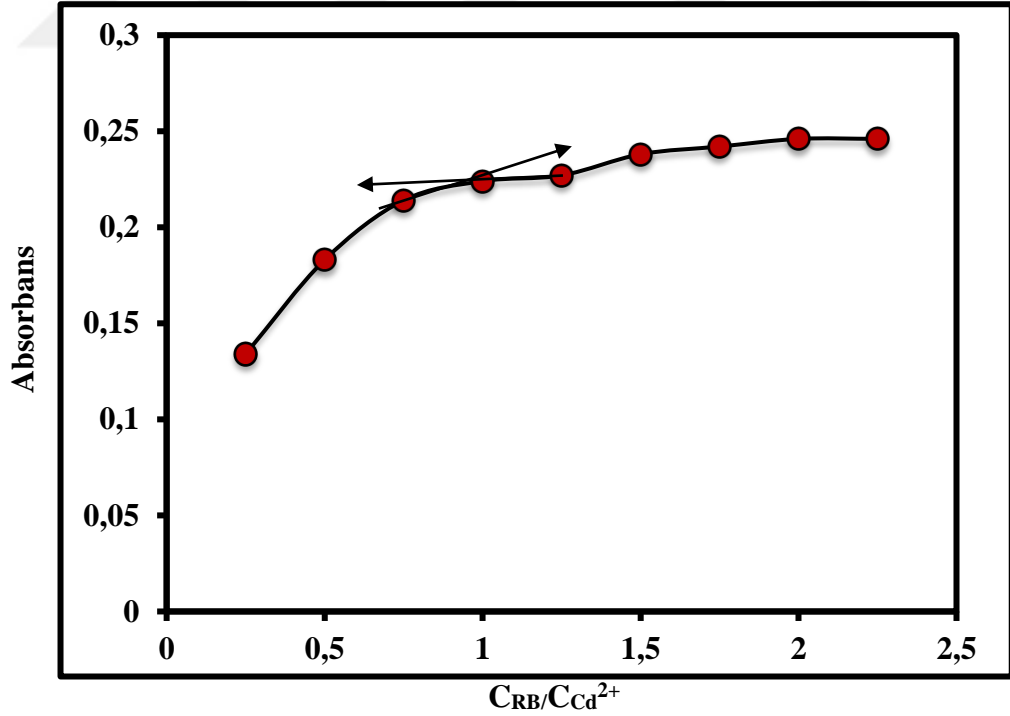
Kelat (Kompleks)	Dalga boyu (nm)	Absorbans (A)	En uygun Derişim (M)	İdeal Çözücü
Ca(II)-MCP	272 308	0,331 0,287	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Cd(II)-MCP	272 308	0,311 0,266	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Cu(II)-MCP	272 308	0,331 0,284	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Mg(II)-MCP	272 308	0,326 0,283	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su
Zn(II)-MCP	272 308	0,320 0,277	$5,0 \times 10^{-5}$	Ultra saf su

6.2. Kompleks Bileşiminin (Stokiyometrisinin) Tayini

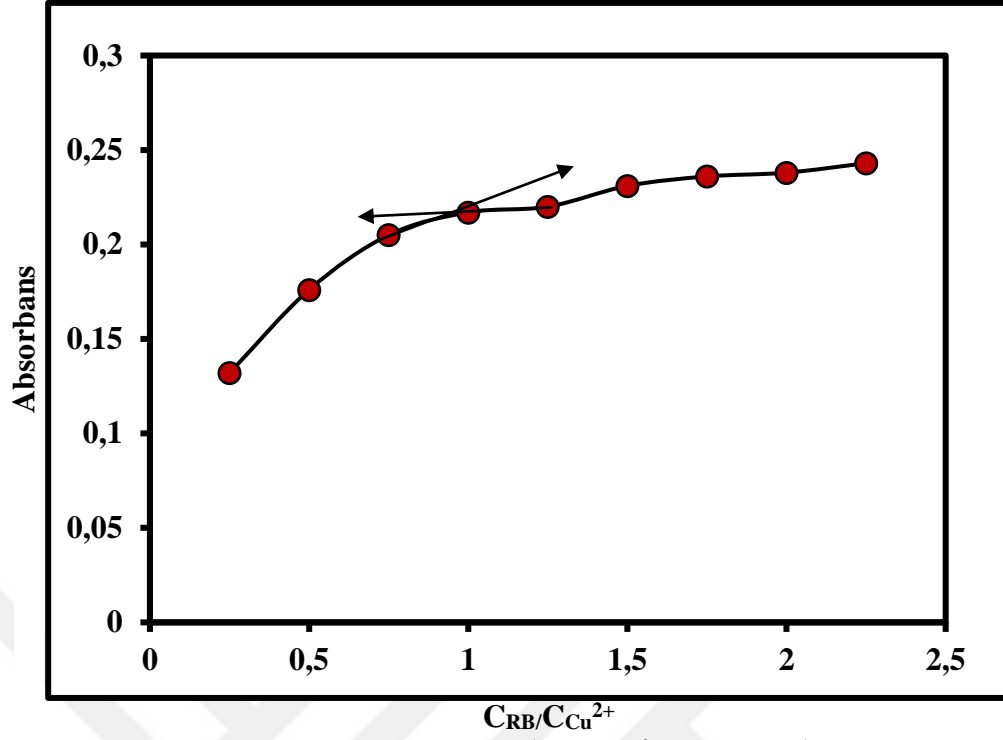
RB ve MCP ligandları ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II), ve Zn(II) metal iyonları arasında meydana gelen komplekslerin stokiyometrisinin belirlenebilmesi için mol oran yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde, RB ve MCP ligandlarının her bir metal iyonuna oranı 0-2,5 olacak şekilde bir seri kompleksleşme çözeltileri hazırlandı. Daha sonra, hazırlanan çözeltilerin her biri, belirlenen λ_{max} dalga boyunda, şahit deney çözeltisine karşılık absorbansları ölçülerek kaydedildi.



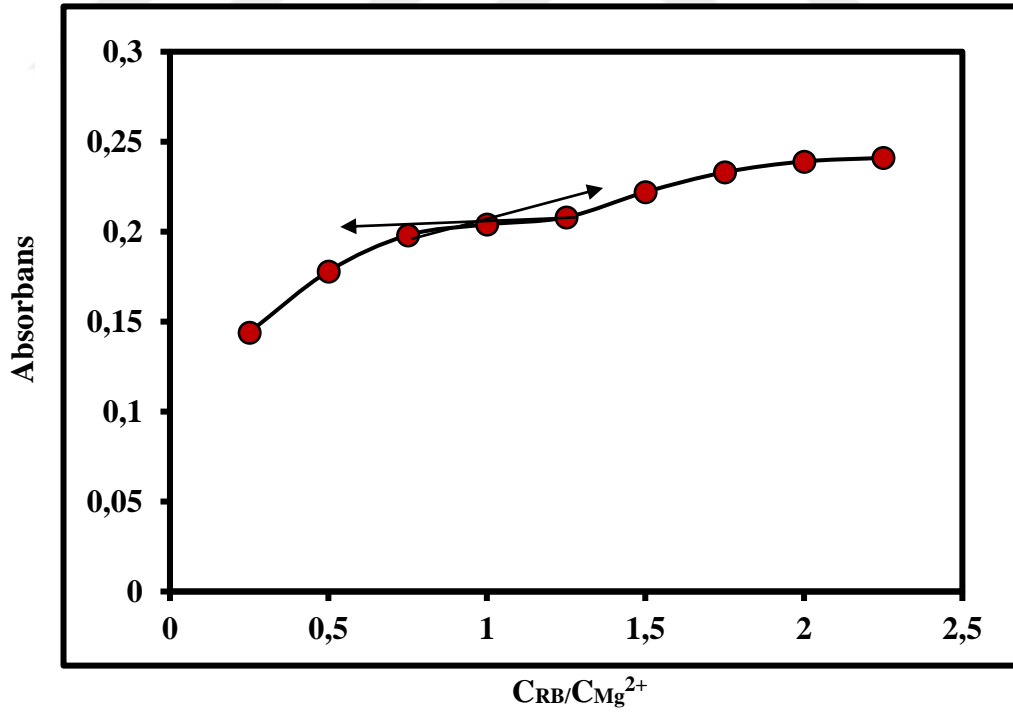
Şekil 36. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Ca^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$, pH 7,03)



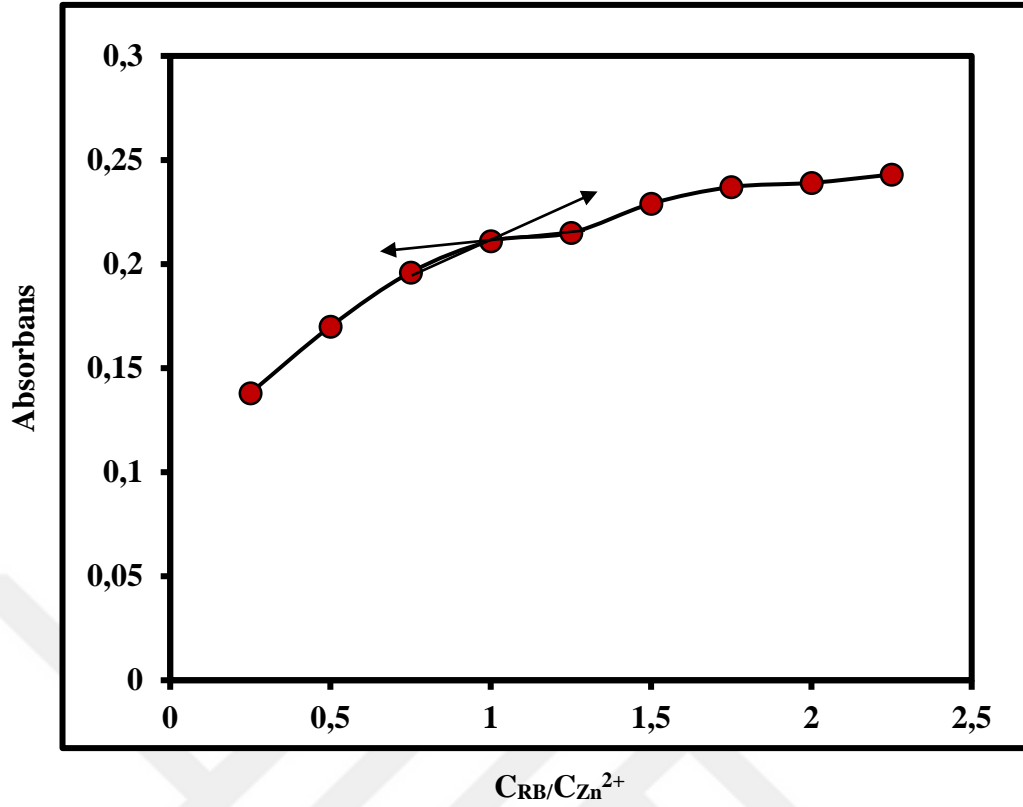
Şekil 37. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[Cd^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$, pH 7,03)



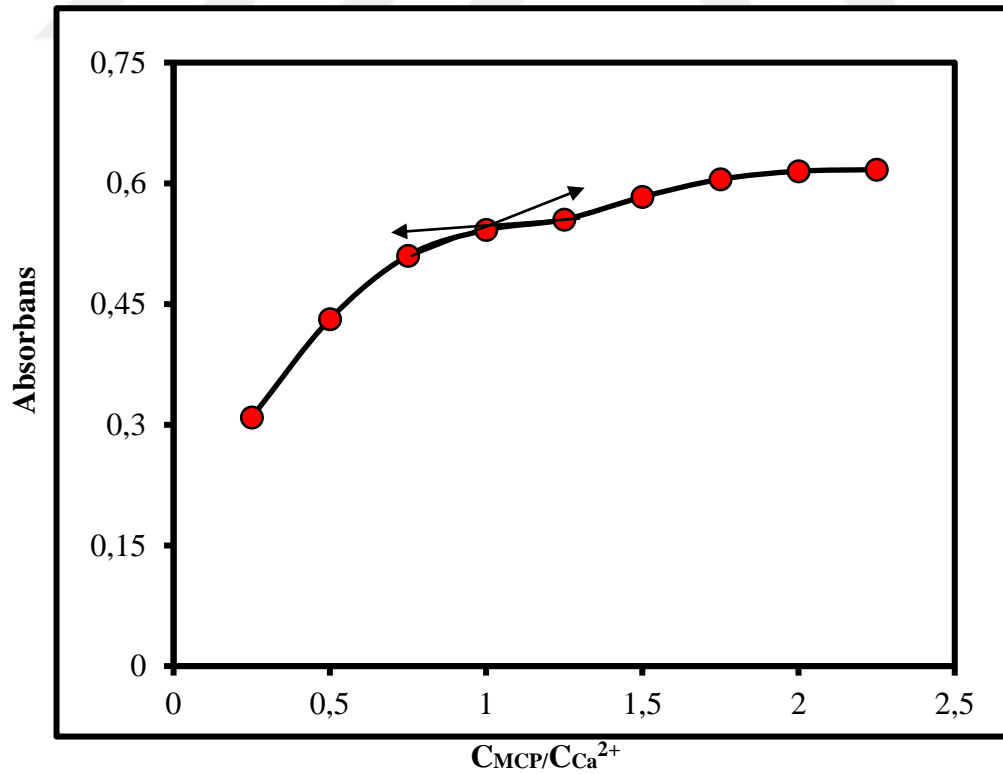
Şekil 38. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Cu^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 280 \text{ nm}$, pH 7,03)



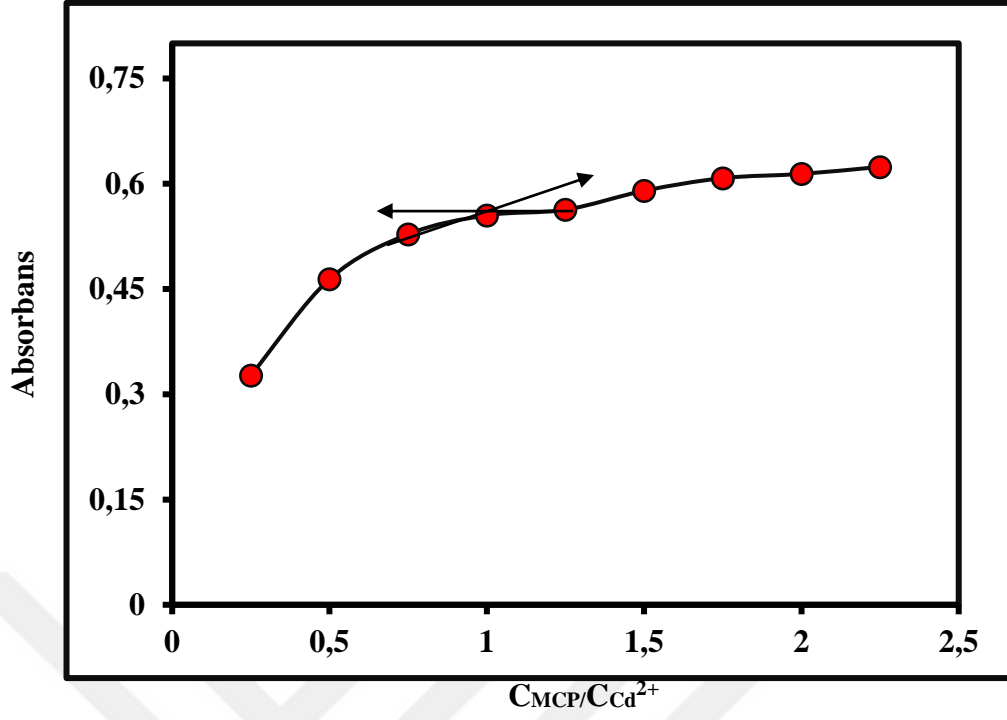
Şekil 39. Mol oran yöntemi ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Mg^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 280 \text{ nm}$, pH 7,03)



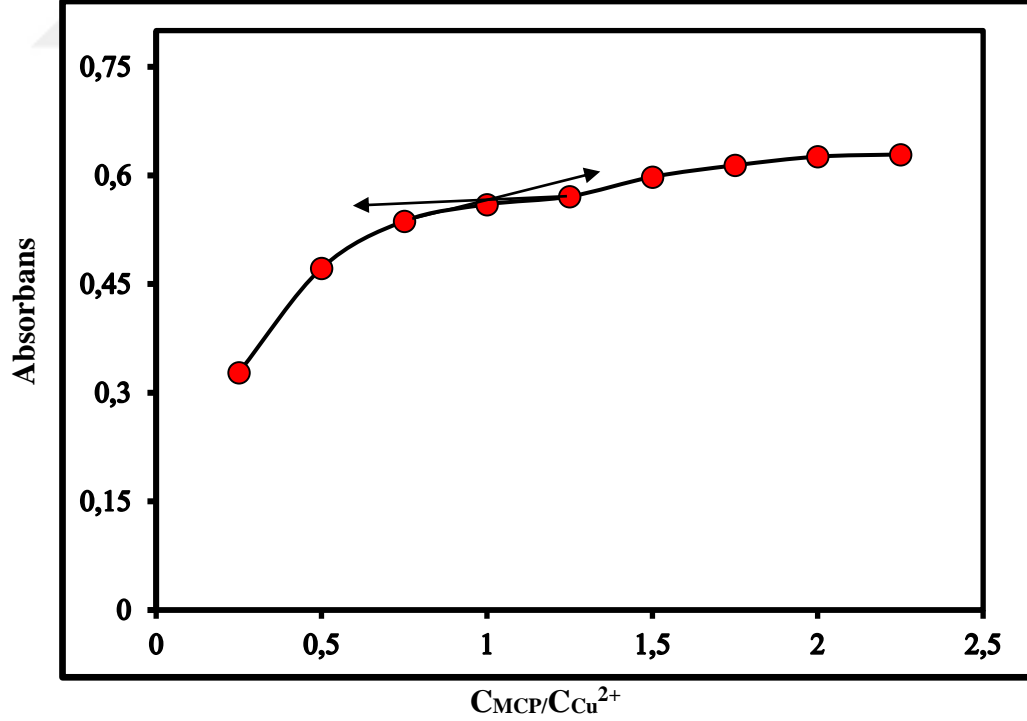
Şekil 40. Mol oran metodu ($[RB] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Zn^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 280 \text{ nm}$, pH 7,03)



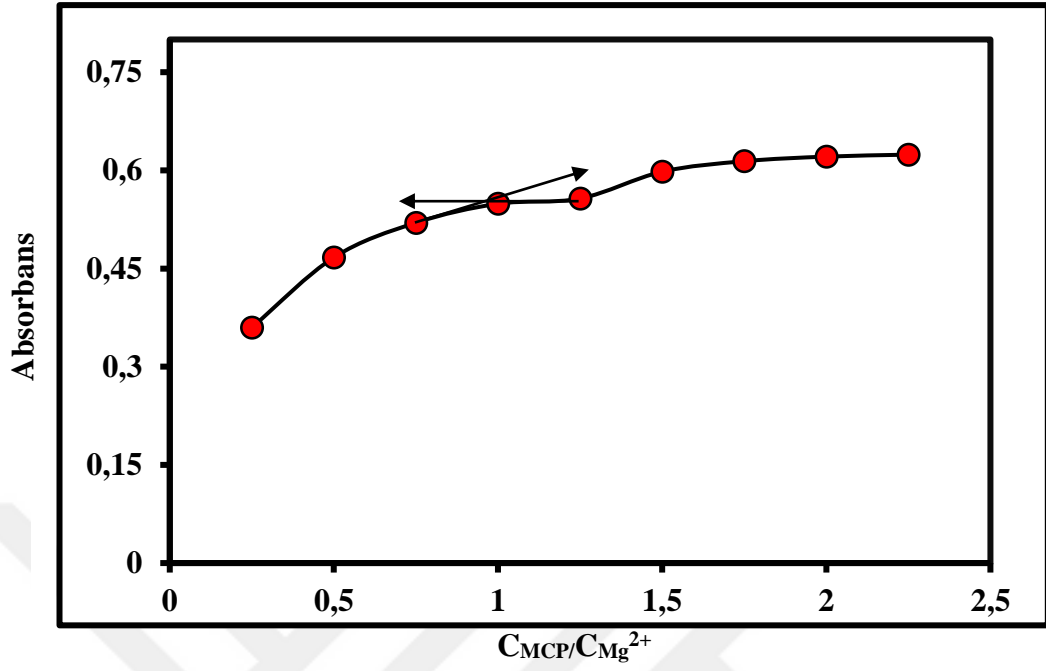
Şekil 41. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Ca^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$, pH 5,72)



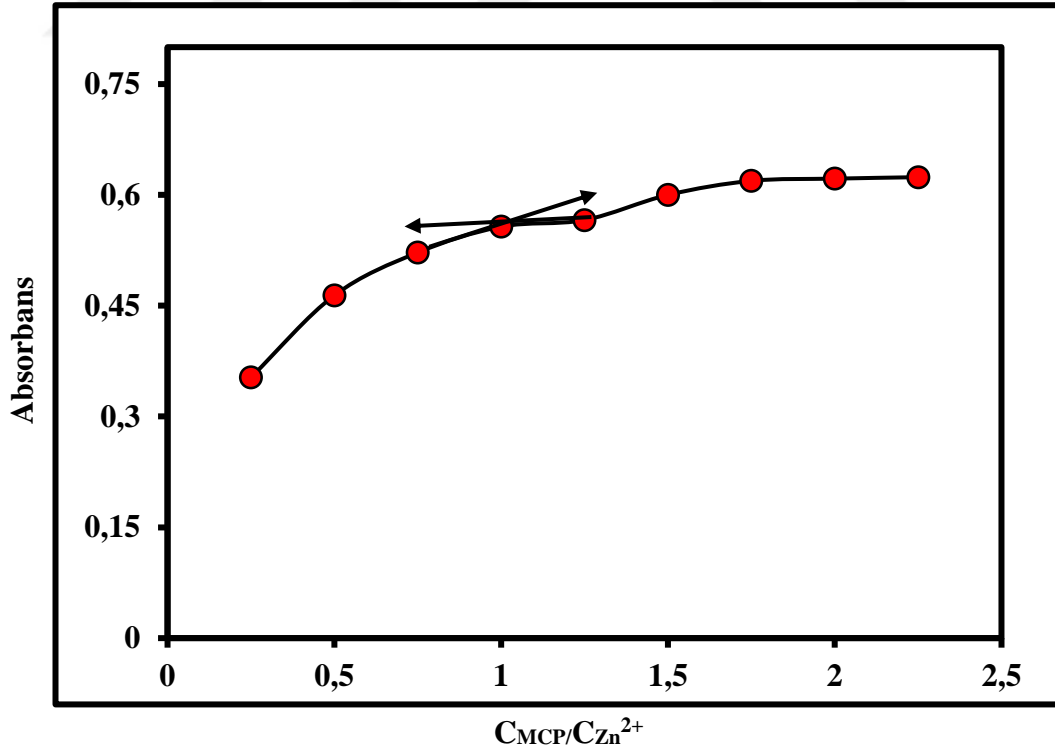
Şekil 42. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Cd^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$, pH 5,72)



Şekil 43. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Cu^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max} = 272 \text{ nm}$, pH 5,72)



Şekil 44. Mol oran yöntemi ($[MCP]=5,0 \times 10^{-5} M$, $[Mg^{2+}]=5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max}=272 \text{ nm}$, pH 5,72)

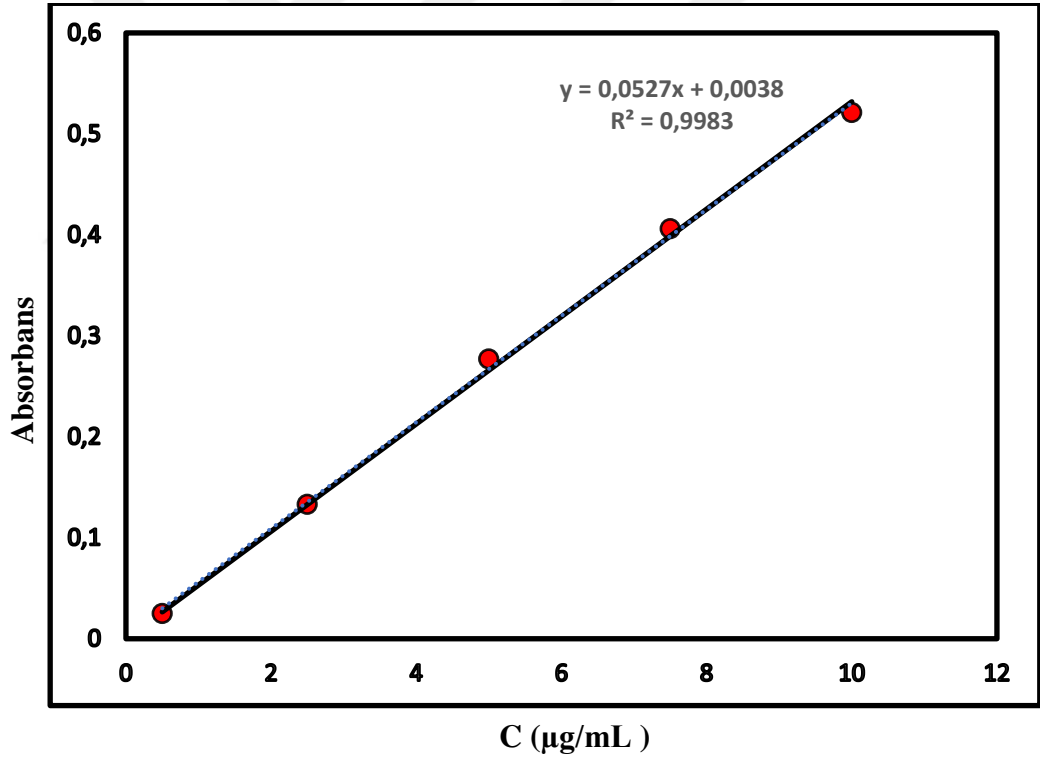


Şekil 45. Mol oran metodu ($[MCP] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $[Zn^{2+}] = 5,0 \times 10^{-5} M$, $\lambda_{max}=272 \text{ nm}$, pH 5,72)

6.3. Geçerlilik Testi (Validasyon) Parametreleri

6.3.1. Doğrusallık ve kalibrasyon eğrisi

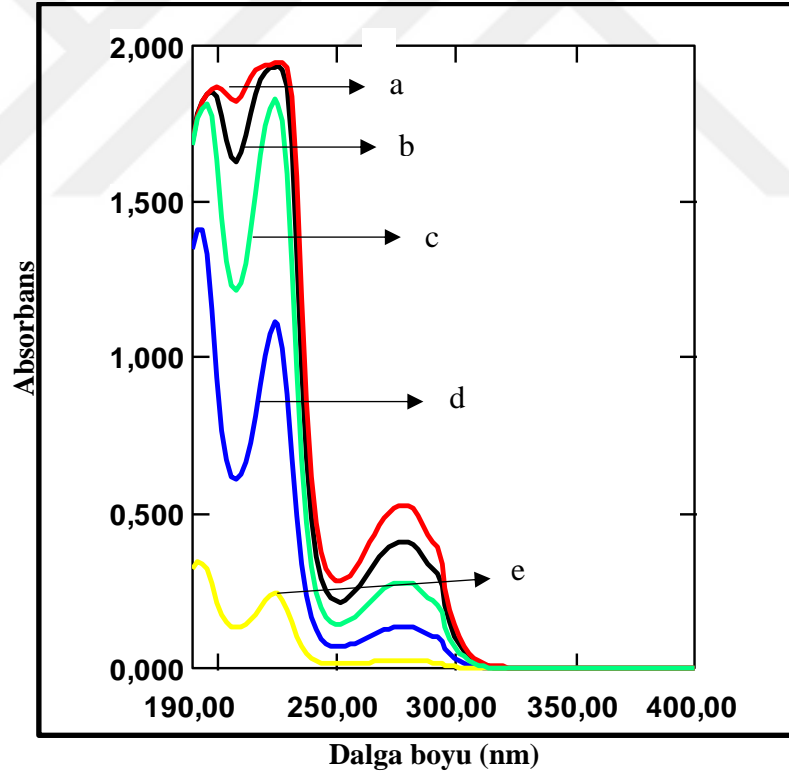
Rizatriptan benzoatın ilk stok çözeltisinden uygun seyreltmeler ile 1,96-39,15 µg/mL konsantrasyon aralığındaki 5 farklı konsantrasyonda çalışma çözeltileri hazırlandı. Üzerinde çalışılacak her bir çözeltinin 190-400 nm dalga boyu aralığında şahit deney çözeltisine karşı absorbans ölçümleri yapıldı. Elde edilen ortalama absorbans değerleri ile bu 5 farklı konsantrasyon değerleri alınarak ölçü eğrisi oluşturuldu.



Şekil 46. Rizatriptan benzoatın ölçü eğrisi

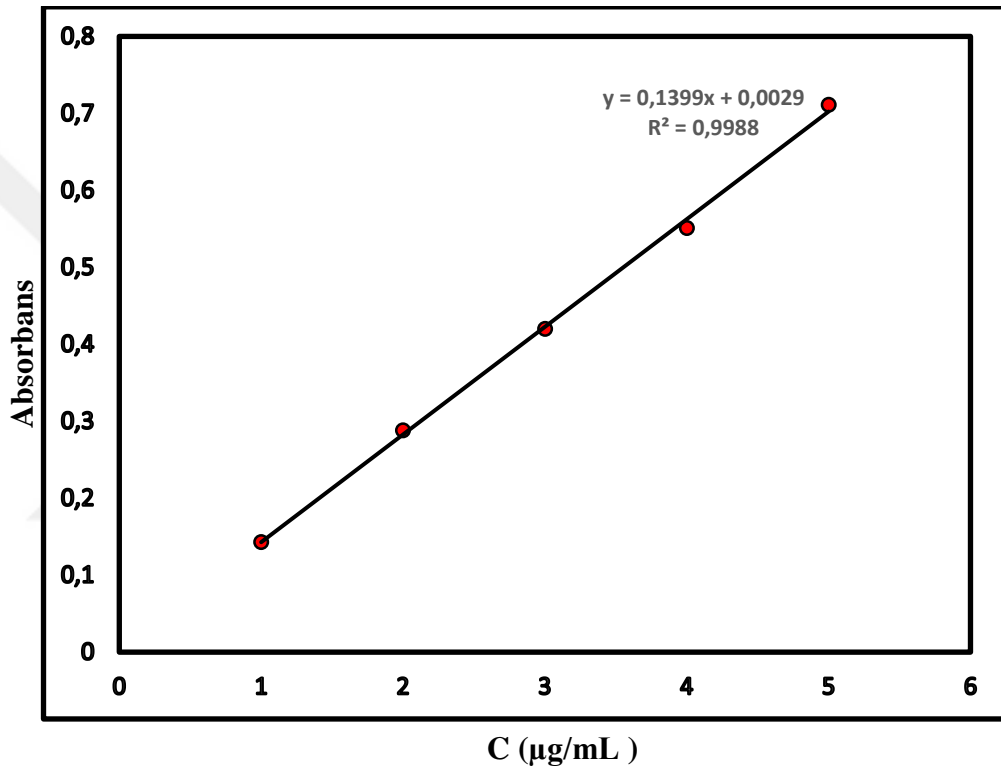
Tablo 4. Rizatriptan benzoatın kalibrasyon eğrisinin istatistiksel sonuçları.

İstatistiksel Parametreler	Uv-Görünür Bölge Spektrofotometri metodu
Dalga Boyu (nm)	224 280
Doğrusal Aralık	1,96-39,15 µg/mL
Regresyon Doğru Denklemi ($y=mx+n$)	$y = 0,0527x + 0,0038$
r^2 : Korelasyon Katsayısı	$r^2=0,9983$
Sa: Regresyon eğrisindeki kaymanın standart sapması	0,16
Sb: Regresyon eğrisindeki eğimin standart sapması	0,0076



Şekil 47. a) RB (39,15 µg/mL), b) RB(29,41 µg/mL), c) RB (19,62 µg/mL), d) RB (9,80 µg/mL), e) RB (1,96 µg/mL) ait spektrumlar

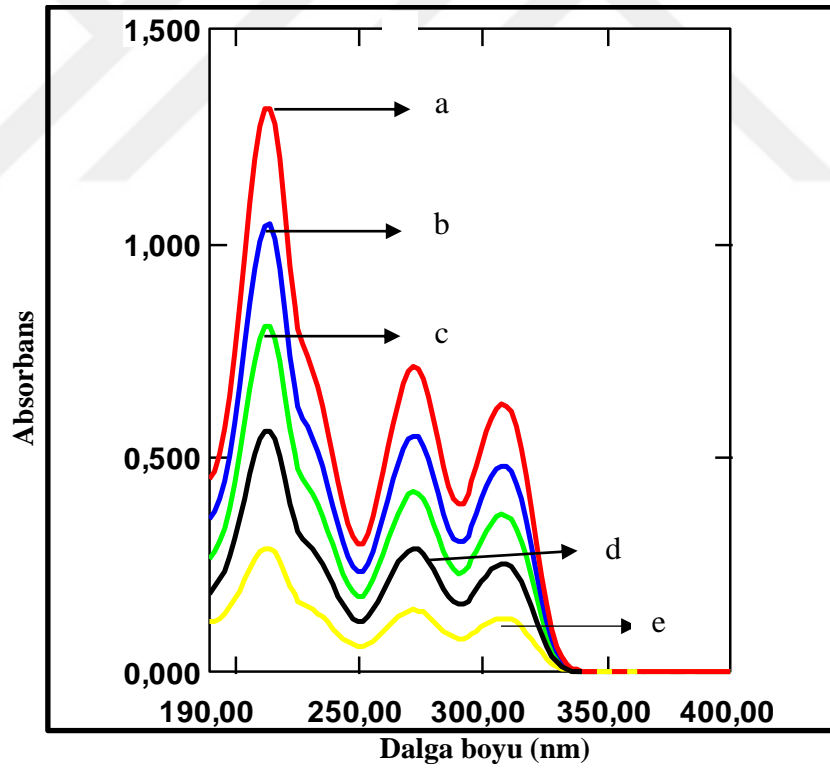
Metoklopramid hidroklorürün ana stok çözeltisinden 3,52-17,70 µg/mL derişim aralığındaki 5 farklı konsantrasyonda standart ligand çalışma çözeltileri hazırlandı. Her bir çözeltinin 190-400 nm dalga boyu aralığında şahit deney çözeltisine karşı absorbasnları ölçüldü. Elde edilen ortalama absorbasn değerleri ile bu 5 farklı konsantrasyon değerleri alınarak ölçü eğrisi oluşturuldu.



Şekil 48. Metoklopramid hidroklorürün ölçü eğrisi

Tablo 5. Metoklopramid hidroklorüre ait kalibrasyon eğrisinin istatistiksel sonuçları.

İstatistiksel Parametreler	Uv-Görünür Bölge Spektrofotometri metodu
Dalga Boyu (nm)	272 308
Doğrusal Aralık	3,52-17,70 µg/mL
Regrasyon Doğru Denklemi (y=mx+n)	y = 0,1399x + 0,0029
r ² : Korelasyon Katsayısı	r ² =0,9988
Sa: Regrasyon eğrisindeki kaymanın standart sapması	0,20
Sb: Regrasyon eğrisindeki eğimin standart sapması	0,0094



Şekil 49. a) MCP (17,70 µg/mL) b) MCP (14,24 µg/mL) c) MCP (10,61 µg/mL), d) MCP (7,09 µg/mL), e) MCP (3,52 µg/mL) ait spektrumlar

6.3.2. Ölçüm sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ)

RB'nin ve MCP'nin ölçü eğrilerindeki konsantrasyonlardan daha düşük değerlerde bir seri ligand içeren çözeltiler hazırlandı. Daha sonra, her bir RB ve MCP ligand çözeltilerinin absorbans ölçümleri yapıldı. Bulunan absorbans değerleri kullanılarak; RB'nin ve MCP'nin LOD ile LOQ değerleri hesaplandı. RB'nin hesaplanan LOD ve LOQ değerleri sırasıyla; 0,64 µg/mL ve 1,94 µg/mL; MCP'nin ise sırasıyla; 1,11 µg/mL ve 3,35 µg/mL olarak tayin edildi.

6.3.3. Kesinlik ve tekrarlanabilirlik

Analitik metodun kesinliğini, doğruluğunu, ve tekrarlanabilirliğini saptayabilmek için kalibrasyon eğrisi çalışma aralığında dört farklı konsantrasyonda (RB için; 5,88, 7,84, 9,80 ve 11,76µg/mL, MCP için 3,54, 5,30, 7,08 ve 8,85µg/mL) ölçümler gün içi ve günler arası gerçekleştirildi. Her iki etkin maddenin ligand çözeltileri için elde edilen değerlerden, ortalama (\bar{x}), standart sapma (s), % bağıl hata (%RE) ve % bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı. Bulgular RB için tablo 6. 'da, MCP için tablo 7.'de verildi. Doğruluğu ifade eden %RE iken kesinliği ifade eden parametre ise % RSD'dir.

Tablo 6. Rizatriptan benzoat için UV-Vis Spektrofotometri metoduna göre gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk parametrelerinin istatistiksel sonuçları

Gün içi ölçüm değerleri					Günler arası ölçüm değeri			
Bilinen değer µg/mL	Bulunan değer µg/mL	$\bar{x}\pm s$	% RE	% RSD	Bulunan değer µg/mL	$\bar{x}\pm s$	% RE	%RSD
		µg/mL				µg/mL		
5,88	5,86	5,89±0,05	-0,45	0,85	5,82	5,76±0,05	-1,98	0,89
	5,8				5,75			
	5,9				5,72			
7,84	7,76	7,79±0,03	-0,6	0,39	7,72	7,76±0,05	-0,98	0,66
	7,8				7,82			
	7,82				7,75			
9,8	9,68	9,72±0,04	-0,78	0,39	9,65	9,68±0,04	-1,19	0,36
	9,75				9,68			
	9,74				9,72			
11,76	11,84	11,75±0,08	-0,06	0,64	11,9	11,85±0,06	0,79	0,54
	11,7				11,88			
	11,72				11,78			

\bar{x} : Ortalama, S: Standart sapma, RE: Bağlı hata, RSD: Bağlı standart sapma

Tablo 7. Metoklopramid hidroklorür için UV-Vis Spektrofotometri metoduna göre gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluk parametrelerinin istatistiksel sonuçları

Gün içi ölçüm değerleri					Günler arası ölçüm değeri			
Bilinen değer µg/mL	Bulunan değer µg/mL	$\bar{x}\pm s$	% RE	% RSD	Bulunan değer µg/mL	$\bar{x}\pm s$	% RE	%RSD
		µg/mL				µg/mL		
3,54	3,56	3,52±0,03	-0,37	0,87	3,54	3,53±0,03	-0,18	0,86
	3,5				3,56			
	3,52				3,5			
5,3	5,38	5,36±0,02	1,19	0,28	5,33	5,33±0,03	0,69	0,57
	5,35				5,31			
	5,36				5,37			
7,08	7,01	7,01±0,05	-1,04	0,64	7,05	7,01±0,04	-0,98	0,51
	6,96				7			
	7,05				6,98			
8,85	8,8	8,80±0,02	-0,56	0,22	8,86	8,86±0,04	0,15	0,4
	8,78				8,83			
	8,82				8,9			

\bar{x} : Ortalama, S: Standart sapma, RE: Bağlı hata, RSD: Bağlı standart sapma

6.3.4. Plasebo tablette rizatriptan benzoatın geri kazanımı

Rizatriptan benzoatın plasebo tabletindeki etkin madde miktarının geri kazanımı çalışması bölüm 5.4.'de anlatıldığı şekilde yapıldı.

Tablo 8. Rizatriptan benzoatın plasebo tabletteki geri kazanımı

%	Tartılan rizatriptan benzoat miktarı (mg/1 tablet)	Bulunan rizatriptan benzoat miktarları (mg/1 tabet)	% Geri kazanım
% 80	5,80	5,71	98,44
% 100	7,26	7,12	98,10
% 120	8,70	8,33	95,81
Ortalama geri kazanım			97,45

6.3.5. Metoklopramid hidroklorürün plasebo tabletten geri kazanımı

Metoklopramid hidroklorürün plasebo tabletindeki etkin madde miktarının geri kazanımı çalışması bölüm 5.4.'de anlatıldığı şekilde yapıldı.

Tablo 9. Metoklopramid hidroklorürün plasebo tabletteki geri kazanımı

%	Tartılan MCP hidroklorür monohidrat miktarı (mg/1 tablet)	Bulunan Tartılan MCP hidroklorür monohidrat miktarları (mg/1 tabet)	% Geri kazanım
% 80	8,40	7,97	94,91
% 100	10,50	10,15	96,64
% 120	12,60	12,12	96,20
Ortalama geri kazanım			95,90

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorürün metal katyonları ile oluşturduğu kompleksler incelendi. İlk olarak, rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür etkin maddeleri için en uygun çözünme ortamı belirleme çalışmaları yapıldı. Her iki etkin madde için de saf su en ideal çözücü olarak tayin edildi. Çözücünün belirlenmesiyle birlikte, etkin maddeler için en uygun konsantrasyonu belirleme çalışmaları yapıldı. Deneysel çalışmalar sonucunda her iki etkin madde için de en uygun konsantrasyon $5,0 \times 10^{-5}$ M olarak belirlendi.

Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi için maksimum dalga boyu belirleme çalışmaları yapıldı. Rizatriptan benzoatın λ_{max} değeri tablo 2’de, metoklopramid hidroklorürün λ_{max} değeri ise tablo 3’de belirtildiği gibi tespit edildi.

Her iki etkin maddenin Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal iyonları ile meydana getirdiği komplekslerin stokiyometrik oranlarının belirlenebilmesi için mol oran metodu kullanıldı. Bu metoda göre, hem rizatriptan benzoat ile hem de metoklopramid hidroklorür ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal iyonları arasında meydana gelen komplekslerin stokiyometrisi 1:1 olarak bulundu.

Rizatriptan benzoatın tespit sınırı (LOD) ve tayin edilebilir alt sınır (LOQ) değerleri sırasıyla; 0,64 $\mu\text{g/mL}$ ve 1,94 $\mu\text{g/mL}$; metoklopramid hidroklorür için ise sırasıyla; 1,11 $\mu\text{g/mL}$ ve 3,35 $\mu\text{g/mL}$ olarak tayin edildi.

Her iki etkin madde için gün içi ve günler arası doğruluk, kesinlik, tekrarlanabilirlik gibi istatistiksel validasyon çalışmaları yapıldı ve elde edilen bulgular rizatriptan benzoat için tablo 6.’da; metoklopramid hidroklorür için ise tablo 7.’de verildi.

Rizatriptan benzoatın plasebo tablette %80, %100 ve %120 olmak üzere 3 farklı düzeyde geri kazanım çalışması yapılmıştır. Önce, kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Bu eğriden korelasyon katsayısı (r^2) 0,9983 olarak hesaplandı. %80 için plasebo tabletteki 5,80 mg rizatriptan benzoatın geri kazanımı %98,44 olarak belirlendi. %100 için, hazırlanan plasebo tabletteki rizatriptan benzoat miktarı 7,26 mg olup,

geri kazanımı %98,10 olarak tayin edildi. Aynı şekilde %120 düzeyi için, plasebo tabletteki 8,70 mg ilaç etkin maddenin geri kazanımı %95,81 olarak tayin edildi. Ortalama geri kazanım ise, %97,45 olarak bulundu.

Metoklopramid hidroklorürün plasebo tablette %80, %100 ve %120 düzeylerinde geri kazanım çalışması yapıldı. Bunun için öncelikle kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Bu eğriden r^2 0,9988 olarak hesaplandı. %80 düzeyi için plasebo tabletteki metoklopramid hidroklorürün geri kazanımı %94,91 olarak tayin edilirken, %100 için %96,64 ve %120 için ise %96,20 olarak tayin edildi. Ortalama geri kazanım oranı ise %95,90 olarak bulundu.

Yapılan deneysel çalışmalarda, migren tedavisinde kullanılan rizatriptan benzoat ve mide bulantısının tedavisinde kullanılan metoklopramid hidroklorür ilaç etkin maddelerinin metal iyonları ile kompleksler oluşturduğu tespit edildi. Bu durumda, rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür ligandları ile metal iyonları arasında meydana gelen komplekslerin vücutta metal eksikliğine yol açabileceği gibi tedavi sürecini de olumlu etkileyebileceği tahmin edilmektedir. Hem rizatriptan benzoatın hem de metoklopramid hidroklorürün metal katyonları ile ayrı ayrı oluşturdukları komplekslerin tayini için sağlam, doğru ve basit UV-Vis spektrofotometrik yöntemler geliştirildi.

Yapılan literatür araştırmasında, rizatriptan benzoatın ve metoklopramid hidroklorürün Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal katyonları arasındaki etkileşimleri üzerine herhangi bir çalışma bulgusuna rastlanılmadı. Sonuç olarak, deneysel çalışmada sırasıyla rizatriptan benzoat ve metoklopramid hidroklorür ile Ca(II), Cd(II), Cu(II), Mg(II) ve Zn(II) metal katyonları arasında oluşan etkileşimlere dair bir literatür bilgisi elde edildi. Elde edilen bilgilerin literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

8. KAYNAKLAR

Abdel-Gawad FM, El-Guindi NM. Spectrophotometric determination of metoclopramide and oxybuprocaine through ion pair formation with thiocyanate and molybdenum(V) or cobalt(II). *Analytical Letters*. 1995;28:1437-1447.

Açıklan E. Laboratuvar Teknikleri ve Gereçleri, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:978 (Açıköğretim Fakültesi Yayınları No: 548), Eskişehir-1996, s:60-62.

Akdeniz V. İnsan sağlığı ve beslenme fizyolojisi açısından çinkonun önemi. *Akademik Gıda*. 2016;14:307-314.

Altinoz S, Uçar G, Yıldız E. Determination of rizatriptan in it's tablet dosage forms by UV spectrofluorimetric methods. *Analytical Letters*. 2002;35:2471-2485.

Bağdu CT. Bazı Geçiş Metallerinin Birlikte Spektrofotometrik Tayininde Çok Bileşenli Kalibrasyon Tekniklerinin Uygulanması. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Mustafa Taştekin).

Bano S, Mohd A, Khan AAP, Siddiqi KS. Complexation and mechanism of fluorescence quenching of telmisartan with Y(III) and Nd(III). *J. Chem. Eng. Data*. 2010;55:5759-5765.

Behera S, Ghanty S, Ahmad F, Santra S, Banerjee S. UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation. *J. Anal. Bioanal. Techniques*. 2012;3:6.

Bhardwaj N, Kaushik J. Spectrophotometric study of complexation of labetalol with some transition metal ions. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017;6:1108-1111.

Cesme M, Tarinc D, Golcu A. Spectrophotometric determination of metoprolol tartrate in pharmaceutical dosage forms on complex formation with Cu(II). Pharmaceuticals. 2011;4: 964-975.

Chang R. General Chemistry Çevirenler: Uyar T, Aksoy S, İnam R. Genel Kimya-Temel Kavramlar. 4. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara; 2009, s:327-329.

Chetana PR, Siddaramaiah X, Ramappa PG. TGA studies of metoclopramide complexes of cobalt(II) in the solid state. Thermochimica Acta. 2005;425:13-21.

Çakır F. Auralı Migrende SLC1A3 Gen Mutasyon Analizi. D.E.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2008, İzmir (Danışman: Prof. Dr. Fethi İdiman).

Çiçek E. Rizatriptan ve Zolmitriptan İçeren Preparatlardaki Etkin Madde Miktar Tayinleri. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2006, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Nevin Erk).

Demir V. Rosuvastatin Kalsiyum ve Ezetimib'in Kombine Tabletlerden UV/VIS-Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Birlikte Tayini. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, İstanbul (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serap Karaderi).

Devprakash, Senthilkumar GP, Prithviraj S, Tamizh MT. Determination of rizatriptan in bulk and it's tablet dosage forms by UV spectroscopic method. IJPRS. 2011;2:2041-2044.

Dölen E. Analitik Kimyaya Giriş. 2. Baskı. Marmara Üniversitesi Yayın No:653, Eczacılık Fakültesi Yayın No:16, İstanbul-2002, s:666-667.

El-Gendy AE. Spectrophotometric determination of metoclopramide VIA charge-transfer complexes. Spectroscopy Letters An International Journal for Rapid Communication. 1992;25:1297-1313.

Erdik E. Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler. 5. Baskı. Gazi Büro Kitapevi Yayınları, Ankara-1998, s:531.

Ertuş ÖS, Kayalı A. Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. Ankara Ecz. Fak. Derg., 2005;34:41-57.

Etcheverry SB, Ferrer EG, Naso L, Barrio DA, Lezema L, Rojo T, Williams PA. Losartan and it's interaction with copper(II): Biological effects. Bioorganic&Medicinal Chemistry. 2017;15:6418-6424.

Gilman AG, Goodman LS, Rail TW, Murad F. The pharmacological basis of therapeutics. In: Maxwell Mcmillan International Editions. 8.ed. New York: Permagon Press; 1991, p:928.

Green JM. A practical guide to analytical method validation. Anal. Chem. News & Features. 1996;68:305A/309A.

Gündüz T. İnrümentel Analiz. 6. Baskı. Gazi Kitabevi, Ankara-2002, s:78-279.

Güzel Ö. Primer Amin Grubu İçeren Bazı İlaç Maddelerinin Spektrofotometrik Miktar Tayini. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2000, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Aydın Salman).

Güzel Ö, Salman A. Spectrophotometric determination of drugs having primary amine group with p-dimethylaminocinnamaldehyde. Turkish J. Pharm. Sci., 2007;4:31-39.

HacıMustafa Ö. Şurup Örneğindeki Etken ve Katkı Madde Analizi ve Validasyonu. Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2019, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Bürge Aşçı).

Halimehjani AZ, Afradi M, Afradi N. An improved method for the synthesis of metoclopramide. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011;3 (Suppl. 5):379-380.

Hershey AD. Current approaches to the diagnosis and management of pediatric migraine. Lancet Neurol. 2010;9:190-204.

Harrington RA, Hamilton CW, Brogden RN, Linkewich JA, Romankiewicz JA, Heel RC. An updated review of its pharmacological properties and clinical use. Springer Link. 1983;25:451-494.

Humphrey PP. The discovery of a new drug class for the acute treatment of migraine. Headache. 2007;47 (Suppl. 1):10-19.

Islas MS, Medina MJJ, López TLL, Rojo T, Lezama L, Merino GM, Calleros L, Cortes MA, Puyol RM, Echeverría GA, Piro OE, Ferrer EG, Williams PA. Antitumoral, antihypertensive, antimicrobial and antioxidant effects of an octanuclear copper (II)-telmisartan complex with an hydrophobic nanometer hole. *Inorg. Chem.* 2014;53:5724-5737.

Islas MS, Rojo T, Lezama L, Merino MG, Cortes MA, Puyol RM, Ferrer EG, Williams PAM. Improvement of the antihypertensive capacity of candesartan and trityl candesartan by their SOD mimetic copper (II) complexes. *Journal of Biochemistry.* 2013;123:23-33.

Jackson EA, Cardoni AA, Smith MA, Salter FJ. New drug evaluations: metoclopramide. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy.* 1980;14:169-176.

Kacperski J, O'Brien HL. Triptan use in pediatric migraine: focus on rizatriptan. *Future Neurology.* 2012;7:385.

Keşküş H. Metoklopramid Premedikasyonunun Vekuronyum ve Mivakuryum ile Sağlanan Nöromusküler Bloğa Etkisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2006, İstanbul (Danışman: Doç. Dr. Ziya Salihoğlu).

Kotan LD. Silika Metodu ile Kemikten DNA Ekstraksiyonu. Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Adana (Danışman: Prof.Dr. Behnan Alper).

Kumari AS, Subhasish S, Kaushik DK, Annapurna MM. UV-spectroscopic methods for estimation of rizatriptan benzoate in pharmaceutical preparations. *International Journal of ChemTech Research.* 2010;2:653-659.

Küçükcaraca YD. Gıda Katkı Maddelerinin HPLC ile Analizi ve Validasyonu. Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, İstanbul (Danışman: Doç.Dr. Bürge Aşçı).

Lang JR, Bolton S. A comprehensive method validation strategy for bioanalytical applications in the pharmaceutical industry-1. experimental considerations. J. Pharm. Biomed. Anal. 1991;9:357- 361.

Lavanya GM, Sunil M, Eswarudu MM, Eswaraiah CM, Harisudha K, Spandana N. Analytical method validation: an updated review. IJPSR. 2013;4:1280-1286.

Lewis KS. Pediatric headache, Semin. Pediatr. Neurol, 2010;17:224-229.

Madrakian T, Maleki S, Heidari M, Afkhami A. An electrochemical sensor for rizatriptan benzoate determination using Fe₃O₄ nanoparticle/multiwall carbon nanotube-modified glassy carbon electrode in real samples. Materials Science and Engineering: C. 2016;63:637-643.

Mannix LK, Savani N, Landy S, Valade D, Shackelford S, Ames MH, Jones MW. Efficacy and tolerability of naratriptan for short-term prevention of menstrually related migraine: data from two randomized, double-blind, placebo-controlled trials. Headache. 2007;47:1037-1049.

Mazı C, Karaderi S, Ariöz F. Determination of UV-vis spectrophotometric method of metal complexes stoichiometry between Cu(II) and Zn(II) with vilazodone hydrochloride. International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences. 2018;7:146-152.

Mazı C. Valsartan, Vilazodon Hidroklorür ve Karışımları ile Oluşturulan Metal Komplekslerinin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, İstanbul (Danışman; Dr. Öğretim Üyesi Serap Karaderi).

Mortimer CE. Modern Chemistry for University. Çevirenler: Altınata T, Akçay H, Anıl H, Avcıbaşı H, Balköse D, Çelebi S, Henden E, Nişli G, Toprak M, Tosçalı D, Yenigül B. Modern Üniversite Kimyası. 1. Cilt, 4. Basım, Çağlayan Kitabevi, İstanbul; 1997, s: 148-150.

Örün E. Kurşun, civa, kadmiyum: çocuk sağlığına etkileri ve temasın belirlenmesinde saç örneklerinin kullanımı. Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi. 2011;3:73-81.

Özgürtaş T. Magnezyumun metabolizması ve ölçümü. T Klin. J. Med. Sci. 2002; 22:530-534.

Özbolat G, Tuli A. Effects of heavy metal toxicity on human health. Archives Medical Review Journal. 2016;25:502-521.

Parlak İ. Metoklopramidin Akatizi Oluşturma İnsidansı ve Şiddetine Veriliş Yolunun Etkisi. D.E.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2002, İzmir (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rıdvan Atilla).

Remington JP, Gennaro AR. The Science and Practice of Pharmacy. 20th ed. The University of The Sciences in Philadelphia; 2001, p:356.

Revanasiddappa HD, Manju B. A spectrophotometric method for the determination of metoclopramide HCl and dapson. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2001;25:631-637.

Reynolds JEF. *Martindale; The Extra Pharmacopoeia*. 30.ed. London: The Pharmaceutical Press; 1993, p:892-894.

Royo MH, Romero MA, Calatayud JM. Flow injection-spectrophotometric determination of metoclopramide hydrochloride. *Talanta*. 1998;47:223-228.

Sarikaya Y. *Fizikokimya*. 10. Baskı. Gazi Kitapevi, Ankara-2011, s:992.

Savaş O. Setirizin Etkin Maddesine Sahip Farmasötik Preparatlarda Biyoanalitik Yöntem Validasyonu. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2019, Erzurum (Danışman: Prof.Dr. Yücel Kadioğlu)

Saygılı R. Bazı Metal Katyonlarının Spektrofotometrik Tayinlerinde Çok Bileşenli Kalibrasyon Tekniklerinin Uygulanması. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Mustafa Taştekin).

Sentürk Z. Analysis of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS): an overview of modern electroanalytical techniques and their applications. *Current Drug Delivery Journal*. 2013;10:76-91.

Shah J, Rasul M, Khan MA. Spectrophotometric determination of metoclopramide in pharmaceutical preparations. *Journal of Analytical Chemistry*. 2005;60:633–635.

Shekho NH. Spectrophotometric assay of metoclopramide hydrochloride in pharmaceutical preparations via arsenazo III-cerium (III) reaction. Rafidain Journal of Science. 2013;24:70-83.

Silberstein SD, Lipton RB, Dodick DW. Wolff's Headache and Other Headache Pain. 7th ed. Oxford: Oxford University Press; 2001, p:683.

Silberstein SD. Practice parameter: evidence-based guidelines for migraine headache. Neurology. 2000;55:754-762.

Skoog DA, Holler FJ, West DM, Nieman TA. Principles of Instrumental Analysis. 5th. Edition Çevirenler: Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H. Enstrümantal Analiz İlkeleri. 1. Baskı, Bilim Yayıncılık, Ankara; 2000, s: 331.

Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Fundamentals of Analytical Chemistry. 8th. Edition Çevirenler: Kılıç E, Yılmaz H. Analitik Kimyanın Temel İlkeleri. 8. Baskı, Bilim Yayıncılık, Ankara; 2004, s: 875-996.

Süslü I, Özaltın N, Altınöz S. Voltammetric determination of candesartan cilexetil in its Cu(II) complex and application to pharmaceutical formulations. Journal of AOAC International. 2010;93:562-568.

Sweetman SC. Martindale; The Complete Drug Reference. 33. ed. London: The Pharmaceutical Press; 2002, p: 449-458.

Tunalı KN, Özkar S. Anorganik Kimya. 8. Baskı. Gazi Kitabevi, Eylül-2011, s:3-96.

Wadher SJ, Pathankar PR, Puranik M, Ganjiwale RO, Yeole PG. Simultaneous spectrophotometric estimation of paracetamol and metoclopramide hydrochloride in solid dosage form. *Journal List Indian J Pharm Sciv.* 2008;70:393-395.

Wellington K, Jarvis B. Spotlight on rizatriptan in migraine. *CNS Drugs.* 2002;16:715–720.

Winner P, Hershey AD. Epidemiology and diagnosis of migraine in children. *Curr. Pain Headache Rep.* 2007;11:375–382.

Yıldız M. İkili İlaç Kombinasyonlarının Kemometrik Analizi. S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Isparta (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Güzide Ertokuş).

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Murat	Soyadı	Kağız
Doğum Yeri	İzmit	Doğum Tarihi	26.11.1985
Uyruğu	TC	Tel	05523284233
Email	muratkagiz@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	Dokuz Eylül Üniversitesi Kimya Öğretmenliği	2009
Lise	Kocaeli Teknik Lisesi/ Kimya	2003

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Ar-Ge Uzman Yardımcısı	Pharmactive İlaç San. A.Ş.	2012-2013
Kalite Kontrol Uzman Yardımcısı	Deva Holding. A.Ş.	2013-2014
Kimya Öğretmeni	MEB	2014-Halen

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	84.193	79.933	74.810
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Keynote, Pages	Çok iyi
Microsoft Office	Çok iyi