

**TENOKSİKAM'IN ELEKTROANALİTİK
VE BAZI YÖNTEMLERLE MİKTAR TAYİNİ**

Kim. Müh. Zeki ATKOŞAR

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Analitik Kimya Anabilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof.Dr. Muzaffer TUNÇEL

Eylül 1994

Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

Zeki ATKOŞAR'ın DOKTORA TEZİ olarak hazırladığı "TENOKSİKAM'IN ELEKTROANALİTİK VE BAZI YÖNTEMLERLE MİKTAR TAYİNİ" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

.30/09/1994

Üye: Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL

Üye: Doç. Dr. Zühre ŞENTÜRK

Üye: Doç. Dr. Nese KIRIMER

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun18.....
gün ve...16.09.1994 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Tenoksikam; oksikam grubundan non-steroidal antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkilere sahip yeni bir ilaçtır.

Bu çalışmada tenoksikamın UV spektrofotometrik, yüksek basınçlı sıvı kromatografik, ince tabaka kromatografik, potansiyometrik, kondüktometrik ve voltametik yöntemler ile miktar tayinlerinin yapılabilirliği araştırılmıştır.

Tenoksikamdaki enol grubunun çifte bağının indirgenmesine dayalı olarak polarografik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Doğru akım polarografisi (DCP), diferensiyel puls polarografisi (DPP), aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ve aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) teknikleri kullanılarak oldukça iyi korelasyonlu kalibrasyon denklemleri elde edilmiştir. Ayrıca yüksek basınçlı sıvı kromatografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerin de analitik kimya açısından, tenoksikam miktar tayinleri için uygulanabilir yöntemler olduğu bulunmuştur,

Potansiyometrik yöntem ile tenoksikam miktar tayinlerinin ise sınırlı koşullarda yapılabileceği saptanmıştır.

Geliştirilen yöntemler tenoksikamı içeren preparatlara da uygulanmış, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Polarografik yöntemin tüm teknikleri ile yüksek basınçlı sıvı kromatografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerin farmasötik preparatlardaki tenoksikam tayini için kullanışlı ve uygun yöntemler olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tenoksikam, tenoksikam miktar tayini, polarografi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, UV spektrofotometri, farmasötik uygulamalar.

SUMMARY

Tenoxicam is a new drug, including non-steroidal anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities, which is belong to oxicam group.

In this study, feasibility of quantitative determinations of tenoxicam has been investigated with the UV spectrophotometric, high-pressure liquid chromatographic (HPLC), thin layer chromatographic (TLC), potentiometric, conductometric and voltammetric methods.

It has been achieved polarographic studies based on the reduction of enol group's double bond of tenoxicam. It has been obtained the well correlated calibration equations by using direct current polarographic (DCP), differential pulse polarographic (DPP), superimposed increasing amplitude pulse polarographic (SIAPP) and superimposed constant amplitude pulse polarographic (SCAPP) techniques. Furthermore, it has been established that HPLC and UV spectrophotometric methods are suitable for quantitative determination of tenoxicam from the view of analytical chemistry.

Also, it has been established that the quantitative determination of tenoxicam can be done in limited conditions with the potentiometric method.

Developed methods have been also applied on preparations include tenoxicam and results were evaluated statistically.

It has been determined that all polarographic techniques, HPLC and UV spectrophotometric methods were practical and suitable for quantitative determinations of tenoxicam in pharmaceutical preparations.

Key words: Tenoxicam, tenoxicam assay, polarography, high-pressure liquid chromatography, UV spectrophotometry, pharmaceutical application.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli fikirleri sonsuz sabır ve hoşgörüsüyle destekleyen ve çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendiren danışmanım ve çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL'e;

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezinin olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve ilgilerini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. K.Hüsnü Can BAŞER'e;

Standart madde sağlanması konusundaki çabaları için Sayın Prof. Dr. Erden GÜLER'e ve Sayın Kim. Yük. Müh. Samiye FIÇICIOĞLU'na;

Deneyisel çalışmalarım sırasındaki ilgi ve destekleri için Sayın Uzm. Ecz. Müberra KOŞAR'a, Sayın Uzm. Ecz. Zeynep TUNALIER'e, Sayın Kim. Yük. Müh. Berrin BOZAN'a, Sayın Kim. Yük. Müh. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na, Sayın Kim. Yük. Müh. Temel ÖZEK'e;

Çalışma arkadaşlarım Sayın Yard. Doç.Dr. Bülent ERGUN'a, Sayın Dr. Ecz. Dilek AK'a, Sayın Kim. Yük. Müh. Göksel ALTIOKKA'ya ve Sayın Arş. Gör. Volkan ZAIMOĞLU'na;

Büyük bir özveri ile destek veren sevgili eşim Güray ATKOŞAR'a;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. Tenoksikamın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	2
2.2. Tenoksikamın Farmakolojik Özellikleri	3
2.3. Tenoksikamın Metabolitleri	5
2.4. Tenoksikamın Üzerindeki Kalitatif ve Kantitatif Çalışmalar	7
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	12
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	12
3.2. Kullanılan Aletler.....	12
3.3. Polarografik Çalışmalardaki İşlemler.....	13
3.3.1. Stok çözelti.....	13
3.3.2. Tampon çözeltiler.....	13
3.3.3. Taşıyıcı elektrolit sistemi.....	13
3.3.4. Polarografik çalışma koşulları.....	14
3.4. UV Spektrofotometrik Çalışmalardaki İşlemler.....	14
3.4.1. Stok çözelti.....	14
3.4.2. UV spektrofotometrik koşullar.....	14
3.5. IR Spektrofotometrik Çalışmalardaki İşlemler.....	14
3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemindeki İşlemler.....	15
3.7. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemindeki İşlemler.....	15
3.8. NMR Spektrumunun Alınmasındaki İşlemler.....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	16
4.1. Çözücü ve Taşıyıcı Elektrolit Bileşenlerinin Polarografi Üzerine Etkisi.....	16
4.2. Tenoksikam Çözeltilerinin Dayanırlılığının İncelenmesi.....	16
4.3. Erime Noktası Tayini.....	18
4.4. Tenoksikamın IR Spektrumu.....	18
4.5. Tenoksikamın Proton NMR Spektrumu.....	19
4.6. Tenoksikamın UV Spektral Karakteristiklerinin İncelenmesi.....	20

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

4.7. Tenoksikamın Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografik Yöntem ile İncelenmesi.....	25
4.8. Tenoksikamın İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi.....	26
4.9. Tenoksikamın Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonu.....	26
4.10. Tenoksikamın Polarografisinin İncelenmesi.....	28
4.10.1. pH-sınır akımı ilişkisi.....	29
4.10.2. Basınç-sınır akımı ilişkisi.....	33
4.10.3. Sınır akımı-damlama süresi ilişkisi.....	35
4.10.4. Sıcaklığı sınır akımı üzerine ilişkisi.....	35
4.10.5. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerine ilişkisi.....	37
4.10.6. Tersinirliğin incelenmesi.....	37
4.10.7. Elektrokapiler eğrinin incelenmesi.....	38
4.10.8. Derişimin sınır akımı üzerine ilişkisi.....	39
4.10.8.1. Doğru akım polarografisi (DCP) ile yapılan çalışmalar..	39
4.10.8.2. Diferensiyel puls polarografisi (DPP) ile yapılan çalışmalar.....	41
4.10.8.3. Aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ile yapılan çalışmalar.....	43
4.10.8.4. Aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) ile yapılan çalışmalar.....	44
4.11. Katı Elektrotlarla Yapılan Çalışmalar.....	46
4.12. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanışı.....	46
4.12.1. Polarografik teknikler ile preparatlardaki tenoksikam tayini.....	46
4.12.2. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile preparatlardaki tenoksikam tayini.....	47
4.12.3. UV spektrofotometrik yöntem ile preparatlardaki tenoksikam tayini.....	47
4.12.4. İnce tabaka kromatografik yöntem ile preparatlardaki tenoksikam tayini.....	53
4.12.5. Potansiyometrik titrasyon yöntemi ile preparatlardaki tenoksikam tayini.....	53
4.12.6. Yöntemlerin istatistiksel değerlendirilmeleri.....	53
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Tenoksikamın kimyasal formülü.....	2
2.2. Tenoksikamın sıçanlarda, köpeklerde ve insanlardaki başlıca metabolitleri	7
4.1. Tenoksikamın IR spektrumu.....	19
4.2. Tenoksikamın proton NMR spektrumu.....	20
4.3. Tenoksikamın artan derişimlerdeki orijinal absorbands spektrumları.....	21
4.4. Tenoksikamın artan derişimlerdeki I. türev spektrumları.....	22
4.5. Tenoksikamın artan derişimlerdeki II. türev spektrumları.....	23
4.6. Tenoksikamın artan derişimleri ile elde edilen yüksek basınçlı sıvı kromatogramları.....	25
4.7. Tenoksikamın NaOH ile potansiyometrik titrasyon eğrisi.....	27
4.8. Tenoksikamın indirgenme mekanizması.....	29
4.9. Tenoksikamın çeşitli pH lardaki doğru akım polarogramları.....	30
4.10. pH a karşı sınır akımlarının değişimi.....	31
4.11. pH a karşı yarı-dalga potansiyellerinin değişimi.....	32
4.12. pH 1.1 ve 10.8 de basınç-sınır akımı ilişkileri.....	34
4.13. Cıvanın damlama süresinin çeşitli fonksiyonlarına göre sınır akımlarının değişimi.....	36
4.14. Sınır akımlarının sıcaklıkla değişimi.....	36
4.15. Tenoksikamın katodik ve anodik yöndeki diferensiyel puls polarogramları.....	37
4.16. Tenoksikamın ve taşıyıcı elektrolitin elektrokapiler eğrileri.....	38
4.17. Artan derişimlerdeki tenoksikamın doğru akım polarogramları.....	40
4.18. Tenoksikamın doğru akım polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği	41
4.19. Artan derişimlerdeki tenoksikamın diferensiyel puls polarogramları.....	42
4.20. Tenoksikamın diferensiyel puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.....	42
4.21. Artan derişimlerdeki tenoksikamın aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarogramları.....	43
4.22. Tenoksikamın aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.....	44
4.23. Artan derişimlerdeki tenoksikamın aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarogramları.....	45
4.24. Tenoksikamın aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
4.1.	Tenoksikamın UV spektral karakteristikleri.....	24
4.2.	Asetat tamponu içerisinde çeşitli pH larda sınır akımı, yarı-dalga potansiyeli ve $n\alpha$ değerleri.....	32
4.3.	Fosfat tamponu içerisinde çeşitli pH larda sınır akımı, yarı-dalga potansiyeli ve $n\alpha$ değerleri.....	32
4.4.	Derişim-sınır akımı ilişkisinin incelenmesinde kullanılan tekniklerdeki çalışma koşulları.....	39
4.5.a.	A kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları.....	48
4.5.b.	B kodlu tabletlerde yapılan tayin sonuçları.....	49
4.5.c.	C kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları.....	50
4.5.d.	D kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları.....	51
4.5.e.	E kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları.....	52

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda benzotiazin-1,1 dioksit'in N-heterosiklik karboksamid türevleri, "oksikamlar" adı altında, yeni bir non-steroidal antiinflamatuvar ilaç grubu olarak üretilmeye başlanmıştır. Oksikamlar yapı olarak birbirlerine benzemektedirler. Tenoksikam da bir tienotiazin türevi olup, grubun ilk üyelerinden biri olan piroksikamdaki benzen halkasının yerine tiyofen halkasının geçmesi ile elde edilmiştir (1).

Oksikam grubu ilaçların gelecek vaadeden non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar olduğunun ortaya çıkmasından sonra, bu gruba olan ilgi gün geçtikçe artmakta ve konu ile ilgili çalışmalar da yoğunlaşmaktadır (2).

Yeni bir ilaç olması ve terapötik etkisi nedeni ile tenoksikam için yapılan miktar tayini çalışmaları genellikle farmakolojik çalışmalar ile birlikte gelişmiştir. Molekülün gerek kendisi, gerekse metabolitleri ile ilgili çalışmalar daha çok yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemlere yöneliktir. Tenoksikamın kan, plazma, idrar ve sinovial sıvılardaki tayinlerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemler kullanılmıştır (3-11). Farmasötik preparatlardaki tenoksikam tayini için UV spektrofotometrik olarak yalnızca bir çalışmaya rastlanmıştır (12).

Yapı olarak kendisine çok benzeyen piroksikam ile birlikte adsorptif sıyırma (stripping) voltametri ve kare-dalga voltametri yöntemleri ile elektrokimyasal davranışları incelenmiş, idrar örneklerinde piroksikam ve tenoksikam tayinlerinin yapılabileceği bildirilmiştir (13). Ayrıca modifiye edilmiş karbon pasta elektrodu kullanılarak piroksikam ve tenoksikamın biyolojik sıvılardaki miktarlarının tayin edilebileceği konusunda bir çalışmaya da rastlanmıştır (14).

Bu çalışmada tenoksikamın, elimizde var olan aletlerden yararlanılarak yapılabilecek miktar tayinlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda tenoksikam; UV spektrofotometrik, yüksek basınçlı sıvı kromatografik, potansiyometrik, kondüktometrik, ince tabaka kromatografik ve voltametrik olarak incelenmiştir.

Yukarıda verilen yöntemler arasında elektroanalitik olanlara ağırlık verilerek, daha önce piroksikamın incelendiği bir çalışmanın (15) tenoksikam için geliştirilmesi üzerinde durulmuştur. Voltametrik yöntemde tenoksikamın enol grubunun indirgenmesine dayalı olarak doğru akım polarografisi (DCP) ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu arada polarografinin diferensiyel puls polarografisi (DPP), aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ve aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) teknikleri de geliştirilmiştir.

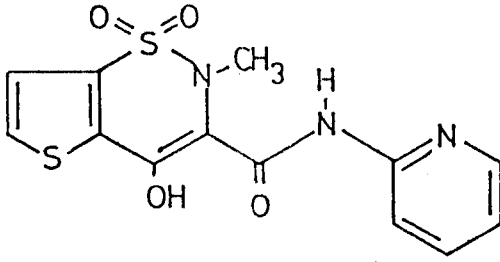
Çalışma koşullarında bu yöntemlerin farmasötik preparatlardaki tenoksikam miktarının tayini için de uygulanabilir olup olmadıkları araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlar matematiksel ve istatistiksel açıdan değerlendirilmiş, yöntemlerin geçerliliği tartışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tenoksikamın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Oksikam grubundan bir tienotiazin türevi olan tenoksikam; 4-hidroksi- 2-metil-N- 2 - piridil-2 H-tieno (2,3-e)-1, 2-tiazin-3-karboksamid-1,1 dioksit formülüne sahip bir bileşiktir. Açık formülü Şekil 2.1.de verilmiştir.



Şekil 2.1. Tenoksikamın kimyasal formülü

Kapalı formülü $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ olup, molekül ağırlığı 337.4 dür. İnce, sarı renkli toz halinde, kendine has özel kokulu, hafif acı lezzettedir.

Erime noktası 209-213 °C dir ve bu sıcaklıkta bozunmaktadır (16).

Hidrofilik asit karakterde olup sudaki dissosiasyon sabitleri; UV spektrofotometrik yöntem ile $pK_{a1}=1.07$, $pK_{a2}=5.34$ olarak verilmektedir (17). 1:1 oranında su-etanol karışımında ise potansiyometrik yöntemle ölçülen dissosiasyon sabitinin $pK_{a2}=4.95 \pm 0.02$ olduğu, titrasyon sürecinde çökme görüldüğünden pK_{a1} için herhangi bir ölçüm yapılamadığı da bildirilmektedir (18).

Santrifüjal partiyon kromatografisi ile yapılan çalışmalarda pH 7.4 de, oktanol-su sistemi için dağılma katsayısı $\log D_{okt}=0.32$, heptan-tampon sistemi için ise $\log D_{hep}=2.88$ olarak bulunmuştur (18).

Tenoksikamın çözünürlüğü incelendiğinde; suda, metanolde, etanolde, asidik çözeltilerde ve etil asetatı çok az çözünürlüğe sahip olduğu, buna karşılık N,N-dimetilformamid, dimetilsülfoksit ve kuvvetli bazlarda daha kolay çözünebildiği gözlenmiştir. Çözünürlüğünün pH 5.3 de 13 mg/100 mL su, pH 7.5 da ise 279 mg/100 mL su olduğu bildirilmektedir (19).

Diğer non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlara göre daha zayıf lipofilik özelliklere sahiptir (20).

2.2 Tenoksikamın Farmakolojik Özellikleri

Tenoksikam romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan spondilit'in semptomatik tedavisi ile, tendinit, bursit, siyatik, lumbago, akut gut, sırt ağrıları, burkulma ve incinme gibi çeşitli romatik hastalıkların tedavisinde kullanılan antiinflatuvar, analjezik ve antipiretik etkilere sahip bir ilaçtır (2, 21-23).

Antiinflatuvar etkiye sahip diğer non-steroidal ilaçlar gibi tenoksikam da bu grubun genel farmakolojik özelliklerini taşımaktadır. Bu etkinin genellikle siklooksijenazın ve bunu takiben de prostaglandin oluşumunun inhibisyonu ile gerçekleştiği bilinmektedir (24). Tenoksikamın lökosit fonksiyonlarını inhibe etme yeteneği fagositoz ve histamin salınımını da içermekte, buna ek olarak aktif oksijen radikallerinin oluşmasının engellenmesi veya kaldırılması ile antiinflatuvar etkinin arttığı da ileri sürülmektedir (2, 25).

Günlük dozun genel olarak bir kez ve 20 mg olması ilacın kullanımında bir üstünlük olarak göze çarpmaktadır. Günde 40 mg lık bir uygulamanın etkinlik bakımından büyük bir üstünlüğü olmadığı gibi, yan etkilerin şiddetlerinin artabileceği de ileri sürülmektedir. Ancak akut gut durumlarında 40 mg lık dozun sadece 2 gün uygulanması, sonra tekrar 20 mg lık günlük doza geçilmesi önerilmektedir. Bu dozun hem etkili hem de tolerans açısından en uygun miktar olduğu yapılan klinik çalışmalarda anlaşılmıştır. Karşılaştırmalı deneylerde günlük 20 mg tenoksikam dozunun, piroksikam, naproksen asemetasin, diklofenak, ibuprofen, indometasin ve ketoprofen gibi diğer non-steroidal antiinflatuvar ilaçların bilinen terapötik dozlarına eşdeğer olduğu bulunmuştur (2, 25).

Ayrıca piroksikam ve diklofenak ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, tenoksikamın N-formil-metionil-lösil-fenilalanin'in nötrofillere spesifik bağlanması üzerine etkileri araştırılmış, tenoksikamın diğerlerine göre daha güçlü bir inhibisyon etkisine sahip olduğu bulunmuştur (26).

Klinik çalışmalardaki gönüllü ve hastalara genellikle tablet veya kapsül halinde oral olarak tenoksikam uygulandığı bildirilmektedir. Ancak bu iki dozaj şekli dışında supozituar ve parenteral dozaj şekillerinin de kullanılabileceği belirtilmektedir (19, 27, 28). Ayrıca sorunlu hastalar veya yutma sırasındaki zorluklar nedeni ile yeni bir dozaj şekli olarak süt içerisine karıştırılarak verildiği ve bu süt formülasyonunun değişik romatik koşullardaki oral tedaviye bir alternatif olması bakımından uygun olduğu ileri sürülmektedir (29).

Tenoksikamdaki tienotiazin grubu moleküle daha çok hidrofilik bir karakter vermektedir. Bu nedenle lipofilik özellik isteyen dokular içerisine daha düşük miktarda geçmektedir. Bu durum diğer non-steroidal antiinflatuvar ilaçlara göre tenoksikama bir üstünlük kazandırmaktadır. Yan etkilerin görülme riski ve sıklığının azalmasının yanısıra, bu özelliklerin tenoksikama düşük hepatik ekstraksiyon oranı ve bunun sonucu olarak da uzun eliminasyon yarı-ömrü kazandırdığı belirtilmektedir (20).

İnsanlarda ortalama eliminasyon yarı-ömürü yaklaşık 70 saattir ve bu değer diğer oksikam grubu ilaçlarından daha uzundur (19,30).

Fizyolojik pH da tenoksikamın iyonize olmuş şekli daha çoğunluktadır ve diğer dokulara dağılma yeteneği sınırlıdır (31). Görünür dağılma hacmi ($V_d =$ apparent volume of distribution) 0.15 L.kg^{-1} dir (1, 25). Plazma klerensi 1.6 ml dak^{-1} olduğu için düşük ekstraksiyon oranlı bir ilaç olarak kabul edilmektedir (19).

Sağlıklı gönüllüler ile böbrek fonksiyonları bozuk olan hastalardaki farmakokinetik bulguların farklı olmadığı belirtilmektedir (7). Ayrıca böbrek fonksiyonları bozuk hastaların günlük 20 mg lık dozu 3 ay boyunca güvenle kullanabilecekleri öne sürülmektedir (32).

Tenoksikamın farmakokinetik profilinin incelenmesinde oral verilişten sonra tam absorpsiyon, yüksek protein bağlanması (fizyolojik pH da % 98.5 dan fazla), düşük sistemik klerens (0.1 L. saat^{-1}) gibi diğer parametreler de gözlenmiştir (8, 19, 21, 30, 33, 34). Etkin plazma derişimine erişmek için gerekli süre ortalama olarak; birey aç iken 1.7, tok iken 3.8 saat olarak bulunmuştur (35). Kararlı durumdaki minimum plazma derişiminin ise 20 mg lık tek dozdan sonra 9.7 mg L^{-1} olduğu belirtilmektedir (3).

Oral biyoyararlılığın % 99 olduğu, bunun da hemen hemen tümünün plazma proteinlerine bağlandığı, rektal verilişte ise oral veya parenteral verilişe göre biyoyararlanımın yaklaşık % 80 olduğu da rapor edilmektedir. Tenoksikamın biyoyararlılığı yaş, cinsiyet, renal veya hepatik yetmezlik gibi faktörlerden etkilenmemektedir (2, 36).

Tenoksikamın farmakokinetik özelliklerinin araştırılmasında sınırlı sayıda olmakla birlikte, besinlerin etkisi ve ilaç-ilaç etkileşmeleri çalışmalarına da rastlanmaktadır. Antasid ile birlikte alındığında tenoksikamın plazmadaki maksimum derişime erişme süresinin geciktiği ve maksimum plazma derişiminin azaldığı gözlenmiştir. Tenoksikamın absorpsiyonu üzerine besinlerin etkilerinin de benzer sonuçlar verdiği bulunmuştur. Yemek sonrası verilen tenoksikamın absorpsiyon hızının, yemek öncesi verilişe göre daha yavaş olduğu belirtilmektedir. Ancak bu durumun absorpsiyon derecesi üzerinde etkili olmadığı da vurgulanmaktadır (35).

İlaç-ilaç etkileşmeleri çalışmalarında hepatik bir sitokrom P-450 monoooksidaz inhibitörü olan simetidin tenoksikamın farmakokinetiği üzerinde etkili olmadığı bulunmuş, bu sonucun diğer oksikam grubu ilaçlar için elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu bildirilmiştir (1).

Günlük 3900 mg aspirin ile birlikte kullanılması durumunda ise tenoksikamın plazma derişimlerinde önemli bir azalma olduğu görülmüştür. Bu durum, serum albüminlerine bağlanmada aspirin ile tenoksikam arasında yarışmalı bir etkileşim olasılığına bağlanmaktadır (1,25, 37).

İnsan ve köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda adsorban bir reçine olan kolestiraminin tenoksikamı adsorbe edebilme yeteneği araştırılmıştır. Kolestiramin

uygulamasından sonra tenoksikam atılımı hızlanmıştır. Toplam vücut klerensi arttığından dolayı eliminasyon yarı-ömrü ve vücutta kalma süresinde de yaklaşık 6 kat bir azalma olduğu gözlenmiştir (38, 39).

İlaç-ilaç etkileşimleri konusundaki bir diğer çalışmada da tenoksikam ile diüretik bir ilaç olan furosemid arasındaki etkileşim araştırılmıştır. Tenoksikam varlığında kan basıncı, kalp atış hızı, elektrokardiyogram verileri, vücut ağırlığı gibi yaşam parametrelerinin etkilenmediği, idrar yolu ile sodyum ve klorür atılımının tedavi sürecinde azalma eğiliminde olduğu, ancak bu farkın çok önemsiz olduğu bulunmuştur(40).

Yan etkilerin araştırılması sırasında tenoksikamın geçici ve ılımlı bir çok yan etkisine karşın, genellikle çok iyi tolere edilebildiği bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda sıklıkla görülen yan etkilerin gastrointestinal sistemde olduğu (bulantı, midede gaz birikmesi, nadiren kanama, dispepsi gibi), deride kaşıntı, döküntü ve isilik ile baş dönmesi ve baş ağrısı gibi etkilerin görülebileceği de ileri sürülmektedir. Bunlara ek olarak, renal ve hepatik fonksiyon testlerinde normalin dışında bazı değişimlerin gözlenebileceği de rapor edilmektedir. Ayrıca izole edilmiş örneklerde hemogloblin azalması, granülositopeni, hafif ödem, Stevens-Johnson sendromu ve Lyell sendromu görülebileceği de belirtilmektedir. Pek çok klinik deneylerde tenoksikamın piroksikam kadar iyi tolere edildiği, hatta bir kaç durumda tenoksikam lehine önemli farklılıkların gözlendiği de bildirilmiştir. Bunun yanı sıra tenoksikamın, indometasin ve ketoprofenin bilinen dozlarından çok daha az yan etkilere sahip olduğu da öne sürülmektedir (2, 41).

Tenoksikam uygulaması sürecinde gastrik mukoza üzerindeki etkiler diğer antiinflamatuvar ilaçlara göre son derece azdır (42). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda tenoksikamın daha az gastrotoksik potansiyele sahip olduğu ve bu özelliği ile piroksikamdan daha üstün olduğu vurgulanmaktadır (25, 43).

Psikomotor davranışlarda herhangi bir değişimin olmadığı da öne sürülmüştür (44, 45). Sağlıklı insanlarda yapılan klinik çalışmalarda tenoksikamın kan şekeri düzenlenmesinde etkisi olmadığı da saptanmıştır (46). Ayrıca oral ve intradermal uygulamalar sonucunda tenoksikamın herhangi bir fototoksik etki göstermediği de sunulan bulgular arasındadır (47).

Çeşitli romatizmal durumlu hastalarda tenoksikamın etkileri üzerinde uluslararası kapsamda yapılan istatistiksel çalışmalarda yan etki görülme sıklığının 2-6 haftalık kısa tedavilerde % 12, 6 ay gibi uzun süreli tedavilerde % 15 kadar olduğu bildirilmektedir (48).

2.3. Tenoksikamın Metabolitleri

Tenoksikam üzerindeki metabolizma çalışmaları sıçanlar, köpekler ve insanlarda gerçekleştirilmiştir. Sıçanlar üzerinde yapılan metabolizma araştırmalarında altı metabolit saptanmış ve belirlenmiştir. Bu metabolitler; N-metiltiyofenkarboksilik asit,

5'-hidroksitenoksikam, N-metiltiyofensülfimid, tiyofensülfimid, piridiloksamik asit ve C-7 veya C-8 O-glukuroniltenoksikamdır. Bu metabolitler sıçanlara ^{14}C -tenoksikamın 50 mg.kg⁻¹ dozda oral verilışinden sonra toplanan idrar, feçes ve safralardan ince tabaka kromatografisi ve preparatif kolon kromatografisi yöntemleri kullanılarak ayrılmış, spektrofotometrik detektör ile veya radyoaktivite ölçülmesi ile fraksiyonlandırılmışlardır. Metabolitlerin yapılarının aydınlatılması için proton ve ^{13}C -NMR'ı ile kütle spektrometrisinden yararlanılmıştır. N-metiltiyofenkarboksilik asit ve 5'-hidroksitenoksikam'ın başlıca metabolitler olduğu, bunların miktarlarının ^{14}C -tenoksikam dozunun sırasıyla % 9 ve % 5'i, diğer metabolitlerin toplamının ise % 1'den daha az olduğu bulunmuştur (49). C-7 veya C-8 O-glukuroniltenoksikamın ise başlıca safra metaboliti olduğu da elde edilen bulgular arasındadır (1).

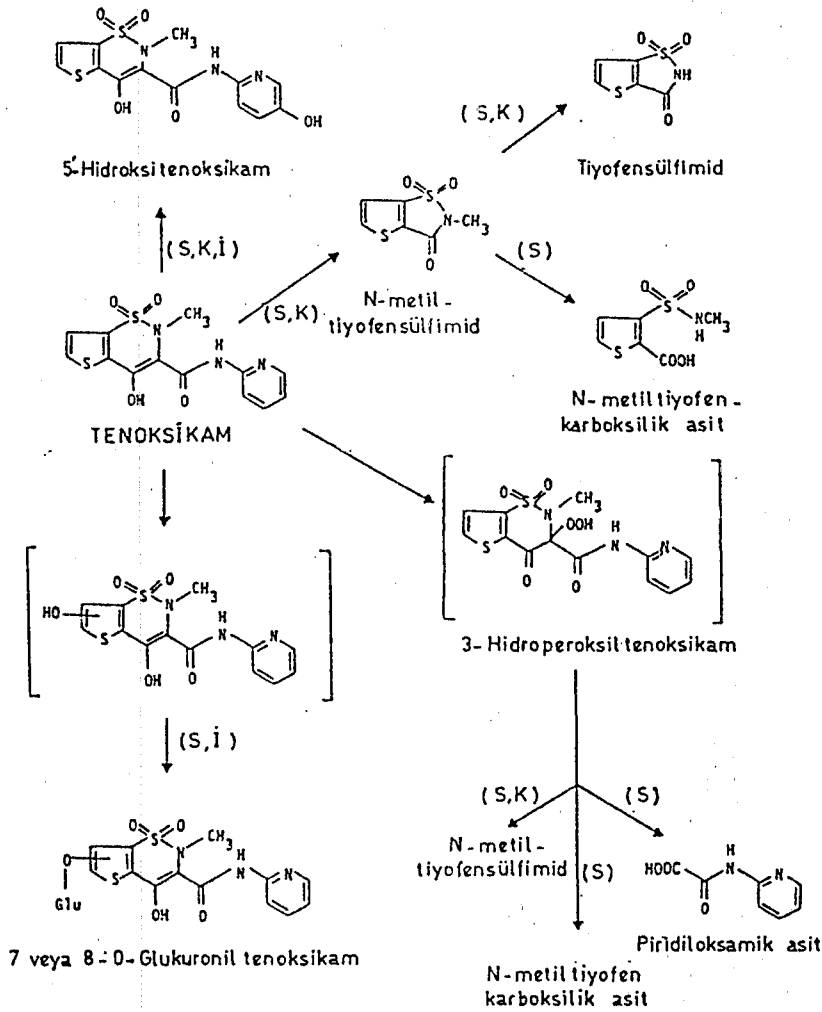
İnsan plazmasında tenoksikamın % 90 dan fazlasının değişmeden kaldığı da rapor edilmektedir (7). Ayrıca insanlarda tenoksikamın % 66 sının idrarla, % 33 ünün de feçesle inaktif metabolitler halinde atıldığı bildirilmektedir (25).

Tenoksikamın metabolizması üzerinde lökositperoksidazın rolü de incelenen konular arasında yer almaktadır. Bu çalışmada erkek sıçanların uyluk kemiklerinden toplanan lökositlerdeki myeloperoksidaz ve eosinofilperoksidaz gibi enzimlerle tenoksikamın üç metabolite çevrildiğı bulunmuştur. Bunların yapıları, ince tabaka kromatografisi ile ayırımdan sonra, kütle spektrometrisi ile aydınlatılmıştır. Bu metabolitlerin yaklaşık ekimolar miktarda N-metiltiyofensülfimid ve piridiloksamik asit ile eser miktarda tiyofen karboksilik asit olduğu belirtilmektedir (50).

Bu konu ile ilgili diğer bir çalışma da lökositperoksidaz ve H_2O_2 oksidasyonu yolu ile tenoksikamdan yeni ürünlerin oluşmasının başka bir mekanizma ile gözlenmesine ilişkindir. Bu araştırmada çoğunluğu myeloperoksidazdan oluşmuş bir lökosit ekstresinin H_2O_2 varlığında tenoksikamı dört metabolite dönüştürdüğü bulunmuştur. Enzimatik reaksiyondan sonra karışımlar preparatif kolona ve ince tabaka kromatografisine uygulanarak ürünler ayrılmış, proton NMR'ı ve kütle spektrometrisi ile yapılar aydınlatılmıştır. Bu metabolitlerin; 4,5-dihidro-4-okso-5-metiliminopirido (1,2,a)-imidazol (metabolit I), 2-karboksil-3-tiyofensülfirik asit (metabolit II), 2-karboksil-3-tiyofensülfonik asit (metabolit III) ve N-metil-N'-(2-piridil) oksamid (metabolit IV) olduğu belirtilmektedir (51).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada ise köpek idrarından 5'-hidroksitenoksikam, N-metiltiyofensülfimid ve tiyofensülfimid olarak belirlenen üç metabolit saptanmıştır. İnsanlarda ise başlıca idrar metabolitinin 5'-hidroksitenoksikam (dozun % 36 sı kadar) olduğu bildirilmektedir (6).

Şekil 2.2 de tenoksikamın sıçanlarda, köpeklerde ve insanlardaki başlıca metabolitleri topluca gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Tenoksikamın sıçanlarda (S), köpeklerde (K) ve insanlardaki (İ) başlıca metabolitleri (1).

2.4. Tenoksikam Üzerindeki Kalitatif ve Kantitatif Çalışmalar

Kračmar ve Kráčmarová (52) ilaçların UV spektrofotometrik yöntemle kontrolleri konusunda, aralarında tenoksikamın da bulunduğu 15 ilacın UV spektrumlarını kaydetmişlerdir. Tenoksikam için iki çözücü sisteminde spektrumlar alınmıştır. Kloroform içerisinde, $1-30 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişim aralığında, 275 ve 345 nm lere maksimum absorbans verdiğini, % 90 metanollü 0.01 M NaOH içerisinde ise $1-45 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişim aralığı için, maksimum absorbansların 265, 289 ve 372 nm lere oluştuğunu belirtmektedirler.

Abo El-Maali ve arkadaşları (53), tenoksikam ve piroksikamın Cu(II), Pb(II) ve Cd(II) iyonları ile şelat yapma eğilimini diferensiyel puls polarografisi ve siklik voltametri yöntemleri kullanarak araştırmışlar, oluşan kompleks bileşiklerin dayanıklılık sabitlerini karşılaştırmışlardır. Taşıyıcı elektrolitin etkisi, pH ve diğer parametrelerin de dikkate alındığı bu çalışmada pH 7.4, 4.5 ve 2.1 de tamponlanmış ortamda metal iyonlarının sabit derişimlerine ilaçların ilave edilmesi ile reaksiyonlar yapılmıştır. Kompleks bileşiklerin oluşumu pik potansiyellerindeki kaymalar ve akım şiddetindeki azalmalar ile anlaşılmıştır. Tersinirlikler siklik voltametri ile araştırılmıştır. Cu(II) iyonunun tenoksikam ve piroksikam ile güçlü bir kompleks oluşturma yeteneği olduğu ortaya çıkmıştır. Pb(II) sadece nötral çözeltilerde kompleks oluşturabilirken, Cd(II) herhangi bir reaksiyon göstermemektedir. Cu(II) ile tenoksikam arasındaki kompleksin maksimum 4 koordinasyon sayısına sahip olduğu bildirilmektedir. Komplekslerin dayanıklılığı ve stokiometrisinin, ligandın protonlanmış ve protonlanmamış bölgelerinden dolayı pH a bağımlı olduğu bulunmuştur. Ortamda fosfat iyonlarının varlığı, reaksiyonları engelleyebilmektedir. Sonuçta tenoksikamın piroksikamdan daha güçlü bir kompleks oluşturabilme yeteneğine sahip olduğu öne sürülmektedir.

Dixon ve arkadaşları (4), piroksikam ve tenoksikamın plazmadaki tayinleri için bir yöntem geliştirmişlerdir. Plazmada ilaçların ekstraksiyonu için hidroklorik asitli ortamda diklorometan kullanılmıştır. Çözücünün uçurulmasından sonra kolona uygulama yapılmıştır. Hareketli faz olarak asetonytril : su : 0.1 M fosfat tamponu (pH 5.0) (30:30:40) ve tenoksikam tayini için internal standart olarak piroksikam kullanılmıştır. 0.75 mL dak⁻¹ akış hızında alıkonma zamanının 2.3 dakika dolayında olduğu belirtilmektedir. Kalibrasyon derişim aralığının tek doz tenoksikam için 0.5-6.0 µg mL⁻¹ arasında, tayin sınırının 0.1 µg mL⁻¹ düzeyinde ve standart sapmanın % 7.9 dolayında olduğu da bildirilmektedir.

Heizmann ve arkadaşları (5) da tenoksikam ve 5'-hidroksitenoksikamın insan plazmasında tayini için bir yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntem önermektedirler. Internal standart olarak kullanılan piroksikam ile karıştırılan plazma örnekleri pH 3-4 arasında diklorometan ile ekstrakte edildikten sonra, diklorometan uçurulmuş ve kuru kalıntı hareketli faz içine alınarak C-18 ters faz kolona enjekte edilmiştir. Hareketli faz olarak metanol : 0.1 M fosfat tamponu (pH 5.6) (50 : 50) kullanılmıştır. Ölçümler 371 nm de UV detektör yardımı ile alınmıştır. 0.8 mL dak⁻¹ akış hızı, 60-90 bar basınç ve oda sıcaklığında alıkonma zamanlarının tenoksikam için 7.1, metabolit için 5.5 ve internal standart için 8.7 dakika olduğu bildirilmektedir. 0.5 mL plazma örneği kullanılarak 20 ng mL⁻¹ düzeyindeki tayin sınırına erişilebildiği öne sürülmektedir. Ayrıca 0.02-0.5 µg mL⁻¹ derişim aralığında doğrusallık bulunduğu, göreceli standart sapmanın % 2.5 dolayında olduğu belirtilmektedir. Bu çalışma kapsamında plazma örneklerindeki tenoksikamın dayanıklılığı da incelenmiştir. Laboratuvar ışığı ve sıcaklığında renksiz cam kaplardaki örneklerde 3 saat içerisinde % 45 lik bir tenoksikam kaybı gözleendiği, ancak

karanlık ortamda tutulan örneklerde ise aynı süre içerisinde bir kaybın olmadığı ileri sürülmektedir. Tenoksikamın sulu çözeltilerinin de doğrudan güneş ışığı altında 1 saat içerisinde % 75, doğrudan güneş ışığı olmaksızın 1 saatte % 40 lık bir kayba uğradığı, karanlıkta saklanan çözeltilerde ise 20 saat boyunca herhangi bir kaybın olmadığı vurgulanmaktadır. 24 saat sonra plazmadaki tenoksikam kaybının % 70 i bulunduğu, renkli cam kaplarda ise 96 saat sonra yaklaşık % 15 lik bir kayıp olduğu, -18 °C de ve karanlıkta saklama koşulu ile 3 ay boyunca bir kaybın gözlenmediği öne sürülmektedir. Araştırmacılar, farmakokinetik çalışmalar için daha düşük tayin sınırı istendiğinden plazmadaki 20 ng mL⁻¹ düzeyindeki tenoksikamın ölçülebilmesi için sundukları yöntemin uygun olduğunu savunmaktadırlar.

Dell ve arkadaşlarının (6) yaptıkları bir çalışma da tenoksikam ve başlıca metaboliti olan 5'-hidroksitenoksikamın insan idrarındaki tayinlerine ilişkindir. Bileşikler, asitlendirilmiş idrardan kloroform ile ekstre edilmişlerdir. Araştırmacılar, özel bir kolon olan ekstrelut kolonlarla yapılan bu işlemlerde verimin % 98 olduğunu ve en iyi verimin de pH 1-4 arasında alındığını ileri sürmektedirler. Ekstraksiyondan sonra bileşikler C-18 ters-faz kolona uygulanmıştır. Hareketli faz olarak metanol : 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) (3 : 2 v/v) kullanılmıştır. Internal standart olarak piroksikamın kullanıldığı belirtilmektedir. Yöntem 40 mg oral dozda ilaç alan hastaların idrarındaki tenoksikamın tayininin araştırılmasına uygulanmıştır. Metabolit ise, ince tabaka kromatografisi ile izole edilmiş, NMR ve kütle spektrumlarının karşılaştırılması ile tanılanmıştır. Dozun yaklaşık % 36 sının idrarda 5'-hidroksitenoksikam, % 0.5 den daha azının ise değişmeden atılan tenoksikam olarak bulunduğu bildirilmektedir. Ayrıca, idrarın glukuronidaz ve sulfataz ile enzimatik hidrolizinden sonra glukuronid'e bağlanmadan dolayı dozun % 2 si kadar fazla miktarda 5'-hidroksitenoksikam bulunabileceğini de ileri sürmektedirler. Her iki bileşik için de tayin sınırının 50 ng mL⁻¹, standart sapmanın ise tenoksikam için % 7, metaboliti için de % 6 olduğu, 200-5000 ng mL⁻¹ derişim aralığında doğrusallık bulunduğu belirtilmektedir. Bu çalışmanın yanı sıra her iki bileşiğin dayanıklılığı da incelenmiştir. Laboratuvar koşullarında 24 saat boyunca normal ışık altında tutulan idrar örnekleri ile, -20 °C de 3 ay boyunca karanlıkta saklanan örnekler karşılaştırılmıştır. Taze hazırlanmış örnekler ile oda sıcaklığında tutulan örnekler arasında, tenoksikam için; % 0.5, -20 °C de 3 ay beklemiş idrar örnekleri arasında ise, % 8.4 lük bir azalma olduğu bulunmuştur. Metabolit için de bu değerlerin her iki koşulda da % 2 lik artış gösterdiği bildirilmektedir. Araştırmacılar tenoksikam tayin edilecek idrar örneklerinin -20 °C de bekletilmelerini, ancak 3 aydan daha uzun bir süre saklanmamasını önermektedirler.

Lapicque ve arkadaşları (10) çeşitli non-steroidal antiinflamatuar ilaçların yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanarak simultane tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. 17 ilaç plazmadan ekstre edildikten sonra ters-faz oktadesil silika kolonlara enjekte edilmişlerdir. Internal standart olarak (benzoil-4-fenil)-2-bütirik asit kullanılmıştır. Hareketli faz olarak asetonitril : % 0.3 lük asetik asit : tetrahidrofuran karışımı seçilmiştir. Ölçümler 254 ve

370 nm de UV detektörü ile yapılmıştır. Hareketli faz bileşenlerinin çeşitli oranlarına, pH'a ve kolon sıcaklığına göre alıkonma zamanlarındaki değişiklikler incelenmiştir. Tenoksikam için bu parametrelerin değişmesi ile alıkonma zamanı genellikle sabit kalmaktadır. Asetonitril : % 0.3 lük asetik asit : tetrahidrofuran (36 : 63.1 : 0.9 v/v) sisteminde 40 °C de 1 mL dak⁻¹ akış hızında, pH 3 dolayında ve her iki dalga boyundaki ölçümlerde tenoksikam için alıkonma zamanının 3.4 dakika olduğu bulunmuştur. Ayrıca dietil eter ile 1 kez ekstre edilmekle tenoksikamın % 71 inin alınabildiği, çalışma derişiminin 0.1-80 µg mL⁻¹ aralığında, tayin sınırının 0.02 µg mL⁻¹ düzeyinde ve standart sapmanın 0.12 olduğu da öne sürülmektedir.

Troconiz ve arkadaşları (11) da plazma, kan ve tampon çözeltilerdeki piroksikam ve tenoksikam tayinleri için bir yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntem sunmaktadırlar. Bu çalışmada, ilaçlardan birinin tayininde diğerinin internal standart olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Nucleosil C-18 kolon ve asetonitril : su : asetik asit (58 : 38 : 4) sisteminin hareketli faz olarak kullanıldığı bu araştırmada akış hızının 1 mL dak⁻¹, çalışma basıncının 1.5 psi olarak seçildiği, ölçümlerin ise 365 nm de UV detektörü kullanılarak gerçekleştirildiği bildirilmektedir. Sadece proteinleri çöktürüp santrifüj ederek, herhangi bir ekstraksiyon ve uçurma (evaporasyon) işlemine başvurmadan tayinlerin yapılabileceği ileri sürülmüştür. Tenoksikam için 1-25 µg mL⁻¹ derişim aralığında doğrusallık bulunduğu ve belirtilen çalışma koşullarında alıkonma zamanının 1.5 dakika olduğunu, bu yöntemle 0.2 µg mL⁻¹ derişim düzeyine kadar tayinlerin yapılabileceği savunulmaktadır.

Abo El-Maali ve arkadaşlarının (13) gerçekleştirdikleri bir çalışmada piroksikam ve tenoksikamın kare-dalga adsorptif voltametrik yöntem ile elektrokimyasal davranışları karşılaştırılmıştır. Bu araştırmada her iki bileşiğin, cıva elektrot yüzeyinde kuvvetli adsorptif özellik göstermesinden yararlanılmıştır. Zayıf asidik ortamlarda diferensiyel puls polarografisi kullanıldığı zaman duyarlı tayinlerin yapılabileceği öne sürülmektedir. İki ilacın yapı benzerliği nedeni ile piroksikam ve tenoksikamın benzer davranışlar gösterebileceği öne sürülmektedir. Bu nedenle piroksikam için verilmiş çalışma koşulları tenoksikam için de geçerli sayılarak çalışmaların gerçekleştirildiği belirtilmektedir. pH 2 veya 4 e NaOH ile ayarlanmış 0.05 M H₂SO₄ li taşıyıcı elektrolit içerisinde birikme (akümüülasyon) süresi 60 s, tarama hızı; kare-dalga sıyırma tekniği için 200, diferensiyel puls sıyırma ve doğru akım sıyırma teknikleri için 2 mV s⁻¹, puls büyüklüğü 20 mV, kare-dalga frekansı 100 Hz, birikme potansiyeli -0.6 V olarak çalışma koşulları belirlenmiştir. Tenoksikam için 1x10⁻⁸ - 8x10⁻¹⁰ M derişim aralığında doğrusallık elde edildiği bildirilmektedir. Yöntem idrardaki tenoksikam miktarının tayinine de uygulanmıştır. Örneklerin taşıyıcı elektrolit ile 10 kat seyreltilmesinden sonra alınan kare dalga voltametrik yanıtlar ile 1x10⁻⁵ - 2x10⁻⁷ M tenoksikam derişimi arasında doğrusal bir ilişkinin varlığından söz edilmektedir. Ayrıca 1x10⁻⁵ M askorbik asit varlığında bu miktarın 5x10⁻⁹ M düzeyine kadar varabildiği de vurgulanmaktadır. Diğer taraftan idrar

bileşenlerinin varlığının da voltametrik akım şiddetlerini azalttığı, başlıca metabolit olan 5'-hidroksitenoksikamın bu teknikle ana bileşikten ayıramadığı, bu nedenle yöntemin toplam miktarın ölçülmesi ile değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmektedir.

Abo El-Maali ve Hassan (14), piroksikam ve tenoksikamın elektrooksidasyonuna dayanarak karbon pasta elektrot ile bu bileşiklerin tayin edilebilmelerine yönelik bir yöntem önermektedirler. Her iki ilacın tayini için de adsorptif ön-deriştirme tekniği kullanılarak voltametrik analizler gerçekleştirilmiştir. Karbon pasta elektrodun seçiciliği ve etkinliğinin modifiye edilerek artırılabilceği öne sürülmektedir. Bu amaçla, karbon pastası içerisine laurik asit, stearik asit gibi yağ asitleri karıştırılarak elektrotların hazırlandığı belirtilmektedir. Uygun bir süre ve potansiyelde elektrotların yüzeyine ön-deriştirme tekniği uygulanmış ve süre sonunda voltamogramlar kaydedilmiştir. Piroksikam ve tenoksikamın siklik voltametrik davranışlarının birbirine benzediği gösterilmiştir. Yöntem idrarda düşük derişimlerde bulunabilecek piroksikam ve tenoksikam için de uygulanmıştır. Yüksek adsorpsiyon ve seçicilik özelliğinden dolayı, idrar gibi karmaşık ortamlarda bile kullanılabilmek amacı ile laurik asit ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot kullanılmıştır. Ürik asitin varlığı çalışmaları etkilememiş, oysa askorbik asitin varlığı girişimlere neden olmuştur. Bu sorunun da ortam değıştirme tekniği kullanılarak çözülebileceği belirtilmektedir. 1×10^{-7} M tenoksikam derişiminin tayin edilebileceği, yöntemin biyolojik sıvılardaki tayinler için uygun bir yöntem olduğu öne sürülmüştür.

Yener ve Topaloğlu (12), tabletlerdeki tenoksikam içeriğinin UV spektrofotometrik yöntem ile tayinine yönelik bir çalışma sunmaktadırlar. Amid gruplarının bakır sulfat ve amonyak ile reaksiyon vermesi temeline dayanan yöntemde, reaksiyonun fosfat tamponu kullanılarak pH 8 de yapıldığı, ideal reaktif oranının 3 : 1 olduğu, absorbans ölçümlerinin ise 370 nm de yapıldığı belirtilmektedir. 2-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ derişim aralığında Beer Yasasına uygunluk olduğu, tabletlerdeki tenoksikam miktarının ortalama % 98.9 olarak bulunduğu, standart sapmanın da \pm % 1 dolayında olduğu bildirilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarda kullanılan tenoksikam standartları Eczacıbaşı İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.(İstanbul) ve Sanovel A.Ş.(İstanbul)dan sağlanmıştır. Etiketlerinde sırasıyla %100(susuz) ve %99.8 olduğu bildirilmektedir. Deneylerde kullanılan diğer kimyasal maddeler E.Merck(Almanya) firmasının üretimi olup analitik saflıktadırlar. Bu nedenle, standartlar ve diğer kimyasal maddeler daha fazla saflaştırma işlemine gerek duyulmaksızın kullanılmışlardır.

Kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtilmiştir:

NaOH	Silikajel 60 GF ₂₅₄
KOH	Metanol
K ₂ HPO ₄	Etanol
KH ₂ PO ₄	n-butanol
HCl	N,N-dimetilformamid
CH ₃ COONa . 3 H ₂ O	Dimetilsülfoksit
CH ₃ COOH (glasiyel)	Grafit (toz)
KCl	Potasyum hidrojen ftalat
KBr	

Kullanılan bidistile su laboratuvarımızda elde edilmiştir. Tüm çözeltilerin hazırlanmasında ve çalışmalarda bu su kullanılmıştır.

Çalışmaların miktar tayini bölümünde kullanılan 5 firmaya ait tenoksikam içeren tablet ve kapsüller yerel eczanelerden sağlanmıştır. Firma isimleri saklı kalmak koşulu ile preparatları üreten firmalar A,B,C,D ve E olarak kodlanmıştır.

3.2. Kullanılan Aletler

Polarografik çalışmalarda PRG-5 model polaropulse polarograf, EGMA hücre standı, çalışma elektrodu olarak damlayan cıva, karşılaştırma elektrodu olarak doyun KCl içerisinde Ag/AgCl ve yardımcı elektrot olarak da platin tel (hepsi Tacussel marka) kullanılmıştır. Polarografik eğriler BBC Goertz-Metrawatt SE 790 model yazıcı ile kaydedilmiştir.

Katı elektrotlar (grafit, platin tel ve karbon pasta) tarafımızdan laboratuvarında hazırlanmıştır.

pH ölçümlerinde ve potansiyometrik titrasyonlarda Elektromag M 822 model pH metre ve Amagrus marka kombine cam elektrot kullanılmıştır.

IR spektrumları Shimadzu IR 435 model spektrofotometrede alınmıştır.

UV spektrofotometrik çalışmalar Shimadzu UV-240 Graphicord model spektrofotometre ile gerçekleştirilmiş, spektrumlar Shimadzu PR-1 model yazıcı ile kaydedilmiştir.

İnce tabaka kromatografik çalışmalarda Shimadzu High Speed TLC Scanner CS 920 model densitometre ve Shimadzu CR 3A model yazıcı kullanılmıştır.

NMR spektrumu JEOL-JNM-Ex 90 A FT NMR SYSTEM de alınmıştır.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografik çalışmalarda Varian 2050 model, değişebilir λ detektör, Zorbax C-18 (25 x 0.4 mm, 5 μ) kolon ve Shimadzu CR 4A entegratör kullanılmıştır.

Erime noktası tayinleri Gallenkamp Melting Point Apparatus ile yapılmıştır.

Kondüktometrik titrasyonlarda Consort K 720 model digital kondüktometre ve Tacussel marka CM.01/G tip iletkenlik hücresi kullanılmıştır.

Sıcaklık parametrelerinin incelenmesi MT Lauda marka termostatlı su banyosu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3. Polarografik Çalışmalardaki İşlemler

3.3.1. Stok çözelti

Tenoksikamın 1×10^{-3} M düzeyindeki stok çözeltisi için 33.4 mg dolayında duyarlı tartım alınmış, 100 mL lik bir balonjojeye aktarılmıştır. Üzerine 1 M lık KOH ten 2 mL ve yaklaşık 20 mL kadar da bidistile su konarak çözünmesi sağlanmış, sonra bidistile su ile 100 mL ye tamamlanmıştır. Tartılan miktar üzerinden kesin derişim hesaplanmıştır. Polarografik çalışmalar için bu çözeltiden yararlanılmıştır.

3.3.2. Tampon çözeltiler

Polarografik çalışmalarda kullanılan tampon çözeltileri için 1 M derişimlerde asetat ve fosfat tamponları stok olarak hazırlanmıştır. pH 1-5.5 arası için asetat tamponları ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ tuzundan hareketle), pH 6-12 arası için de fosfat tamponları (KH_2PO_4 ve K_2HPO_4 tuzlarından hareketle) kullanılmıştır. Bazik bölgedeki fosfat tamponlarının hazırlanması sırasında kullanılan sodyum tuzlarının çözünürlüklerinin, potasyum tuzlarına göre daha az olması yüzünden 1 M lık stok çözeltilerde çökmeler gözlenmiştir. Bu nedenle fosfat tamponlarının hazırlanması sürecinde potasyum tuzlarının kullanılması yeğlenmiştir. pH ayarlamaları derişik HCl ve doygun KOH ile yapılmıştır.

3.3.3. Taşıyıcı elektrolit sistemi

Polarografik çalışmalarda taşıyıcı elektrolit olarak 0.2 M KCl ve 0.2 M tampon çözeltisi içeren sulu sistem kullanılmıştır.

3.3.4. Polarografik çalışma koşulları

Tenoksikamın polarografik davranışlarının incelenmesi için teknik olarak doğru akım polarografisi seçilmiştir. Cıva rezervuarına uygulanan basıncın, cıvanın damlama süresinin, çalışma çözeltisi sıcaklığının, potansiyel tarama hızının, ortamın pH'ının ve tenoksikam derişiminin sınır akımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ayrıca tersinirlik ve elektrokapiler eğri gibi olaylar da incelenmiştir. Bu parametrelerin incelenmesi ile en uygun çalışma koşulları saptanmıştır.

Hazırlanan çözeltiler içerisindeki çözünmüş oksijenin, damlayan cıva elektrot üzerinde indirgenebileceği ve bundan dolayı polarografik çalışmalar için sakıncalar oluşturabileceği de gözönüne alınmıştır. Bu etkileri ortadan kaldırabilmek amacıyla, çalışmalar sürecinde çözeltilerden 10 dakika süre ile saf azot gazı geçirilerek ortamdaki oksijenin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Ayrıca doğru akım polarografisinden başka diferensiyel puls polarografisi (DPP), aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ve aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) teknikleri kullanılarak da kayıtlar yapılmıştır. Bu tekniklerin tümünde 50 mV puls büyüklüğü kullanılmıştır.

3.4. UV Spektrofotometrik Çalışmalardaki İşlemler

3.4.1. Stok çözelti

UV spektrofotometrik çalışmalar için yaklaşık 1×10^{-3} M derişimde, 0.02 M KOH içerisinde tenoksikam çözeltisi hazırlanmıştır. 100 mL lik bir stok çözelti için 33.4 mg dolayında tam olarak tenoksikam tartılmış, kesin derişim alınan tartıma göre hesaplanmıştır. Seyreltmeler bu stok çözeltilerden hareketle yapılmıştır. Seyreltme çözeltisi ve kör çözelti (blank) olarak 0.02 M KOH çözeltisi kullanılmıştır.

3.4.2. UV spektrofotometrik koşullar

UV spektrofotometrik ölçümler 2 nm slit aralığında, 190-600 nm dalga boyu aralığında taratılarak spektrumlar çizilmiştir. Orijinal absorbans spektrumu için absorbans değerleri 0 ile 1.000 arasında olacak biçimde seyreltmeler yapılarak ölçümler alınmıştır. Diğer parametreler aynı kalmak koşulu ile, I. türev spektrumu için absorbans aralığı ± 0.1 , II. türev spektrumu için de ± 0.02 olarak değiştirilmiş ve spektrumlar kaydedilmiştir.

3.5. IR Spektrofotometrik Çalışmalardaki İşlemler

Uygun miktar tenoksikam, agat havanda KBr ile karıştırıldıktan sonra disk haline getirilmiş ve IR spektrumu alınmıştır.

3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemindeki İşlemler

Tenoksikamın yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile incelenmesi Heizmann ve arkadaşlarının(5) önerdikleri yöntem üzerinde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. 1 mg mL⁻¹ derişime karşılık gelecek biçimde standart tenoksikam çözeltisi 0.02 M KOH içerisinde hazırlanmıştır. Bu stoktan seyreltmelerle 3x10⁻⁴-3x10⁻³ M derişim aralığında bir seri standart çözelti hazırlanmıştır. Hareketli faz olarak metanol : 0.1 M fosfat tamponu (pH 5.5) (50 : 50 v/v) sistemi kullanılmıştır. Fosfat tamponunun hazırlanmasında KH₂PO₄ den yararlanılmış, pH 5.5 e doygun KOH kullanılarak ayarlanmıştır. Akım hızı 1.5 mL dak⁻¹, basınç 1.5x10² kg cm⁻², detektör duyarlığı 0.04, duyarlık 5, kağıt hızı 5 cm dak⁻¹ koşullarında 10 µL lik uygulamalar yapılmıştır. 360 nm dalga boyunda, UV detektörü kullanılarak kromatogramlar kaydedilmiştir.

3.7. İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemindeki İşlemler

İnce tabaka kromatografisi çalışmaları için 25 mg dolayında standart tenoksikam tartılmış, 25 mL 0.02 M KOH içerisinde çözülmüştür. Bu çözeltiden 2-10 µL lik miktarlar silikajel 60 GF₂₅₄ ile kaplanmış 20x20 cm lik cam plaklar üzerine uygulanmıştır. Hareketli faz olarak n-butanol : asetik asit : su (4 : 1 : 2) sistemi kullanılmıştır. Sürüklenme (developman) sürecinde hareketli faz 10 cm yürütüldükten sonra plaklar tanktan çıkarılıp kurutulduktan sonra, UV lambası altında 254 nm de lekeler incelenmiştir. Densitometrik ölçümler L= 30 mm (uygulama noktaları arasındaki uzaklık), Y= 100 mm (uygulama noktası ile hareketli fazın ulaştığı son nokta arasındaki uzaklık) ve X= 24 mm (tarama genişliği) koşullarında, 360 nm de yapılmıştır.

3.8. NMR Spektrumunun Alınmasındaki İşlemler

22 mg dolayında standart tenoksikam d₆-dimetilsulfoksitte çözümlenerek proton NMR'ı çekilmiştir. Koşullar, Şekil 4.2. deki spektrum üzerinde belirtilmektedir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.Çözücü ve Taşıyıcı Elektrolit Bileşenlerinin Polarografi Üzerine Etkileri

Tenoksikamın çözünürlüğünün araştırılması sırasında kuvvetli bazlarda, N,N-dimetilformamid ve dimetilsülfoksit gibi organik çözücülerde kolaylıkla çözünebildiği gözlenmiştir. Polarografik çalışmalarda genellikle polar çözücülerden oluşmuş ortamlar kullanılmaktadır. Bu organik çözücüler de polar özellikte olup, su ile her oranda karışabilmektedirler. Aynı zamanda cıvanın elektrot olarak kullanıldığı çalışmalarda N,N-dimetilformamid ve dimetilsülfoksitin çözücü olarak kullanılması daha geniş bir potansiyel aralığında çalışmaya olanak vermektedir (54).

Bu durum gözönüne alındığında, öncelikle N,N-dimetilformamid ve dimetilsülfoksitin polarografik çalışmalar için çözücü olarak kullanılabilmesi düşünülmüş ve bu amaçla ön çalışmalar yapılmıştır. Bunun için 1×10^{-3} M tenoksikam çözeltileri %10, %20, %50 ve %100 lük N,N-dimetilformamid içerisinde hazırlanmışlardır. %10 ve %20 N,N-dimetilformamid içeren çözeltilerde ertesi gün tenoksikam kristalleri gözlenmiştir. %50 ve %100 lük N,N-dimetilformamidli çözeltilerde ise herhangi bir kristallenmenin olmadığı saptanmıştır.

Polarografik çalışmalarda pH a karşı sınır akımlarının değişiminin incelenmesi sürecinde ortamın tamponlanması gerekmektedir. Bu amaçla 1-12 arasındaki pH larda asetat, fosfat ve Britton-Robinson tampon sistemleri denenmiştir. Britton-Robinson tampon sistemleri için genellikle 0.04 M asit karışımları kullanılmaktadır. Çalışma koşullarında seyreltmelerden dolayı bu derişimler daha da azalmakta ve tamponlama yeteneği zayıflamaktadır. Bu nedenle Britton-Robinson tampon sistemi için asit derişimleri 0.5 M olacak şekilde arttırılmış, ancak KOH ile pH ayarlaması sırasında çökelmeler gözlenmiştir. Britton-Robinson tampon sisteminin bileşenlerinden biri olan borik asitin, yüksek pH larda borat tuzlarına dönüşmesi, çözünürlüğünün önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır. Diğer taraftan, bazik bölgede %20 den daha fazla N,N-dimetilformamid ve dimetilsülfoksit derişimlerinde de fosfat ve borat tuzları çökme eğilimi göstermişlerdir. Ayrıca N,N-dimetilformamid ile yapılan çalışmalarda tenoksikam derişimine ve pH a bağlı olarak bazan polarografik maksimumlar da belirmektedir. Bunlar %0.01 lik jelatin çözeltisi kullanılarak bastırılmışsa da bu kez sınır akımlarında önemli ölçüde azalmalar olduğu gözlenmiştir. Bu tür olaylar dimetilsülfoksit varlığında da kısmen olmaktadır. Bu yüzden, N,N-dimetilformamid ve dimetilsülfoksit gibi organik çözücülerde tenoksikamın çözünürlüğünün iyi olmasına karşın, çalışma koşullarının optimize edilmesindeki güçlükler nedeni ile bu çözücülerle çalışılmaktan kaçınılmıştır.

4.2. Tenoksikam Çözeltilerinin Dayanıklılığının İncelenmesi

Heizmann ve arkadaşları (5), çalışmalarında tenoksikamın sulu çözeltilerinde

laboratuvar ışığı altında saatte %40 lık bir kayıp olduğunu ileri sürmektedirler. Bu bilginin ışığı altında, sulu çözeltilerdeki bu dayanıksızlığın laboratuvar çalışma koşullarında büyük sorunlar yaratacağı açıktır. Örneğin; bir UV spektrofotometrik çalışmada preparatın ezilip toz edilmesinden sonra tartılması, etken maddenin ekstre edilmesi, süzülmesi ve ölçümlerin alınması için gerekli sürelerin toplamı en iyimser bir yaklaşımla 1 saatten fazla tutabilecektir. Bu süre içinde, eğer söz edildiği gibi %40 a varan kayıplar olacaksa, elde edilecek sonuçların da sağlıklı olmayacağı söylenebilir.

Bu nedenle tenoksikam çözeltilerinin dayanıklılığının tekrar gözden geçirilmesi ve incelenmesi gereği ortaya çıkmıştır. Bu amaçla tenoksikamın 1×10^{-3} M lık bir çözeltisi hazırlanmış ve asidik, nötral ve bazik olarak üç pH değerine (sırasıyla 1.5, 7.4 ve 11.0 olmak üzere) tamponlanmıştır. Bu çözeltilerdeki tenoksikam içeriğinin zamana göre değişimi UV spektrofotometrik ve yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemlerle izlenmiş, molekülün dayanıklılığının incelenmesi ince tabaka kromatografisi ile de desteklenmiştir.

UV spektrofotometrik çalışmada, yukarıda sözü edilen stok çözeltilerden hareketle 5×10^{-5} M lık çözeltiler belirtilen pH değerlerinde hazırlanmış, spektrumları alınarak laboratuvar koşullarında bekletilmişlerdir. Her gün bu çözeltilerin spektrumları alınarak spektrumlarda ve absorbans değerlerinde değişmelerin olup olmadığı gözlenmiştir. 1. ve 7. günde alınan bazik ortamdaki spektrumların birbirinin aynı olduğu saptanmıştır. Bu durum, tenoksikamın 0.02 M KOH ile enolat formunda tuz oluşturması halinde dayanıklı olduğu görüşünü doğrulamaktadır. Asidik ve nötral pH daki çözeltilerde ise, çözünürlüğün daha az olması nedeni ile tenoksikam kristalleri oluşmuştur. Üst kısımdaki doygun ve berrak olan çözelti süzülüp alınarak izlemeye devam edilmiştir. İzleme sürecinde elde edilen spektrumların başlangıçtaki çözelti spektrumu ile aynı olmasına karşın absorbans değerlerinin başlangıca göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum, başlangıçtaki stok çözeltilerden bir kısım maddenin kristallenerek ayrılması sonucunda derişimin bir ölçüde değişmesinden kaynaklanmaktadır.

Aynı dayanıklılık çalışmaları yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile de yapılmıştır. Bu amaçla 1 mg mL^{-1} tenoksikam derişimine karşı gelecek biçimde asidik ve bazik pH da çözeltiler hazırlanmış ve günde iki kez enjeksiyonlar yapılarak elde edilen piklerin boyları, şekilleri ve alanları incelenmiştir. Bazik tenoksikam çözeltilerinin kromatogramlarında pik boyları ve eğri altında kalan alanlarda herhangi bir azalma gözlenmediği, buna karşılık asidik tenoksikam çözeltilerinde ise ertesi gün kristallenme oluştuğu, buna bağlı olarak da pik boylarında yarıya yakın bir azalmanın olduğu gözlenmiştir. İzlemenin devamındaki kromatogramlarda da aynı boy ve şekillerde pikler elde edilmiştir. Bu bulgular da asidik ortamda tenoksikamın çözünürlüğünün az olduğunu, bazik ortamdaki çözeltilerin ise daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

İnce tabaka kromatografisi ile yapılan çalışmalarda, silikajel 60 GF₂₅₄ ile kaplanmış cam plaklara asidik, nötral ve bazik ortamlardaki çözeltiler ile standart tenoksikam

çözeltilisinden 5 µL lik uygulamalar yapılmıştır. Hareketli faz olarak üç ayrı sistem denenmiştir. Uygulama noktalarından itibaren 10 cm ye kadar hareketli fazın yürütülmesinden sonra plaklar tanktan çıkarılmış ve UV lambası altında 254 nm de incelenmişlerdir. Kloroform : etil asetat : metanol : formik asit (30 : 15 : 5 : 1) sisteminde lekelerde kuyruklanmalar gözlenmiştir. Bu şekilde bir değerlendirme yapmak olası değildir. Kloroform : aseton (9 : 15) sisteminde ise lekeler uygulama noktasında kalmışlardır. n-Butanol : asetik asit : su (4 : 1 : 2) sisteminde ise lekelerin oldukça düzenli olarak yürüdükleri gözlenmiştir. Bu sistemin uygulaması her gün yinelenmiş ve lekeler UV lambası altında incelenmişlerdir. Standart tenoksikam ile karşılaştırıldığında lekelerin ve R_f değerlerinin birbirileri ile uyumlu oldukları gözlenmiştir. 2. günden sonra asidik tenoksikam çözeltilisinin uygulama noktasında çok küçük bir leke belirlemiştir. Bu durum asidik pH larda çözünürlüğün azalmasına ve kristallerin oluşumuna bağlanabilir. R_f değerleri her günkü uygulamalar için 0.60-0.78 arasında değişmektedir. Bu sistem için, yapılan bir araştırmada R_f değeri 0.83 olarak verilmektedir (49). Gözlenen R_f değerlerinin bu değerden farklı oluşu, plak yüzeyindeki adsorban tabaka kalınlığının plaktan plağa az çok değişmesinden kaynaklanmaktadır. Buna karşın, her plak için R_f değerleri kendi aralarında uyum göstermektedir. Bazik ortamda standart tenoksikam ile karşılaştırıldığında tek lekenin görülmesi herhangi bir yıkılanma ürününün oluşmadığını destekler niteliktedir.

Bu çalışmalar sonucunda özellikle bazik bölgede enolat halinde tuz oluşumuna bağlı olarak tenoksikam çözeltilerinin oldukça dayanıklı olduğuna karar verilmiştir. Yine de çok uzun süreli beklemler sonucu az da olsa bir bozunmanın olabileceği de gözönüne alınarak, hazırlanan çözeltilerin koyu renkli bir şişede saklanması, kullanılmadığı sürelerde buzdolabında saklanması, 4-5 gün içerisinde tüketilmesi ve 1 haftadan sonra yeni çözeltilerin hazırlanması önerilebilir.

4.3. Erime Noktası Tayini

Standart tenoksikam için yapılan erime noktası tayininde, 210-215°C arasında bozunarak eridiği gözlenmiştir. Bu değer, bir çalışmada belirtilen 209-213°C aralığına uygun düşmektedir (16).

4.4. Tenoksikamın IR Spektrumu

Tenoksikamın KBr içerisinde alınmış IR spektrumu Şekil 4.1. de verilmektedir. Şekil 4.1. deki IR spektrumu incelendiğinde gözlenen karakteristik piklerin yorumu şöyledir:

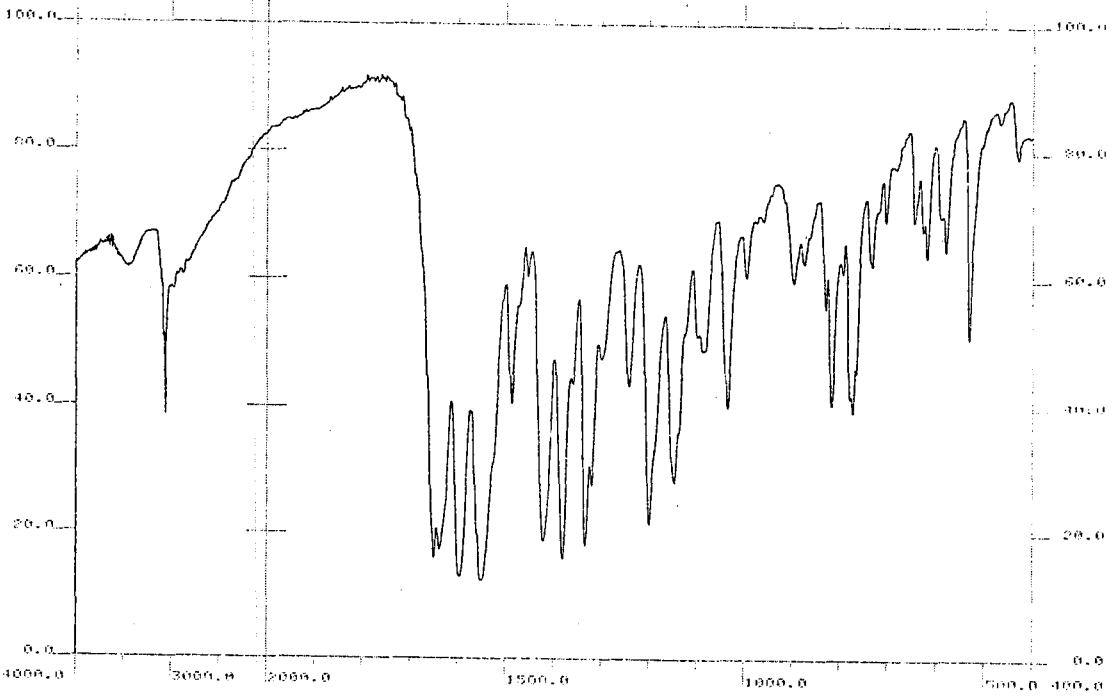
1650 cm^{-1} deki pik C=O (amid) bağına ait bir piktir.

1550, 1595 ve 1635 cm^{-1} deki piklerin C=N ve aromatik C=C gerilmelerine ait oldukları görülmektedir.

1334 ve 1380 cm^{-1} deki pikler ise S=O grubuna ait gerilmeler olarak göze çarpmaktadır.

3064 cm^{-1} de aromatik C - H gerilmelerine ait keskin bir pik gözlenmektedir.

3500 cm^{-1} deki pik ise -OH grubu için karakteristiktir.

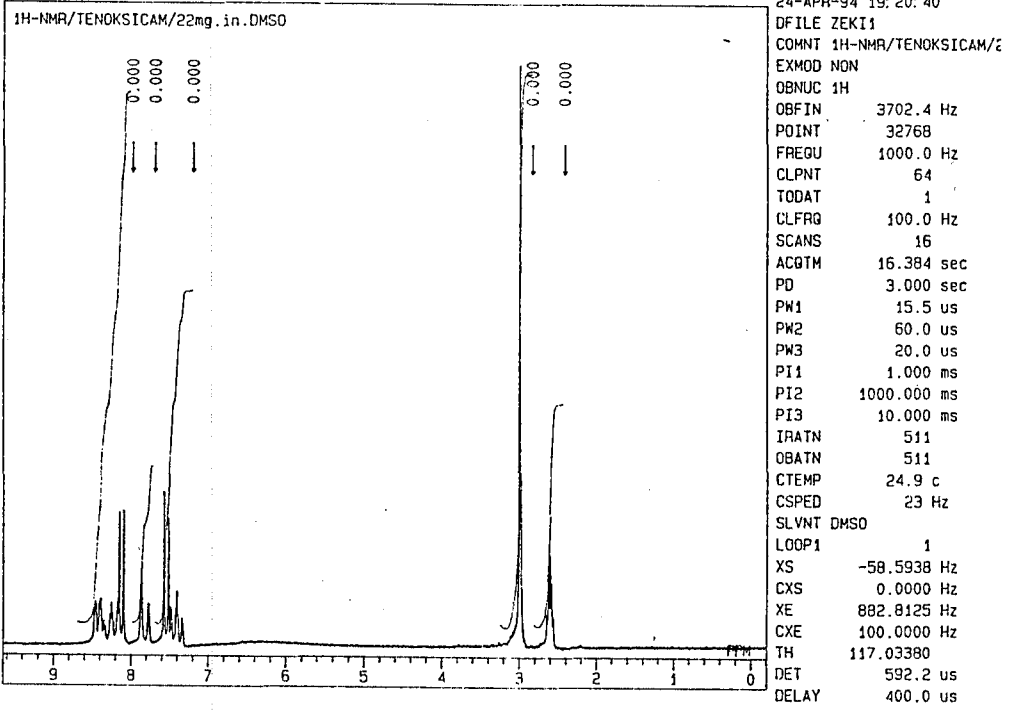


Şekil 4.1. Tenoksikamın IR spektrumu

4.5. Tenoksikamın Proton NMR Spektrumu

Tenoksikamın proton NMR spektrumu Şekil 4.2. de verilmektedir. Spektrum incelendiğinde 2.5 ppm de görülen pikler, d_6 -dimetilsülfoksit içerisindeki döterolanmamış şekle ait piklerdir. -CH₃ protonları 3.0 ppm de beklenildiği gibi singlet halinde belirmiştir. 7.3-8.5 ppm arasındaki pikler ise aromatik halka protonlarına aittir.

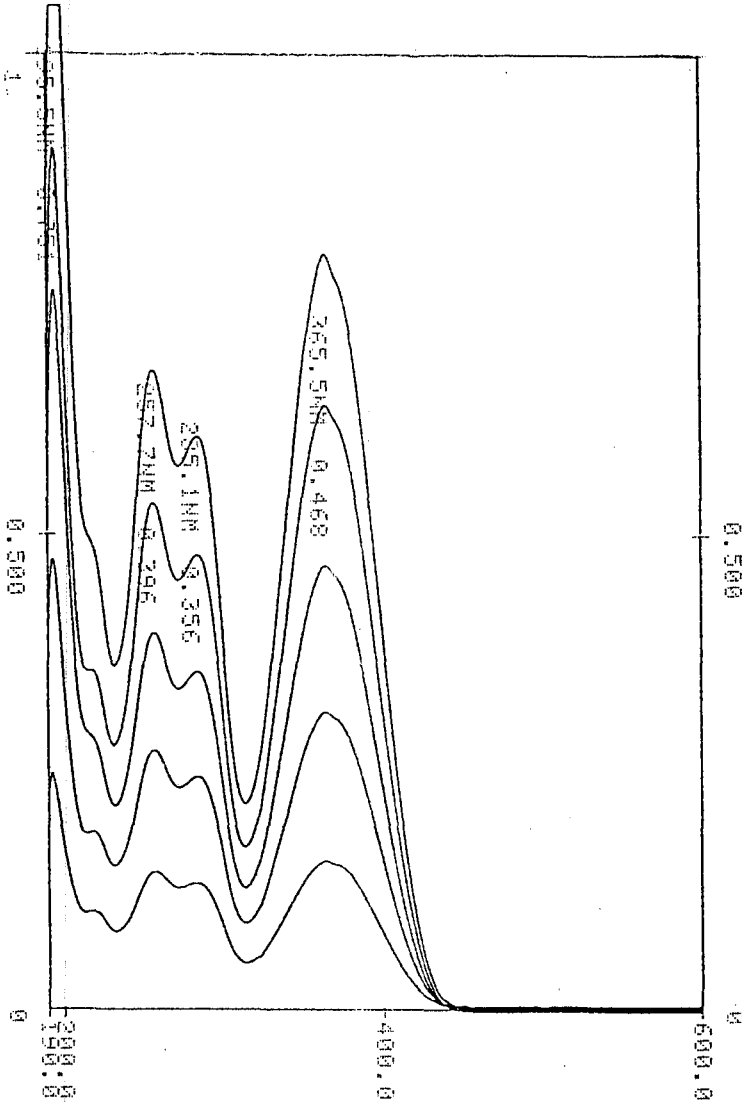
Standart tenoksikam ile alınmış bu spektrum Ichihara ve arkadaşlarının (49) verdikleri spektrum ile tam bir uyum içerisinde. Bu da çalışmalar sürecinde kullanılan standart maddenin tenoksikam olduğunun bir göstergesidir.



Şekil 4.2. Tenoksikamın proton NMR spektrumu.

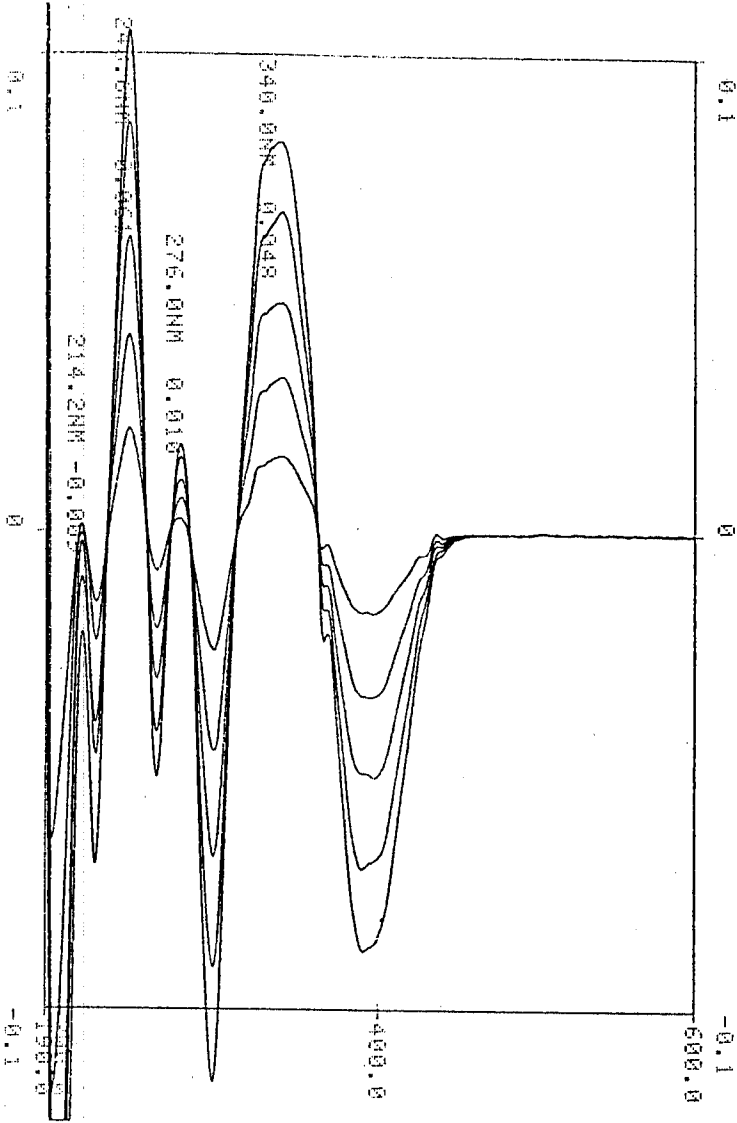
4.6. Tenoksikamın UV Spektral Karakteristiklerinin İncelenmesi

Standart tenoksikamın UV spektrofotometrik yöntemle incelenmesi amacıyla 1×10^{-5} - 5×10^{-5} M derişim aralığında 0.02 M KOH içerisinde spektrumları alınmıştır. Ölçüm koşulları Bölüm 3.4. de belirtildiği gibi ayarlanmıştır. Elde edilen absorbans spektrumları, artan derişimlere göre, Şekil 4.3. de gösterilmiştir. Şekil 4.3. den görüldüğü gibi 365.5 nm de belirgin bir pik, 257.7 nm de ikinci, ancak daha düşük değerde bir pik oluşmaktadır. Bu ikinci pik, 285.1 nm de bir omuz yapmış biçimde belirmiştir.



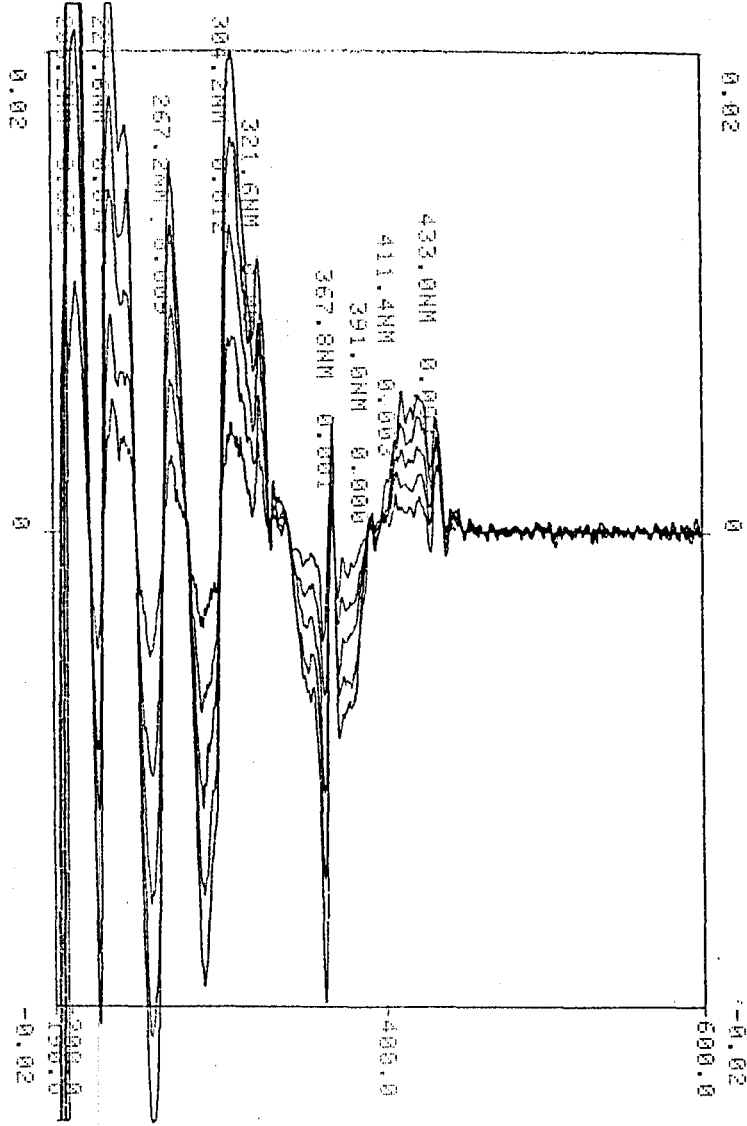
Şekil 4.3. Tenoksikamın artan derişimlerdeki orijinal absorbans spektrumları.

Aynı çözeltilerin I. türev spektrumları ise Şekil 4.4. de verilmiştir. Şekil 4.4. incelendiğinde negatif absorbans bölgesinde 392.0 ve 296.0 nm lerde iki pik, pozitif absorbans bölgesinde ise 340.0 ve 243.6 nm lerde belirgin iki pikin varlığı görülmektedir. 392.0 ve 340.0 nm lerdeki piklerde omuzlanmaların görülmesine karşın analitik açıdan değerlendirilebilir oldukları göze çarpmaktadır.



Şekil 4.4. Tenoksikamın artan derişimlerdeki I. türev spektrumları.

Tenoksikam çözeltilerinin II. türev spektrumları da Şekil 4.5. da gösterilmiştir. Şekil 4.5. nin incelenmesi ile, negatif absorbans bölgesinde 360.0 ve 284.0 nm lerde, pozitif absorbans bölgesinde ise 304.2 ve 267.2 nm lerde belirgin piklerin oluştuğu görülebilir.



Şekil 4.5. Tenoksikamın artan derişimlerdeki II. türev spektrumları.

Gerek absorbans spektrumunda gerekse türev spektrumlarında gözlenen belirgin pikler için maksimum absorbans gösterdikleri dalga boylarındaki absorbans değerlerinden hesaplanan kalibrasyon doğrusu denklemleri için eğim ve kesim değerleri ile korelasyon katsayıları ve ortalama molar ekstinksiyon katsayıları Çizelge 4.1. de topluca verilmiştir.

Çizelge 4.1. Tenoksikamın UV spektral karakteristikleri.

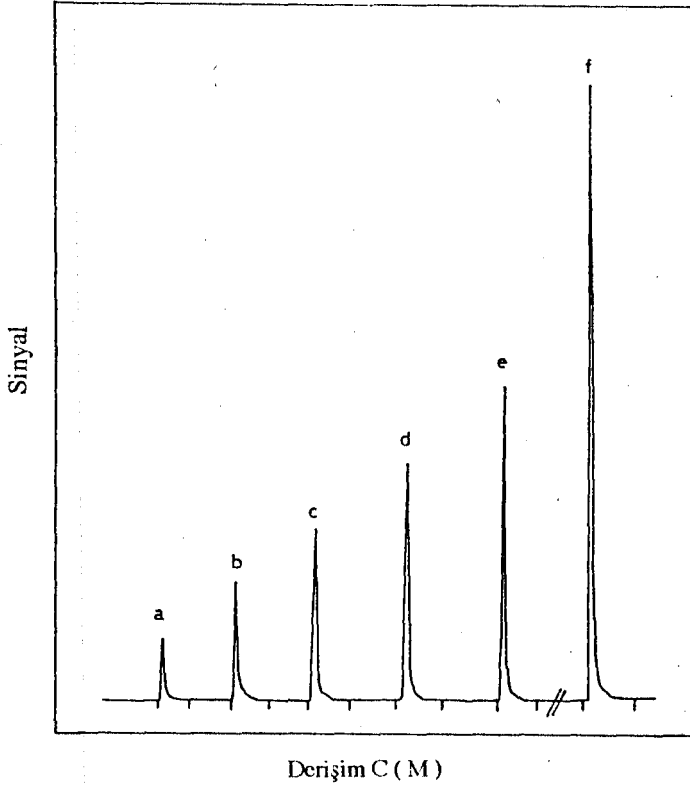
Orijinal absorbands spektrumu				
Dalga boyu (nm)	257.7	285.1	365.5	
Eğim C(M)	13170	11770	15800	
Kesim	0.0073	0.0069	0.0042	
Korelasyon katsayısı	0.9998	0.9996	0.9999	
ϵ_{ort} (abs.L.mol ⁻¹ cm ⁻¹)	13521	12136	15583	
I. Türev spektrumu				
Dalga boyu (nm)	243.6	296.0 (-)	340.0	392.0 (-)
Eğim C(M)	2090	2290	1640	1780
Kesim	-0.0005	-0.0001	-0.0002	-0.001
Korelasyon katsayısı	0.9997	0.9999	0.9992	0.9996
ϵ_{ort} (abs.L.mol ⁻¹ cm ⁻¹)	20.73	2284	1626	1738
II. Türev spektrumu				
Dalga boyu (nm)	267.2	284.0 (-)	304.2	360.0 (-)
Eğim C(M)	284	382	405	384
Kesim	0.00012	0.00016	-0.00026	-0.00004
Korelasyon katsayısı	0.9958	0.9999	0.9969	0.9940
ϵ_{ort} (abs.L.mol ⁻¹ cm ⁻¹)	341	389	421	388

Çizelge 4.1. deki derişim-absorbans ilişkilerinden çıkarılan kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları gözönüne alındığında orijinal ve I. türev spektrumlar için belirtilen tüm dalga boylarında, II. türev için ise 284.0 nm deki negatif absorbands bölgesinde, Lambert-Beer Yasasına uyan doğrusallıklar olduğu görülmektedir. II. türev spektrumunun diğer piklerinde ise korelasyon katsayısının biraz daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu durum, deneysel noktalardan bazılarının doğrusallıktan bir ölçüde saptığının bir anlatımıdır. Bu küçük sapmalar aletin okuma duyarlılığından ve ölçüm farklılıklarından kaynaklanabilir. Bu durum gözönüne alındığında II. türev spektrumunun diğer pikleri için de Lambert-Beer Yasasının geçerli olduğu söylenebilir.

Tenoksikamın UV spektrofotometrik yöntemle tayini için Çizelge 4.1. de verilen karakteristiklerdeki tüm piklerin analitik açıdan değerlendirilebilir olduğu ve belirtilen derişim aralığında duyarlı tayinlerin yapılabileceği sonucuna varılmaktadır.

4.7. Tenoksikamın Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografik Yöntem ile İncelenmesi

Tenoksikamın yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemle incelenmesi amacıyla, özünde Heizmann ve arkadaşlarının (5) önerdikleri hareketli faz kullanılmakla birlikte, diğer parametreler üzerinde küçük değişiklikler yapılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bölüm 3.6. da verilen çalışma koşullarında kaydedilen kromatogramlar Şekil 4.6. da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Tenoksikamın artan derişimleri ile elde edilen yüksek basınçlı sıvı kromatogramları (a: 3×10^{-4} M, b: 6×10^{-4} M, c: 9×10^{-4} M, d: 1.2×10^{-3} M, e: 1.5×10^{-3} M, f: 3×10^{-3} M çözeltilerden $10 \mu\text{L}$ enjeksiyonlarla elde edilen kromatogramlar).

Şekil 4.6. daki kromatogramlardan görüldüğü gibi herhangi bir yıkılanma ürününe ait başka bir pike rastlanmamakta ve artan derişimlerde güzel biçimli pikler elde edilmektedir. Elde edilen kromatogramlarda aletin okuduğu eğri altında kalan alanlar ile,

$3 \times 10^{-4} - 3 \times 10^{-3}$ M tenoksikam derişimleri arasındaki ilişki, A (pik alanı) = $98705737.7 C(M) + 4877.3$; $r = 0.9998$ denklemine uyan bir doğrusallık elde edilmiştir. Bu şekilde bir kalibrasyon doğrusunun elde edilebilmesi, kullanılmış olan kromatografik koşullarda, tenoksikamın yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemle tayin edilebileceğini göstermektedir.

4.8. Tenoksikamın İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Bölüm 3.7 de açıklandığı gibi yapılan çalışmalarda elde edilen densitometrik veriler incelendiğinde bazı lekelerin diğerlerine göre daha düzensiz sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu durum plakların homojen bir şekilde kaplanmadığı düşüncesini akla getirmiştir. Bu kuşku ortadan kaldırmak amacıyla Merck firmasının üretimi olan hazır kaplanmış plaklarla yapılan çalışmalarda da yine düzensiz yürüme ve dağılımların olduğu görülmüştür. Sadece bir tek deneyde 1 mg. mL^{-1} derişimdeki standart tenoksikamdan 2, 4, 6 ve $8 \mu\text{L}$ lik uygulamalar için, densitometrik olarak okunan alanlar ile derişim arasında, A (pik alanı) = $497.6 C (\text{mg. mL}^{-1}) - 185$; $r = 0.9984$ denklemine göre doğrusal bir ilişki elde edilebilmiştir. Kalibrasyon denkleminin elde edilebilmesi amacıyla yapılan diğer paralel çalışmalarda da noktaların dağınık olması nedeni ile iyi korelasyonlara sahip doğrusal ilişkiler elde edilememiştir. Belirtilen çalışma koşullarında tekrarlanabilirliğin düşük olması kantitatif tayinlerin duyarlı olarak yapılmasını engellemektedir. Bu yüzden ince tabaka kromatografik yöntemin tenoksikam miktar tayinlerinin gerçekleştirilmesi için uygun bir yöntem olmadığı söylenebilir.

4.9. Tenoksikamın Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonu

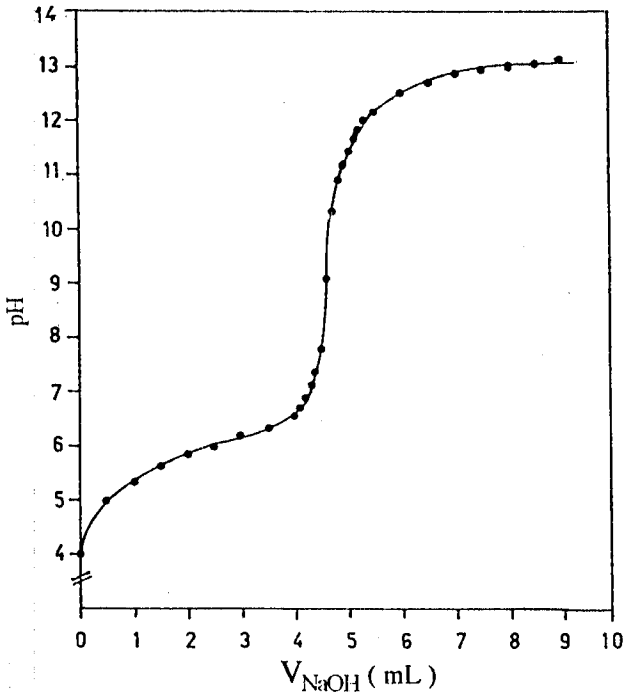
Tenoksikamın sudaki çözünürlüğünün çok az olmasının yanısıra, sudaki yüzey geriliminden dolayı su içerisinde kütleler halinde topaklaşmakta ve iyi bir dağılım göstermemektedir. Ayrıca kabın çeperlerinde su ile birlikte yükselmesi nedeni ile tüm tenoksikamın çözelti içerisine alınması olası değildir. Ortama eklenen %20 dolayındaki alkolün, titrasyon kabının çeperlerinde yükselmeyi önlediği ve topaklaşmayı ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu durumda, tenoksikam alkollü ortamda bir süspansiyon görünümünde dağılmakta ve tüm tenoksikamın titrasyon çözeltisi içinde kalması sağlanmaktadır. Tenoksikamın alkol ve sudaki çok az çözünürlüğünden dolayı da çözeltinin rengi hafifçe sararmaktadır.

Bu koşullar altında tenoksikamın potansiyometrik ve kondüktometrik olarak titre edilebilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla 80 mg dolayında standart tenoksikam duyarlı olarak tartılmış, bir behere alınarak üzerine 5 mL alkol ve 20 mL su eklenerek analize hazırlanmıştır. pH metrenin ve kondüktometrenin kalibre edilmesinden sonra hem pH ölçüm elektrodu hem de iletkenlik hücresi birlikte titrasyon kabına batırılarak her iki sinyal birlikte okunmuştur. Böylece, aynı koşullarda yapılmış bu iki titrasyon yöntemi ile

elde edilen sonuçların birbirileri ile karşılaştırılabilmelerinin kolay olacağı düşünülmüş, aynı zamanda madde miktarı, alkol yüzdesi, çözelti hacmi, ortam sıcaklığı gibi hem pH ı hem de iletkenliği etkileyebilecek parametrelerin sabit tutulup, her iki yöntemin birbirini doğrulaması da amaçlanmıştır.

Analize hazırlanan tenoksikam çözeltisi, potasyum hidrojen ftalat ile ayarlanmış 0.0481 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. pH değerinin sabitleşmesi için her baz eklenmesinden sonra yaklaşık 5-10 dakika arasında bir süre beklemek gerekmektedir. Sürenin uzun ve değişken olması, eklenen çok küçük eşdeğer miktarda bazın tenoksikam ile tuz oluşturma reaksiyonunun oldukça yavaş yürümesine bağlanabilir. Başlangıçtaki bulanık haldeki çözelti, baz eklenmesi ile gittikçe berraklaşmaktadır. Bu da bazik ortamda tenoksikamın çözünürlüğünün arttığını göstermektedir. Dönüm noktası dolayına yaklaşıldığında tenoksikamın büyük bir kısmının tuz haline çevrilip çözünmesi ile bu berraklaşma daha da belirginleşmektedir.

Titrasyon sürecinde eklenen baz hacmine karşı hem pH hem de iletkenlik değerleri aynı anda kaydedilmiştir. Potansiyometrik yöntem için, eklenen baz hacmine karşı okunan pH değerleri grafiğe geçirildiğinde Şekil 4.7. de görülen sigmoid biçimli tipik bir titrasyon eğrisi elde edilmiştir. Dönüm noktası eğrinin I. ve II. türevleri yardımı ile hesaplanmıştır.



Şekil 4.7. Tenoksikamın NaOH ile potansiyometrik titrasyon eğrisi.

Kondüktometrik yöntemin değerlendirilmesi için de titrasyon sürecinde okunan iletkenlik değerleri üzerinde hacim düzeltmesi yapıldıktan sonra, eklenen baz hacmine karşı grafiğe geçirilmiştir. Kondüktometrik titrasyonlar için beklenen farklı eğimli iki doğru elde edilebilmesine karşın bu iki doğrunun potansiyometrik titrasyon ile elde edilen dönüm noktasına göre çok farklı yerlerde keşistikleri gözlenmiştir. Bazı deneylerde ise bu iki doğru parçası birbirine paralel ya da birbirinin uzantısıymış gibi elde edilmektedir. Bu durum tenoksikamın çözünürlüğünün çok az olması ve iletkenliği sağlayan iyonların hemen hemen tümünün titranttan geldiği sonucuna bağlanabilir.

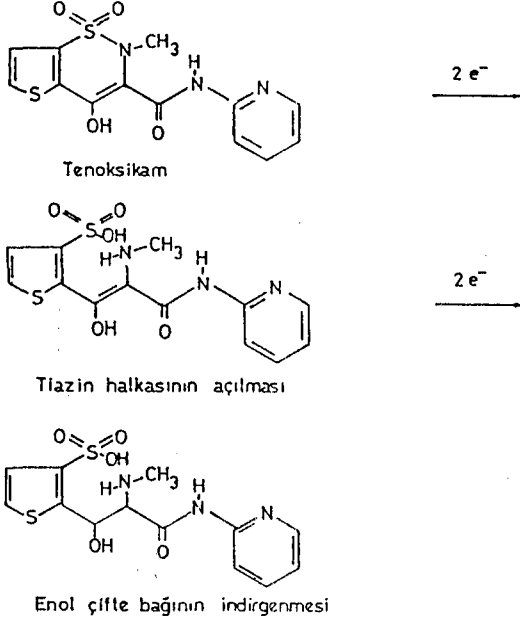
Bu şekilde yapılan potansiyometrik titrasyonlarda 80-100 mg dolayında standart tenoksikam miktarı ve 0.05 N dolayında NaOH çözeltisi kullanılarak %97 ile %102 arasında değişen sonuçlar (recovery) elde edilebilmektedir. Ancak aynı koşullarda gerçekleştirilmiş kondüktometrik yöntemde, dönüm noktalarının beklenilenden çok farklı yerlerde gözlenmesi, bazan da güçlükle saptanabilmesi yüzünden her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar birbirinden farklı bulunmaktadır. Örneğin; potansiyometrik yöntem ile %98.2 olarak bulunmuş bir sonuç, aynı koşullardaki kondüktometrik yöntem ile %122 olarak bulunmuştur. Bu bulguların ışığı altında, tenoksikamın tayininde, potansiyometrik yöntemin sınırlı koşullarda uygun olmasına karşın, kondüktometrik yöntemin bu amaç için uygun bir yöntem olmadığı söylenebilir.

4.10. Tenoksikamın Polarografisinin İncelenmesi

Tenoksikamdan daha önce sentezlenerek kullanılmaya başlanmış olan oksikam grubundan bir diğer non-steroidal antiinflamatuvar ilaç da piroksikamdır. Piroksikamın elektrokimyasal davranışları Vire ve arkadaşları tarafından incelenmiştir (15). Araştırmacılar, piroksikamın pH a oldukça bağımlı bir indirgenme mekanizması gösterdiğini bildirmektedirler. Bu mekanizmada $pH < 2$ de tiazin halkasının açılması ve bunu enol çifte bağının indirgenmesi izlemektedir. Bu reaksiyon toplam 4 elektron transferi ile gerçekleşmektedir. Aynı mekanizmanın $pH > 9.5$ da da gözlemlendiği belirtilmektedir. $pH 3-9.5$ arasında ise yalnızca enol grubuna ait olmak üzere 2 elektron transferi ile gerçekleşen bir indirgenme olduğu da vurgulanmaktadır. Ayrıca, aynı araştırmacılar, asidik ortamda kuvvetli adsorpsiyon olaylarının gözlemlendiğini de bildirmektedirler.

Araştırma konumuz olan tenoksikam ile piroksikam arasındaki yapı farkı; piroksikamdaki benzen halkasının yerine tenoksikamda tiyofen halkasının geçmesidir. Bu yapı benzerliğinden dolayı, tenoksikamın da piroksikama benzer davranışlar gösterebileceği düşüncesinden hareketle polarografik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

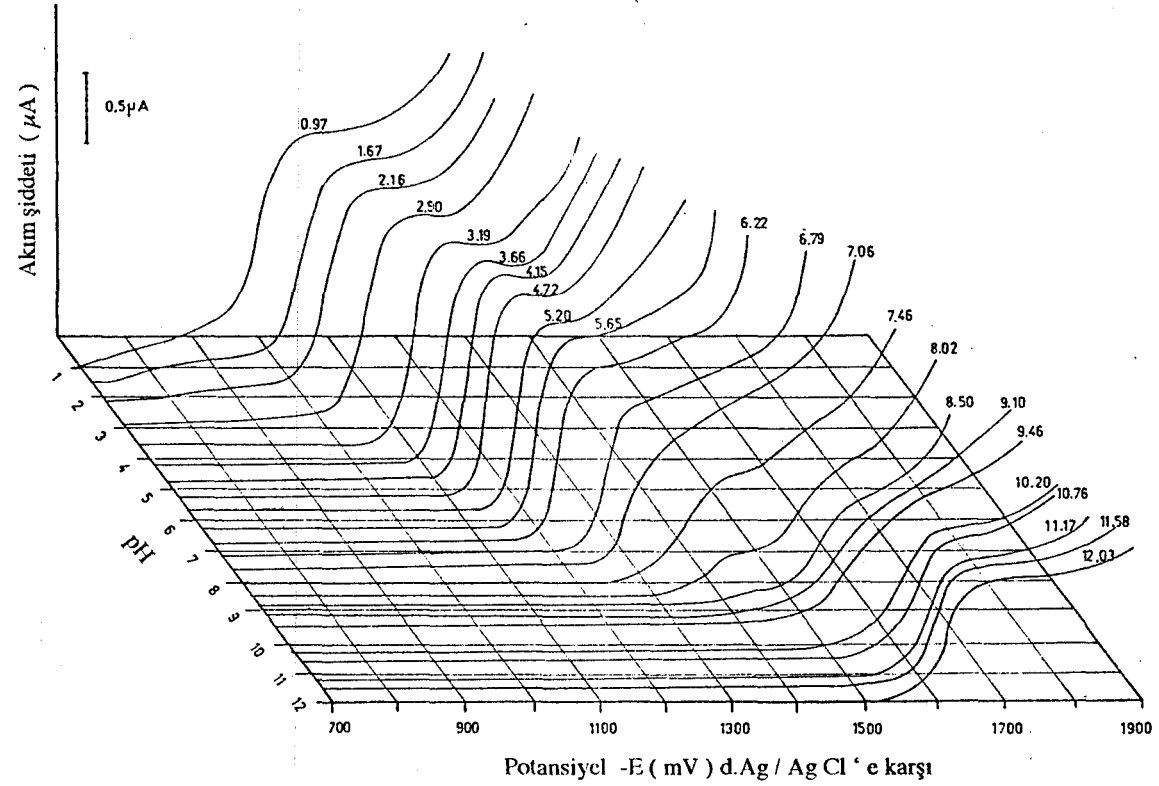
Vire ve arkadaşlarının piroksikam için verdikleri bilgilerin ışığı altında, tenoksikamın indirgenme mekanizmasının Şekil 4.8. de verildiği şekilde olması ileri sürülebilir.



Şekil 4.8. Tenoksikamın indirgenme mekanizması.

4.10.1. pH-sınır akımı ilişkisi

5×10^{-4} M derişimde ve 0.02 M KOH içerisinde hazırlanmış stardart tenoksikam çözeltisinin 0.2 M KCl ve 0.2 M tampon çözelti içerisinde. -500 mV başlangıç potansiyeli, 4 mV s^{-1} potansiyel tarama hızı, 0.8 s damlama süresi, 1000 din cm^{-2} basınçta, ve çeşitli pH larda doğru akım polarogramları kaydedilmiştir. Hücrenin pH 1 kayıttan önce ve sonra ölçülerek pH ların değişip değişmediği gözlenmiştir. Önceki ve sonraki pH lar arasındaki değişiklik ancak 0.03 birim kadar olmaktadır. Bu durum ortamın pH ının çalışma sürecinde sabit kaldığını ve tamponlamanın iyi olduğunu göstermektedir. pH 0.97-5.65 aralığı için asetat tamponları, pH 6.20-12.0 aralığı için de fosfat tamponları kullanılmıştır. Yaklaşık 0.5 pH birimindeki aralıklara sahip tamponlar kullanılarak geniş bir pH aralığında ve fazla sayıda polarogramların alınabilmesi sağlanmıştır. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.9. da üç boyutlu olarak gösterilmiştir.

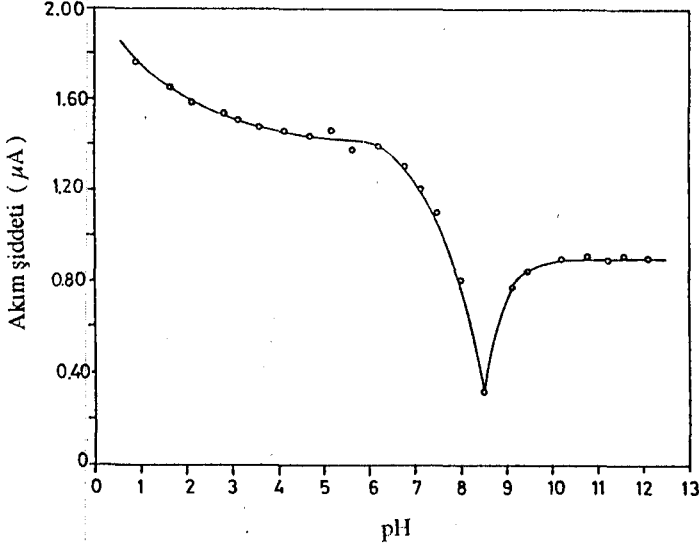


Şekil 4.9. Tenoksikamın çeşitli pH lardaki doğru akım polarogramları.

Şekil 4.9. incelendiğinde pH 0.97 ile 2.90 arasında tek basamaklı ve morfolojik açıdan güzel eğriler elde edilmiştir. pH 3.19-5.20 arasında ise, bir düzlüğe (plato) ulaşıldıktan sonra çok küçük bir sınır akımı düşüşü ile eğriler belirmektedir. Bu eğriler de analitik açıdan değerlendirilebilir eğrilerdir. pH 5.65 den sonra sınır akımlarındaki küçük azalmalar ortadan kalkmakta ve polarogramlar başlangıçtaki eğri morfolojisine dönüşmektedir. pH 6.75 de çok küçük bir ikinci dalga gözlenmesine karşın, pH 7.06 da bu dalga hemen kaybolmaktadır. Bu arada eğri morfolojisi de değişmekte ve düzlük belirsizleşmektedir. pH 8.02 de I. dalga tekrar belirmekte ve buna ikinci bir dalganın eşlik etmeye başladığı görülmektedir. Bu ikinci dalganın şekli, pH daki küçük değişikliklerle büyük ölçüde değişmekte, pH 9.5 dolayında iki dalga birleşerek tek bir dalga haline gelmektedir. pH 9.5 dan sonra eğriler tekrar belirginleşmekte, morfolojisi son derece güzelleşmekte ve pH 12 ye kadar değişmeden kalmaktadır.

pH a karşı sınır akımlarının değişim grafiği Şekil 4.10. da verilmiştir. Buradan görülebileceği gibi, asidik bölgede pH ın değişimine bağlı olarak sınır akımları büyük ölçüde değişmekte, pH 8-9 arasında ise çok küçük değerlere kadar düşmektedir. pH 9

dan sonra yine artmaya başlamakta, pH 10 dan sonra ise hemen hemen sabit kalmaktadır.



Şekil 4.10. pH a karşı sınır akımlarının değişimi.

pH daki küçük değişmelerle sınır akımların büyük ölçüde değişmesi asidik ve nötral bölgede kantitatif tayinlerin yapılmasını güçleştirmektedir. pH 10 dan sonra ise sınır akımı değerlerinin, kuvvetli asidik ortamda elde edilen değerlerin yaklaşık yarısı kadar olmasına karşın pH değişimine bağlı kalmaksızın sabit kalması kantitatif tayinler için bir üstünlük olarak göze çarpmaktadır. Diğer taraftan tenoksikamın asidik çözeltilerde çözünürlüğünün az, buna karşılık bazik ortamda çok daha fazla olması ve tenoksikam çözeltilerinin 0.02 M KOH içerisinde hazırlandığı da göz önüne alınırsa pH 10-12 arasındaki bölgede çalışılabileceği anlaşılmaktadır.

Şekil 4.8. de topluca gösterilmiş olan doğru akım polarogramlarında, sınır akımlarının ve bundan yararlanılarak $\log [i / (i_s - i)]$ ilişkilerinin hesaplanması ile pH a bağlı olarak yarı-dalga potansiyellerinin ($E_{1/2}$) değişimi ve α değerleri de incelenmiştir. Asetat tamponları ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerler Çizelge 4.2 de, fosfat tamponları ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerler ise Çizelge 4.3 de toplanmışlardır.

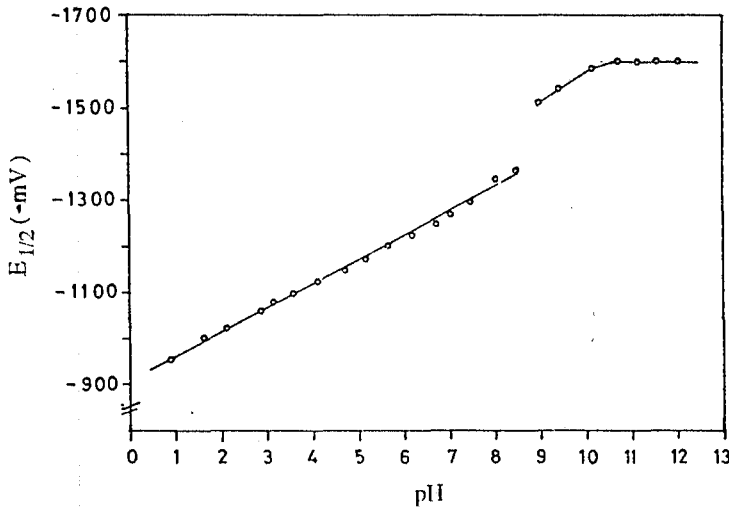
Çizelge 4.2 Asetat tamponu içerisinde çeşitli pH larda sınır akımı, yarı-dalga potansiyeli ve $n\alpha$ değerleri

pH	0.97	1.67	2.16	2.90	3.19	3.66	4.15	4.72	5.20	5.65
i_s (μA)	1.76	1.66	1.58	1.54	1.51	1.48	1.46	1.44	1.46	1.38
$E_{1/2}$ (-mV)	954	1006	1025	1669	1082	1105	1130	1152	1175	1208
$n\alpha$	2.98	2.68	2.38	2.16	1.97	1.79	1.57	1.54	1.31	1.50

Çizelge 4.3. Fosfat tamponu içerisinde çeşitli pH larda sınır akımı, yarı-dalga potansiyeli ve $n\alpha$ değerleri

pH	6.22	6.74	7.04	7.46	8.02	8.50	9.10	9.46	10.20	10.76	11.17	11.58	12.03
i_s (μA)	1.40	1.30	1.20	1.10	0.80	0.31	0.79	0.85	0.90	0.91	0.89	0.91	0.90
$E_{1/2}$ (-mV)	1228	1250	1272	1300	1350	1372	1522	1549	1591	1603	1603	1603	1603
$n\alpha$	1.52	1.71	2.13	2.26	4.37	3.04	3.87	4.37	3.57	2.96	2.63	2.38	2.22

pH a karşı yarı-dalga potansiyellerinin değişimi Şekil 4.11. de gösterilmektedir.



Şekil 4.11. pH a karşı yarı-dalga potansiyellerinin değişimi.

Şekil 4.11 incelendiğinde pH ın 0.97 den 8 dolayına kadar artması ile yarı-dalga potansiyelleri de daha negatif değerlere doğru doğrusal olarak artmaktadır. Bu ilişki $E_{1/2}(mV) = -52.04 \text{ pH} - 911.7$; $r = 0.9974$ denklemine uymaktadır.

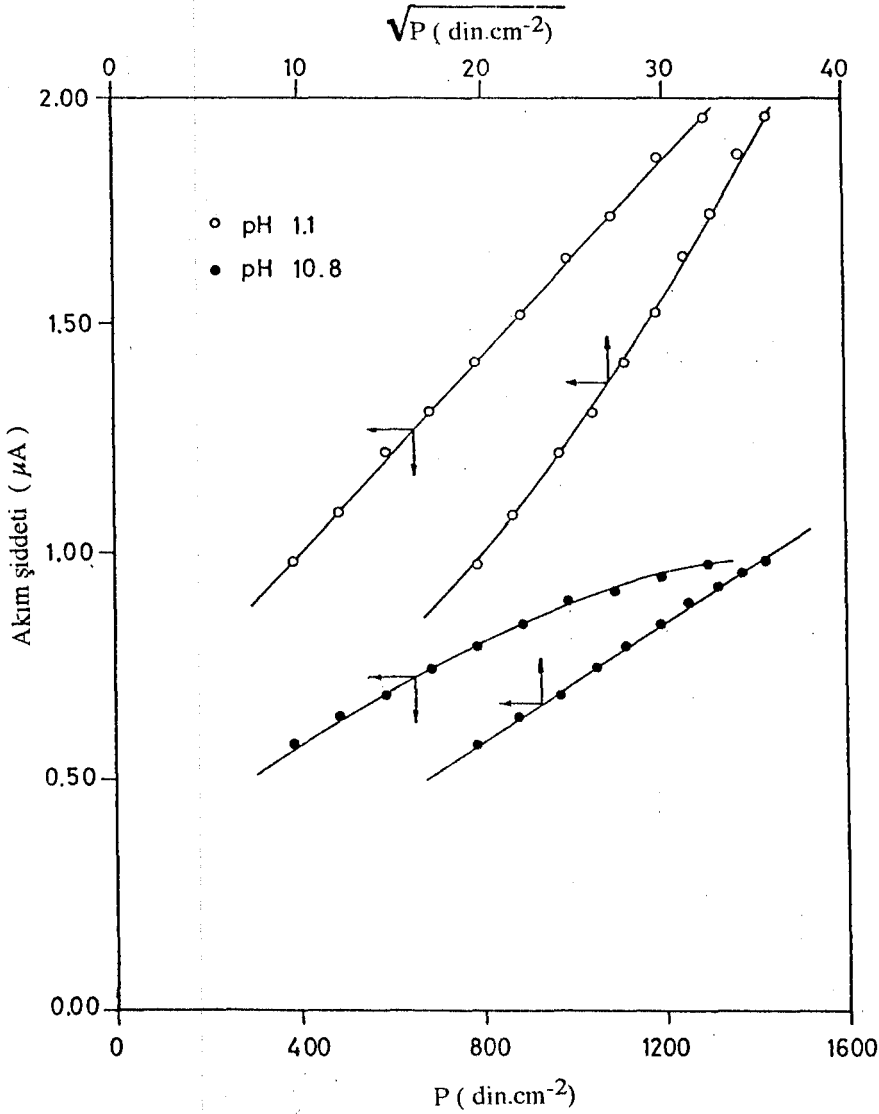
pH 8 den sonra ikinci bir dalganın oluşmaya başlaması, yarı-dalga potansiyellerinin negatif değerlere doğru daha fazla kaymasına neden olmaktadır. Bu hızlı potansiyel kayması grafikte belirgin bir kırılma şeklinde görülmektedir. Bu kırılmanın, enol çifte bağının özelliklerinden kaynaklandığı söylenebilir. Bu şekilde birinci dalganın kaybolması ve ikinci bir dalganın gözlenmesinin, enol fonksiyonel grubunun proton kaybına ve enolat oluşumuna karşı geldiği Vire ve arkadaşları tarafından da vurgulanmaktadır (15).

Yarı-dalga potansiyelinin kaymasını etkileyen bu ikinci dalganın şekli, pH a bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Buna karşın yarı-dalga potansiyellerinin değişmesi pH değişimine daha az bağımlı olmaktadır. pH 9.5 dan sonra eğri morfolojilerinin iyileşmesine paralel olarak yarı-dalga potansiyellerinin de -1600 mV dolayında sabit kaldığı görülmektedir.

Bu bulgulara göre, tenoksikamın polarografik davranışlarının ve parametrelerinin incelenmesinin, pH 11 dolayında, 0.2 M KCl ve 0.2 M fosfat tamponunda yapılmasına karar verilmiştir.

4.10.2. Basınç-sınır akımı ilişkisi

Cıva üzerine uygulanan basınç, polarografik akımı kontrol eden faktörlerin belirlenmesinde oldukça önemli bir parametredir (55). Polarografik akımı kontrol eden faktörler adsorpsiyonal, diffüzyonal, kinetik ve katalitik akımlardır. Adsorpsiyon kontrollü olaylarda sınır akımının değişmesi basınç ile, diffüzyonal kontrollü akımlarda ise , basıncın karekökü ile doğrusal ilişkilidir. Katalitik ve kinetik akımlarda ise sınır akımları, cıva üzerine uygulanan basınçtan bağımsızdır. pH ın 1 dolayında olduğu kuvvetli asidik bölgede, pH a bağlı olarak sınır akımlarının büyük ölçüde değişmesi bir adsorpsiyon olayının varlığını düşündürmektedir. Bu düşüncüyü doğrulamak amacıyla 5×10^{-4} M tenoksikam çözeltisinin pH 1.1 de 0.2 M KCl ve 0.2 M asetat tamponu sistemi içerisinde, -1050 mV sabit potansiyelde, ve 0.8 s damlama süresi koşullarında, oksijeni uzaklaştırıldıktan sonra, 400-1300 din cm^{-2} aralığında değişen basınçlar uygulanarak, sınır akımları ölçülmüştür. Bazik bölgedeki durumu incelemek amacıyla da bu kez aynı derişimdeki tenoksikam çözeltisinin 0.2 M KCl, 0.2 M fosfat tamponu sistemi içerisinde pH 10.8 de, -1680 mV sabit potansiyelde ve 0.8 s damlama süresi koşullarında, oksijenin uzaklaştırılmasından sonra, 400-1300 din. cm^{-2} basınç aralığında sınır akımları ölçülmüştür. Her iki pH değerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sınır akımlarının, uygulanan basınç ve basıncın karekökü ile olan ilişkileri Şekil 4.12. de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. pH 1.1 ve 10.8 de basınç-sınır akımı ilişkileri.

Şekil 4.12. nin incelenmesinden görülebileceği gibi, pH 1.1 de sınır akımlarının değişimi, uygulanan basınç ile $i_s (\mu\text{A}) = 0.0011 P (\text{dyn.cm}^{-2}) + 0.545$; $r = 0.9995$ denkleminde uyan bir doğrusallık göstermektedir. Bu durum, kuvvetli asidik ortamda adsorpsiyon olaylarının varlığını kanıtlar niteliktedir. pH 10.8 deki sınır akımı-basınç ilişkisinde; diğerinden farklı olarak ark tipi bir eğri, sınır akımı ile basıncın karekökü arasında ise $i_s (\mu\text{A}) = 0.0263 \sqrt{P (\text{dyn.cm}^{-2})} + 0.054$; $r = 0.9985$ denkleminde uyan bir doğrusallık elde edilmiştir. Bu sonuçlar, kuvvetli bazik ortamda polarografik akımı kontrol eden faktörün difüzyonal olduğunu göstermektedir.

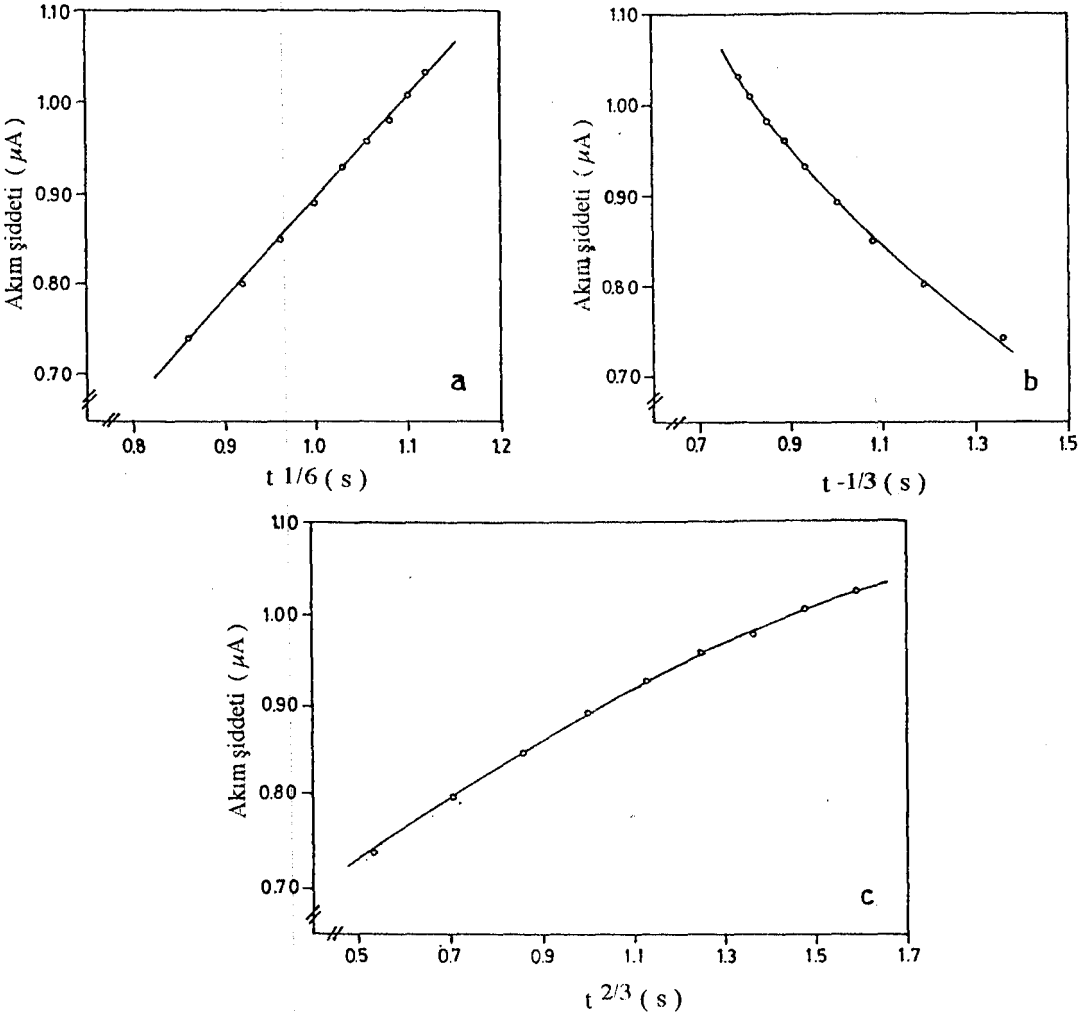
4.10.3. Sınır akımı-damlama süresi ilişkisi

Sınır akımının cıvanın damlama süresi ile ilişkisi, polarografik akımın karakterini açıklamakta yararlı olabilmektedir. Ancak bu değerlendirmeler genellikle tersinir (reversible) sistemler için daha duyarlı olmakta, tersinir olmayan (irreversible) sistemlerde ise beklenilenden farklı davranışlar da gözlenebilmektedir. Çalışma pH ı olarak seçilen 10.8 de, sistemi etkileyen başlıca faktörün diffüzyonal olduğu, Bölüm 4.10.2. deki basınç ilişkilerinin incelenmesi sırasında ortaya çıkarılmıştı. Sınır akımları; polarografik akımı etkileyen faktörlerden diffüzyonal karakterli olanlarda damlama süresinin 1/6 ncı, adsorpsiyon kontrollü olanlarda -1/3 üncü, kinetik ve katalitik kontrollü olanlarda ise 2/3 üncü kuvveti ile doğrusal ilişkili olmaktadır (55).

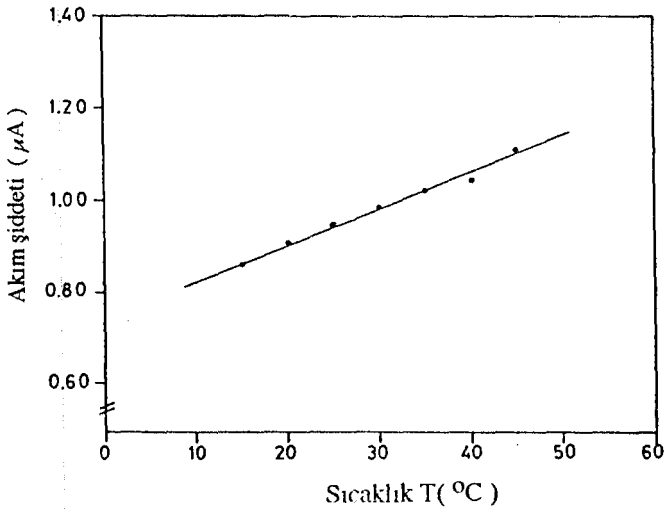
Bazık bölgedeki çalışma koşullarında, polarografik akımı etkileyen faktörün ne olduğunun damlama süresine göre araştırılması amacıyla 5×10^{-4} M tenoksikam çözeltisinin, 0.2 M KCl, 0.2 M fosfat tamponu içeren taşıyıcı elektrolit sistemi içerisinde, pH 10.8 de, -1680 mV sabit potansiyelde, 1000 din.cm^{-2} basınçta ve 0.4 ile 2.0 s arasında değişen damlama sürelerinde sınır akımları ölçülmüştür. Damlama süresinin 1/6, -1/3 ve 2/3 üncü kuvvetlerine karşı ölçülen sınır akımı değerleri Şekil 4.13.(a,b,c) de grafiksel olarak gösterilmiştir. Buradan görülebileceği gibi cıvanın damlama süresinin 1/6 ncı kuvveti ile sınır akımları arasında $i_s (\mu\text{A}) = 1.1167 t^{1/6} - 0.224$; $r = 0.9987$ denkleminin uyan bir doğrusallık göze çarpmaktadır. Bu sonuç da, daha önce saptanmış olan diffüzyonal karakteri doğrular niteliktedir.

4.10.4. Sıcaklığın sınır akımı üzerine etkisi

Sıcaklığın sınır akımı üzerindeki etkisi de polarografik akımın karakterini belirlemek için yararlanılabilen bir parametredir. Diffüzyon kontrollü sistemlerde sınır akımı artışı, derece başına yaklaşık %1.3 olarak verilmektedir (55). 5×10^{-4} M tenoksikamın ve taşıyıcı elektrolitin, -1680 mV sabit potansiyelde, pH 10.8 de, 0.2 M KCl, 0.2 M fosfat tamponu içerisinde, 0.8 s damlama süresi ve 1000 din.cm^{-2} basınçta, 15°C ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda sınır akımları ölçülmüştür. Elde edilen değerler Şekil 4.14. de ki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Cıvanın damlama süresinin çeşitli fonksiyonlarına göre sınır akımlarının değişimi (a: $t^{1/6}$ ya göre, b: $t^{-1/3}$ e göre, c: $t^{2/3}$ e göre).



Şekil 4.14. Sınır akımlarının sıcaklıkla değişimi.

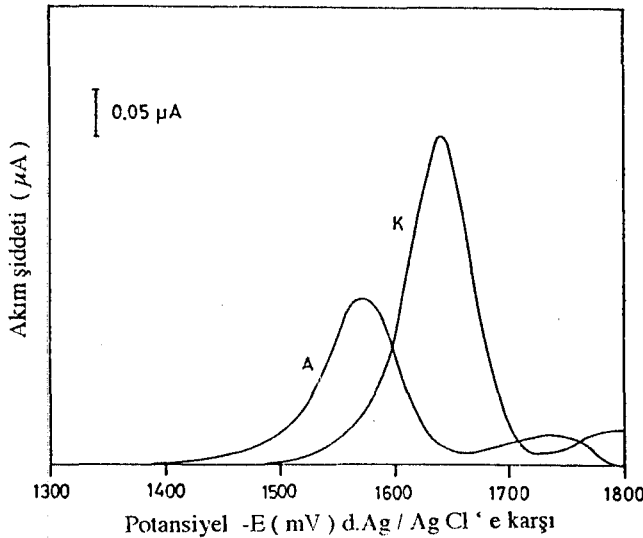
Sınır akımı ile sıcaklık arasında $i_s (\mu A) = 8.6 \times 10^{-3} T (^\circ C) + 0.503$; $r=0.9964$ ilişkisi elde edilmiştir. Burada derece başına sınır akımı artışı, denklemin eğiminden görülebileceği gibi, %0.86 dır. Bu değer difüzyonal kontrollü sistemler için verilen %1.3 değerine yakındır. Bu sonuç da belirtilen çalışma koşullarında, polarografik akımı etkileyen faktörün büyük ölçüde difüzyonal olduğunu göstermektedir.

4.10.5. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerindeki etkisi

Tüm polarografik koşullar sabit kalarak, 0.2 M KCl, 0.2 M fosfat tamponunda, pH 10.8 de, 0.8 s damlama süresi, 1000 din.cm^{-2} basınçta, başlangıç potansiyeli -1300 mV olmak üzere, 5×10^{-4} M tenoksikam çözeltisinin, 4 - 20 mV.s^{-1} potansiyel tarama hızı aralığında doğru akım polarogramları kaydedilmiştir. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

4.10.6. Tersinirliğin incelenmesi

Tersinirliğin incelenmesinde Birke ve arkadaşlarının önerdiği yol izlenmiştir (56). Buna göre 5×10^{-4} M tenoksikam çözeltisinin, çalışma koşullarında, -1300 mV ile -1800 mV potansiyel aralığında katodik yönde ve -1800 mV ile -1300 mV potansiyel aralığında anodik yönde kaydedilen diferensiyel puls polarogramları Şekil 4.15. de verilmiştir.

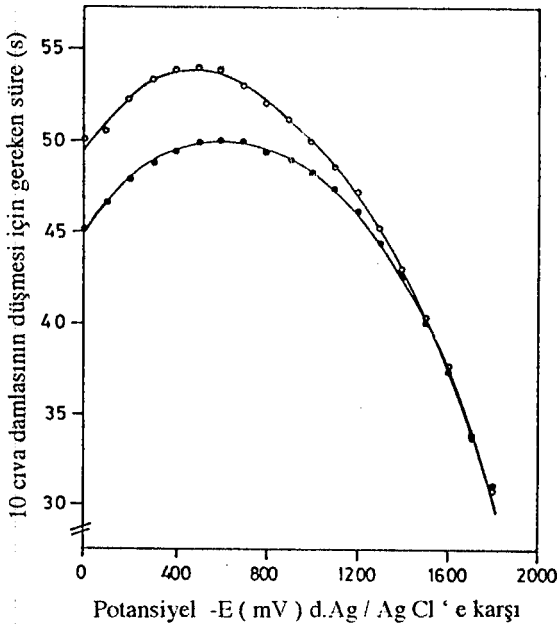


Şekil 4.15. Tenoksikamın katodik (K) ve anodik (A) yöndeki diferensiyel puls polarogramları.

Katodik yöndeki diferensiyel puls polarogramında pikin maksimum noktasının karşılık geldiği potansiyel $E_p^c = -1640$ mV, pik akımı ise $I_p^c = 0.355$ μ A, anodik yöndeki diferensiyel puls polarogramında ise $E_p^a = -1584$ mV, $I_p^a = 0.170$ μ A olarak ölçülmüştür. $|E_p^c - E_p^a|$ değeri ile (I_p^a / I_p^c) oranı hesaplanarak değerlendirme yapılmıştır. $|E_p^c - E_p^a| = 56 \approx |\Delta E|$ ve $(I_p^a / I_p^c) = 0.48 < 1$ koşullarının gerçekleştiği görülmüştür. Buna göre belirtilen çalışma koşullarında reaksiyonun tersinmez (irreversible) olarak gerçekleştiği söylenebilir.

4.10.7. Elektrokapiler eğrinin incelenmesi

Cıva-elektrolit çözeltisi arayüzünde, cıva potansiyeli ile yüzey gerilim arasındaki ilişkiyi gösteren eğriye "elektrokapiler eğri" denilmektedir. Tenoksikamın yüzey gerilimi üzerindeki etkisinin araştırılması amacıyla 5×10^{-4} M derişimdeki çözeltinin. pH 10.8 de ve belirlenen taşıyıcı elektrolit sistemindeki elektrokapiler eğrisi incelenmiştir. Tenoksikam çözeltisinin ve taşıyıcı elektrolit içerisindeki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılmasından sonra, 1000 din.cm⁻² basınç altında, 0 ile -1800 mV potansiyel aralığında, her 100 mV luk potansiyel artışı değerlerinde, 10 cıva damlasının serbestçe düşmesi için gereken süre ölçülmüştür. Elde edilen değerlere göre çizilmiş olan, taşıyıcı elektrolitin ve tenoksikam çözeltisinin elektrokapiler eğrileri, Şekil 4.16. da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Tenoksikamın (●) ve taşıyıcı elektrolitin (o) elektrokapiler eğrileri.

Şekil 4.16. dan görüldüğü gibi, tenoksikam içeren çözeltinin elektrokapiler eğrisi, taşıyıcı elektrolitinkinden daha düşük değerlerde bir eğri oluşturmaktadır. Her iki çözelti için elde edilen eğrilerde -500 mV dolayında maksimum değere erişilmektedir. -1600 mV dolayında ise eğrilerin çakıştığı gözlenmektedir. Bu da tenoksikamın yüzey gerilimini bir ölçüde değiştirdiğini göstermektedir.

4.10.8. Derişimin sınır akımı üzerine etkisi

Tenoksikamın polarografik davranışlarının incelenmesi sırasında belli bir derişimdeki çözelti için pH ın, basıncın, damlama süresinin, potansiyel tarama hızının ve sıcaklığın etkileri araştırılmış ve tayinler için en uygun koşulların saptanmasına çalışılmıştır. Derişimin sınır akımı üzerindeki etkisinin araştırılması dört ayrı polarografik teknik kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, diğer polarografik koşullar sabit kalarak 1×10^{-4} - 5×10^{-4} M derişim aralığında ve pH 10.8 de çalışılmıştır. Her dört polarografik teknik için kullanılan diğer çalışma koşulları Çizelge 4.4. de topluca verilmiştir.

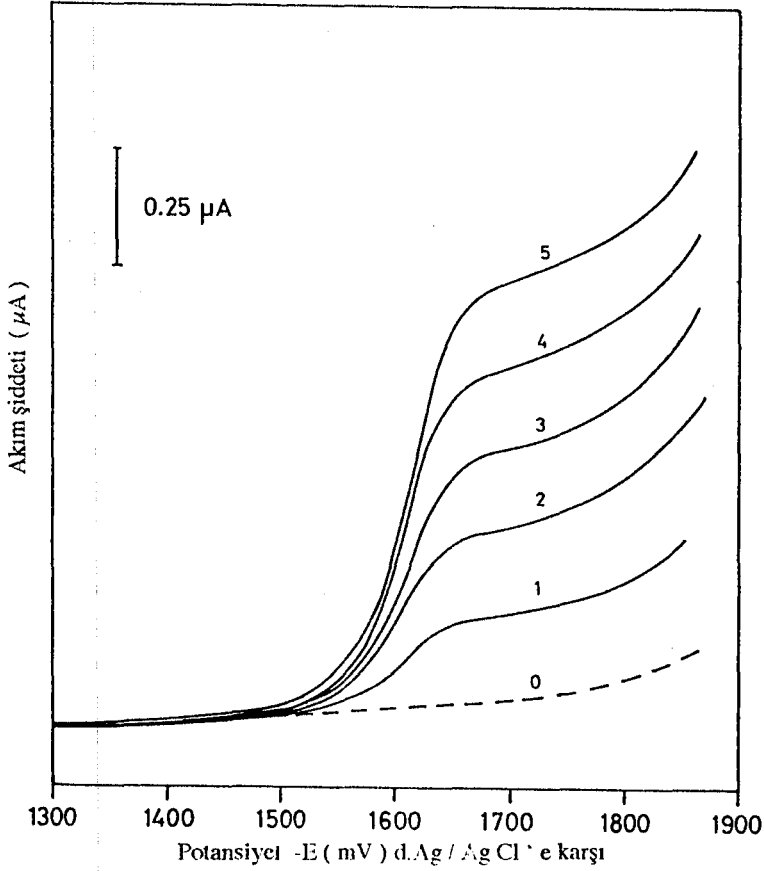
Çizelge 4.4. Derişim-sınır akımı ilişkisinin incelenmesinde kullanılan tekniklerdeki çalışma koşulları

	DCP	DPP	SIAPP	SCAPP
Başlangıç potansiyeli -E (mV)	1200	1200	1200	1200
Damlama süresi t (s)	0.8	0.8	0.8	0.8
Basınç P (din.cm ⁻²)	1000	1000	1000	1000
Potansiyel tarama hızı v (mV.s ⁻¹)	4	4	4	4
Duyarlık R (µA)	2.5	0.5	5	5

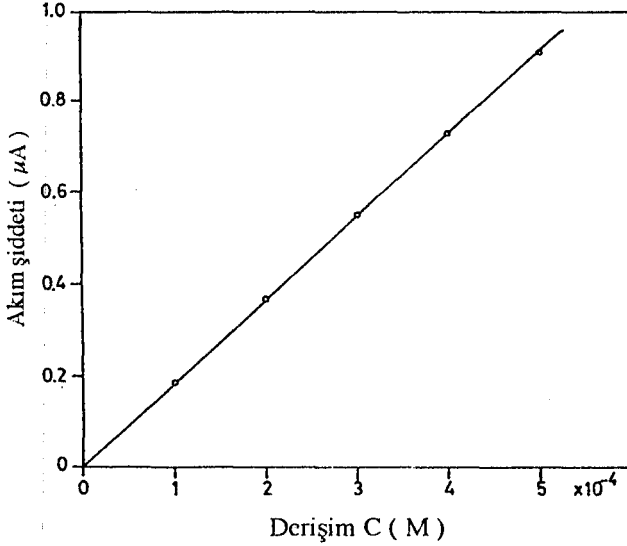
4.10.8.1. Doğru akım polarografisi (DCP) ile yapılan çalışmalar

Çizelge 4.4. de belirtilen doğru akım polarografisi koşullarında 1×10^{-4} ile 5×10^{-4} M derişim aralığındaki tenoksikam çözeltilerinin ve taşıyıcı elektrolitin doğru akım polarogramları alınmıştır. Artan derişimlerde elde edilen polarogramlar Şekil 4.17.de

gösterilmiştir. Şekil 4.17. incelendiğinde -1620 mV dan sonra sınır akımına ulaşıldığı görülmektedir. Derişim ile sınır akımları arasındaki en iyi korelasyon katsayısına sahip ilişkinin, -1680 mV da olduğu bulunmuştur. Bu potansiyelde, sınır akımları ölçülüp derişime karşı grafiğe geçirildiğinde Şekil 4.18 deki kalibrasyon grafiği elde edilmektedir. -1680 mV da tenoksikam derişimi ile sınır akımı arasında $i_s(\mu A) = 1810 C(M) + 0.006$; $r=0.9999$ gibi son derece iyi doğrusal bir ilişki elde edilmiştir.



Şekil 4.17. Artan derişimlerdeki tenoksikamın doğru akım polarogramları (0: T.E., 1: 1×10^{-4} M, 2: 2×10^{-4} M, 3: 3×10^{-4} M, 4: 4×10^{-4} M, 5: 5×10^{-4} M).



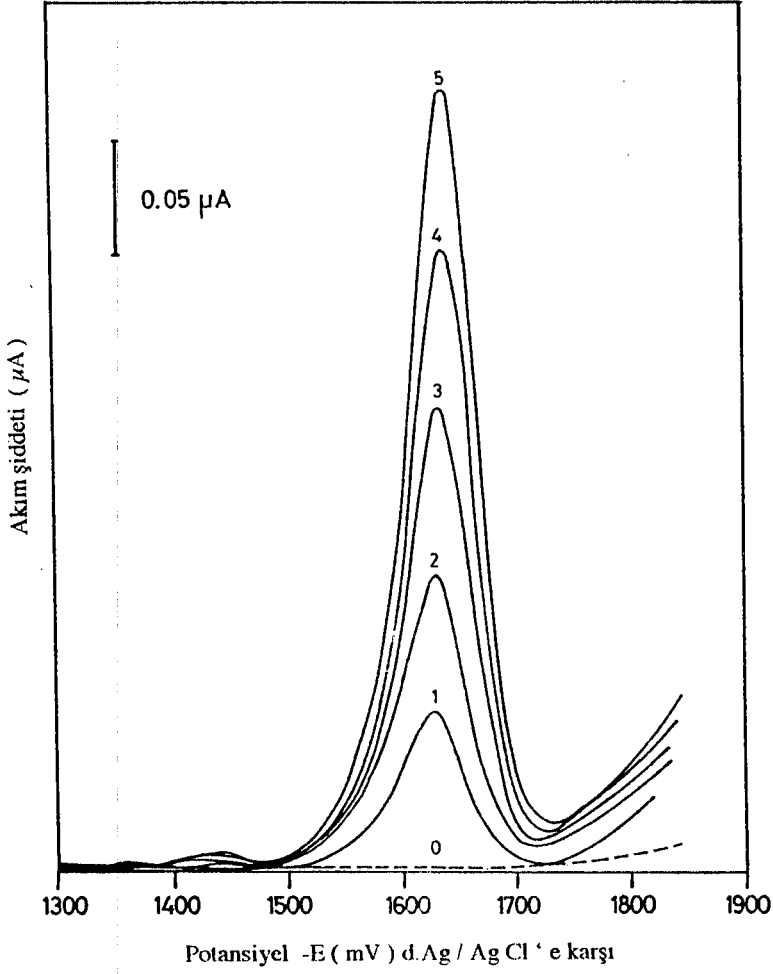
Şekil 4.18. Tenoksikamın doğru akım polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.

4.10.8.2. Diferensiyel puls polarografisi (DPP) ile yapılan çalışmalar

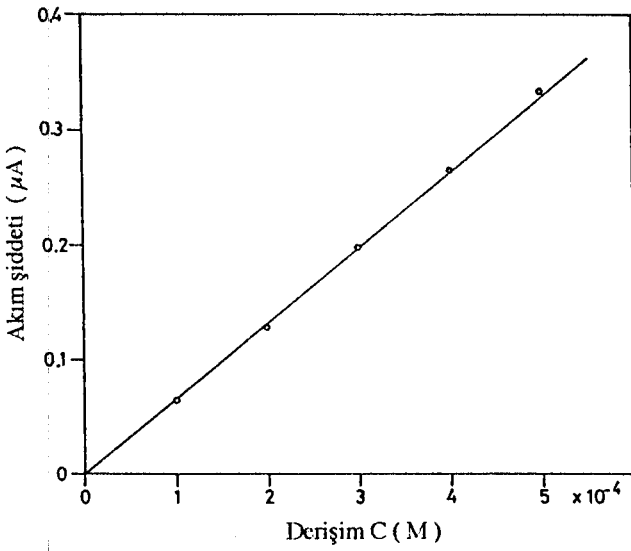
Çizelge 4.4. de belirtilen koşullarda, ve 1×10^{-4} ile 5×10^{-4} M derişim aralığındaki tenoksikam çözeltilerinin diferensiyel puls polarogramları kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.19. da gösterilmiştir.

Şekil 4.19. incelendiğinde akım artışları -1500 mV dolayından başlayıp, -1628 mV da maksimum değere ulaşmakta ve bir pik halini almaktadır. Tenoksikam derişimi ile pik yükseklikleri arasındaki ilişki Şekil 4.20. deki kalibrasyon grafiğini vermektedir. Burada da $i_{\text{pik}} (\mu\text{A}) = 684 C (\text{M}) - 0.003$; $r = 0.9995$ gibi oldukça iyi bir ilişki elde edilmiştir.

Diferensiyel puls polarogramlarından görüldüğü gibi, derişime bağlı olarak pik potansiyellerinde bir kayma olmadığı görülmektedir. Bu bulgu da en azından bu derişimlerde polarografik akımı etkileyen faktörün adsorpsiyonal olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.19. Artan derişimlerdeki tenoksikamın diferensiyel puls polarogramları
(0: T.E., 1: 1×10^{-4} M, 2: 2×10^{-4} M, 3: 3×10^{-4} M, 4: 4×10^{-4} M, 5: 5×10^{-4} M).

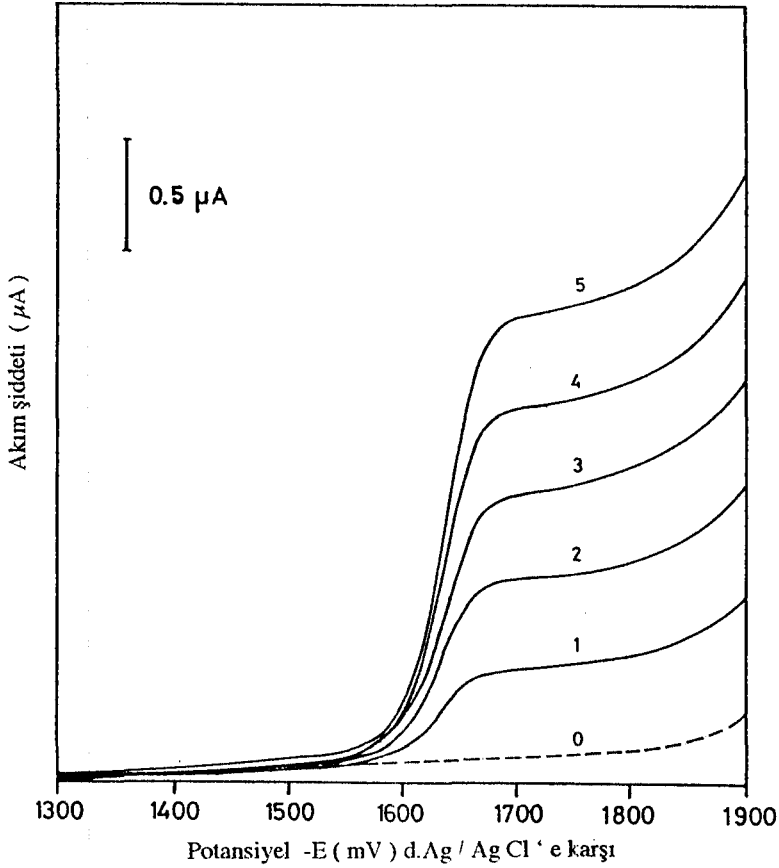


Şekil 4.20. Tenoksikamın diferensiyel puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği

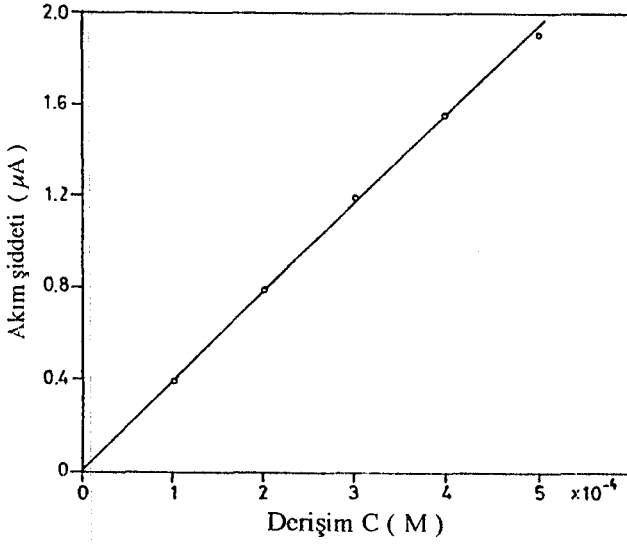
4.10.8.3. Aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ile yapılan çalışmalar.

1×10^{-4} ile 5×10^{-5} M derişim aralığındaki tenoksikam çözeltilerinin aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarogramları, Çizelge 4.4. de belirtilmiş koşullarda kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.21. de gösterilmiştir.

Şekil 4.21. den görülebileceği gibi, akım artışları -1550 mV dolayından başlayıp, -1600 mV dan sonra hızlı bir artışla yükselmekte, -1680 mV dan sonra sınır akımına ulaşmaktadır. -1800 mV a kadar sınır akımlarının bir düzlük oluşturduğu görülmektedir. -1720 ve -1750 mV daki derişim-sınır akımı ilişkileri incelendiğinde her iki potansiyelde de sınır akımlarının birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bu ilişki; -1750 mV da $i_s (\mu A) = 3830 C(M) + 0.023$; $r= 0.9996$, -1750 mV da ise $i_s (\mu A) = 3880 C(M) + 0.024$; $r= 0.9996$ gibi oldukça iyi bir korelasyon vermektedir. -1720 mV daki derişim-sınır akımı grafiği Şekil 4.22. de verilmiştir.



Şekil 4.21. Artan derişimlerdeki tenoksikamın aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarogramları (0:T.E., 1: 1×10^{-4} M, 2: 2×10^{-4} M, 3: 3×10^{-4} M, 4: 4×10^{-4} M, 5: 5×10^{-4} M)

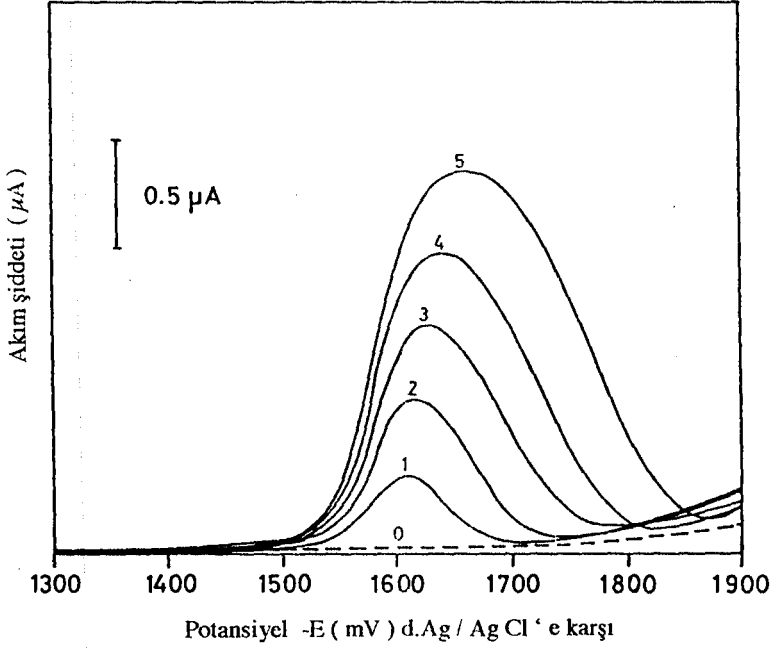


Şekil 4.22. Tenoksikamın aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.

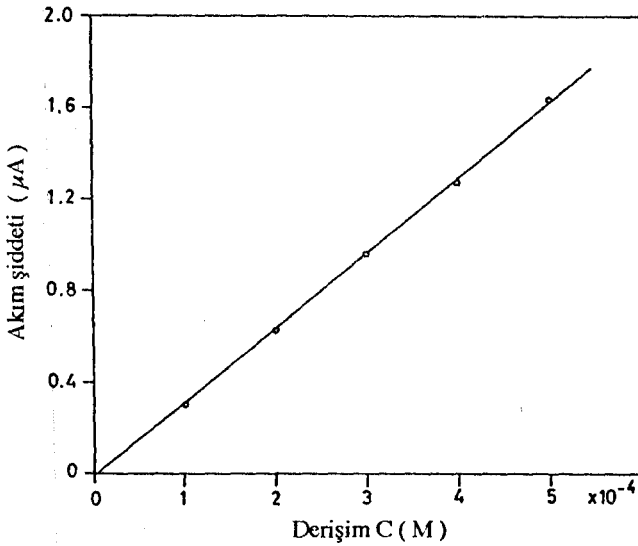
4.10.8.4. Aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) ile yapılan çalışmalar

1×10^{-4} ile 5×10^{-4} M derişim aralığındaki tenoksikam çözeltilerinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarogramları Çizelge 4.4. de belirtilen koşullarda kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.23.de gösterilmiştir.

Şekil 4.23 incelendiğinde, akım artışlarının -1550 mV dolayından başladığı görülmektedir. Artan derişimler ile sınır akımları -1620 ile -1672 mV arasında sırasıyla, 0 , 12 , 18 ve 22 mV luk kaymalarla maksimum değerlere ulaşmakta ve potansiyelin daha negatif değerlerinde hızla azalmaktadır. Tenoksikamın artan derişimlerine karşı pik maksimumlarına karşılık gelen akım değerleri, Şekil 4.24. deki kalibrasyon grafiğini vermektedir. Burada da, derişim-sınır akımı arasında $i_{\text{pik}} (\mu\text{A}) = 3330 \text{ C(M)} - 0.037$; $r = 0.9998$ denklemine uyku oldukça iyi bir ilişkinin varlığı görülmektedir.



Şekil 4.23. Artan derişimlerdeki tenoksikamın aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarogramları (0: T.E., 1: 1×10^{-4} M, 2: 2×10^{-4} M, 3: 3×10^{-4} M, 4: 4×10^{-4} M, 5: 5×10^{-4} M).



Şekil 4.24. Tenoksikamın aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği.

Derişim ile sınır akımı arasındaki ilişkilerin incelendiği dört ayrı polarografik eknikle elde edilen sonuçlar, belirtilen optimum çalışma koşullarında tenoksikamın duyarlı olarak tayin edilebileceğini göstermektedir.

4.11. Katı Elektrotlarla Yapılan alışmalar

Tenoksikamın katı elektrotlar üzerinde yükseltgenebilmesi ile ilgili olarak tayinlerin yapılabilirliği de araştırılmıştır. Bu amaçla, çalışma elektrodu olarak grafit, platin tel ve karbon pasta elektrotlar hazırlanmıştır. Karşılaştırma elektrodu olarak doygun KCl içerisinde Ag / AgCl, yardımcı elektrot olarak da platin tel elektrot kullanılmıştır. Çeşitli pH değerlerinde ve taşıyıcı elektrolit sistemlerinde anodik yönde voltamogramlar alınabilmesi için kayıtlar yapılmıştır. Grafit ve platin tel elektrot ile herhangi olumlu bir yanıt alınmazken, karbon pasta elektrot ile anodik yönde, 0.2 M KCl ve 0.2 M fosfat tamponu içerisinde, pH 10.8 de ve 1×10^{-4} M tenoksikam derişimi düzeyinde bir voltamogram elde edilebilmiştir. Artan tenoksikam derişimi ile akım şiddetlerinin bir ölçüde artması, optimize edilmiş koşullarda bir kalibrasyon eğrisinin çizilebilmesinin olası olup olmayacağını düşündürmüştür. Bu amaçla yapılan çalışmalarda tekraredilebilirliğin olmayışı nedeni ile bir doğrusallığın elde edilemediği görülmüştür. Bu durumun elektrot yüzeyi ile ilgili olabileceği düşüncesinden hareketle, elektrot yüzeyi hem yenilenerek hem de yenilenmeden deneyler yapılmış, ancak tekraredilebilir sonuçlar yine elde edilememiştir. Bu bulgular, uygulanan koşullarda katı elektrotlarla kantitatif çalışmaların olası olmadığını göstermektedir.

4.12. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanışı

Farmakopelerde tenoksikam için henüz bir monograf bulunmamaktadır. Bu nedenle farmasötik preparatlardaki tenoksikam tayini için, farmakopelerin önerdiği genel işlemler uygulanmıştır (57). Yerel eczanelerden sağlanan ve 5 ayrı firmanın üretimi olan ilaçlar, kullanılmış ve bunlar A, B, C, D E olarak kodlanmıştır. Tüm ürünlerde, bir tablet veya kapsül içerisinde 20 mg tenoksikam olduğu belirtilmektedir.

Farmakopelerde önerilen genel işlemlere göre; her bir üründen 20 tablet veya kapsül içeriği tartılarak ortalama tablet veya kapsül ağırlığı hesaplanmıştır. Kapsül içerikleri doğrudan, tabletler ise porselen bir havanda iyice toz edildikten sonra renkli şişelerde saklanmış ve tayinlerde bu toz örnekler kullanılmıştır.

4.12.1. Polarografik teknikler ile preparatlardaki tenoksikam tayini

Polarografik alışmalar için ortalama tablet veya kapsül içeriği ağırlığına çok yakın, duyarlı tartımlar alınmış, 100 mL lik bir balonjojeye aktırılmıştır. Tenoksikamın çözünebilmesi için 1 M lık KOH den 2 mL ve 25 mL kadar da bidistile su konarak

magnetik bir karıştırıcı yardımı ile karıştırılmıştır. Tüm tenoksikamın çözünebilmesi için yaklaşık 5 dakikanın yeterli olduğu bulunmuştur. Süre sonunda çözelti su ile 100 mL ye tamamlanmıştır. Çözelti iki eşit parçaya bölünmüş, ilk 50 mL lik kısım mavi bantlı süzgeç kağıdından (Schleicher & Schüll No 589³) süzülmüş, ilk 10-15 mL lik kısım atılmıştır. İkinci 50 mL lik kısım ise süzülmeden kullanılmıştır. Süzülmüş ve süzülmemiş çözeltilerden 3 mL alınarak polarografik hücreye konmuş ve Bölüm 4.10.8. de belirtilen koşullarda, dört ayrı polarografik teknik kullanılarak polarogramları kaydedilmiştir. Herbir teknik için, Bölüm 4.10.8.1-4 de verilmiş kalibrasyon denklemleri kullanılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5.a-e deki ilk sekiz sütunda topluca verilmiştir.

4.12.2. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile preparatlardaki tenoksikam tayini

Bölüm 4.12 de belirtilen biçimde hazırlanmış toz edilmiş tablet ve kapsül içeriklerinden, ortalama tablet veya kapsül içeriği ağırlığına yakın tartımlar alınmış, 20 ml 0.02 M KOH içerisinde çözülmüş ve mavi bantlı süzgeç kağıdından süzülmüştür. Böylece numunenin 1 mg ml⁻¹ dolayındaki derişime gelmesi sağlanmıştır. Bu çözeltilerden 10 µL lik uygulamalar yapılarak, Bölüm 3.6. da belirtilen kromatografik koşullarda kromatogramlar kaydedilmiştir. Elde edilen pik alanlarından hareketle, Bölüm 4.7. de verilen kalibrasyon denklemi kullanılarak,tenoksikam miktarına geçilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5.a.-e. deki dokuzuncu sütunda verilmiştir.

4.12.3. UV spektrofotometrik yöntem ile preparatlardaki tenoksikam tayini

Bu yöntemin kullanıldığı çalışmalarda, Bölüm 4.12.1. de açıklandığı gibi hazırlanmış ve süzülüş örneklerden yararlanılmıştır. Polarografik çalışmalarda kullanılan süziütünün 3 mL si 0.02 M KOH ile 100.mL ye tamamlanmış ve 365.5 nm de absorbansları ölçülmüştür. Kör çözelti (blank) olarak 0.02 M KOH çözeltisi kullanılmıştır.

Preparatlar içerisinde sadece tenoksikam bulunduğundan, ölçümlerde orijinal absorbans spektrum verileri kullanılmış, türev spektroskopisi ile tayinlere gerek duyulmamıştır. Okunan absorbans değerlerinden hareketle, Çizelge 4.1 de verilen kalibrasyon denklemi kullanılarak preparatlar içerisindeki tenoksikam miktarı hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.5.a.-e. deki onuncu sütunda gösterilmiştir.

Çizelge 4.5.a.-e. deki istatistiksel değerlendirme terimlerinin anlamları şöyledir:

- n : deneme sayısı
- \bar{x} : ortalama değer
- S : standart sapma
- S_r : % göreceli standart sapma
- GS : Güven sınırı

Çizelge 4.5.a. A kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları (mg tenoksikam / kapsül)

n	DCP		DPP		SIAPP		SCAPP		YBSK	UV Spekt.
	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş		
1	19.9	19.8	20.4	20.1	19.8	19.3	19.7	19.6	18.9	19.7
2	20.0	19.6	20.0	19.7	20.0	19.8	20.0	19.7	19.1	19.8
3	19.7	19.4	19.9	19.9	19.9	19.6	19.9	19.5	20.1	19.5
4	20.3	20.0	20.3	19.9	20.4	19.1	20.2	19.8	17.5	19.8
5	20.1	19.8	20.0	19.8	20.1	19.7	19.3	19.8	17.9	19.9
6	20.4	19.8	19.9	19.9	20.3	19.8	20.2	19.6	19.1	19.9
7	20.5	19.9	20.6	20.0	20.5	20.0	20.4	20.0	19.8	20.1
\bar{x}	20.1	19.8	20.1	19.9	20.1	19.6	20.1	19.7	19.0	19.8
S	0.29	0.20	0.28	0.13	0.26	0.31	0.24	0.17	0.99	0.19
S_r	1.44	1.01	1.39	0.65	1.29	1.58	1.19	0.86	5.21	0.96
GS	±0.3	±0.2	±0.3	±0.1	±0.2	±0.3	±0.2	±0.2	±0.9	±0.2
$F_{0.05}$	2.33	1.09	2.17	2.16	1.92	2.66	1.66	1.28	27.5	
$t_{0.05}$	2.17	0.39	2.18	1.49	2.12	1.45	2.14	1.04	2.09	

$F_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 4.28
 $t_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 2.18

Çizelge 4.5.b. B kodlu tabletlerde yapılan tayin sonuçları (mg tenoksikam/tablet)

n	DCP		DPP		SIAPP		SCAPP		YBSK	UV Spekt.
	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş		
1	20.3	19.7	20.3	20.0	20.0	20.0	20.4	20.0	21.1	20.1
2	20.1	19.6	20.1	20.0	20.0	19.6	20.1	19.8	19.5	19.8
3	20.5	19.6	20.1	19.9	20.3	19.7	20.1	19.7	18.6	20.0
4	20.1	19.9	20.0	20.0	20.0	20.1	20.0	20.0	19.0	20.2
5	19.9	19.8	20.0	20.0	20.2	20.0	20.1	19.9	18.0	20.0
6	20.0	19.9	20.1	19.8	20.2	19.6	19.8	19.8	21.4	19.9
7	20.1	20.0	19.9	19.8	20.0	19.8	20.0	20.0	19.6	19.8
\bar{x}	20.1	19.8	20.1	19.9	20.1	19.8	19.9	19.9	19.6	19.9
S	0.20	0.16	0.13	0.09	0.13	0.21	0.22	0.12	1.25	0.15
S_r	0.19	0.79	0.65	0.45	0.66	1.04	1.12	0.61	6.38	0.11
GS	± 0.2	± 0.1	± 0.1	± 0.1	± 0.1	± 0.2	± 0.2	± 0.1	± 1.2	± 0.1
$F_{0.05}$	1.77	1.11	1.32	2.48	1.26	1.90	2.26	1.51	70.06	
$t_{0.05}$	2.13	1.22	1.34	0.75	1.32	1.04	0.19	0.41	0.63	

$F_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 4.28

$t_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 2.18

Çizelge 4.5.c. C kodlu kapsüllerde yapılan tayin sonuçları (mg tenoksikam/kapsül)

n	DCP		DPP		SIAPP		SCAPP		YBSK	UV Spekt.
	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş		
1	20.3	19.6	20.1	20.0	20.0	19.6	19.8	19.7	19.2	20.0
2	20.4	19.8	20.0	20.0	20.3	20.0	20.0	19.9	20.4	19.6
3	20.0	20.0	20.2	20.0	20.1	19.8	20.0	20.0	18.2	19.7
4	20.0	19.0	19.8	19.9	19.9	19.7	19.9	20.1	19.1	19.8
5	20.4	19.5	20.1	20.0	20.1	20.0	20.0	20.0	18.0	19.6
6	19.7	19.6	20.0	19.9	19.8	19.7	20.1	20.0	20.0	19.9
7	20.2	19.7	19.9	19.8	20.2	19.9	20.0	19.9	19.8	19.9
\bar{x}	20.1	19.6	20.0	19.9	20.0	19.8	20.0	19.9	19.3	19.8
S	0.28	0.31	0.13	0.08	0.17	0.16	0.09	0.13	0.90	0.16
S _r	1.39	1.59	0.65	0.40	0.85	0.81	0.45	0.64	4.67	0.79
GS	±0.3	±0.1	±0.1	±0.1	±0.2	±0.1	±0.1	±0.1	±0.8	±0.1
F _{0.05}	3.07	0.89	1.37	3.87	1.19	1.01	3.06	1.53	32.77	
t _{0.05}	2.16	1.52	2.03	1.50	2.13	0.12	1.98	1.31	1.45	

F_{0.05} için tablodaki kritik değer: 4.28

t_{0.05} için tablodaki kritik değer: 2.18

Çizelge 4.5.d D kodlu kapsüllerdeki tayin sonuçları (mg tenoksikam/kapsül)

n	DCP		DPP		SIAPP		SCAPP		YBSK	UV Spekt.
	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş		
1	19.4	19.1	19.8	19.8	19.7	19.6	19.8	19.7	19.5	19.5
2	19.5	19.0	19.6	19.4	19.6	19.7	19.7	19.8	18.7	19.7
3	19.8	19.5	19.7	19.6	19.0	19.7	19.9	19.6	18.5	19.6
4	19.8	19.4	19.8	19.8	20.0	20.0	20.0	20.0	19.1	19.7
5	20.0	19.8	20.3	20.0	20.1	19.9	20.0	19.9	19.6	19.8
6	20.4	19.7	20.6	19.8	20.3	19.8	20.1	20.1	19.7	19.8
7	20.2	19.8	20.0	19.7	20.2	19.6	20.0	20.0	19.4	20.1
\bar{x}	19.9	19.5	20.0	19.7	19.9	19.7	19.9	19.9	19.2	19.7
S	0.36	0.33	0.36	0.19	0.32	0.15	0.14	0.18	0.46	0.19
S_r	1.81	1.67	1.80	0.96	1.46	0.76	0.70	0.90	2.40	0.96
GS	±0.3	±0.3	±0.3	±0.2	±0.4	±0.1	±0.1	±0.2	±0.4	±0.2
$F_{0.05}$	3.56	2.92	3.56	1.01	2.82	1.59	1.90	1.12	5.93	
$t_{0.05}$	1.30	1.40	1.95	0.12	1.43	0.54	2.16	2.02	2.64	

$F_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 4.28

$t_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 2.18

Çizelge 4.5.e. E kodlu kapsüllerdeki tayin sonuçları (mg tenoksikam/kapsül)

n	DCP		DPP		SIAPP		SCAPP		YBSK	UV Spekt.
	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş	süzülmemiş	süzülmüş		
1	19.9	19.5	19.6	19.6	20.0	19.7	20.0	19.9	19.9	19.8
2	19.7	19.7	19.7	19.9	19.9	19.9	19.9	20.3	19.4	20.0
3	20.1	20.0	20.0	20.0	20.1	20.0	20.1	19.9	19.8	20.0
4	20.4	20.1	19.8	20.0	20.2	20.0	20.0	19.5	20.3	20.1
5	19.8	19.4	19.4	20.1	19.7	20.1	20.0	19.5	18.2	19.8
6	20.5	20.0	20.1	19.9	20.2	19.5	19.8	20.0	20.4	20.1
7	20.3	19.7	19.8	19.8	20.1	19.7	20.1	20.2	19.7	19.7
\bar{x}	20.1	19.8	19.9	19.9	20.0	19.8	20.0	19.9	19.7	19.9
S	0.31	0.27	0.31	0.16	0.18	0.21	0.12	0.26	0.73	0.16
S_r	1.54	1.36	1.56	0.80	0.90	1.06	0.60	1.31	3.71	0.80
GS	±0.3	±0.3	±0.3	±0.1	±0.2	±0.2	±0.1	±0.2	±0.7	±0.1
$F_{0.05}$	3.73	2.81	3.73	1.03	1.26	1.80	1.78	2.70	20.97	
$t_{0.05}$	1.55	0.88	0.39	0.35	1.09	0.99	1.32	0.09	0.70	

$F_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 4.28

$t_{0.05}$ için tablodaki kritik değer: 2.18

4.12.4. İnce tabaka kromatografik yöntem ile preparatlardaki tenoksikam tayini

Bu amaçla Bölüm 3.7. de verilen koşullarda çalışılmıştır. Kalibrasyon eğrisinin elde edilememesi yüzünden preparatlar içindeki tenoksikamın, tek noktaya göre karşılaştırma tekniği ile tayinlerinin yapılabilirliği araştırılmıştır. Bunun için aynı derişim ve koşullarda standart tenoksikam ile süzölmüş preparat içerikleri aynı plak üzerine, eşit miktarlarda uygulanmıştır. Lekelerin süröklenmesi sürecinin sonunda, lekelerin UV lambası altında oldukça düzenli görünmelerine karşın, densitometrik ölçümlerde büyük farklılıklar elde edilmiştir. Bu durum lekelerin gözle ayırt edilemeyecek derecede kuyruklanmış ve dağılmış olduklarına bağlanabilir. Böyle bir durumda ise analitik açıdan, tenoksikamın kantitatif tayinlerinin, ince tabaka kromatografisi ile belirtilen koşullarda duyarlı olarak yapılamıyacağı sonucuna varılabilir.

4.12.5. Potansiyometrik titrasyon yöntemi ile preparatlardaki tenoksikam tayini

Bölüm 4.9. da belirtildiği gibi 80-100 mg dolayında tenoksikam 0.05 N NaOH çözeltisi ile titre edilebilmekte ve dönüm noktası duyarlı bir şekilde hesaplanabilmektedir. Ancak gerek tablet, gerekse kapsüllerdeki tenoksikam miktarının 20 mg olması, titrantın 5 kez daha seyreltik olmasını gerektirmektedir. Bu koşullar altında titrasyon eğrilerinin morfolojisi de değişmekte, dolayısıyla dönüm noktası duyarlı ve sağlıklı olarak hesaplanamamaktadır. Bu nedenle de preparat içerisindeki tenoksikam miktarı için % 20 ye varan hatalı sonuçlar elde edilmektedir. Bu bulgulara göre; tenoksikamın en az 80 mg miktarının 0.05 N NaOH derişimi ile potansiyometrik olarak titre edilebilmesine karşın, 20 mg lık tablet veya kapsüllerdeki tayinler için bu yöntemin kullanışlı olmadığı söylenebilir.

4.12.6. Yöntemlerin istatistiksel değerlendirilmeleri

Polarografik yöntemin dört ayrı tekniği ile süzölmeden ve süzölerek yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve UV spektrofotometrik yöntemlerle elde edilen sonuçlar, her bir firmanın üretimi olan ilaçlar için 4.5.a.-e. de topluca verilmiştir.

Polarografik teknikler kullanılarak yapılmış çalışmalar sonucu, süzölmemiş ve süzölmüş örnekler arasındaki 0.1 - 0.2 mg gibi çok küçük farkların süzme işlemleri sırasında bir miktar maddenin filtrede kalmasından kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Farmakopelerde tenoksikam için bir monografa rastlanmadığı daha önce belirtilmişti. Ancak genel olarak, duyarlılık ve tekraredilebilirlik açısından pek çok ilacın spektrofotometrik olarak tayinleri farmakopelerde önerilmektedir. Bu çalışmada da UV spektrofotometrik yöntem bir karşılaştırma yöntemi olarak seçilmiştir.

Çizelge 4.5.a.-e. incelendiğinde, polarografik tekniklerle elde edilen tüm sonuçların UV spektrofotometrik yöntem sonuçları ile uyum içerisinde oldukları görülmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler de bunu kanıtlar niteliktedir.

İstatistiksel değerlendirmeler, tek yönlü, $\alpha= 0.05$ önem ve %95 olasılık düzeyinde yapılmıştır. $n - 1= 6$ serbestlik derecesine göre, istatistiksel tablolarda, F testi için 4.28, t testi için 2.18 kritik değerleri verilmektedir. Her iki test için de hesaplanmış olan değerler, bu kritik değerlerden düşük çıkmışlardır. Bu da polarografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerle elde edilen sonuçlar arasındaki farkın anlamsız olduğunu açıklamaktadır.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemle elde edilen sonuçların ortalama olarak bu değerlere yaklaştığı görülüyorsa da, standart sapmaların büyük olması elde edilen değerlerin dağınık olduğunun bir göstergesidir. Bu da tekraredilebilirliğin azalması anlamına gelmektedir. Özellikle D kodlu kapsüller için hem F hem de t testlerinin anlamlı sonuçlar vermesi bunun bir örneğidir.

Ancak, gerek farmakopelerdeki benzer örneklerde gerekse ilaçlar üzerinde yapılacak kontrollerde, preparat içerisindeki etken madde miktarının genellikle $\pm\%10$ toleransla bulunabileceği bildirilmektedir. Bazı ilaçlar için bu sınırın $\pm\%7.5$, bazı ilaçlar için de $\pm\%5$ olabileceği belirtilmektedir (58). Tenoksikam ile aynı gruptan olan piroksikam için 20 mg lık kapsüllerdeki etken maddenin $\pm\%7.5$ toleransla 18.5-21.5 mg arasında bulunması gerektiği bildirilmektedir (57). Piroksikam ile olan benzerlikler gözönüne alındığında büyük bir olasılıkla tenoksikam için de bu tolerans değerinin kullanılabilmesi düşünülebilir. Sonuçlardan görüldüğü gibi, bu çalışmada geliştirilen yöntem sonuçları, en düşük tolerans değeri olan $\pm\%5$ sınırları içerisine girmektedir.

Sonuç olarak; çalışmalarımızda geliştirilen ve uygulanan polarografik, yüksek basınçlı sıvı kromatografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerin, farmasötik preparatlar içerisindeki tenoksikamın tayini için kullanışlı ve geçerli yöntemler olduğu söylenebilir. Ayrıca, polarografik işlemlerde preparat örneklerinin süzülmeden tayinlerinin yapılabilmesi, süzme işlemleri gerektiren diğer yöntemlere göre, bir üstünlük olarak göze çarpmaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Woolf, T.F.; Radulovic, L.L. Oxicams: Metabolic disposition in man and animals. *Drug Metab.Rev.* **1989**, 21(2), 255-276.
2. Todd, P.A.; Clissold, S.P. Tenoxicam; An update of its pharmacology and therapeutic efficiency in rheumatic diseases. *Drugs* **1991**, 41(4), 625-646.
3. Crevoisier, Ch.; Heizmann, P.; Forgo, I.; Dubach, U.C. Plasma tenoxicam concentrations after single and multiple oral doses. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* **1989**, 14 (1), 23-27.
4. Dixon, J.S.; Lowe, J.R.; Galloway, D.B. Rapid method for the determination of either piroxicam or tenoxicam in plasma using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **1984**, 310, 455-459.
5. Heizmann, P.; Körner, J.; Zinapold, K. Determination of tenoxicam in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **1986**, 374, 95-102
6. Dell, D.; Joly, R.; Meister, W.; Arnold, W.; Partos, C.; Guldemann, B. Determination of tenoxicam, and the isolation, identification and determination of Ro 17-6661, its major metabolite, in human urine. *J. Chromatogr.* **1984**, 317, 483-492.
7. Horber, F.F.; Guentert, T.W.; Weidekamm, E.; Heizmann, P.; Descoudres, C.; Frey, F.J. Pharmacokinetics of tenoxicam in patients with impaired renal function. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1986**, 29, 697-701.
8. Hinderling, P.H.; Hartmann, D.; Crevoisier, Ch.; Moser, U.; Heizmann, P. Integrated plasma and synovial fluid pharmacokinetics of tenoxicam in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis: Factor determining the synovial fluid/plasma distribution ratio. *Ther. Drug Monit.* **1988**, 10, 250-260.
9. Bird, H.A.; Allen, J.G.; Dixon, J.S.; Wright, V. A pharmacokinetic comparison of tenoxicam in plasma and synovial fluid. *Brit. J. Rheum.* **1985**, 24, 351-356.
10. Lapique, F.; Netter, P.; Bannwarth, B.; Trechot, P.; Gillet, P.; Lambert, H. ; Royer, R.J. Identification and simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **1989**, 496, 301-320.
11. Troconiz, J.I.F.; Lopez-Bustamante, L.G.; Fos, D. High-performance liquid chromatographic analysis of piroxicam and tenoxicam in plasma, blood and buffer solution. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1993**, 43(1,6), 679-681.
12. Yener, G.; Topaloğlu, Y. A spectrophotometric method for the determination of tenoxicam in tablets. *Sci. Pharm.* **1992**, 60, 247-248.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Abo El-Maali, N.; Vire, J.C.; Patriarche, G.J.; Ghandur, M.A.; Christian, G.D. Square-wave and square-wave adsorptive stripping voltammetric comparison of the anti-inflammatory drugs piroxicam and tenoxicam. *Anal. Sci.* **1990**, *6*, 245-250.
14. Abo El-Maali, N.; Hassan, R.M. Electrooxidation and determination of the anti-inflammatory drugs piroxicam and tenoxicam at the carbon-paste electrode. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1990**, *24*, 155-163.
15. Vire, J.C.; Kaufmann, J.M.; Braun, J.; Patriarche, G.J. Caractéristiques électrochimiques d'un nouvel antiinflammatoire non-stéroïden; le piroxicam. *Analisis* **1985**, *13*(3), 134-140.
16. Binder, D.; Hromátka, O.; Geissler, F.; Schmied, K.; Noe, C.R.; Burri, K.; Pfister, R.; Strub, K.; Zeller, P. Analogues and derivatives of tenoxicam: I. Synthesis and anti-inflammatory activity of analogues with different residues on the ring nitrogen and the amide nitrogen. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 678-682.
17. Bernhard, E.; Zimmermann, F. Contribution to the understanding of oxicam ionization constants. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1984**, *34*(I,6), 647-648.
18. Tsai, R.S.; Carrupt, P.A.; El-Tayar, N.; Giroud, Y.; Andrade, P.; Testa, B.; Bree, F.; Tillement, J.P. Physicochemical and structural properties of non-steroidal anti-inflammatory oxicams. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 842-854.
19. Heintz, R.C.; Guentert, T.W.; Enrico, J.F.; Dubach, U.C.; Brandt, R.; Jeunet, F.S. Pharmacokinetics of tenoxicam in healthy human volunteers. *Eur. J. Rheum. Inflamm.* **1984**, *7*, 33-44.
20. Fenner, H. Comparative biochemical pharmacology of the oxicams. *Scand. J. Rheumatol.* **1987**, (Suppl. 65), 97-101.
21. Bird, H.A.; Hill, J.; Dixon, J.S.; Looi, D.; Wright, V. A double-blind, parallel study of tenoxicam and piroxicam in patients with osteoarthritis. *Curr. Med. Res. Opin.* **1985**, *9*(8), 529-535.
22. Berg, D.; Scholz, H.J. The efficacy of tenoxicam in patients suffering from rheumatoid arthritis (including assessments of quantified articular scintigraphic data). *Scand. J. Rheumatol.* **1989**, (Suppl. 80), 41-47.
23. Bird, H.A.; LeGallez, P.; Astbury, C.; Looi, D.; Wright, V. A parallel group comparison of tenoxicam and piroxicam in patients with ankylosing spondylitis. *Pharmatherapeutica* **1986**, *4*(7), 457-462.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

24. Bradshaw, D.; Cashin, C.H.; Kennedy, A.J.; Roberts, N.A. Pharmacological and biochemical activities of tenoxicam (Ro 12-0068), a new non-steroidal anti-inflammatory drug. *Agents Actions*, **1984**, 15(5-6), 569-577,
25. Gonzales, J.P.; Todd, P.A. Tenoxicam: A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficiency. *Drugs* **1987**, 34, 289-310.
26. Colli, S.; Colombo, S.; Tremoli, E.; Stragliotto, E.; Nicosia, S. Effects of tenoxicam on superoxide anion formation, β -glucuronidase release and fMLP binding in human neutrophils: Comparison with other NSAIDs. *Pharm. Res.* **1991**, 23(4), 367-379.
27. Labrousse, C.L.; Muñoz, M.; Kramer, F. Double-blind study of tenoxicam suppositoires in acute non-articular rheumatism. *Scand. J. Rheumatol.* **1989**, (Suppl. 80), 62-66.
28. Jeunet, F.; Enz, W.; Guentert, T.W. Tenoxicam used as a parenteral formulation for acute pain in rheumatic conditions. *Scand. J. Rheumatol.* **1989**, (Suppl. 80), 59-61.
29. Enz, W.; Jeunet, F. Tenoxicam milk formulation in the treatment of rheumatic conditions. *Scand. J. Rheumatol.* **1989**, (Suppl. 80), 54-58.
30. Francis, R.J.; Allen, J.G.; Looi, D.; Dixon, J.S.; Bird, H.A.; Wright, V. Pharmacokinetics of tenoxicam after oral administration in healthy human subjects of various single doses. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1987**, 12(1), 59-63,
31. Guentert, T.W.; Heintz, R.C.; Joly, R. Overview on the pharmacokinetics of tenoxicam. *Eur. J. Rheumatol. Inflamm.* **1987**, 9(2), 15-25.
32. Bird, H.A.; Clarke, A.K.; Fowler, P.D.; Little, S.; Podgorski, M.R.; Steiner, J. An assesment of tenoxicam; a new non-steroidal anti-inflammatory drug of long half-life, in patients with impaired renal function suffering from osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* **1989**, 8(4), 453-460,
33. Bird, H.A. Clinical experience with tenoxicam: A review. *Scand. J. Rheumatol.* **1987**, (Suppl. 65), 102-106.
34. Kinawi, A.; Siebler, D. Zur bindung von oxicam-derivaten an humanserumalbumin. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1988**, 38(II,8), 1089-1092.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

35. Francis, R.J.; Dixon, J.S.; Lowe, J.R.; Harris, P.A. The effect of food and antacid on the single oral dose pharmacokinetics of tenoxicam. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1985**, 10(4), 309-314.
36. Nilsen, O.G.; Walstad, R.A.; Eckert, M.; Heizmann, P.; Bückert, A.; Åm, T.; Løge, I.; Unnvik, J.; Thue, E. Single and multiple dose pharmacokinetics of tenoxicam in the elderly. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, 35, 563-566.
37. Day, R.O.; Paull, P.D.; Lam, S.; Swanson, B.R.; Williams, K.M.; Wade, D.N. The effect of concurrent aspirin upon plasma concentrations of tenoxicam. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, 26, 455-462.
38. Guentert, T.W.; Schmitt, M.; Defoin, R. Acceleration of the elimination of tenoxicam by cholestyramine in the dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1986**, 238(1), 295-301.
39. Guentert, T.W.; Defoin, R.; Mosberg, H. The influence of cholestyramine on the elimination of tenoxicam and piroxicam. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1988**, 34, 283-289.
40. Hartmann, D.; Kleinbosem, C.H.; Lückner, P.W.; Vetter, G. Study on the possible interaction between tenoxicam and furosemide. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1987**, 37(II,9), 1072-1076.
41. Bird, H.A.; Naden, M.A. Tenoxicam: A new non-steroidal anti-inflammatory agent. *J. Drug Dev.* **1989**, 2(2), 119-135.
42. Lückner, P.W.; Gertken, D.; Ahrens, S.; Scholz, H.J. Einfluß der anti-inflammatorisch wirkenden Substanz Tenoxicam auf die gastrische Potentialdifferenz. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1986**, 36(II,8), 1272-1274.
43. Al-Ghamdi, M.S., Dissayanake, A.S., Cader, Z.A., Jain, S. Tenoxicam-induced gastropathy in the rat: A comparison with piroxicam and diclofenac sodium and the inhibitory effects of ranitidine and sucralfate. *J. Int. Med. Res.* **1991**, 19, 242-248.
44. Leigh, T.J.; Bird, H.A.; Hindmarch, I.; Wright, V. The evaluation of a non-steroidal anti-inflammatory drug (tenoxicam) in the treatment of sleep disturbance in osteoarthritic patients. *Clin. Rheumatol.* **1989**, 8(4), 489-493.
45. Lückner, P.W.; Gertken, D.; Ahrens, S.; Scholz, H.J. Untersuchungen zur Interaktion der analgetisch wirkenden Substanz Tenoxicam mit Alkohol und der Einfluß auf die psychometrisch meßbare Leistungsfähigkeit. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **1986**, 36(II,8), 1274-1277.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

46. Hartmann, D., Korn, A., Komjati, M., Heinz, G., Haefelfinger, P., Defoin, R., Waldhäusl, W.K. Lack of effect of tenoxicam on dynamic responses to concurrent oral doses of glucose and glibenclamide. *Br J. Clin. Pharmacol.*, **1990**, *30*, 245-252.
47. Anderson, R.; Eftychis, H.A.; Weiner, A.; Findlay, G.H. An in vivo and in vitro investigation of the phototoxic potential of tenoxicam, a new non-steroidal inflammatory agent. *Dermatologia*, **1987**, *175*, 229-234.
48. Bird, H.A. International experience with tenoxicam: A review. *Scand. J. Rheumatol.* **1988**, (Suppl. 73), 22-27.
49. Ichihara, S.; Tsuyiki, Y.; Tomisawa, H.; Fukazawa, H.; Nakayama, N.; Tateishi, M. Metabolism of tenoxicam in rats. *Xenobiotica* **1984**, *14*(9), 727-739.
50. Ichihara, S.; Tomisawa, H.; Fukazawa, H.; Tateishi, M. Involvement of leucocyte peroxidases in the metabolism of tenoxicam. *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *34*(8), 1337-1338.
51. Ichihara, S.; Tomisawa, H.; Fukazawa, H.; Tateishi, M.; Joly, R.; Heinz, R. Oxidation of tenoxicam by leucocyte peroxidases and H₂O₂ produces novel products. *Drug Metab. Dispos.* **1989**, *17*(3), 463-468.
52. Kráčmar, J.; Kráčmarová, J. UV spektrofotometrie in der Arzneimittelkontrolle. *Pharmazie*, **1989**, *44*, 199-203.
53. Abo El-Maali, N.; Vire, J.C.; Patriarche, G.J.; Ghandour, M.A. Copper(II), lead(II) and cadmium(II) complexes with the anti-inflammatory drugs piroxicam and tenoxicam. *Anal. Lett.* **1989**, *22*(15), 3025-3039.
54. Volke, J. Polarographic and voltammetric methods in pharmaceutical chemistry and pharmacology. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1983**, *10*, 7-23.
55. Bauer, H.H.; Christian, G.D.; O'Reilly, J.E. *Instrumental Analysis*, Allyn and Bacon Inc. Boston, 1978, s. 60.
56. Birke, R.L.; Kim, M.Y.; Strassfeld, M. Diagnosis of reversible, quasi-reversible and irreversible electrode process with differential pulse polarography. *Anal. Chem.* **1981**, *53*, 852-856.
57. *United States Pharmacopeia XXII*, Mack Printing Comp. Easton PA, 1990, s. 1091.
58. E.A. Rawlins., Ed. *Bentley's Textbook of Pharmaceutics (Eighth Edition)*, ELBS/ Baillière Tindall, East Sussex, 1984, s.296.