T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PAPAVERİNİN VOLTAMETRİK DAVRANIŞININ İNCELENMESİ VE DUYARLI BİR ŞEKİLDE SAPTANMASI İÇİN YENİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRÜN HAZIRLANMASI

Ebru BEYYAVAŞ

KİMYA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET..... i
ABSTRACT..... ii
TEŞEKKÜR..... iii
ŞEKİLLER DİZİNİ..... iv
SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR..... v
1. GİRİŞ……..... 1
1.1. Papaverin……..…….. 1
1.2. Kimyasal Sensörlerin Özellikleri…… 3
1.3. Karbon Nanotüpler…….…… 4
1.4. Dönüşümlü Voltammetri ……..... 5
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR……..……. 7
3. MATERYAL ve YÖNTEM…….....9
3.1. Materyal…….....9
3.2. Yöntem……. 9
3.2.1. Elektrotların temizlenmesi……. 9
3.2.2. Kompozite malzemenin hazırlanması …… 10
3.2.3. Modifiye elektrotların karekterizayonu……. 10
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA…… 11
4.1. Karekterizasyon…….. 11
4.2. Papaverinin Elektrokimyasal Davranışı…….…….... 12
4.3. Tarama Hızının Papaverinin Pik Akımına Etkisi…… 14
4.4. pH'ın Papaverinin Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi ……. 15
4.5. Kalibrasyon……. 18
4.6. Tekrarlanabilirlik Çalışmaları…… 19
4.7. Papaverinin Elektroanalizde Seçimlilik Çalışmaları……..…… 20
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……..……. 24
5.1. Sonuçlar ve Öneriler…… 24
KAYNAKLAR……. 25
ÖZGEÇMİŞ……..... 31

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PAPAVERİNİN VOLTAMETRİK DAVRANIŞININ İNCELENMESİ VE DUYARLI BİR ŞEKİLDE SAPTANMASI İÇİN YENİ BİR ELEKTROKİMYASAL SENSÖRÜN HAZIRLANMASI

Ebru BEYYAVAŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU
Yıl: 2022, Sayfa:36

Karbon nanotüp ve mangan oksit nanoparçacıklar ile yeni bir malzeme hazırlanmıştır. Elde edilen malzeme elektrot kaplama da kullanılmış ve yeni bir modifiye elektrot hazırlanmıştır. Hazırlanan elektrot platform (MnO_2/CNTs/GCE) papaverinin saptanması için kullanılmıştır, MnO_2/CNTs/GCE sistemi papaverinin elektrot reaksiyonunu hızlandırmıştır. MnO_2/CNTs/GCE sistemi, papaverinin için $2.0x10^{-7}$ M ile $2.4x10^{-5}$ M aralığında doğrusal bir ilişki göstermiştir. Modifiye elektrot ile $4.04\ x10^{-8}$ M'lık bir saptama sınırı elde edilmiştir. Ayrıca, yöntemin tekrarlanabilirlik, kesinlik ve doğruluk parametreleri mükemmeldir.

ANAHTAR KELİMELER: Papaverin; mangan oksit; voltametri; elektroanaliz; sensör

ABSTRACT

MSc Thesis

PREPARATIN OF A NOVEL ELECTROCHEMICAL SENSORFOR THE STUDY OF VOLTAMMETRIC BEHAVIOR OF PAPAVERINE AND ITS SENSITIVE DETERMINATION

Ebru BEYYAVAŞ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ASLANOGLU
Year: 2022, Page:36

A novel material was prepared using carbon nanotubes and manganese oxide nanoparticles. The material was used for coating an electrode and a new modified electrode. The electrode prepared was used for the detection of papaverine. The MnO_2/CNTs/GCE system accelerated the electrode reaction of papaverine. The MnO_2/CNTs/GCE system exhibited a linear relationship betweem $2.0x10^{-7}$ M and $2.4x10^{-5}$ M for papaverine. A detection limit of 4.04 $x10^{-8}$ M was obtained for papaverine at proposed modified electrode. In addition, the analytical parameters of the method such as reproducibility, precision and accuracy were excellent.

KEY WORDS: Papaverine; manganese oxide; voltammetry; electroanalysis; sensor

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında yardımlarını her zaman gördüğüm danışmanım Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim. Ayruca, laboratuvarda ihtiyaç duyduğumda yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Şehriban DÜZMEN ve Tuğçe TEKER'e teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 1.1.	Papaverinin kimyasal formülü……	2
Şekil 1.2.	Kimyasal sensör görüntüsü……..	3
Şekil 1.3.	Çok duvarlı CNT'nin görüntüsü…….	4
Şekil 1.4.	Voltametrik hücre…….....	5
Şekil 3.1.	Kompozit malzemenin hazırlanması ve elektroanalizde kullanımı…….	9
Şekil 4.1.	Önerilen malzemenin SEM görüntüsü……	10
Şekil 4.2.	Önerilen malzemenin EDX görüntüsü……	11
Şekil 4.3.	Önerilen malzemenin XRD görüntüsü……	11
Şekil 4.4.	4.0×10^{-5} M papaverinin farklı elektrotlarla voltamogramları. a) GCE, b) CNTs/GCE, c) MnO_2/CNTs/GCE. Tarama hızı: 50 mV/s……...	13
Şekil 4.5.	4.0×10^{-5} M papaverinin için tarama hızı etkisi: 50 mV/s, 100 mV/s, 150 mV/s, 200 mV/s, 250mV/s. …….....	14
Şekil 4.6.	Akım-tarama hızı ilşkisi……	14
Şekil 4.7.	Tarama hızlarının logaritmasına karşı pik potansiyeli grafiği …….	15
Şekil 4.8.	4.0×10^{-5} M papaverinin farklı pH'larda alınan dönüşümlü voltamogramları.…….	17
Şekil 4.9.	Pik potansiyeli-pH ilşkisi…….	18
Şekil 4.10.	Önerilen elektrot yüzeyinde gerçekleşen olası papaverin reaksiyonu……..	18
Şekil 4.11.	Papaverinin artan konsantrasyonlarına ilişkin kare dalga voltamogramları. a) 2.0×10^{-7} M; b) 4.0×10^{-7} M; c) 6.0×10^{-7} M; d) 2.2×10^{-6} M; e) 2.4×10^{-6} M; f) 7.1×10^{-6} M; g) 1.2×10^{-5} M; h) 2.4×10^{-5} M.....	19
Şekil 4.12.	Pik akımı-konsantrasyon grafiği……..	20
Şekil 4.13.	Önerilen elektrot yüzeyinde sabit 4.0×10^{-6} M ürik asit varlığında papaverinin artan konsantrasyonlarına ait voltamogramları. Papaverin: 5.0×10^{-6} M, 1.0×10^{-5} M, 2.0×10^{-5} M, 3.0×10-5 M……	21
Şekil 4.14.	5.6×10^{-5} M Askorbik asit (AA), 2.0×10^{-6} M dopamin (DA), 4.0×10^{-6} M parasetamol (PAR) ve 1.1×10^{-6} M papaverinin dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50V/s. …….	22

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Askorbik Asit
CNT	Karbon Nanotüp
CV	Dönüşümlü Voltametri
DA	Dopamin
GCE	Camsı Karbon Elektrot
M	Molar
mV	Milivolt
nM	Nanomolar
PAP	Papaverin
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
R.S.D.	Bağıl Standart Sapma
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
µM	Mikromolar

1. GİRİŞ

1.1. Papaverin

Papaverin, afyon türünün haşhaşlarından ekstrakte yapılarak narkotik dışı bir alkaloiddir ve bunlar arasında farmasötik tür olarak aktif bileşiklerden biridir (Yan ve ark., 2005). Papaverin vazodilatatör gibi ilaçlara ait olarak bilinmektedir ve akut periferik arter spazmlarında, akut renal ve gastrointestinal bölgelerde kas gevşetici olarak önemli derecede kullanıma sahiptir (Tikhomirova, 1968). pH, koruyucu gazlar, ışık etkileri, kompleks oluşturucu maddeler, antioksidanlar ve depolama malzemelerinin değerlendirilmesi gibi çok sayıdaki çalışmalar papaverinin sulu çözeltilerinin kararlılığına katkı sağladığını belirtmiştir (Tikhomirova, 1968; Gundermann ve Pohloudek-Fabini, 1980; Asatov ve ark., 2001).

Zhang ve ark. (2004), sülfit-seryum (IV) yapısının kemilüminesan sinyalini arttıran bir ara radikal elde edildiğinde papaverinin seryum (IV) tarafından kimyasal oksidasyonunu çalışılmıştır. 254 nm UV ışığında bekletilen papaverin foto oksidasyonunun kinetiği kısa bir zaman önce önerilmiştir (Piotrowska ve ark., 2006).

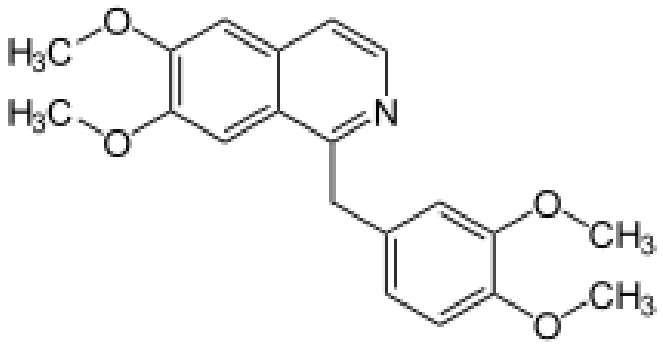
Girreser ve ark. (2003), tarafından papaverin için belirtilen mekanizmaya göre fotooksidasyonundan çıkan başlıca bileşikler şunlardır: papaverinol, papaveraldin ve kahverengi bir bileşik olan pirrokolonyum iyonu (Hermann ve ark., 2002; Girreser ve ark., 2003).

Literatürde papaverinol ve papaveraldin ilk kez Popp ve McEwen (1957), tarafından bildirilmiştir. Colautti (1987), ise papaverinol ve papaveraldin moleküllerini HPLC yöntemiyle belirlemiştir.

Literatürde bitki ve hammaddelerde, farmasötik ilaçlarda veya biyolojik örneklerde papaverinin saptanması için farklı yöntemler önerilmişitir. Papaverin için

kromatografi yöntemi (Murgia ve Walton, 1975; De Graeve ve ark., 1977; Pierson ve ark., 1979; Lindberg ve ark., 1981; Hansen, 1986; Colautti ve ark., 1987), ve kapiler izotako elektroforez tekniği kullanılarak saptama yapıldığı literatürde yer almıştır (Válka ve ark., 1985; Yan ve ark., 2005). Ayrıca spektrofotometri (Abdel-Ghani ve ark., 2002), ekstraktif spektrometri (Mirzaeva ve ark., 2004), doğrudan eşleştirilmiş plazma atomik emisyon spektrometrisi (Issa ve ark., 1994), ve titrimetri (Zakhari ve ark., 1991), de en yaygın analize uygulanan yöntemlerin başında gelmiştir.

Dahası literatürde serimetri (Koka, 1983), ve potansiyometrinin (Diamandis ve Hadjiioannou, 1981; El-Nashar ve ark., 2007), de papaverin analizinde kullanıldığı çalışmalar yer almıştır. Ayrıca, iyon seçici membran elektrotları kullanarak (Kuznetsova ve ark., 2005; Kharitonov 2006; Abbas ve Mostafa, 2007) papaverinin başarılı bir şekilde saptandığı belirtilmiştir. Fakat son zamanlarda özellikle, voltametri (Kalvoda, 1984; Zeng ve Zhang, 1995; Ziyatdinova ve ark., 2007), ile yapılan çalışmalar daha duyarlı ve seçimli sonuçların elde edilmesine yol açmıştır.



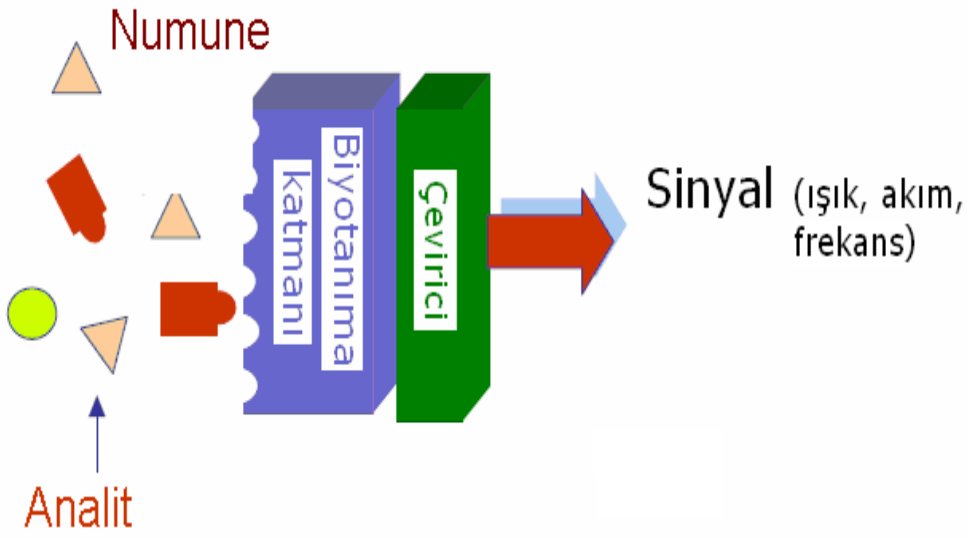
Şekil 1.1. Papaverinin kimyasal formülü

1.2. Kimyasal Sensörlerin Özellikleri

Kimyasal sensörler, analizi yapılacak olan bileşene karşı hazırlanmış bir numunenin konsantrasyonundan yararlanılarak kimyasal bilgiyi sinyale dönüştüren sistemlerdir (Bard ve Faulkner, 2000). Kimya ve elektrik ile oluşan reaksiyon

elektrokimyanın başlığı altında araştırılır. Elektrokimyasal sensörler, genel olarak akım, potansiyel veya yük miktarı gibi değişkenleri algılayarak numune içinde bulunan türler hakkında bilgi sağlayan aygıtlardır. Voltametrik sensörler, hücreden geçen akımın ölçülmesi ile numune hakkında bilgi sağlar (Bard ve Faulkner, 2000; Harris, 2015).

Eskiden bilinen elektrokimyasal sensörler, 1950'li yıllarda oksijenin ölçülmesi işleminde kullanıldığı belirtilmektedir. Son günlerde, bir çok bölge çalışmalarında yanıcı ve zehirli gazların kontrolünün yapılması ile seçimliliği daha yüksek elektrokimyasal sensör çeşitleri üretilmiştir (Harris, 2015). Diğer sensörlere nazaran diğer bir ifade ile en büyük avantajı; kullanılan analit için seçiciliği oldukça yüksektir (Zoski, 2007).

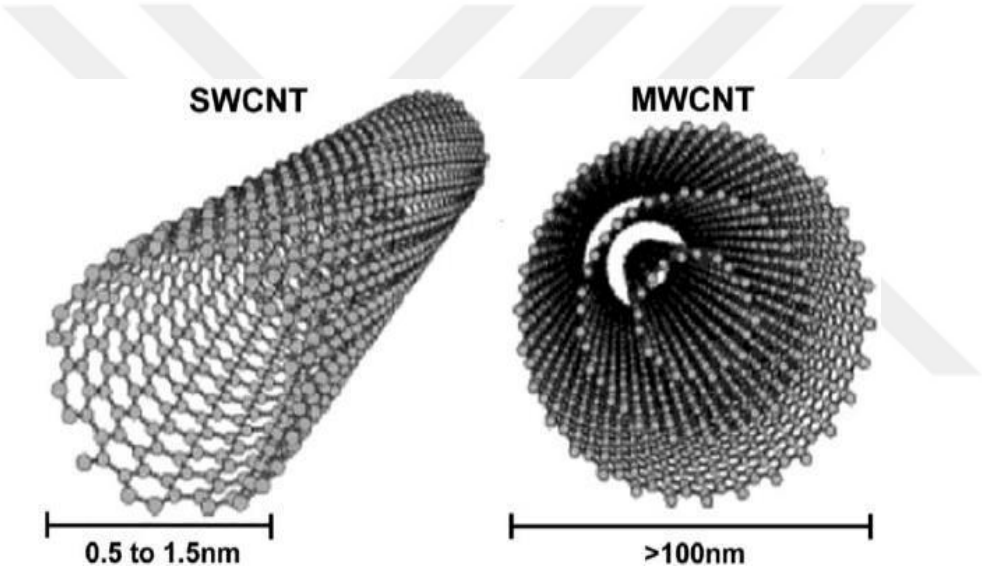


Şekil 1.2. Kimyasal sensor görüntüsü

1.3. Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler bilimin bazı zamanlarda tesadüfen ürettiği ama gelecek yüzyılların teknolojik yönünden bakıldığında devrim yaratacak olan inanılmaz malzemeler arasında bulunmaktadır (Wilson and Gifford, 2005). Karbon atomlarının birbirleri ile etkileşimiyle oluşurlar. Karbon temelli malzemelerin elmas, fiber, grafit ve nanotüp gibi çok sayıda türü piyasada ticari olarak bulunur (Lu ve Tsai, 2011).

Karbonun farklı yapılarda bulunabilme sebebi, çok farklı türlerde değerlik bağı oluşturmasıdır. Karbon nanotüplerin çapı nanometre büyüklüğünde olup, uzunluğu 1 mikrondan daha büyük olabilir (Lu ve Tsai, 2011). Nanotüplerin çapı, günümüze kadar üretilmiş en ileri düzeydeki yarı iletken malzemelerden daha küçük olması da farklı özelliğidir. Karbon nanotüplerin kullanıma uygun olan yapıları çok küçük boyut ve karbon atomunu benzeri olmayan elektronik özelliklere sahip olmalarından dolayı yarı iletken dünyasında oldulça fazla kullanım alanı bulmuştur. Karbon nanotüpler ikiye ayrılırlar bunlar ise; tek katman ve çok katmandan oluşan nanotüplerdir (Wilson and Gifford, 2005; Lu ve Tsai, 2011).

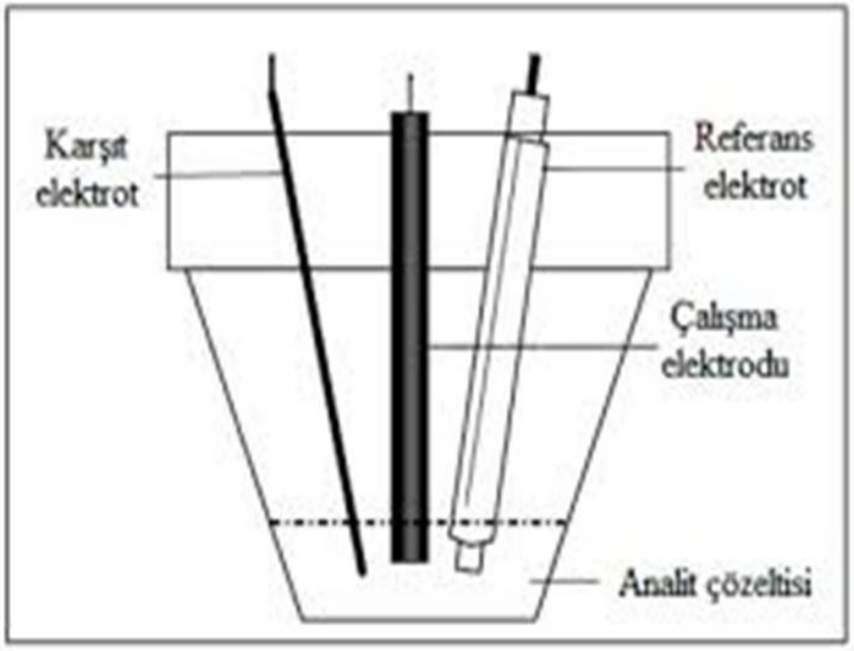


Şekil 1.3. Çok duvarlı CNT'nin görüntüsü

1.4. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Voltametri bir elektroanalitik yöntem olarak bilinen, indikatör yada çalışma elektrotunun polarize olması ile, uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akım ölçülerek, ortamda bulunan tür veya analit ile ilgili verilen elde edildiği bir yöntemdir. Fen alanında dönüşümlü voltametriye sıklıkla başvurulur (Bard ve Faulkner, 2000).

Kantitatif analiz olarak kullanımı oldukça az olup, yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametri de uygulanan potansiyel, öncelikle tek yönde, sonrasında ise ters yönde tarama olur. Akım ölçümü bu şekilde yapılır. Dönüşümlü voltametride, hücre içerisinde bulunan çözeltiye çalışma elektrodu daldırılır ve bir gerilim uygulanır ve elektrot yüzeyinde elde edilen akım uygulanan potansiyele karşı grafiğe geçirilir (Bard ve Faulkner, 2000).



Şekil.1.4. Voltametrik hücre

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Papaverin, afyon alkaloidlerinin benzilizokinolin alt grubunun bir yapısıdır ve çoğu afyon türlerinde bulunur ve sentetik olarak hazırlanmaktadır (Elad ve ark., 1952). Papaverin, morfin, kodein veya eroin gibi opioid türlerinden değildir, ancak güçlü nonspesifik vazodilatör etkisi nedeniyle serebral vazospazm ve erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılmaktadır (Firlik ve ark., 1999; Smith ve ark., 2004; Firlik ve ark., 1999; Smith ve ark., 2004; Bella ve Brock, 2004; Shamloul ve ark., 2005).

Farmasötik türlerde papaverin hidroklorürün saptanması için resmi farmakope yöntemi ardışık kloroform ekstraksiyonlarını ve ardından UV spektrofotometrisini içerir. (US Pharmacopoeia, 2005; Jin ve ark., 2005), kemilüminesans (Zhang ve ark., 2004), fotometrinin ardından ekstraksiyon yöntemini önerilmişlerdir (Mirzaeva ve ark., 2004), fotometri ile ilişkili boyalar ile (Abdel-Ghani ve ark., 2002), iyon seçici elektrotlar ile bir yöntem önermişlerdir (Eppelsheim ve ark., 1991; Magnuszewska ve ark., 2000) ve farmasötik türlerde papaverin hidroklorürün saptanması için sıvı kromatografisi yöntemide önerilmiştir (Majlat ve ark., 1981).

Papaverin, metamizol veya novaldin olarak da bilinen dipiron, analjezik, antiinflamatuar ve antipiretik özelliklere sahip nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAID) grubuna ait olarak da bilinmektedir. Elektrokimya yöntemi (Albuquerque 2003; Medeiros ve ark., 2004; Teixeira ve ark. 2004), kromatografi yöntemi (Altun, 2002; Senyuva ve ark., 2005), Raman spektroskopisi yöntemi (Izolani ve ark., 2003) ve farmasötik türlerde tek başına veya diğer ilaçlarla birlikte dipiron tayini için spektrofotometri gibi birçok yöntem geliştirilmiştir (Lima ve ark., 2003). Dipiron, viseral gevşeme sağladığınıda göstermiştir (Ergun ve ark., 2000) ve bu spazmolitik yöntem papaverin gibi ilaçlarla birleştirilerek de incelenebilir. Papaverinin dipiron varlığında spektrofotometrik tayini geliştirilmiştir (Moussa, 1978), burada dipiron varlığı için UV sisteminde bir oksidasyon adımı ile ortadan kaldırılmıştır.

Ticari formülasyon türlerinde eşzamanlı saptamalar, spektrofotometri gibi ayırıcı olmayan sistemler için sürekli bir problem yaratmaktadır. Katı/sıvı ekstraksiyonu ve boya etkileşimi gibi bir çok yöntemler, ilaçların doğrudan saptanmasında bazı bileşenlerin interferansını belirlemek için geliştirilmiştir. Bu yöntemlere dayalı metotlar bilim alanında her zaman tercih edilsede, genellikle uzun uygulama prosedürlerden oluştukları için bu sebeplede zaman alıcı olurlar (Gallego ve Arroyo, 2002; Mirzaeva ve ark., 2004).

Son zamanlarda da, kemometrik yöntemler geliştirilmiştir (Sena ve ark. 2006) kızılötesi yöntemleri (Blanco ve ark., 1998), UV-Vis yöntemi (Damiani ve ark., 2005; Sena ve Poppi, 2004; Dinc ve Baleanu, 2002) ve spektroskopik tekniklerin kombinasyonu ve lüminesans yöntemleri (Moreira ve ark., 2005), farmasötik türlerde veya biyolojik numunelerde farmasötik türler veya eklenen diğer maddeler ayrılmadan birçok analitin eşzamanlı ve doğrudan belirlenmesine izin verilmiştir (Trevisan ve Poppi, 2003; de la Pena ve ark., 2003), Bu nedenle, geleneksel olarak sadece ayırma yöntemlerinin kullanıldığı bu alanda spektroskopik ve kemometrik yöntemlere dayalı birçok metot geliştirilmektedir.

UV spektrofotometrisi ile eş zamanlı tayini ve papaverin hidroklorür ve sodyum dipiron PLS regresyonu ticari bir formülasyonda değerlendirilmiştir ve elde edilen sonuçlar, aynı numunelerin HPLC belirlemeleri ile karşılaştırılarak değerlendirmeler yapılarak ve çok değişkenli yöntem için doğruluk, ayar ve duyarlılık gibi liyakat rakamları (FOM) hesaplandı (Nascimento ve ark., 2007).

Bu çalışmada, hazırlanmış olan yeni bir MnO_2/CNTs/GCE ile elde edilen kompozit malzemelerden elde edilen elektrokimyasal yöntem ile papaverinin saptanmasına uygulanıldı. Modifiye edilmiş camsı karbon elektrot yüzeyinde papaverinin saptanmasına yönelik saptama sınırı ve çalışma aralığı belirlenmiştir. Aynı zamanda kararlılık ve tekrarlanabilirlik açısından ise gayet iyi sonuçlar elde edilmişitir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Papaverin ve ürik asit yurtdışı firması olan Sigma-Fluka şirketinden temin edilmiştir. Tampon çözelti için kullanılan sodyum dihidrojen fosfat ve potasyum hidrojen fosfat da Merck firmasından temin edilmiştir. Papaverin ve ürik asit çözeltilerinin hazırlanması için fosfat tamponu kullanılmıştır. Elektrot reaksiyonu deneyleri Epsilon (BASi, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiş olup, deneylerde camsı karbon çalışma elektrodu olarak, Pt çubuk yardımcı elektrot olarak ve sulu ortamda işlevsel olan Ag/AgCl referans elektrotu tercih edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Elektrotların temizlenmesi

Deney hazırlıklarına başlamadan önce, çalışma elektrodu (GCE), temizleme bezinde alümina ile temizlenerek, saf su ile yıkama işlemi yapılıp, daha sonra nitrik asit ve asetonun eşit hacimlerinden oluşan bir ortamda bir süre bekletilmiştir. Elektrot temizleme işlemi bittikten sonra, tampon çözelti içerisinde belirli bir potansiyel aralığında, üçlü elektrot sistemi kullanılarak akım sabit kalıncaya kadar dönüşümlü voltamogramlar alınmış ve elektrotun aktif hale gelmesi sağlanmıştır.

3.2.2. Kompozit malzemenin hazırlanması

Mangan oksit (MnO_2) için sentezlenme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ise: 25 ml 0,5 M NaOH çözeltisi 0.1 M $Mn(NO_3)_2$ sulu çözeltisi üzerine yavaş yavaş eklendi ve 120 dakika süresince 60°C' de ultrasonik banyoda bekletildi. Daha sonra, çökelti süzülerek, ultra saf su ile yıkama işlemi yapıldı ve 10 saat 105°C' de kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra çökelti 4 saat süreyle 400°C'de kül

fırınında yakıldı. Elde edilen ürün soğutulduktan sonra elektrot malzemesi olarak kullanıldı. Kompoizt malzemenin hazırlanması ve elektroanalizde kullanımı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

3.2.3. Modifiye elektrotların elektroanalizde uygulanması

Karbon nanotüp ve mangan oksit nanoparçacıklar ile modifiye edilen elektrotlar, papaverinin analizi için voltametrik davranışları ile elektro-katalitik etkisi incelenmiştir. Farklı tarama hızlarında ve pH'larda dönüşümlü voltamogramlar alınarak reaksiyon mekanizması belirlenmiştir. Önce uygun olan elektrolit ortam ve pH belirlenmiştir. Daha sonra kalibrasyon eşitliği, saptama sınırları, çalışma aralığı, duyarlılık, seçimlilik ve tekrarlanabilirlik gibi analitik veriler yapılmıştır.

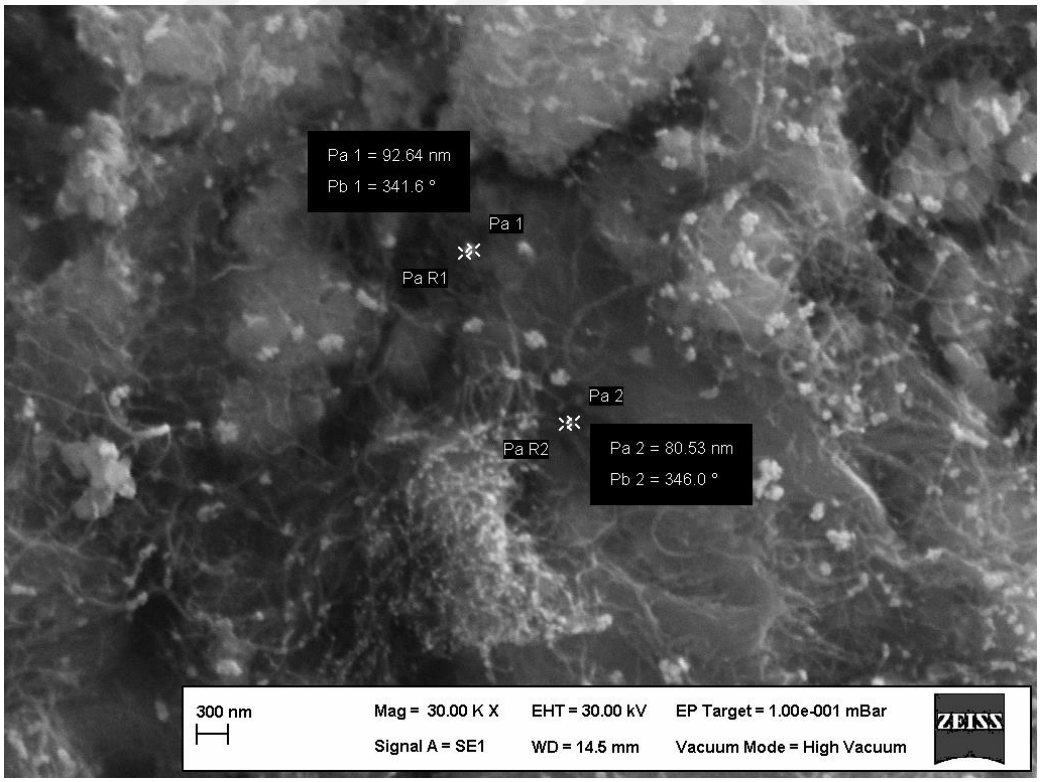


Şekil 3.1. Kompozit malzemenin hazırlanması ve elektroanalizde kullanımı

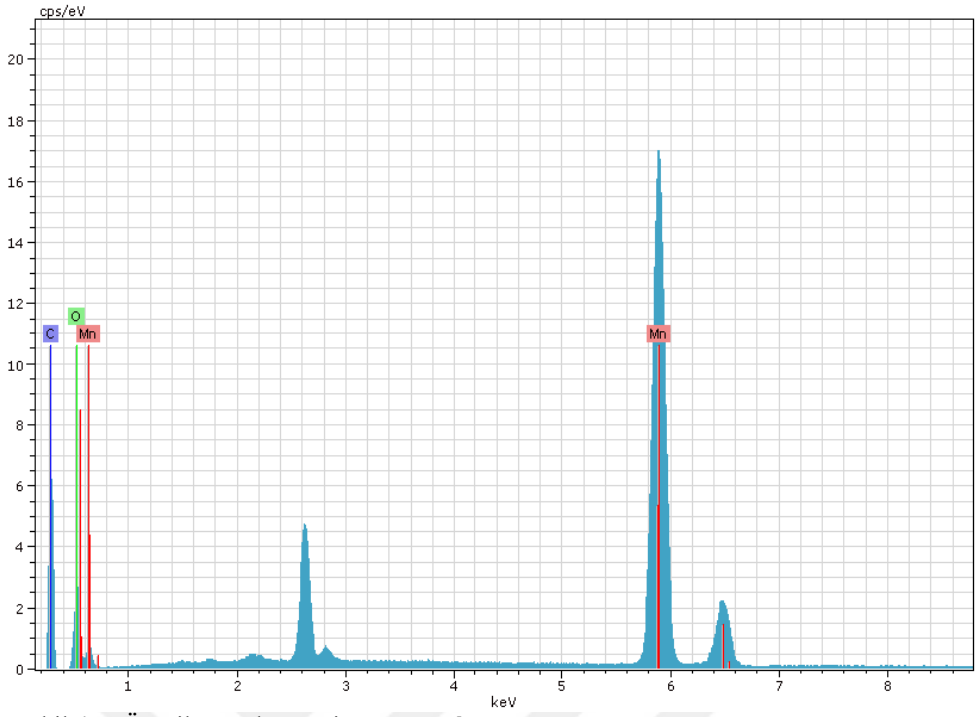
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Karekterizasyon

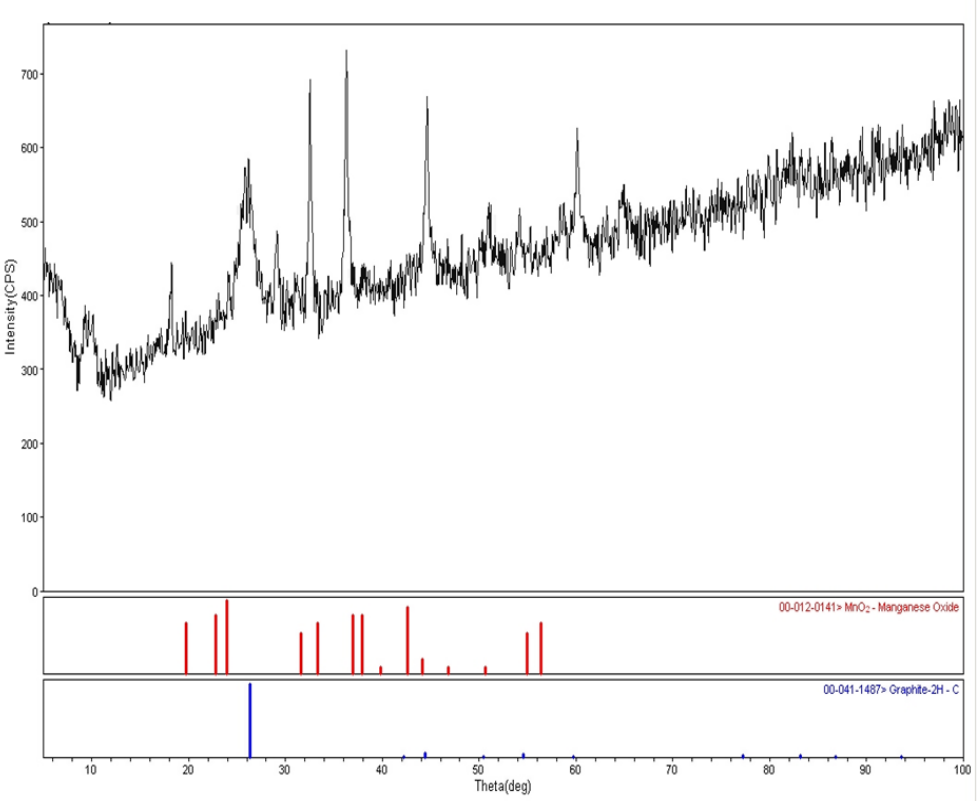
Şekil 4.1'de kompozit malzemeye ait SEM görüntüsü verilmiştir. Buna göre, metal oksit nanoparçaçıkların karbon nanotüp yüzeyinde dağıldığı görülmektedir. Karbon nanotüp yüzeyinde dağılan MnO_2 nanoparçacıkların boyutlarının ise 80-90 nm civarında olduğu görülmektedir. Şekli 4.2'de ise kompozit malzemeye ait EDX görünütüsü verilmiştir. Spektrumdan da anlaşıldığı üzere, malzemeye ait C, O ve Mn elementleri bulunmuştur. Bu durum malzemede, carbon nanotüp ve MnO_2'in bulunduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.3'te kompozit malzemeye ait XRD spekturumu verilmiştir. 26°'de görülen pik CNT'lerin altıgen yapısına aitken, 2θ =32°, 34°, 44° ve 60°' daki pikler mangana aittir.



Şekil 4.1. Önerilen malzemenin SEM görüntüsü



Şekil 4.2. Önerilen malzemenin EDX spektrumu



Şekil 4.3. Önerilen malzemenin XRD görüntüsü

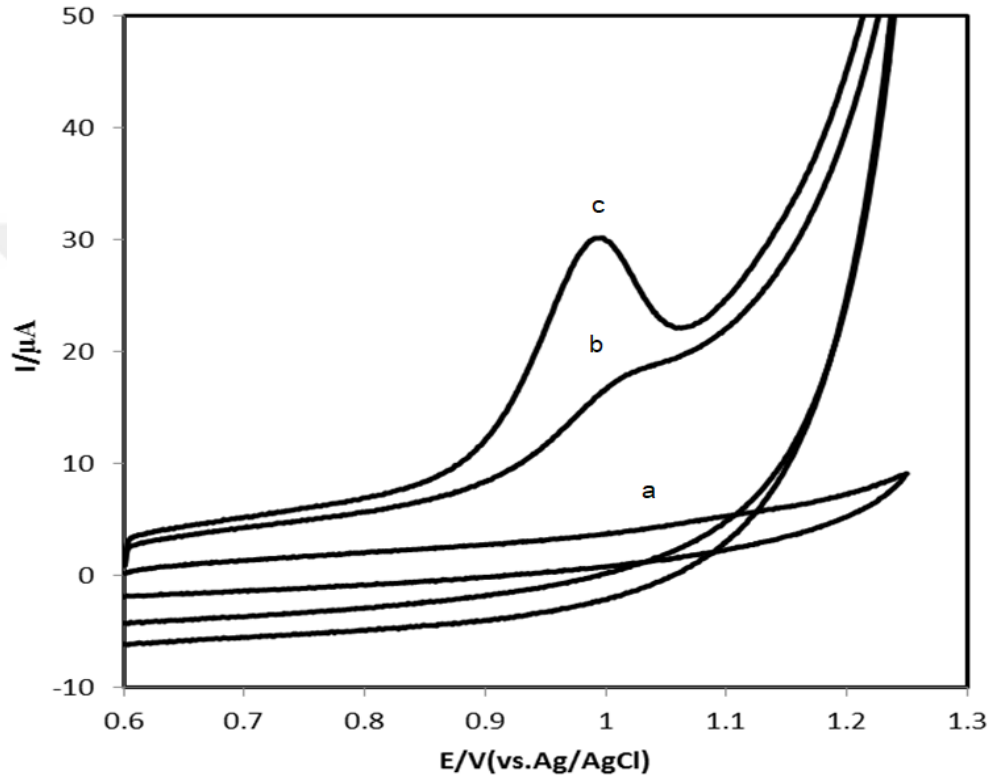
4.2. Papaverinin Elektrokimyasal Davranışı

pH değeri 7 olarak hazırlana 0.1 M PBS ortamında, papaverin için yalın elektrot yüzeyindeki voltamogramı Şekil 4.4'te verilmiştir. Grafikteki a ile gösterilen voltammogram, herhangi bir kaplama veya modifikasyon uygulanmamış camsı karbon elektrot kullanılarak alınan voltammogram olup, papaverin 1.10 V civarında bir yükseltgenme piki verdiği gözlenmiştir. Modifiye edilmemiş elektrot yüzeyindeki pik incelendiğinde, papaverinin elektrokimyasal olarak analizine uygun olmadığı söylenebilir. Elde edilen pikin oldukça zayıf ve geniş olması yalın elektrot yüzeyinde reaksiyon hızının çok yavaş olduğunu göstermiştir. Bu durum gösteriyor ki, elektrot reaksiyonu hızlandırmak ve saptamayı kolaylaştırmak için elektrot uygun bir malzeme ile kaplanması gerekir.

Şekil 4.4'te b ile gösterilen voltamogramda, karbon nanotüp (CNT) ile modifiye edilen elektrot yüzeyindeki papaverin 1.0 V civarında yükseltgenme piki vermiştir. Karbon nanotüp yüzeyinde ise, yalın elektrota nazaran daha keskin bir pik gözlenmiş olup, karbon nanotüpün papaverinin elektron transfer hızını artırdığı görülmüştür.

Şekil 4.4 c'de gösterilen voltamogramda MnO_2/CNTs/GCE ile modifiye edilen elektrot yüzeyindeki papaverinin 0.98 V civarında yükseltgenme pikleri vermiştir. Bu durum, mangan oksit ve karbon nanotüp kullanılarak kaplama yapılmış olan yüzeyde elektron transferinin diğer elektrotlarla karşılaştırıldığı zaman nispeten daha hızlı bir şekilde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Elektrotun hem karbon nanotüp ve hem de metal nanoparçacıkları ile modifiye edilmesi ile elde edilen yeni kompozit malzemenin, hem yüksek oranda elektrokatalitik etki gösterdiği hem de papaverinin yükseltgenme akımının oldukça yükselmesine neden olmuştur. Bu durum, kompozit malzemenin elektrot yüzeyine papaverinin elektron transfer hızının artmasına yol açmıştır. Yalın elektrot ve karbon nanotüp ile modifiye edilmiş elektrot ile karşılaştırıldığında, önerilen elektrotun sağladığı bu etkinin, kompozit malzemenin daha geniş yüzey alanı sağlaması ile açıklanabilir. Papaverinin duyarlı bir şekilde analizi için karbon nanotüp ve MnO_2

nanoparçacıkların oluşan bir kompozit malzemenin kullanılması ile duyarlı bir analiz yapılacağı açıktır. Kompozit malzeme yüzeyinde, papaverin molekülü yükseltgenmek için daha geniş bir alan bulduğundan dolayı, yükseltgenme reaksiyon hızlanırken, aynı zamanda daha düşün potansiyelde daha kolay yükseltgenmesi sağlanmıştır.

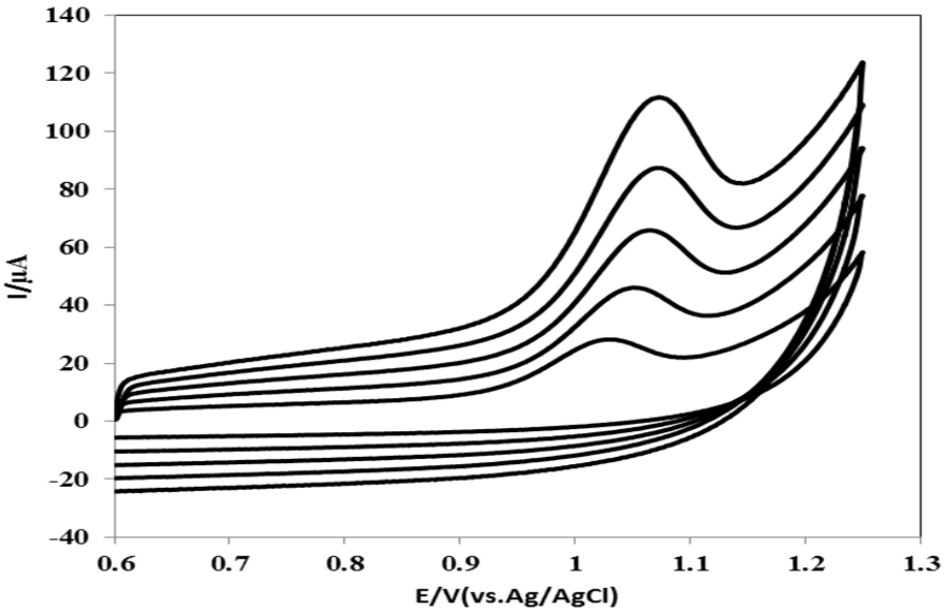


Şekil 4.4. 4.0×10^{-5} M papaverinin farklı elektrotlarla voltamogramları. a) GCE, b) CNTs/GCE, c) MnO_2/CNTs/GCE. Tarama hızı: 50 mV/s

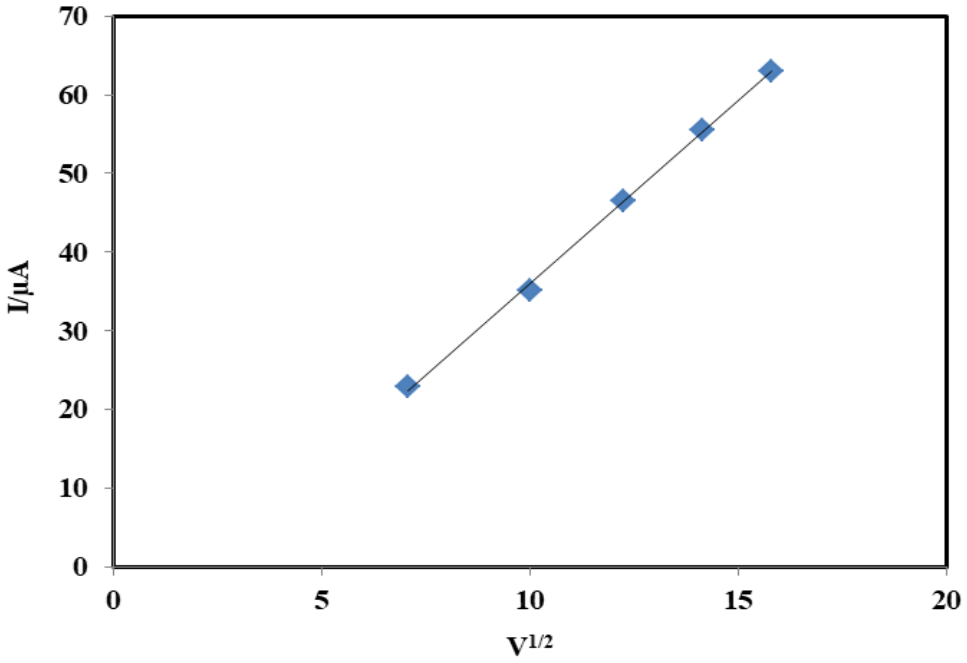
4.3. Tarama Hızının Papaverinin Pik Akımın Etkisi

MnO_2/CNTs/GCE ile modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde, tarama hızının papaverinin elektrokimyasal davranışı Şekil 4.5'te gösterilmiş olup, pik akım değerlerinin 50 mV/s ile 250 mV/s aralığında tarama hızları ile doğru orantılı bir biçimde artmış olduğu Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Bu durumda, anodik akım değerinin tarama hızı ile değil de, tarama hızının karekökü ile doğrudan artması, reaksiyon mekanizmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Bard ve Faulkner, 2000). Ayrıca, tarama hızı artarken de, pik potansiyelinde kaymalar

gözlenmiştir. Bu durum önerilen elektrot yüzeyinde papaverinin yükseltgenmesinin tersinmez bir şekilde meydana geldiği görülmüştür (Bard ve Faulkner, 2000).



Şekil 4.5. 4.0×10^{-5} M papaverinin için tarama hızı etkisi: 50 mV/s, 100 mV/s, 150 mV/s, 200 mV/s, 250mV/s

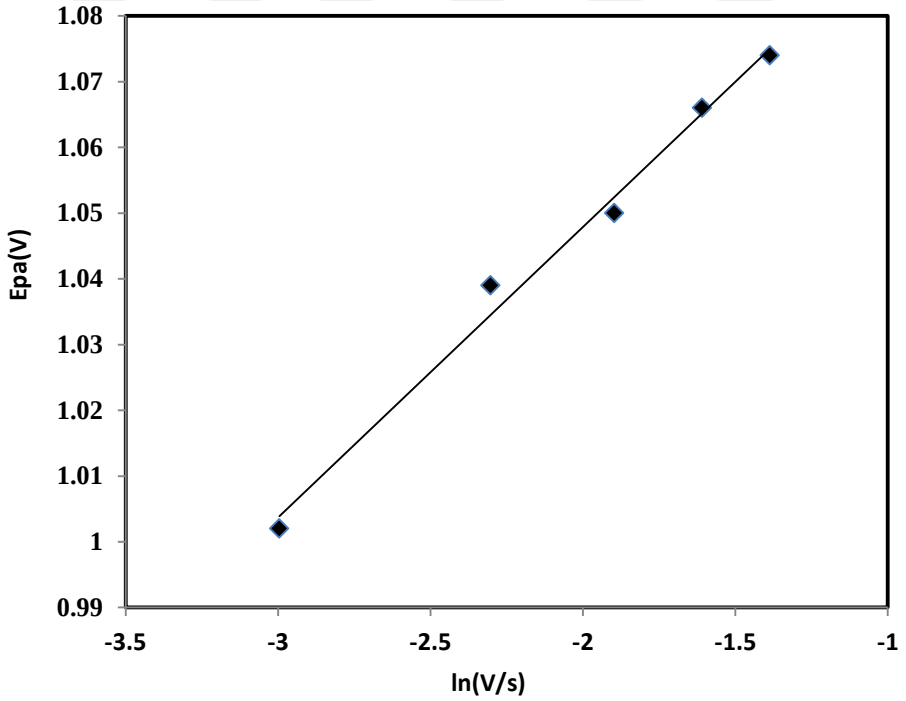


Şekil 4.6. Akım-tarama hızı ilşkisi

Çeşitli tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlar kullanılarak papaverin reaksiyonunda transfer edilen elektronların sayısını hesaplamak için Tafel grafiği kullanıldı (Eşitlik 4.1) (Bard ve Faulkner, 2000).

$$Epa = \left(\frac{2.303RT}{\propto nF}\right)\left(\frac{1}{2}\right) logv + sabit \qquad (4.1)$$

Papaverin için anodik pik potansiyeline karşı tarama hızının logaritması (Epa – logv) grafiğinden 0.044'lük bir eğim hesaplandı (Şekil 4.7). Tersinmez bir elektrot reaksiyonu için yük transfer katsayısı (α) 0,5 olduğundan, bu durum papaverinin bir elektronla yükseltgendiğini ortaya koymaktadır (Bard ve Faulkner, 2000).



Şekil 4.7. Tarama hızlarının logaritmasına karşı pik potansiyeli grafiği

4.4. pH'ın Papaverinin Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi

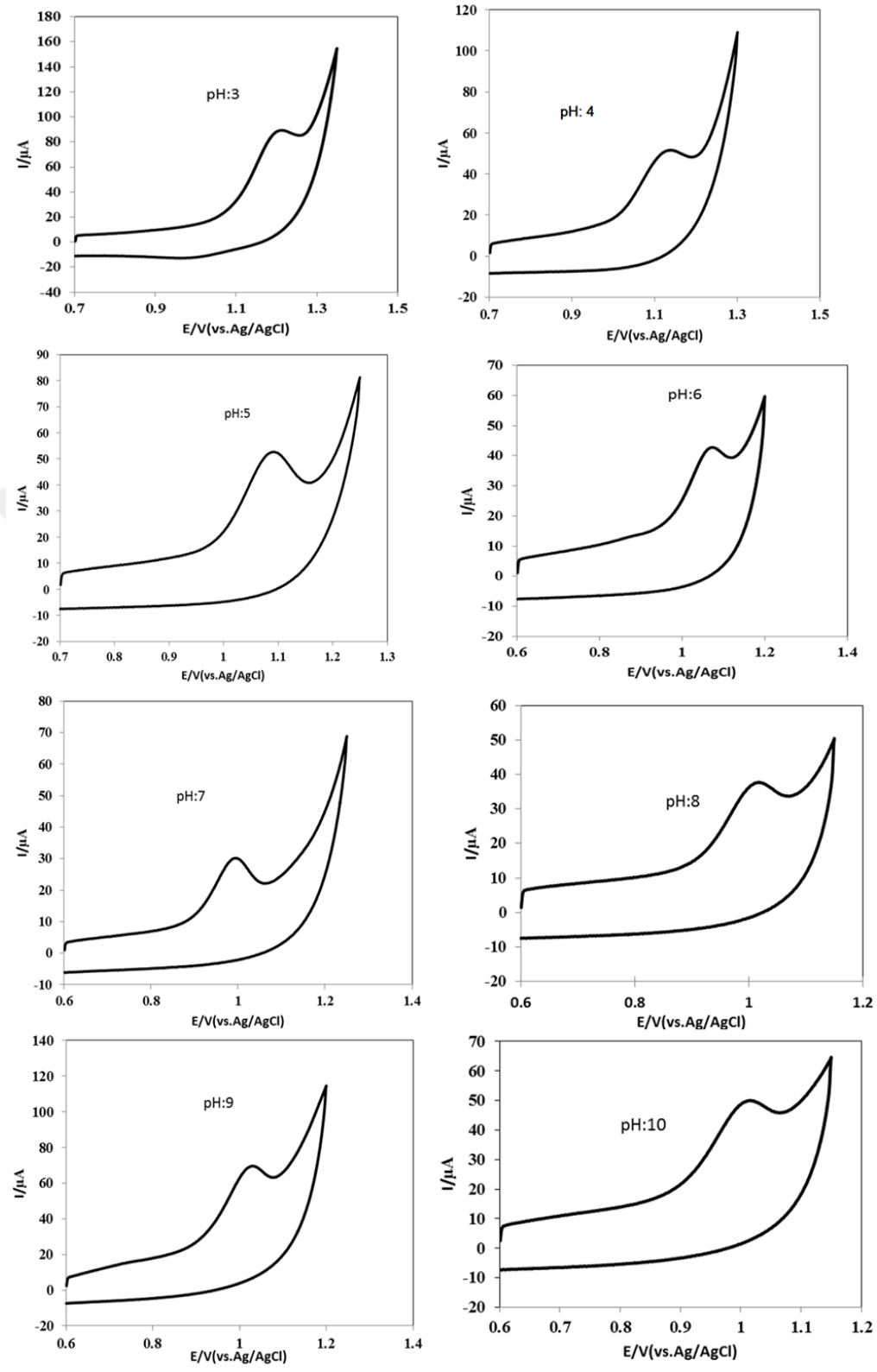
Elektrot reaksiyonunda, elektron transferine eşlik eden proton transferi içeren moleküllerin farklı pH değerlerine sahip çözeltileri kullanılarak alınan

voltamogramlarında pik potansiyelinde kaymalar gerçekleşir. MnO_2/CNTs/GCE sistemi kullanılarak papaverinin 0.1 M PBS ortamında farklı pH değerlerindeki çözeltileri içerisinde voltamogramları alınmıştır. Şekil 4.8 4.0×10^{-5} M papaverinin çeşitli pH'lardaki voltamogramlarını göstermektedir. Papaverinin yükseltgenme pik potansiyellerinin pH miktarı arttıkça katodik yönde bir kayma göstermiştir. Pik potansiyelinde oluşan kayma papaverinin elektrot yüzeyindeki reaksiyonunda, elektron transferine eşlik eden proton transferi gerçekleştiğini göstermiştir. pH değerlerine karşı pik potansiyellerine ilişkin alınan grafik Şekil 4.9'da verilmiştir. Önerilen elektrot yüzeyinde pH değişimine ait eşitlik ise, Epa(V)= -0.059 pH+1.24 (R^2=0.99) olarak hesaplanmıştır.

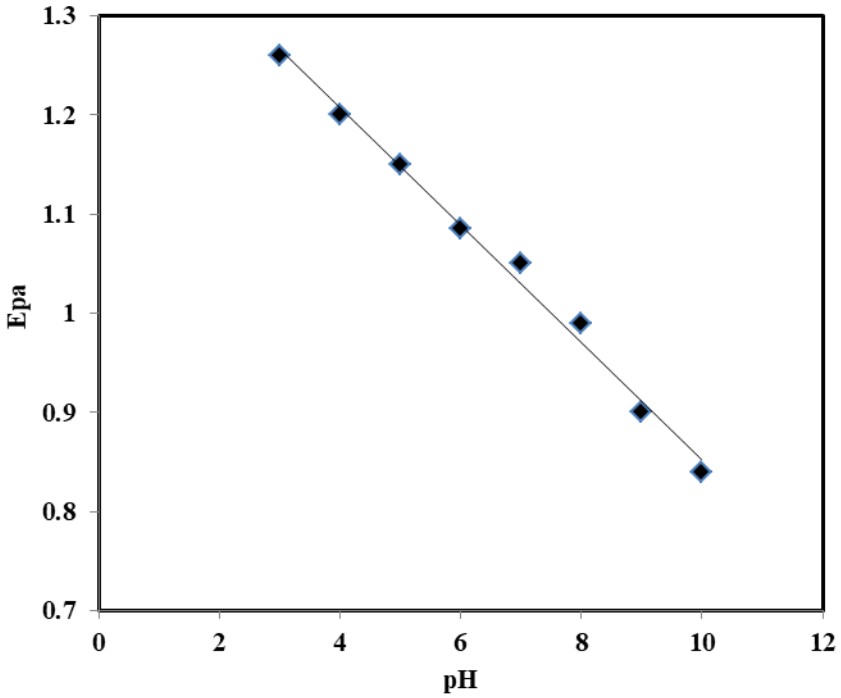
Çözeltinin pH değerlerine karşı pik potansiyelinin grafiğinde hesaplanan eğimin -0.059 V/pH olması eşitliğe göre papaverinin transfer edilen proton ve elektron değerinin eşit olduğu anlamı göstermektedir (Bard ve Faulkner, 2000). Burada Epa: yükseltgenme pik potansiyelini temsil ederken, m ise transfer edilen sayısını gösterir. E^0 ise standart elektrot potansiyelini ve n transfer edilen elektron (e^-) sayısını göstermektedir (Eşitlik 4.2). Pik potansiyelinin tarama hızı grafiğinden papaverin reaksiyonu için transfer edilen elektron sayısının 1 olarak saptanması ile, MnO_2 nanoparçacıkları ve karbon nanotüplerle modifiye edilmiş bu yeni voltametrik platform yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonda 1 proton transferi yapıldığı sonucuna varılmıştır. Bu durumda, önerilen voltametrik platform yüzeyinde olasu elektrot reaksiyonu Şekil 4.10'da verilmiştir.

$$Epa = E^0 - \frac{0.059m}{n}pH \qquad (4.2)$$

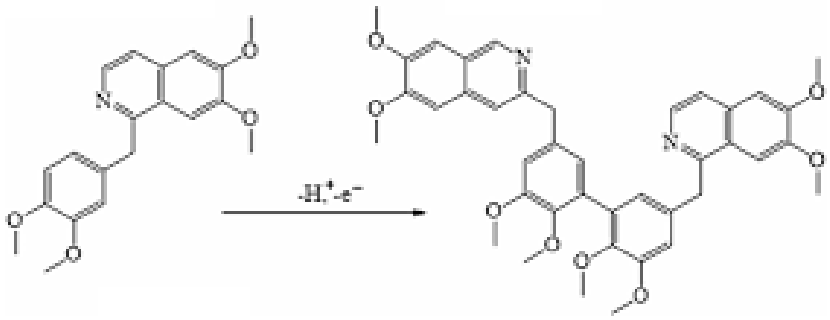
Bununla birlikte papaverinin MnO_2/CNTs/GCE kompozit sistemde papaverinin pik akımlarına ve pikin şekline baktığımızda voltamogramlar tek tek incelenip oluşan akım karşılaştırıldı. Akım değeri ve oluşan pik şekline göre de, optimum çalışma pH değerli belirlendi. Bu çalışmada, bütün parametreler dikkate alındığında fizyolojik değer olmasından dolayı pH 7 optimum değer olarak seçilmiştir.



Şekil 4.8. 4.0×10^{-5} M papaverinin farklı pH'larda alınan dönüşümlü voltamogramları



Şekil 4.9. Pik potansiyeli-pH ilşikisi



Şekil 4.10. Önerilen elektrot yüzeyinde gerçekleşen olası papaverin reaksiyonu

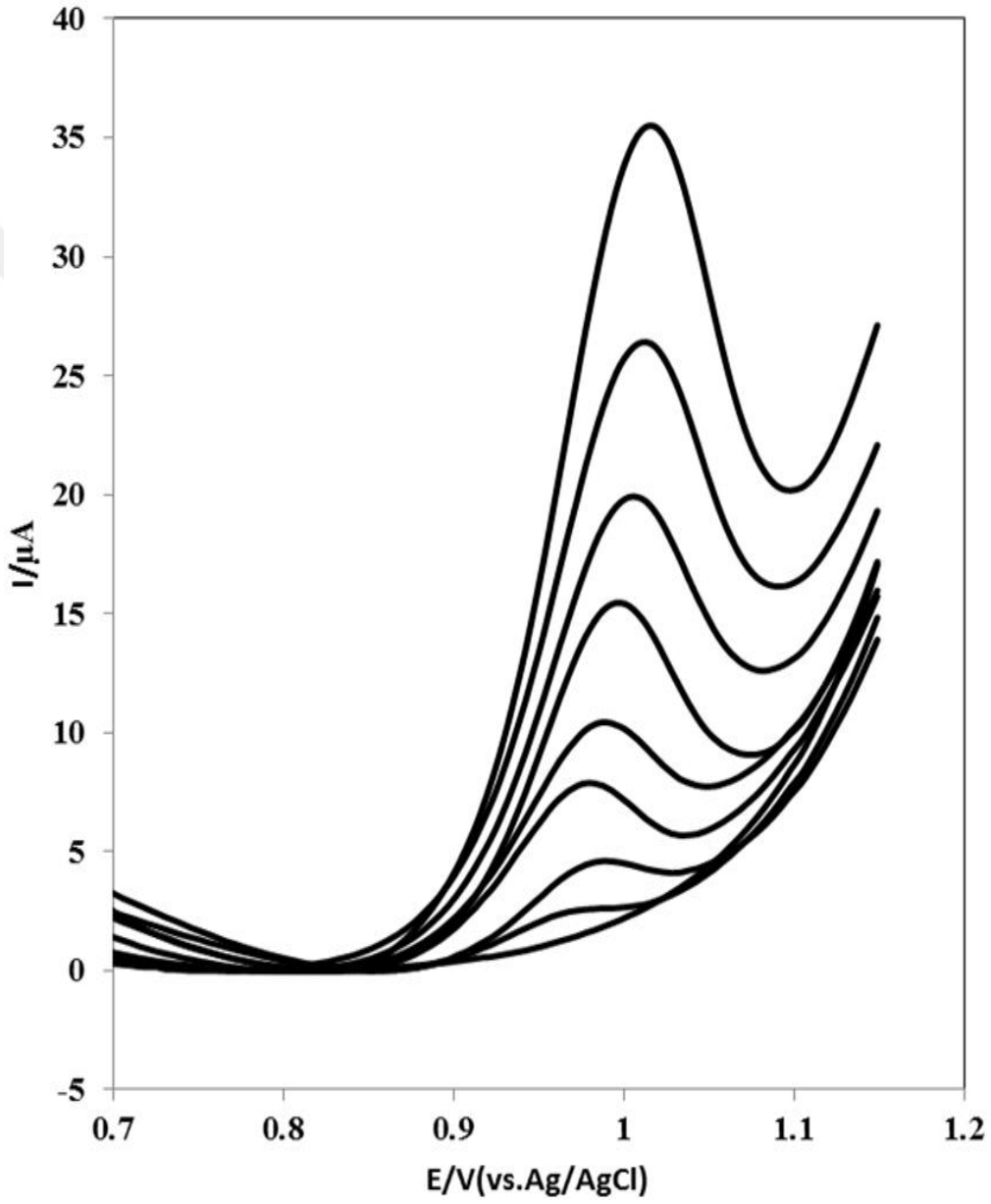
4.5. Kalibrasyon

Papaverinin MnO_2/CNTs/GCE ile modifiye edilen elektrot yüzeyindeki farklı derişimleri için kare dalga voltamogramları Şekil 4.11'da verilmiştir. Buna göre, papaverinin akım değerleri ile derişimi $2.0x10^{-7}$ M ile $2.4x10^{-5}$ M aralığında doğrusal bir biçimde ilişkili olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12). Saptama limiti ise,

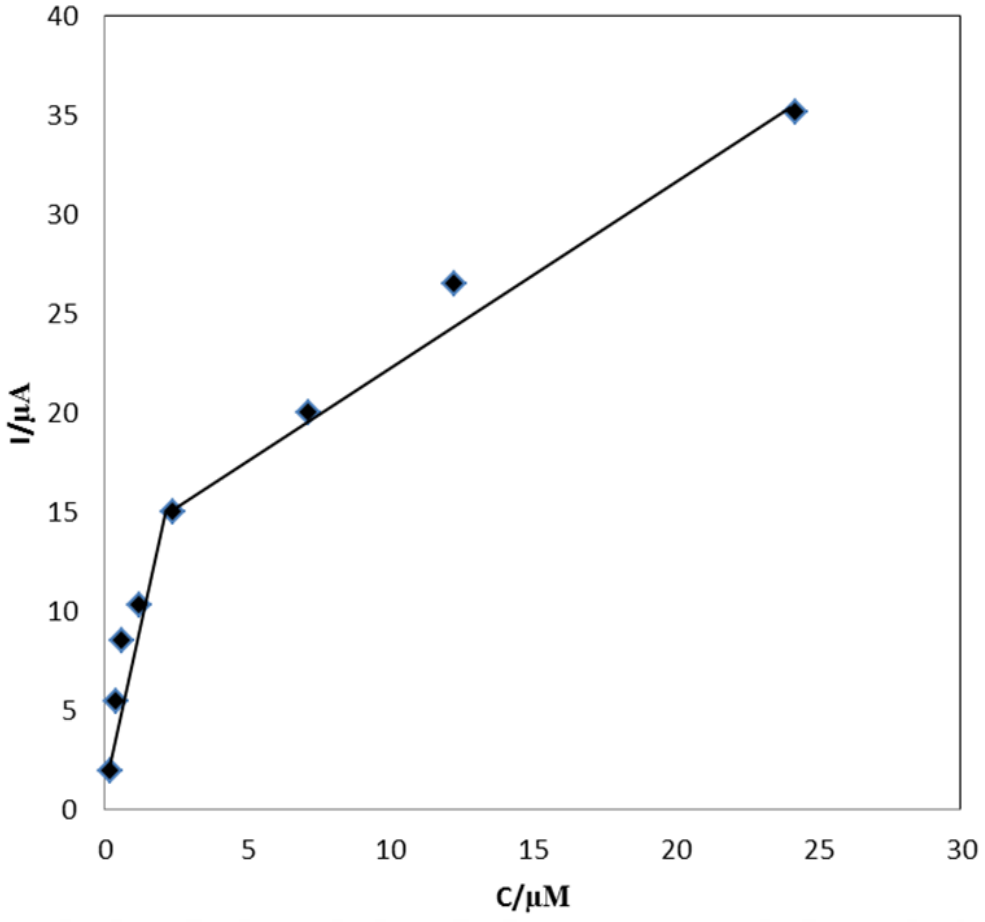
4.04 x10^{-8} M olarak hesaplanmıştır. Daha sonra doğrusal grafik ile eğim ve kesme noktası hesaplanarak aşağıdaki eşitlikler yazılmıştır.

$Ip(\mu A)=5.251(nM)+3.20 \quad R^2=0.998$ **(**4.3)

$Ip(\mu A)=0.918(nM)+13.59 \quad R^2=0.998$ **(**4.4)



Şekil 4.11. Papaverinin artan konsantrasyonlarına ilişkin kare dalga voltamogramları. a) 2.0×10^{-7} M; b) 4.0×10^{-7} M; c) 6.0×10^{-7} M; d) 2.2×10^{-6} M; e) 2.4×10^{-6} M; f) 7.1×10^{-6} M; g) 1.2×10^{-5} M; h) 2.4×10^{-5} M



Şekil 4.12. Pik akımı-konsantrasyon grafiği

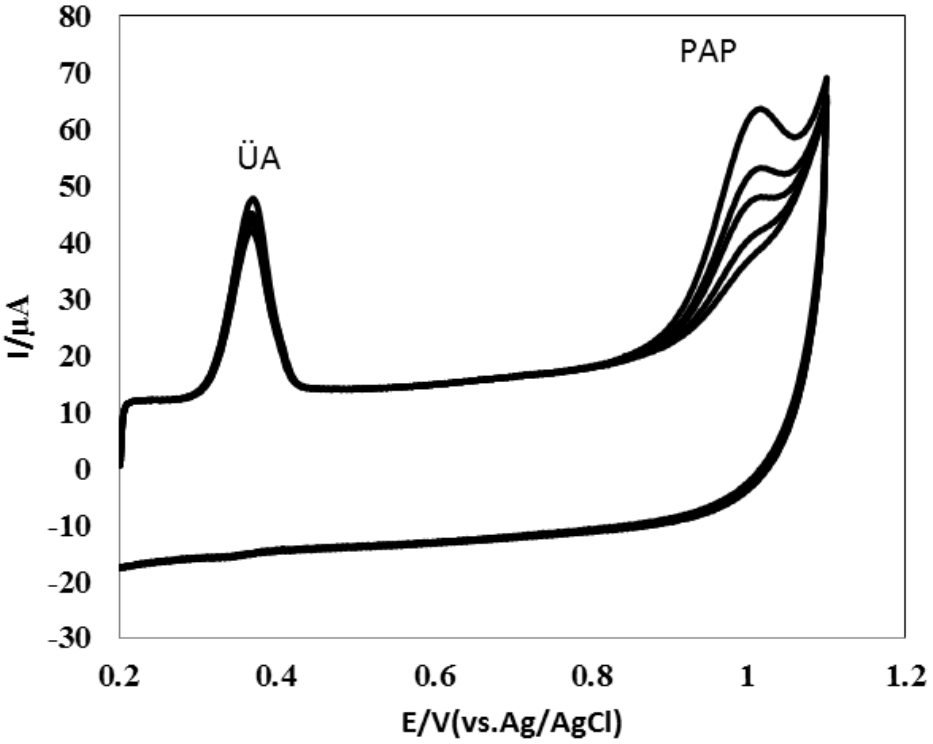
4.6. Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Aynı koşullarda modifiye edilerek kullanılan MnO_2/CNTs/GCE elektrodun 0.1 M PBS pH 7 tampon çözelti ortamında 10 dönüşümlü taramalarına ilişkin, 4.0×10^{-5} M papaverinin bağıl standart sapma değeri (B.S.S %) ≈1.5% şeklinde hesaplanmış ve değerlendirilmiştir. Bu durum, önerilen elektrotun papaverinin elektrot reaksiyonu için tekrarlanabilir sonuçlar verdiğini ve kararlı olduğunu göstermiştir.

4.7. Papaverinin Elektroanalizinde Seçimlilik Çalışmaları

MnO_2/CNTs/GCE ile modifiye edilen elektrot sistemi ürik asit varlığında papaverin molekülünü seçimli bir şekilde saptamak için uygulandı. Sabit ürik asit

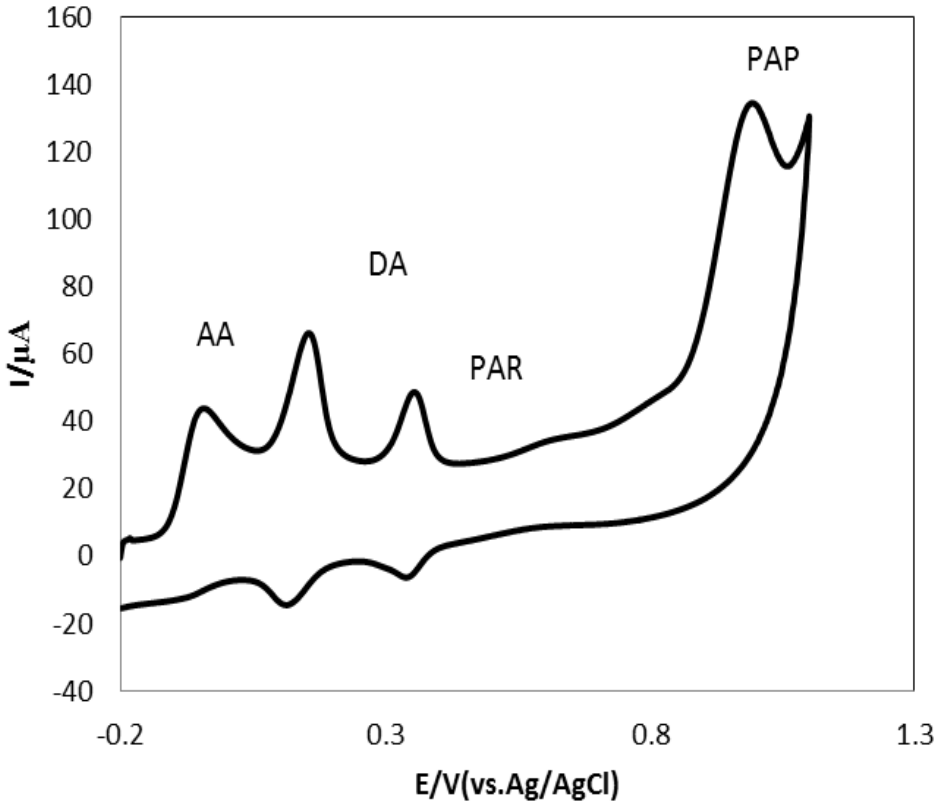
varlığında artan konsantrasyonlardaki papaverin molekülü için voltamogramlar Şekil 4.13'de sunulmuştur. Ürik asit varlığında, papaverinin etkilenmediği görülmüştür. Bu durum papaverinin ürik asit varlığında duyarlı ve seçimli bir şekilde saptanabileceğini göstermiştir. Şekil 4.14'te 5.6×10^{-5} M AA ve 2.0×10^{-6} M DA ve 4.0×10^{-6} M PAR ve 1.1×10^{-6} M papaverin karışımının MnO_2/CNTs/GCE yüzeyindeki dönüşümlü voltamogramları verilmiştir.



Şekil 4.13. Önerilen elektrot yüzeyinde sabit 4.0×10^{-6} M ürik asit varlığında papaverinin artan konsantrasyonlarına ait voltamogramları. Papaverin: 5.0×10^{-6} M, 1.0×10^{-5} M, 2.0×10^{-5} M, 3.0×10-5 M

Askorbik asit, dopamin, parasetamol ve papaverinin aynı ortamda bulunan maddelerin eş zamanlı olarak saptanması biyokimyacılar ve elektrokimyacılar bakımından oldukça önemlidir. Bu durum, girişim yapma olasılığı yüksek olan, AA, DA ve PAR varlığında bile önerilen elektrotun seçimli bir şekilde papaverinin voltametrik sinyalini keskin bir şekilde göstermesinden dolayı, elektrotun yüksek seçimlilik sağladığını göstermiştir. Bunun sebebi modifiye edilen kompozit elektroda ait voltamograma bakıldığında ortamda bulunan 4 farklı maddeye ait olan dört yükseltgenme piki görülmektedir. MnO_2/CNTs/GCE sistemi, askorbik asit,

dopamin, parasetamol ve papaverinin elektrokimyasal tepkimesinde elekrokatalitik bir etki sağlayarak bu dört maddenin elektrokimyasal yükseltgenmelerinin gerçekleştiği görülmektedir. Bu sebeple bu elektrokatalitik etki neticesinde hızlı bir elektron transferi oluşturarak ayrılmanın daha iyi olmasını sağlamıştır. Bu da kompozit malzemenin sağladığı gayet önemli bir avantajdır



Şekil 4.14. 5.6×10^{-5} M Askorbik asit (AA), 2.0×10^{-6} M dopamin (DA), 4.0×10^{-6} M parasetamol (PAR) ve 1.1×10^{-6} M papaverinin dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50V/s

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Karbon nanotüp ve mangan oksit noparçacık temelli bir malzeme ile oluşturulan yeni bir kompozit malzeme hazırlanmıştır. Elde edilen bu voltametrik sistem, bir çok elektrot ile mukayese edilirse, MnO_2/CNTs/GCE sistemi, papaverin için yüksek bir katalitik etki göstermiş olup, ayrıca voltametrik davranış ve özelliklerini geliştirdiği görülmüştür. Bu platform yüzeyinde papaverin için 0.98 V civarında tam tanımlanmış bir tersimez bir anodik pik elde edilmiştir. Papaverinin saptanması ise kare dalga voltametrisi kullanılarak daha düşük derişimleri içeren geniş bir çalışma aralığı ve düşük saptama sınırının elde edilmesine olanak sağlamıştır. Önerilen kompozit elektrot sistemi yüzeyinde, papaverinin $2.0x10^{-7}$ M ile $2.4x10^{-5}$ M konsantrasyonlarının çalışma aralığının doğrusal olduğu görülmektedir. Kompozit malzeme sisteminde papaverin için 4.04 $x10^{-8}$ M'lık bir saptama limiti olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla MnO_2/CNTs/GCE kullanılarak, papaverin için tekrarlanabiliğin iyi, kesinlik ve doğruluğun da yüksek olduğu bir elektroanaliz metotu elde edilmiştir.

Yüksek duyarlık ve uzun süre kararlılık için elektrot kullanılmadığında, buzdolabında ve 0.1 M PBS içinde bekletilmesi uygundur. Papaverin stok çözeltisi ise, günlük olarak hazırlanmalıdır.

KAYNAKLAR

ABBAS, M. N. and MOSTAFA, G. A., 2007. Papaverine PVC membrane ion-selective electrodes based on its ion-exchangers with tetraphenylborate and tetrathiocyanate anions Ann. Chim., 97: 771-780.

ABDEL-GHANI, N. T., SHOUKRY, A. F., ISSA Y. M. and WAHDAN, O. A., 2002. Spectrophometric determination of meclozine HCl and papaverine HCl in their pharmaceutical formulations. J. Pharm. Biomed. Anal., 28: 373-378.

ALBUQUERQUE, J. S., SILVA, V. L., LIMA, F., ARAUJO, A. N. and MONTENEGRO, M. C., 2003. Determination of dipyrone in pharmaceutical products by flow injection analysis with potentiometric detection. Anal. Sci., 19: 691-964.

ALTUN, M. L., 2002. HPLC method for the analysis of paracetamol, caffeine and dipyrone. Turk. J. Chem., 26: 521-528.

ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS., 2000. E1655-00 North West Conshohocken, USA: ASTM International, 17p.

ASATOV, S. I., USUBBAEV, A. M. and K. M. KAMILOV., 2001 . Development of the technology of papaverine hydrochloride tablet production using microcrystalline cellulose. Pharm. Chem. J., 35: 560-561.

BARD, A.J. and FAULKNER, L.R., 2000. Electrochemical Methods. Wiley. ISBN 0-471-04372-9, 780p.

BELLA, A. J. and BROCK G. B., 2004. Intracavernous pharmacotherapy for erectil dysfunction. Endocrine, 23: 149-155.

BERGQVIST, Y. and HOPSTADIUS C., 2000. Simultaneous separation of atova quone, proguanil and its metabolites J. Chromatogr. A, 741: 189-193.

BLANCO, M., COELLO, J., ITURRIAGA, H., MASPOCH, S. and DELAPEZUEL A, C., 1998. Near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical industry. Analyst, 123: 135R-150R.

BRAGA, J. W. and POPPI, R. J., 2004a. Validation of models of multivariate calibration: an application in the determination of polymorphic purity of carbamazepine by near infrared spectroscopy. Quim. Nova, 27: 1004-1011.

BRAGA, J. W. and POPPI, R. J., 2004b. Figures of merit for the determination of the polymorphic purity of carbamazepone by infared spectroscopy and multivariate calibration. J. Pharm. Sci., 93: 2124-2134.

BRERETON, R. G., 2000. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. Analyst, 125: 2125-2154.

COLAUTTI, A., FONTANI, F. and V. MAURICH., 1987. HPLC determination of papaveraldine and papaverinol in papaverine injection. J. Pharm. Biomed. Anal, 5: 493 - 499.

DAMIANI, P.C., MOSCHETTI, A.C., ROVETTO, A.J., BENAVENTE, F. and OLI VIERI, A. C., 2005. Design and optimization of a chemometrics-assisted spectrophotometric method for the simultaneous determination of levodopa and carbidopa in pharmaceutical products. Anal. Chim. Acta, 543: 192-198.

DAVIES, N. H., MELVIN, R. EUERB, R. and MCCALLEY, D.V., 2007. A study of retention and overloading of basic compounds with mixed-mode reversed-

phase/cation-exchange columns in high performance liquid chromatography J. Chromatogr. A, 1138: 65-72.

DE GRAEVE, J., VAN CANTFORT, J. and GIELEN, J., 1977. Determination of papaverine in blood samples by gas-liquid chromatography and mass fragmentography. J. Chromatogr. A, 133: 153-160.

DE LA PENA, A.M., MANSILLA, A.E., GOMEZ, D.G., OLIVIERI, A.C. and GOICOECHEA, H. C., 2003. Interference-free analysis using three-way fluorescence data and the parallel factor model. Determination of fluoroquinolone antibiotics in human serum. Anal. Chem., 75: 2640-2646.

DIAMANDIS, E.P. and HADJIIOANNOU T. P., 1981. Potentiometric determination of some common alkaloids with a picrate-selective electrode. Anal. Chim. Acta, 123: 341-345.

DINC, E. and BALEANU, D., 2002. Spectrophotometricquantitative determination of cilazapril and hydrochlorothiazide in tablets by chemometric methods. J. Pharm. Biomed. Anal., 30: 715-723.

ELAD, D. and GINSBURG, D., 1952. The synthesis of papaverine. Bull. Narcotics, 3: 27-34.

EL-NASHAR, R.M., ABDEL-GHANI, N.T., RIZK, M.S. and. HAMED, S.M., 2007 . Flow-injection potentiometric and conductometric determination of papaverine hydrochloride in the parent substance and a related pharmaceutical preparation. Pharm. Chem. J., 41: 447- 454.

EPPELSHEIM, C., AUBECK, R., HAMPP, N. and BRAUCHLE, C., 1991. Determi nation of ethaverine and papaverine using ion-selective electrodes. Analyst, 116: 1001-1003.

ERGUN, H., BAGDATOGLU, C., UGUR, H.C., TEMIZ, C., ATTAR, A., EGEME N, N. and TULUNAY, F. C., 2000. The vasorelaxant effect of dipyrone on an experimental cerebral vasospasm model in rabbits. Neurol. Res., 22: 815-818.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2004. European Pharmacopoeia, 5th ed., 2184-2185.

FERRE, J., BROWN, S. D. and RIUS, F. X., 2001. Improved calculation of the net analyte signal in inverse multivariate calibration. J. Chemom., 15: 537-553.

FIRLIK, K. S., FIRLIK, A. D., JUNGREIS, C. A., YONAS H. and KAUFMANN A.M., 1999. Intra-arterial papaverine for the treatment of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Surg. Neurol., 51: 66-74.

GALLEGO, J. M.L. and ARROYO, J. P., 2002. Spectrophotometric determination of hydrocortisone, nystatin and oxytetracycline in synthetic and pharmaceutical preparations based on various univariate and multivariate methods. Anal. Chim. Acta, 460: 85-97.

GIRRESER, U., HERMANN ,T.W. and K. PIOTROWSKA ., 2003. Oxidation and Degradation Products of Papaverine: Investigations on the Photochemical Degradation of Papaverine Solutions. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 336: 401-405.

GOICOECHEA, H.C. and OLIVIERI, A.C., 1999. Enhanced synchronous spectro fluorometric determination of tetracycline in blood serum by chemometric analysis. Comparison of partial least-squares and hybrid linear analysis calibrations. Anal. Chem., 71: 4361-4368.

GUNDERMANN, P. and POHLOUDEK-FABINI, R., 1980. Contribution to the stability of papaverine. Part 6: The stability of aqueous solutions of papaverine hydrochloride. Pharmazie, 35: 764-766.

HALAKA, F.G., 2001. Materials and methods for the purification of polyelectrolytes, particularly nucleic acids. US Patent, 6562573.

HANSEN, S. H., 1986. HPLC assay of the opiates in opium and cough mixtures using dynamically modified silica and UV absorbance, fluorescence and electrochemical detection. Int. J. Pharm., 32: 7-11.

HARRIS, D.C:, 2015. Quantitative Chemical Analysis. W.H. Freeman. ISBN 978-1-4641-3538-5, 450p.

HERMANN, T.W., GIRRESER, U., MICHALSKI, P. and K. PIOTROWSKA., 2002. Oxidation and degradation products of papaverine. Part I: Gadamer and Schulemann's papaverinol synthesis revisited . Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 4: 167-169.

ISSA, Y.M., IBRAHIM H., SHOUKRY A.F. and MOHAMED,S.K., 1994. Analyti cal utility of direct coupled plasma atomic emission-spectrometry for the indirect determination of papaverine hydrochloride in pharmaceutical preparations. Microchem. J., 50: 68-77.

IZOLANI, A.O., DE MORAES, M. T. and TELLEZ, C. A., 2003. Fourier transform Raman spectroscopy of drugs: quantitative analysis of 1-phenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolone-4-methylaminomethane sodium sulfonate. J. Raman Spectrosc., 34: 837–843.

JIN, Y., MI, HE, J. Q., GUO, H.T., ZHAO, Z. Q. and CHANG M.P. W. B., 2005. Development of an indirect competitive ELISA for the determination of papaverine. Talanta, 66: 1005-1011.

KOKA, I. P., 1983. Cerimetric determination of papaverine hydrochloride in active drug mixtures. Farmatsiya, 32: 43-48.

KALVODA, R., 1984. Adsorptive stripping voltammetry of electroactive organic compounds. Anal. Chim. Acta, 162: 197-205.

KENKEL, J., 2003 . Analytical Chemistry for Technicians, 3rd ed., 116-117 . Florida : CRC Press LLC, 965 p.

KHARITONOV, S.V., 2006. Electrochemical response characteristics and analytical application of papaverine ion-selective membrane electrodes. Anal. Lett., 39: 259-273.

KUZNETSOVA, M.V., KARTAMYSHEV, S.V., RYASENSKII, S.S. and GOREO I.P., 2005. A papaverine-selective electrode with ion-to-electron transducer based on the conducting polymer poly(α-naphthylamine) . Pharm. Chem. J., 39: 97-99.

LIMA, J.L.F.C., SA, S.M.O., SANTOS, J.L.M. and ZAGATTO, E.A., 2003. Multi pumping flow system for the spectrophotometric determination of dipyrone in pharmaceutical preparations. J. Pharm. Biomed. Anal., 32: 1011-1017.

LINDBERG, W., JOHANSSON, E. and JOHANSSON, K., 1981. Application of statistical optimization methods to the separation of morphine, codeine, noscapine and papaverine in reversed-phase ion-pair chromatography . J. Chromatogr. A, 211: 201-212.

LU, T.-L. and TSAI, Y.-C., 2011. Sensitive electrochemical determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations at multiwalled carbon

nanotube-alumina-coated silica nanocomposite modified electrode. Sens. Actuators B: Chem., 153**:** 439-444.

MAGNUSZEWSKA, B., OSTROWSKA, J. and FIGASZEWSKI, Z., 2000. Determ ination of papaverine hydrochloride in injections with an ion-selective electrode. Chem. Anal. Warsaw, 45: 105-115.

MAJLAT, P., HELBOE, P. and KRISTENSEN, A.K., 1981. Separation and quanti tative determination of homatropine methylbromide and opium-alkaloids in admixture in pharmacutical preparation by gas-liquid and high-performance liquid-chromatography. Int. J. Pharm., 9: 245-255.

MARTENS, H. and NAES, T., 1989. Multivariate Calibration Chichester, USA: Wiley, 419 p.

MEDEIROS, E.P., CASTRO, S. L., FORMIGA, F.M., SANTOS, S.R.B., ARAUJO, M.C.U. and NASCIMENTO, V.B., 2004. A flow injection method for biamperometric determination of dipyrone in pharmaceuticals. Microchem. J., 78: 91-96.

MILLER, J.N. and MILLER, J.C., 2000. Statistics for Analytical Chemistry, 4th ed. Harlow, USA: Prentice Hall, 285 p.

MILLERIHLI, N. J., OHAVER, T. C. and HARNLY, J. M., 1984. Calibration and curve fitting for extended range AAS. Spectrochim. Acta *B*, 39: 1603-1614.

MIRZAEVA, K.A., AKHMEDOVA, M.S., RAMAZANOV, A.S. and AKHMEDO V, S.A., 2004. Extraction-photometric determination of dimedrol and papaverine in pharmaceutical dosage forms. J. Anal. Chem., 59: 215-218.

MOREIRA, A.B., DIAS, I.L.T., NETO, G.O., ZAGATTO, E.A.G., FERREIRA, M. C. and KUBOTA, L.T., 2005. Solid phase spectrofluorimetric determi nation of acetylsalicylic acid and caffeine in pharmaceutical preparations using partial least-squares multivariate calibration. Talanta, 67: 65-69.

MOUSSA, A. F. A., 1978. Spectrophotometric determination of PAS in presence of its degradation product M-aminophenol. Pharmazie, 33: 460-461.

MURGIA, E. and WALTON, H. F., 1975. Ligand-exchange chromatography of alkaloids . J. Chromatogr., 104: 417-424.

NASCIMENTO, A.P., TREVISAN, M.G., KEDOR-HACKMANN, E.R.M. and POPPI, R.P., 2007. Simultaneous Determination of Dipyrone and Papaverine in Pharmaceutical Formulation using PLS Regression and UV Spectrophotometry, Anal. Letters, 40: 975-986.

PIERSON, S. L., HANIGAN J. J., TAYLOR R. E. and MCCLURG, J. E., 1979. Simple and rapid high-pressure liquid chromatographic determination of papaverine in plasma . J. Pharm. Sci., 68: 1550-1551.

PIOTROWSKA, K., HERMANN, T.W. and AUGUSTYNIAK, W., 2006. Kinetis of photooxidation of papaverine hydrochloride and its major photooxidation products J. Pharm. Biomed. Anal., 41: 1391-1395.

POPP, F. D., and MCEWEN, W. E., 1957. Syntheses of papaverine, papaverinol and papaveraldine from reissert compounds. J. Am. Chem. Soc., 79: 3773-3777.

SENA, M.M. and POPPI, R.J., 2004a. N-way PLS applied to simultaneous spectrophotometric determination of acetylsalicylic acid, paracetamol and caffeine. J. Pharm. Biomed. Anal., 34: 27-34.

SENA, M.M., CHAUDHRY, Z.F., COLLINS, C.H. and POPPI, R. J., 2004b. Direct determination of diclofenac in pharmaceutical formulations containing B

vitamins by using UV spectrophotometry and partial least square regression. J. Pharm. Biomed. Anal., 36: 743-749.

SENA, M. M., TREVISAN, M. G. and POPPI, R.J., 2006. Combining the standard addition method and second-order advantage for direct determination of salicylate in undiluted human plasma by spectrofluorimetry. Talanta, 68: 1707-1712.

SENYUVA, H.Z., AKSAHİN, I., OZCAN, S. and KABASAKAL, B.V., 2005. Rapi d, simple and accurate liquid chromatography-diode array detection validated method for the determination of dipyrone in solid and liquid dosage forms. Anal. Chim. Acta, 547: 73-77.

SHAMLOUL, R., ATTEYA, A., ELNASHAAR, A., GADALLAH, A., ZOHDY, W . and ABDELSALAM, W., 2005. Intracavernous sodium nitroprusside (SNP) versus papaverine/phentolamine in erectile dysfunction: a comparative study of short-term efficacy and side-effects. J. Sex. Med., 2: 117-120.

SMITH, W.S., DOWD, C.F., JOHNSTON, C., KO, N.U., DEARMOND, S.J., DILL ON, W.P., SETTY, D., LAWTON, M. T., YOUNG, W. L., HIGASHIDA, R. T. and HALBACH, V.V., 2004. Neurotoxicity of intra-arterial papaverine preserved with chlorobutanol used for the treatment of cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Stroke, 35: 2518-2522.

TEIXEIRA, M.F.S., MARCOLINO,J., L.H., FATIBELLO, O., DOCKAL, E.R. and CAVALHEIRO, E.T.G., 2004. Voltammetric determination of dipyrone using a N,N-ethylenebis(salicylideneaminato)oxovanadium(IV) modified carbon-paste electrode. J. Braz. Chem. Soc., 15: 803-808.

THE BRITISH PHARMACOPOEIA., 2002. Vol.II, London, UK: Stationery Office. 523p.

TIKHOMIROVA, V. Y., 1968. A study of the stability of papaverine hydrochloride solutions. Pharm. Chem. J., 2: 399-400.

TREVISAN, M. G. and POPPI, R. J., 2003. Determination of doxorubicin in human plasma by excitation-emission matrix fluorescence and multi-way analysis. Anal. Chim. Acta, 493: 69-81.

UNITED STATES PHARMACOPOEIA., 2005. Rockville, USA: United States Pharmacopoeial Convention, 290s.

VÁLKA, I.D. WALTEROVÁ, D. and ŠMÁNEK, V., 1985. Determination of papaverine by capillary isotachophoresis. J. Chromatogr. A, 350: 336-338.

WILSON, G. S. and GIFFORD, R., 2005. Biosensors for real-time in vivo measurements. Biosensors and Bioelectronics, 20**,** 2388-2403.

YAN, J., MI, J.Q., HE, J.T., GUO, Z.Q., ZHAO, M.P., and CHANG,W.B., 2005. De velopment of an indirect competitive ELISA for the determination of papaverine. Talanta, 66: 1005-1011.

ZAKHARI, N. A., WALASH, M. I. and AHMED, S. M., 1991. Titrimetric and spectrophotometric analysis of acepifylline, phenobarbitone and papaverine hydrochloride in pharmaceutical preparations. Il Farmaco, 46: 601-613.

ZENG, Y. and ZHANG, G., 1995. Adsorptive stripping voltammetry of papaverine. Chin. J. Anal. Chem., 23: 1137-1141.

ZHANG, S., ZHUANG, Y. and H. J.U., 2004 . Flow-injection chemiluminescence determination of papaverine using cerium(IV)-sulfite system . Anal. Lett., 37: 143-155.

ZIYATDINOVA, G., SAMIGULLI, A. and BUDNIKOV, G., 2007. Voltammetric determination of papaverine and drotaverine. J. Anal. Chem., 62: 773-776.
ZOSKI, C.G., 2007. Handbook of Electrochemistry. Elsevier. ISBN 0-444-51958-0. 420p.