

**DOKSAZOSİN'İN ELEKTROANALİTİK VE BAZI YÖNTEMLERLE  
MİKTAR TAYİNİ**

Kim. Müh. Göksel ALTIOKKA

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

Danışman: Prof.Dr. Muzaffer TUNÇEL

Eylül 1995

Göksel ALTIOKKA'nın DOKTORA TEZİ olarak hazırladığı "DOKSAZOSİN'İN ELEKTROANALİTİK VE BAZI YÖNTEMLERLE MİKTAR TAYİNİ " başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

.06/09.1995

Üye: Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL

Üye: Doç. Dr. Zühre ŞENTÜRK

Üye: Doç. Dr. Nese KIRIMER

---

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitü' sü Yönetim Kurulu' nun 25/08/1995 gün ve .21.. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

---

## ÖZET

Doksazosin mesilat hipertansiyon tedavisi için geliştirilmiş, uzun etkili, ileri derecede selektif postsinaptik  $\alpha$ -1 inhibitörüdür.

Bu çalışmada doksazosinin UV spektrofotometrik, ince tabaka kromatografik, potansiyometrik, kondüktometrik ve polarografik yöntemlerle miktar tayinlerinin yapılabilirliği araştırılmıştır.

Doksazosinin cıva yüzeyinde 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 UV spektrofotometrik yönteminde doksazosinin miktar tayinleri için uygulanabilir yöntemler olduğu bulunmuştur.

Potansiyometrik ve kondüktometrik yöntem ile doksazosin miktar tayinlerinin sınırlı olarak yapılabileceği saptanmıştır.

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

Polarografik yöntemin DP, SIAP, SCAP teknikleri ile UV spektrofotometrik yöntemlerin farmasötik preparatlardaki doksazosin tayini için kullanışlı ve uygun yöntemler olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Doksazosin, doksazosin miktar tayini, polarografi, UV spektrofotometri, farmasötik uygulamalar.

## SUMMARY

Doxazosin mesylate is a long-acting, selective, postsynaptic  $\alpha$ 1-adrenoceptor blocker, that has been developed as an antihypertensive agent.

In this study, feasibility of quantitative determination of doxazosin has been investigated with the UV spectrophotometric, thin layer chromatographic (TLC), potentiometric, conductometric and polarographic methods.

The polarographic behaviour of doxazosin was investigated based on the reduction of the molecule on the surface of mercury drop.

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 UV spectrophotometric methods are suitable for quantitative determination of doxazosin from the view of analytical chemistry.

Also, it has been established that the quantitative determination of doxazosin can be done in limited conditions with the potentiometric and conductometric methods.

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

It has been determined DP, SIAP and SCAP polarographic techniques, and UV spectrophotometric methods were practical and suitable for quantitative determinations of doxazosin in pharmaceutical preparations.

**Key words:** Doxazosin, doxazosin assay, polarography, UV spectrophotometry, pharmaceutical application.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sürecinde değerli fikirleriyle beni yönlendiren, ilgisi, desteği ve derin hoşgörüsüyle benden yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL'e ;

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

Kimyasal madde sağlanması konusunda bana yardımcı olan Eczacılık Fakültesi Dekan Yardımcısı Sayın Doç.Dr. Ümit UÇUCU'ya ve Sayın Uzman Eczacı Pınar BENLİ'ye;

Deneysel çalışmalarım sırasında ilgi ve destekleri için Sayın Yard. Doç.Dr.Mine KÜRKÇÜOĞLU'na, Sayın Yard.Doç.Dr. Berrin BOZAN'a, Sayın Yard.Doç.Dr.Temel ÖZEK'e, Sayın Uzman Eczacı Nilgün ÖZTÜRK'e, Sayın Uzman Eczacı Zeynep TUNALIER'e;

Bütün bir çalışma boyunca yardımları, katkıları ve manevi destekleri için çalışma arkadaşlarım Sayın Yard.Doç.Dr.Zeki ATKOŞAR'a, Sayın Yard.Doç.Dr. Dilek AK'a, Sayın Yard. Doç.Bülent ERGUN'a, Sayın Araş.Gör. Volkan ZAIMOĞLU'na; Sağlık Bilimleri Enstitüsü sekreteri Sayın Füsun SÖZÜAK'a,

Her zaman sonsuz sabırla bana destek olan eşim Doç.Dr.M.Rıza ALTIOKKA'ya ;

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. Doksazosinin Fiziksel ve kimyasal Özellikleri.....	2
2.2. Antihipertansif İlaçların Etki Mekanizması.....	2
2.3. Doksazosinin Yapısı ve Etki Mekanizması.....	4
2.4. Doksazosinin Farmakolojik Özellikleri.....	5
2.5. Doksazosinin Farmakokinetik Özellikleri.....	7
2.6. Doksazosinin Metabolitleri.....	7
2.7. Doksazosin Üzerinde kantitatif Çalışmalar.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	10
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Aletler.....	10
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	10
3.1.2. Kullanılan aletler.....	10
3.2. Saflık Kontrolleri ve maddenin Tanınması ile İlgili Çalışmalarda Yapılan İşlemler.....	11
3.2.1. Erime noktası tayininde yapılan işlemler.....	11
⇒ 3.2.2. IR spektrofotometrik çalışmalarda yapılan işlemler.....	11
3.2.3. NMR spektrumunun alınmasında yapılan işlemler.....	11
3.3. Doksazosin Çözeltilerinin Dayanıklılığının İncelenmesi.....	12
3.4. İnce Tabaka Kromatografisi Yönteminde Yapılan İşlemler.....	12
3.5. Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonda Yapılan İşlemler.....	12
3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisinde Yapılan İşlemler.....	13
⇒ 3.7. UV Spektrofotometrik Çalışmalarda Yapılan İşlemler.....	13
3.7.1. Stok çözelti.....	13
3.7.2. UV spektrofotometrik koşullar.....	13

3.8. Polarografik Çalışmalardaki İşlemler.....	13
3.8.1. Stok çözeltiler.....	13
3.8.2. Tampon çözeltiler.....	14
3.8.3. Taşıyıcı elektrolit sistemi.....	14
3.8.4. Polarografik çalışma koşulları.....	14
3.9. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanışı.....	15
3.9.1. İnce tabaka kromatografik yöntem ile preparatlardaki doksazosin tayini.....	15
3.9.2. Potansiyometrik ve kondüktometrik titrasyon ile tabletlerdeki doksazosin tayini.....	15
⇒ 3.9.3. UV spektrofotometrik yöntem ile preparatlardaki doksazosin tayini.....	16
3.9.4. Polarografik teknikler ile preparatlardaki doksazosin tayini.....	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	17
4.1. Doksazosinin Saflık Kontrolleri ve Tanınması ile İlgili Çalışmalar.....	17
4.1.1. Doksazosinin erime noktası tayini.....	17
4.1.2. Doksazosinin IR spektrumu.....	17
4.1.3. Doksazosinin proton NMR spektrumu.....	18
4.2. Doksazosinin İnce Tabaka Kromatografisi.....	19
4.3. Doksazosinin Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonu.....	19
4.4. Doksazosinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisiyle İncelenmesi....	21
4.5. Doksazosinin UV Spektral Karakteristiklerinin İncelenmesi.....	22
4.6. Doksazosinin Polarografik Davranışlarının İncelenmesi.....	25
4.6.1. Çözücü ve Taşıyıcı Elektrolit Bileşenlerinin Polarografi Üzerine Etkisi.....	25
4.6.2. pH-sınır akımı ilişkisi.....	28
4.6.3. pH-yarı dalga potansiyeli ilişkisi.....	28
4.6.4. pH- $\alpha$ değerleri ilişkisi.....	29
4.6.5. Basınç-sınır akımı ilişkisi.....	31
4.6.6. Sınır akımı-damlama süresi ilişkisi.....	32
4.6.7. Sıcaklığın sınır akımı üzerine etkisi.....	32

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
4.6.8. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerine etkisi.....	33
4.6.9. Tersinirliğin incelenmesi.....	33
4.6.10. Elektrokapiler eğrinin incelenmesi.....	35
4.6.11. Derişimin sınır akımı üzerine ilişkisi.....	36
4.6.11.1. Doğru akım polarografisi (DCP) ile yapılan çalışmalar.....	37
4.6.11.2. Diferensiyel puls polarografisi (DPP) ile yapılan çalışmalar.....	38
4.6.11.3. Aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ile yapılan çalışmalar.....	40
4.6.11.4. Aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) ile yapılan çalışmalar.....	42
4.7. Katı Elektrotlarla Yapılan Çalışmalar.....	43
4.8. Doksazosin Preparatlarının Polarografik Yöntemlerle İncelenmesi.....	44
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	50



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Doksazosinin kimyasal formülü.....	2
2.2. Doksazosinin etki mekanizması.....	5
2.3. Doksazosinin metabolitleri.....	8
4.1. Doksazosinin IR spektrumu.....	17
4.2. Doksazosinin NMR spektrumu.....	18
4.3. Doksazosinin potansiyometrik titrasyon eğrisi.....	20
4.4. Doksazosinin kondüktometrik titrasyon eğrisi.....	21
4.5. Doksazosinin HPLC kromatogramı.....	22
4.6. Doksazosinin artan derişimlerdeki özgün, I. türev ve II.türev spektrumları.....	23
4.7. Etonol derişimlerinin limit akım üzerine etkisi.....	26
4.8. Doksazosinin çeşitli pH lardaki doğru akım polarogramları.....	27
4.9. pH a karşı sınır akımlarının değişimi.....	28
4.10. pH a karşı yarı dalga potansiyellerinin değişimi.....	29
4.11. pH a karşı $n\alpha$ değerleri.....	30
4.12. Basınç-sınır akımı ilişkisi.....	31
4.13. Sınır akımlarının sıcaklıkla değişimi.....	33
4.14. Doksazosinin katodik ve anodik yöndeki diferensiyel puls polarogramları.....	34
4.15. Doksazosinin ve taşıyıcı elektrolitin elektrokapiler eğrileri.....	35
4.16. Artan derişimlerdeki doksazosinin doğru akım polarogramları.....	37
4.17. Doksazosinin doğru akım polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafisi.....	38
4.18. Artan derişimlerdeki doksazosinin diferensiyel puls polarogramları.....	39
4.19. Doksazosinin diferensiyel puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafisi.....	40

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

### Sayfa

- 4.20. Artan derişimlerdeki doksazosinin aşırı yüklenmiş artan genlikli  
puls polarogramları.....41
- 4.21. Doksazosinin aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi ile  
elde edilen kalibrasyon grafiği..... 41
- 4.22. Artan derişimlerdeki doksazosinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli  
puls polarogramları.....42
- 4.23. Doksazosinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi ile  
elde edilen kalibrasyon grafiği..... 43

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Doksazosinin UV spektral karakteristikleri.....	24
4.2. Doksazosinin çeşitli pH larda sınır akımı, yarı- dalga potansiyeli ve $n\alpha$ değerleri.....	30
4.3. Derişim-sınır akımı ilişkisinin incelenmesinde kullanılan tekniklerdeki çalışma koşulları.....	36
4.4.a. 2 mg doksazosin içeren tabletlerdeki tayin sonuçları.....	45
4.4.b. 4 mg doksazosin içeren tabletlerdeki tayin sonuçları.....	46

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Doksazosin mesilat, terazosin, trimazosin, alfuzosin ve prazosin gibi ilaçların bulunduğu grupta yer alan antihipertansif bir ilaçtır.

Hipertansiyon tedavisi için geliştirilmiş, uzun etkili, ileri derecede selektif bir postsinaptik  $\alpha$ -1 inhibitörü olduğu belirtilmektedir. Farmakolojik etkilerinin prazosine çok benzemesine karşın farklı olarak daha uzun yarılanma ömrüne sahip olduğu ve tek doz ile tedavinin sağlanabildiği gösterilmiştir. Prazosine göre daha yavaş başlayan etkisi nedeniyle, prazosinde görülen ilk doz hipertansiyon eğiliminin doksazosinde görülmediği, bu nedenle diğer grup üyelerine göre daha etkili bir ilaç olduğu saptanmıştır(1).

Yeni bir ilaç olduğundan doksazosin üzerindeki çalışmalar genellikle farmakolojisine dayalı olarak yoğunlaşmıştır.

Doksazosinin miktar tayini ile ilgili yüksek basınçlı sıvı kromatografik(2-5) ve ince tabaka sıvı kromatografik(5) çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca, benzer grup antihipertansif ilaçlardan olan prazosin ile ilgili spektrofotometrik ve florimetrik(6), yüksek basınçlı sıvı kromatografik(7), x ışınları kullanılarak kantitatif tayin(8) yöntemlerine rastlanmıştır. Bu arada prazosin, todralazin, captopril ve timolol'un plazmadaki tayinleri için camı karbon elektrot ve sıvı kromatografisi ile amperometrik bir miktar tayininin gerçekleştirildiği de saptanmıştır(9).

Bu çalışmada, doksazosinin bazı yöntemlerle analitik açıdan incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, doksazosin UV-spektrofotometrik, potansiyometrik, kondüktometrik, İTK densitometrik ve voltametrik olarak incelenmiştir.

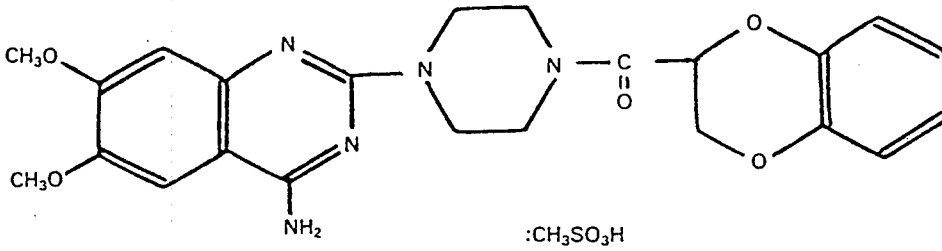
Yukarıdaki yöntemler arasında elektroanalitik olanlara ağırlık verilerek doksazosinin miktar tayinlerinin yapılmasına karar verilmiştir. Voltametrik yöntemle doksazosinin yapısında bulunan kinazolin grubunun indirgenmesine dayalı olarak doğru akım polarografisi (DCP) ile çalışmalar gerçekleştirilerek çeşitli parametreler incelenmiştir. Diğer taraftan polarografinin diferansiyel puls polarografisi (DPP), aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ve aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) teknikleri de geliştirilmiştir. Molekülün UV spektral davranışları araştırılmış ve miktar tayinine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu iki yöntemi kullanarak doksazosinin tabletlerdeki tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Yukarıda belirtilen çalışma koşullarında bu yöntemlerin farmasötik preparatlardaki doksazosin miktarının tayini için de uygulanabilirliği araştırılmış, elde edilen tüm sonuçlar matematiksel ve istatistiksel açıdan değerlendirilmiş, yöntemlerin geçerliliği tartışılmıştır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Doksazosinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Doksazosin mesilat kinazolin türevi bir antihipertansif ilaç olup, 1-(4 - amino - 6,7 - dimethoxy - 2 - quinazolinyl) - 4 - (benzdioksan - 2 - yl - carbonyl) piperazine monomethanesulphonate formülüne sahip bir bileşiktir. Açık formülü Şekil 2.1. de verilmiştir.



Şekil 2.1. Doksazosinin kimyasal formülü

Kapalı formülü C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>S, molekül ağırlığı 547.3 dür. İnce, beyaz renkli, toz halinde, kokusuz ve tatsızdır.

Erime noktası 280-285 °C dir ve bu sıcaklıkta bozunmaktadır. Doksazosin mesilatın dimetil sülfoksitte tümüyle, su, metanol, etanol ve N-N dimetil formamidde büyük ölçüde çözüldüğü gözlenmiştir. Kloroform ve etil asetat içerisinde ise çözünmenin hemen hemen hiç olmadığı görülmüştür.

### 2.2. Antihipertansif İlaçların Etki Mekanizmaları

Tansiyon düşürücü ilaçların büyük bir kısmı ya santral sinir sisteminden kardiovasküler sistemin efektif hücrelerine devamlı olarak akan ve bu sistem üzerindeki teorik etkisiyle kan basıncının düşmesini önleyen sempatik impuls trafiğini engelleyerek veya doğrudan damar genişletici etkisi ile kan basıncını düşürürler. Tansiyon düşürücüler

ilaçların etki mekanizmalarına göre aşağıdaki alt gruplara ayrılırlar(10).

1. Diüretikler
2. Adrenerjik nöron blokörleri
3. Santral etkili sempatotolitik ilaçlar
4. Diğer sempatotolitik ilaçlar
5. Direkt etkili vazodilatörler
6. Anjiyotensin antagonistleri
7. Hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar

### 1. Diüretikler

Diüretikler böbrek tubulusları üzerine olan etkileri nedeniyle  $\text{Na}^+$  iyonu ve su kaybını arttıran ilaçlardır. Diüretiklerin yaptığı su ve tuz kaybı, hipovolemiye, ekstraselüler sıvı hacminde azalmaya ve kalp debisinin azalmasına neden olur. Uzun süren diüretik tedavisinde kan basıncının düşmesinin nedeni vasküler etkiye bağlanmaktadır.

### 2. Adrenerjik nöron blokörleri

Bu tür ilaçlar periferdeki adrenerjik sinirlerin ucundaki depolardan ve gerekse santral sinir sisteminin adrenerjik sinir uçlarındaki depolardan noradrenalinini boşaltmaktadır. Bu boşaltıma bağlı olarak da kan basıncını düşürdükleri sanılmaktadır. Yine bu tür ilaçların periferik etkiyle sempatik postgangliyoner (adrenerjik) sinir uçlarını bloke ederek kan basıncını düşürdükleri belirtilmektedir.

### 3. Santral etkili sempatotolitik ilaçlar

Bu tür ilaçların santral sinir sistemini etkileyerek arteriyel kan basıncının düşmesine neden olup aynı zamanda noradrenalin sentezini inhibe ederek etki yaptıkları belirtilmektedir.

### 4. Diğer sempatotolitik ilaçlar

Bu tür ilaçların etkilerini  $\beta$ -resöptörlerin blokajı sonucu kalp debisinin azaltılmasına bağlı olarak gösterdiği söylenmektedir. Bu grupta, ayrıca  $\alpha$ -adrenerjik resöptör blokerleri

vardır. Örneğin bu grupta yer alan prazosin postsinaptik  $\alpha-1$  reseptörleri selektif olarak bloke ederek arteriyelleri ve venülleri genişletir, periferik damar rezistansını azaltarak ortostatik nitelikte hipotansiyon oluşturur. Bu gruptaki ilaçlar bu şekilde kalbin hem preşarjını hemde postşarjını azaltırlar.

### 5. Direkt etkili vazodilatörler

Bu tür ilaçlar arteriyollerin düz kaslarını gevşeterek periferik damar rezistansını önemli ölçüde azaltmaktadırlar. Esas olarak kan basıncını düşürmeleri periferik damar rezistansını azaltmalarıyla ilgilidir.

### 6. Anjiyotensin antagonistleri

Bu grupta yer alan ilaçlardan olan captopril inaktif prekürsör olan anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştüren enzimi inhibe etmektedir. Bu enzim vücuttaki kininlerin birikmesine neden olarak da kan basıncını düşürmektedir. Ayrıca, bu tür ilaçların protoglandin düzeyini arttırmak suretiyle de kan basıncını düşürülebileceği ileri sürülmektedir.

### 7. Hipertansif kriz tedavisinde kullanılan ilaçlar

Bu gruptaki ilaçların damar düz kasları üzerindeki direkt etkisiyle hem arteriyelleri hemde venülleri genişleterek kan basıncında belirgin düşme yaptıkları ve damar dışı düz kasları gevşettikleri belirtilmektedir.

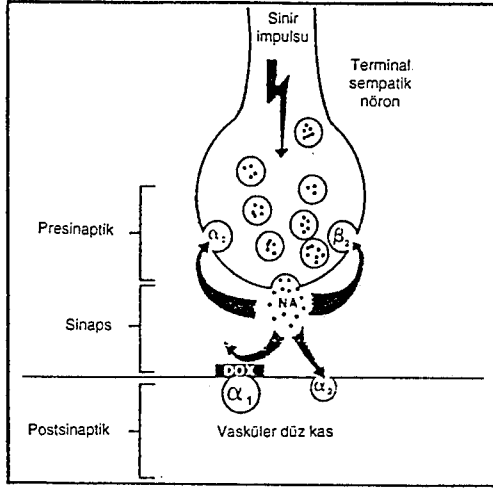
### 2.3. Doksazosinin Yapısı ve Etki Mekanizması

Doksazosin mesilat'ın, terminal sempatik nöronlardan salınan noradrenalinin postsinaptik  $\alpha-1$  adrenoseptörler üzerine olan stimulan etkisini selektif ve güçlü bir şekilde inhibe ettiği, postsinaptik  $\alpha-1$  adrenoseptörleri için son derece selektif olduğu ve noradrenalinin presinaptik ve postsinaptik  $\alpha-2$  adrenoseptörler üzerine olan stimulan etkilerini inhibe etmediği belirtilmektedir(11).

Doksazosin mesilat'ın etkisini tümüyle düz kas hücre membranında bulunan  $\alpha-1$  adrenoseptörleri inhibe ederek gösterdiği, kendisinin düz kaslar üzerinde direkt bir etkisi

bulunmadığı belirtilmiştir(12). Hipertansiyonda, arteriyel rezistans damarlarındaki konsantrik daralmaya bağlı olarak periferik vasküler rezistansın arttığı, periferik damarların düz kaslarında bulunan  $\alpha$ -1 adreseptörleri selektif ve güçlü bir şekilde bloke ederek periferik vasküler rezistansı ve kan basıncını düşürdüğü açıklanmaktadır(13).

Doksazosinin etki mekanizması Şekil 2.2. de verilmektedir.



Şekil 2.2. Doksazosinin etki mekanizması

Doksazosinin lipid metabolizması üzerine olan bu olumlu etkilerinin mekanizmasını aydınlatmak amacıyla birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda, doksazosinin LDL reseptör aktivitesini arttırdığı, hücre içi LDL kolesterol sentezini azalttığı, VLDL kolesterolünün sentez ve sekresyonunu azalttığı, lipoprotein lipaz aktivitesini arttırdığı, ve kolesterolün emilimini azalttığı saptanmıştır(14).

#### 2.4. Doksazosinin Farmakolojik Özellikleri

Doksazosin uzun etki süreli, ileri derecede selektif bir postsinaptik  $\alpha$ -1 adreseptör inhibitörüdür(1). Doksazosini diğer antihipertansif ilaçlardan ayıran en önemli özelliklerden birisi de lipid profili üzerine olan olumlu etkileridir. Ayrıca hem kan basıncını düşürmesi hemde total kolesterol, trigliserid ve LDL kolesterolü azaltarak yararlı HDL kolesterolü artırması önemli üstünlüklerindedir.



Doksazosinin en temel klinik kullanım alanının hafif-orta şiddette hipertansiyon olduğu belirtilmiştir. Geniş kapsamlı, kontrollü klinik çalışmalarda ilacın hafif, orta şiddette hipertansiyonun ilk basamak tedavisinde en az diüretikler,  $\beta$ -blokerler, kalsiyum kanal blokerleri ve ACE inhibitörleri kadar etkili olduğu, ayrıca lipid profilini olumlu yönde etkileyerek kardiyovasküler riski belirgin olarak azalttığı saptanmıştır(15-16). Oral yoldan verildiğinde doksazosinin antihipertansif etkisinin 1 saat içinde başladığı, 6 saat içinde maksimum düzeye ulaştığı ve 24 saat boyunca sürdüğü gözlenmiştir(1). Doksazosinle ilgili bir çalışmada diyastolik kan basıncı 95-115 mm Hg arasında olan 53 hasta alınarak kan basıncı istenen düzeye inene kadar günde 1 mg doksazosin verilmiş, daha sonrada bu doz artırılarak ortalama günlük doz 4.1 mg'a çıkartılmıştır. Buna karşın sistolik kan basıncında ortalama 17.4 diyastolik kan basıncında ise 12.2 mm Hg'lık düşüş gözlenmiştir. Doksazosinin hastaların % 86.8'i tarafından çok iyi tolere edildiği görülmüştür(17).

Bir diğer çalışmada günde tek doz olarak verilen doksazosinin etkinliği ve güvenilirliği araştırılmıştır. Tedavi sonucunda sistolik kan basıncının ortalama 13 mm Hg, diyastolik kan basıncının 9 mm Hg düştüğü, ortalama kalp hızının ise değişmediği saptanmıştır. Ayrıca doksazosinin 12 haftalık bir tedavisi ile koroner arter hastalığı riskinin ortalama %20.5 oranında azaldığı saptanmıştır(18).

Yine günde ortalama 30.9 mg dozunda verilen nifedipine yanıt vermeyen hastalara günde ortalama 3.1 mg dozunda doksazosin verildiğinde kan basıncı kontrolünün sağlandığı bildirilmiştir(19).

Kan basıncı ACE inhibitörleri ile kontrol edilemeyen hastalara doksazosin verilmesiyle kan basıncı kontrolünün sağlandığı gözlenmiştir(20).

Şiddetli hipertansiyonu olan ve aldıkları antihipertansif ilaçlara ( $\beta$ -bloker ve diüretik) karşın kan basınçları hala yüksek seyreden 33 hasta üzerinde yapılan çalışmada hastaların hepsinde kan basıncı kontrolünün sağlandığı ve hiçbir yan etkinin ortaya çıkmadığı görülmüştür(21).

Hipertansiyonu ve diyabeti olan 21 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada günde tek doz olarak verilen doksazosinin kan basıncını kontrol ettiği, aynı zamanda glukoz metabolizmasını olumsuz yönde etkilemediği, lipid profilini ise olumlu yönde etkilediği saptanmıştır(22).

Bir diğer çalışmada doksazosinin kan basıncını düşürmesi ve kan lipidlerini olumlu yönde etkilemesinin yanında dokuların insülinini düşürdüğü de saptanmıştır. Bu da tedavi için büyük bir avantaj olarak yorumlanmaktadır(23).

Böbrek yetmezliği olan hastalar üzerinde yapılan çalışmada doksazosinin etkinliği ve güvenilirliği araştırılmıştır. Sonuçta doksazosinin serum total kolesterolünü düşürdüğü ve renal fonksiyonları olumsuz yönde etkilemediği saptanmıştır(24).

Doksazosinin sigara içen hastalar üzerinde de etkili olduğu, sistolik ve diyastolik kan basıncının kontrolünü sağladığı, sigaranın neden olduğu lipid anormalliklerini de düzenlediği görülmektedir(25). Hipertansif hastaların büyük bir bölümünde sigaranın proveke ettiği bir solunum yolu hastalığı bulunduğu, bunda çeşitli etkileri nedeniyle  $\beta$ -blokerler ve ACE inhibitörleriyle giderilemediği doksazosinin ise kan basıncını düşürürken solunum fonksiyon testlerini etkilemediği görülmüştür(26-27).

Doksazosinin aynı etkiyi yapan diğer ilaçlarla karşılaştırılması sonucu birçok yönden avantajlı olduğu görülmektedir. Bunlar lipid profilini olumlu etkilemesi, kardiyovasküler riski azaltması, total kolesterolü, trigliserid düzeyini düşürmesi ve yararlı HDL kolesterolünü arttırdığı şeklinde belirtilmektedir(28).

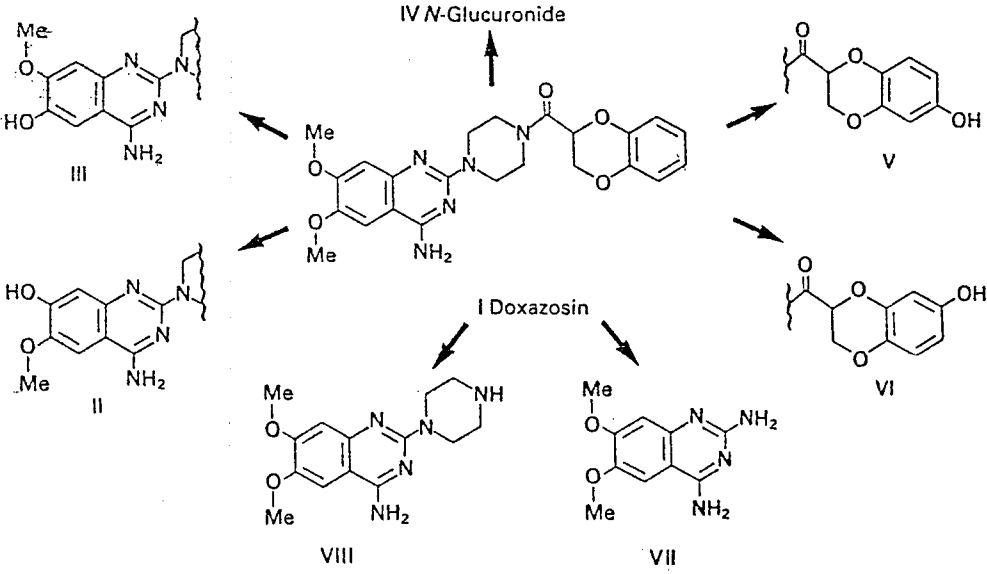
## 2.5. Doksazosinin Farmakokinetik Özellikleri

Doksazosin'in oral yoldan verildiğinde gastrointestinal sistemden iyi absorbe edildiği ve bu şekilde biyoyararlanımının %65 kadar olduğu saptanmıştır(29). Oral yoldan verildiğinde ilacın yaklaşık 2 saat içinde en yüksek plazma değerine ulaştığı bildirilmiştir(30). Oral yada intravenöz yoldan verildiğinde, maksimum antihipertansif etkiye genellikle 6 saat içinde ulaşıldığı saptanmıştır(31-32). Ayrıca yüksek oranda (%98-99) plazma proteinlerine bağlandığı bildirilmiştir(33-34). Hipertansif hastalarda doksazosinin dağılım hacminin 3.4 kg olduğu ve eliminasyon yarı ömrünün 22 saat kadar olduğu ve hipertansif etkisinin 24 saat boyunca sürdüğü saptanmıştır(35).

## 2.6. Doksazosinin Metabolitleri

Temel olarak karaciğerde kinazolin kısmının O-demetilasyonu, benzodioksan kısmının ise hidroksilasyonu yoluyla metabolize edildiği bulunmuştur. Doksazosinin primer metabolitleri 6 ve 7-O-demetil metabolitleri ve 6', 7' hidroksi ürünleri olduğu belirlenmiştir(5). Şekil 2.3 de doksazosin'in metabolitleri topluca gösterilmiştir. Bu metabolitlerin hepsinin inert olduğu, yaklaşık %65'i metabolitleri yoluyla feçesle, %5 kadarında değişmeden feçesle, diğer % 5'ininde değişmeden idrarla atıldığı saptanmıştır.

Doksazosinin çok yüksek oranda plazma proteinlerine bağlandığı ve bu nedenle hemodiyalizle bile organizmadan temizlenemediği belirtilmektedir(31-36).



Şekil 2.3. Doksazosinin metabolitleri

## 2.7. Doksazosinin Üzerinde Kantitatif Çalışmalar

Daha önceki bölümde doksazosin üzerinde herhangi bir kalitatif çalışmaya rastlanmadığı, ancak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve ince tabaka sıvı kromatografisiyle yapılan kantitatif çalışmalara rastlandığı belirtilmişti.

Cowlshaw ve arkadaşlarının(2) yaptıkları bu çalışma, plazma içerisindeki doksazosinin tayini için geliştirilmiştir. Mobil faz olarak pH, 3.4'e tamponlanan 0.01 mol/lit sulu pentan sülfonik asit ve 0.02 mol/lit tetrametil amonyum hidroksit içeren çözelti seçilmiştir. Bu çalışmada internal standart olarak prazosin HCl kullanılmıştır. Plazmadan doksazosin'in ekstraksiyonu için dietileter kullanılmıştır.

Conrad ve arkadaşlarının(3) yaptığı bir diğer çalışmada ise plazma içerisindeki doksazosin miktarları floresans dedektör kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografik yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada belirli oranlarda plazma ile internal standart olarak kullanılan CP-19,105 içeren etil asetat karıştırılmış ve belli sürelerde alınan

numuneler -70 °C'de dondurularak saklanmıştır. Deneyde kullanılan en düşük konsantrasyon sınırı 50 ng/mL en yüksek konsantrasyon sınırı ise 150 ng/mL olarak belirlenmiştir.

Cubeddu ve arkadaşlarının(4) yaptığı çalışmada ise kandaki doksazosin seviyeleri florimetrik dedektör kullanılarak, yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle duyarlı bir şekilde tayin edilmiştir. Kan numuneleri pıhtılaştıktan sonra 4 °C'de santrifüj edilmiş ve 20 °C de saklanmıştır. Doksazosin içeren serum numuneleri internal standart ilavesinden sonra dietileter ile ekstre edilmiş, daha sonrada orto fosforik asit ile ekstre edilerek C<sub>8</sub> kolon kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen standart eğriler için limit değeri 0-15 ng/mL olarak bulunmuştur.

Kaye ve arkadaşlarının(5) yaptığı çalışmada ise, doksazosinin metabolitlerinin insan, fare, sıçan ve köpeklerin plazma, idrar ve feçesleri içerisindeki miktar tayinleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve ince tabaka sıvı kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Plazma ve idrar numuneleri seyreltilmeden Amberlite XAD-2 reçine kolonda katı faz ekstraksiyonundan sonra plaklara uygulanmıştır. Feçes numuneleri ise ya direkt yada metanol ile ekstre edildikten sonra plaklara uygulanmıştır. 37 °C de 1 gece bekletildikten sonra idrar ve feçes üç ayrı çözücü sistemi kullanılarak silika plaklara tatbik edilerek ince tabaka kromatografisiyle analiz edilmiştir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde çalışmalar radyokimyasal dedektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ince tabaka kromatografisinde kullanılan numuneler kullanılmış, mobil faz olarak %45 metanol, 0.1 M tetrametil etilendiamin ve fosforik asit içeren pH 6 tamponu kullanılmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1 DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Aletler

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarda kullanılan doksazosin standartları Pfizer İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.(İstanbul)'dan sağlanmıştır. Etiketinde % 99.97 (susuz) saflıkta olduğu belirtilmektedir. DeneYlerde kullanılan diğer kimyasal maddeler E.Merck(Almanya) firmasının üretimi olup analitik saflıktadırlar. Bu nedenle standartlar ve diğer kimyasal maddeler üzerinde herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmaya gerek duyulmamıştır.

Kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtilmiştir:

NaOH	KBr
KOH	Silikajel 60 GF254
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Metanol
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Etanol
HCl	Dimetilsülfoksit
CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O	Grafit (toz)
KCl	

Kullanılan bidistile su laboratuvarımızda elde edilip tüm deneysel çalışmalarda bu su kullanılmıştır.

Çalışmalarda miktar tayininde kullanılan ve doksazosin içeren tabletler yerel eczanelerden sağlanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan aletler

Polarografik çalışmalarda PRG-5 model polaropulse polarograf, EGMA hücre standı, çalışma elektrodu olarak damlayan cıva, karşılaştırma elektrodu olarak doYgun KCl içerisinde Ag/AgCl ve yardımcı 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) tarafımızca 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 spektrofotometre kullanılarak 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.

Erime noktası tayinleri Gallenkamp Melting Point Apparatus ile yapılmıştır.

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

Yüksek basınçlı sıvı kromatografik çalışmalarda Ultracarb 5 ODS (20) model, UV visible dedektör, (25x0.46 cm, I.D, 5  $\mu$ ) kolon ve Shimadzu C- R4A entegratör kullanılmıştır.

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

### 3.2. Saflık Kontrolleri ve Maddenin Tanınması ile İlgili Çalışmalar

#### 3.2.1. Erime noktası tayini

Erime noktası tayini maddenin saflığının belirlenmesinde önemli bir parametredir. Erime noktası tayini için madde kapilere konulmuş, iyice tabana oturması sağlandıktan sonra aletin haznesine konularak erime noktasına ulaştığı sıcaklık gözlenmiştir.

#### 3.2.2. IR spektrumu

IR spektrumunu kaydetmeye yetecek miktardaki doksazosin agat havanda KBr ile karıştırıldıktan sonra disk haline getirilmiş ve IR spektrumu kaydedilmiştir.

#### 3.2.3. NMR spektrumu

20 mg dolayında standart doksazosin  $d_6$ -dimetilsülfoksitte çözülerek proton NMR'ı

çekilmiştir. Koşullar Şekil 4.2 deki spektrum üzerinde belirtilmektedir.

### 3.3. Doksazosin Çözeltilerinin Dayanıklılığının İncelenmesi

Literatürlerde doksazosinin dayanıklılığı ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanamamıştır. Bu nedenle asidik ve bazik ortamda hazırlanan çözeltilerin bir hafta süreyle polarogramları alınmış, limit akım değerlerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Buda hazırlanan doksazosin çözeltileriyle en az bir hafta süreyle çalışılabileceğini göstermektedir.

Yinede hazırlanan çözeltiler koyu renkli bir şişede saklanarak, kullanılmadığı sürelerde buzdolabında tutulmuştur.

### 3.4. İnce Tabaka Kromatografisinde Yapılan İşlemler

İnce tabaka kromatografisi çalışmaları için 27.7 mg dolayında standart doksazosin tartılmış ve su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Böylece stok çözelti  $1.01 \times 10^{-3}$  M olarak hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden hareketle  $1.01 \times 10^{-4}$  -  $5.05 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında bir seri çözelti hazırlanmıştır. Her bir çözeltilerden 5 µL olacak şekilde silikajel 60 GF<sub>254</sub> ile kaplanmış 20x20 cm'lik cam plaklar üzerine uygulanmıştır. Hareketli faz olarak metanol: kloroform: asetik asit (70:30:1) sistemi kullanılmıştır. Sürüklenme (developman) sürecinde hareketli faz 10 cm yürütüldükten sonra plaklar tanktan çıkarılıp kurutulmuş, UV lambası altında 254 nm'de lekeler incelenmiştir. Densitometrik ölçümler 330 nm'de yapılmıştır.

### 3.5. Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonla Yapılan İşlemler

Doksazosinin potansiyometrik ve kondüktometrik titrasyonunu yapabilmek için 40 mg dolayında doksazosin tartılmış üzerine 10 mL alkol ve 40 mL su ilave edilerek analize hazırlanmıştır. Bu hazırlanan çözelti Potasyum hidrojen ftalat ile ayarlanmış 0.0490 N NaOH çözeltisi kullanılarak kondüktometrik ve potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Bu titrasyon işlemi sırasında ilave edilen sodyum hidroksit çözeltisinden sonra pH'da meydana gelen değişiklikler kaydedilmiştir.

### 3.6. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisinde Yapılan İşlemler

Doksazosin'in yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle yapılan çalışmalarının floresans dedektör ve radyokimyasal dedektör kullanılarak gerçekleştirildiği görülmektedir(2-5). Bu çalışma, UV dedektör kullanılarak yapılmıştır. Bunun için 8 mg dolayında doksazosin tartılmış 5 mL metanolde çözülerek su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Böylece derişim  $1.46 \times 10^{-3}$  M olarak belirlenmiştir. İzokrotik sistemde, mobil faz olarak %80 metanol kullanılarak, akım hızı 1 mL.dak<sup>-1</sup> olacak şekilde ayarlanarak 10 µL'lik uygulama yapılmıştır. UV visible bölgede 330 nm dalga boyunda UV dedektör kullanılarak kromatogramlar kaydedilmiştir.

### 3.7. UV Spektrofotometrik Çalışmalarda Yapılan İşlemler

#### 3.7.1. Stok çözelti

UV spektrofotometrik çalışmalar için yine polarografik çalışmalarda kullanılan ve aynı şekilde hazırlanan  $2.02 \times 10^{-4}$  M'lık stok doksazosin çözeltisi kullanılmıştır. Seyreltmeler bu stok çözeltiden hareketle yapılmıştır. Seyreltme çözeltisi ve kör (blank) olarak su kullanılmıştır

#### 3.7.2. UV spektrofotometrik koşullar

UV spektrofotometrik ölçümlerde slit aralığı 1 nm olarak alınmış, spektrumlar 190-400 nm dalga boyu aralığı taratılarak alınmıştır. Orjinal absorbans spektrumu için absorbans değerleri 0 ile 2.000 arasında olacak şekilde seyreltmeler yapılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. I. türev spektrumu için absorbans aralığı  $\pm 0.30$ , II. türev spektrumu içinde  $\pm 0.055$  olarak değiştirilmiş, diğer parametreler aynı kalarak spektrumlar kaydedilmiştir.

### 3.8. Polarografik Çalışmalardaki İşlemler

#### 3.8.1. Stok çözelti



27.7 mg doksazosin tartılmış, 50 ml lik bir balon jöjeye aktarılmış ve su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin çalışmamız için oldukça derişik olduğu belirlendiğinden bir kez daha seyreltilmesi uygun görülmüş ve bu çözeltiden 10 mL alınarak su ile 50 mL'ye tekrar seyreltilmiştir. Böylece polarografik çalışmamızda kullanılacak stok çözelti  $2.02 \times 10^{-4}$  M olarak belirlenmiştir.

### 3.8.2. Tampon çözeltiler

Polarografik çalışmalarda kullanılan tampon çözeltiler için 1 M derişimlerde asetat ve fosfat tamponları stok olarak hazırlanmıştır. pH 1.05-5.5 arası için asetat tamponları ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  tuzundan hareketle), pH 6.04-9.5 arası için de fosfat tamponları ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  tuzlarından hareketle) hazırlanmıştır. Doksazosin pH 7.08 den sonra polarogram vermediğinden daha yüksek pH'larda tampon çözeltilerin kullanılmasına gerek duyulmamış, pH ayarlamalarında derişik HCl ve doygun KOH kullanılmıştır.

### 3.8.3. Taşıyıcı elektrolit sistemi

Polarografik çalışmalarda taşıyıcı elektrolit olarak 0.2 M KCl ve 0.2 M tampon çözelti ve % 20 etanol içeren sulu sistem kullanılmıştır.

### 3.8.4. Polarografik çalışma koşulları

Doksazosin'in 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 doksazosin derişiminin sınır akımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, tersinirlik ve elektrokapiler eğri gibi olaylar da incelenmiştir. Bu parametreler incelenerek en uygun çalışma koşulları saptanmıştır.

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

Doğru akım polarografisi ile elektroanalitik incelemeler yapılmış ve kalibrasyon

grafiği çizilmiş, miktar tayinleri ise diferensiyel puls polarografisi (DPP), aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ve aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.9. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanışı

Farmakopelerde doksazosin için henüz bir monograf bulunmamaktadır. Bu nedenle, doksazosin için farmakopelerin önerdiği genel işlemler uygulanmıştır. Yerel eczanelerden sağlanan ve tek bir firmanın 2 ve 4 mg olarak üretilen ilaçları kullanılmıştır.

Farmakopelerde önerilen genel işlemlere göre her bir üründen 10 tablet içeriği tartılarak, tabletler porselen bir havanda toz edilmiş ve renkli şişelerde saklanmıştır. Miktar tayinlerinde toz haline getirilmiş bu örnekler kullanılmıştır.

#### 3.9.1. İnce tabaka kromatografik yöntem ile preparatlardaki doksazosinin tayini

Bu amaçla, Bölüm 3.4 de verilen koşullarda çalışılmıştır. Son derece iyi bir kalibrasyon eğrisi elde edildiği ve aynı derişim ve koşullardaki standart doksazosin ile süzülmemiş doksazosin preparat içerikleri aynı plak üzerine eşit miktarlarda uygulanmıştır. Lekelerin sürüklenmesi sonucunda lekelerin UV lambası altında oldukça düzenli görünmelerine karşın, densitometrik ölçümlerde büyük farklılıklar elde edilmiştir. Bunun nedeninin süzülmeden uygulanan doksazosin çözeltilerinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Bu verilere dayanarak ince tabaka kromatografik yöntem ile doksazosin çözeltilerinin süzülmesi sonucu yapılan miktar tayinlerinde oldukça iyi sonuçlar alınabileceği düşünülmektedir.

Bu sonuçlara göre doksazosinin TLC densitometrik tayininin süzülmüş doksazosin çözeltilerinde duyarlık ve seçicilikle uygulanabileceği söylenebilir.

#### 3.9.2. Potansiyometrik ve kondüktometrik titrasyon ile tabletlerdeki doksazosin tayini

Bölüm 3.5 de belirtildiği gibi 40 mg dolayında doksazosin 0.0490 N NaOH çözeltisi ile titre edilebilmekte ve dönüm noktası kolaylıkla hesaplanabilmektedir. Ancak tabletlerdeki doksazosin miktarının 2 ve 4 mg gibi oldukça az olması titrantın 10 kez daha seyreltik olmasını gerektirmektedir. Bu koşullarda titrasyon eğrisinin şeklide

değişeceğinden dönüm noktası duyarlı bir şekilde hesaplanamamaktadır. Bu koşullar altında kondüktometrik ve potansiyometrik titrasyon ile doksazosinin miktar tayininin olası olmadığı söylenilebilir. Bu şekilde yapılan potansiyometrik titrasyonlarda 30-40 mg dolayında standart doksazosin ve 0.05 N dolayında NaOH çözeltisi kullanılarak % 94-99.11 arasında değışen sonuçlar elde edilebilmektedir. Aynı koşullarda gerçekleştirilmiş kondüktometrik yöntemle elde edilen sonuçlar ise % 90-94 olarak bulunmuştur. Tüm bu bulgulara göre potansiyometrik ve kondüktometrik yöntemlerin doksazosinin tayininde kullanılacağı söylenilebilir. Ancak tabletler içindeki doksazosin miktarının (2-4 mg) gibi oldukça düşük olması bu yöntemlerin doksazosinin miktar tayinlerinde kullanılmasını güçleştirmektedir.

### 3.9.3. UV spektrofotometrik yöntem ile preparatlardaki doksazosin tayini

Bu yöntemin kullanıldığı çalışmalarda, polarografik çalışma için hazırlanan süzölmüş örneklerden yararlanılmıştır. Polarografik çalışmalarda kullanılan süzölmüş çözeltinin 3 mL'si 100 mL'ye tamamlanmış ve 330 nm'de absorbansları ölçölmüştür. Kör çözelti (blank) olarak su kullanılmıştır.

Preparatlar içerisinde sadece doksazosin 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 doksazosin miktarı hesaplanmıştır.

### 3.9.4. Polarografik teknikler ile preparatlardaki doksazosin tayini

Polarografik çalışmalar için ortalama tablet ağırlığına yakın duyarlı tartımlar alınmış, 50 mL'lik balon jöjeye aktarılmıştır. Doksazosinin suda çözöndüğü göz önüne alınarak çözöcö olarak su kullanılmış ve tüm doksazosinin çözönebilmesi için magnetik bir karıştırıcı yardımıyla 10 dakika karıştırılması sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan çözelti iki eşit parçaya bölünmüş ilk 25 mL'lik kısım ucuna bir filtre takılmış şırıngadan süzölmüştür. İkinci 25 mL'lik kısım ise süzölmeden kullanılmıştır. Süzölmüş ve süzölmemiş çözeltiilerden 3'er mL alınarak polarografik hücreye konmuş ve üç ayrı teknik ile elde edilen kalibrasyon denklemleri kullanılarak doksazosin miktarları hesaplanmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Doksazosinin Saflık Kontrolleri ve Tanınması ile İlgili Çalışmalar

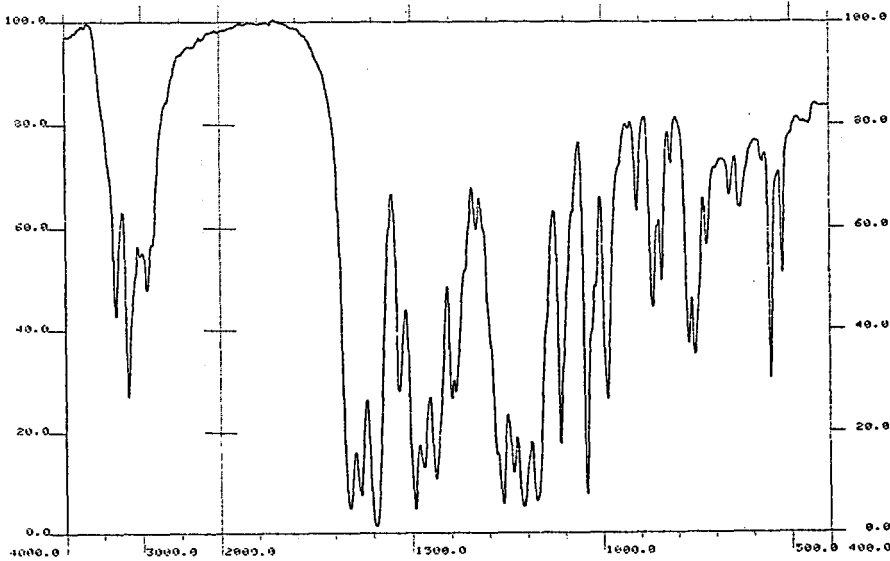
#### 4.1.1. Doksazosinin erime noktası tayini

Standart doksazosin mesilat için yapılan erime noktası tayininde, doksazosinin 280-285 °C arasında bozularak eridiği gözlenmiştir. Literatürlerde doksazosinin erime noktasına ait bir veriye rastlanmamıştır. Ancak doksazosin hidroklorür'ün erime noktası 289-290 °C olarak verilmiştir. Bu değerle bizim bulgularımız ile birbirine oldukça yakınlık göstermektedir.

#### 4.1.2. Doksazosinin IR spektrumu

Doksazosinin KBR içerisinde alınmış IR spektrumu Şekil 4.1'de verilmektedir. Şekil 4.4.1 incelendiğinde gözlenen karakteristik piklerin yorumu şöyledir.

3176 $\text{cm}^{-1}$	(Aromatik hidrokarbonlar)
3338 $\text{cm}^{-1}$	(N-H)
1661 $\text{cm}^{-1}$	(C=O)
1632- 1531 $\text{cm}^{-1}$	(C=N, C=C)
1209-1042 $\text{cm}^{-1}$	(C-O)
1492-1438 $\text{cm}^{-1}$	(S=O) gerilmelerine ait olduğu görülmektedir.

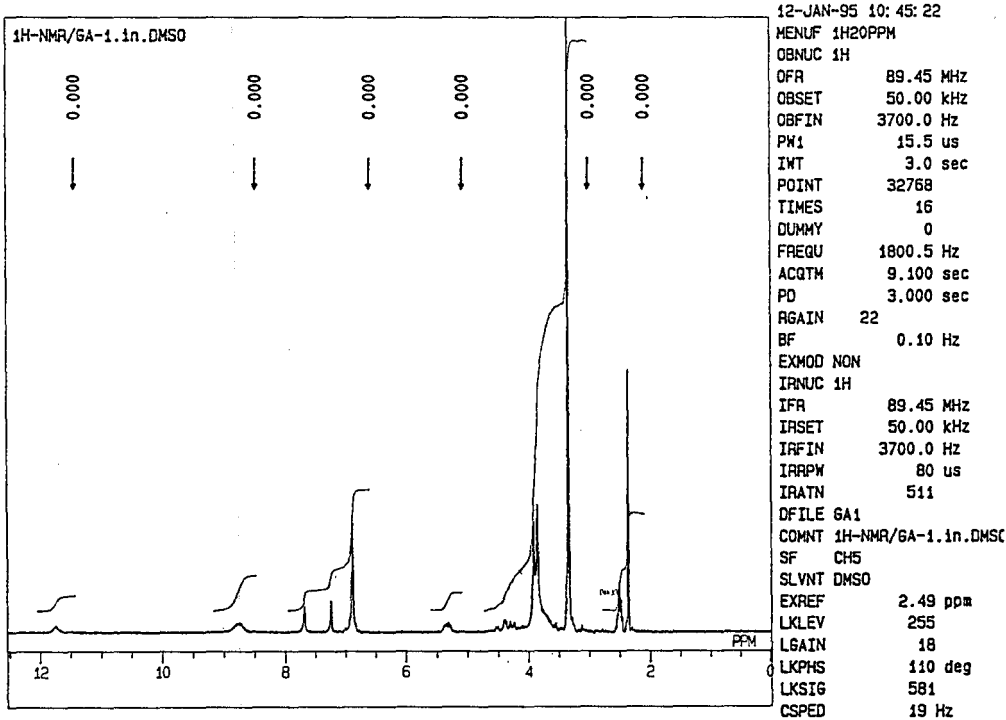


Şekil 4.1. Doksazosinin IR spektrumu

### 4.1.3. Doksazosinin Proton NMR Spektrumu

Doksazosinin proton NMR spektrumu Şekil 4.2. de verilmektedir, bu spektrum incelendiğinde;

2.530-2.448 ppm arasında görülen pikler  $d_6$ -dimetilsülfoksit içerisindeki dötorolanmamış şekle ait piklerdir. 3.750-3.839 ppm arasında görülen pikler  $CH_3O$  protonları ile ilgilidir. 3.903-4.094 piperazin halkası  $CH_2$  ve metoksi protonlarına, 4.224-4.388 ppm arası benzodioksanın  $CH_2$  protonlarına, 5.299-5.335 ppm benzodioksanın  $CH$  protonlarına, 6.867-6.884 benzodioksanın aromatik gruplarına, 7.25 ppm' de kinazolin grubunun aromatik  $CH$  , 7.67 ppm' de kinazolin grubunun aromatik  $CH$  , 8.727 ppm' de  $NH_2$ , 11.737 ppm' de  $CH_3SO_2H$  protonlarına ait pikler görülmektedir.



Şekil 4.2. Doksazosinin proton NMR spektrumu

#### 4.2. Doksazosinin İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografik çalışmalar için  $1.01 \times 10^{-3}$  M doksazosin çözeltisi hazırlanmış,  $1.01 \times 10^{-4}$  -  $5.05 \times 10^{-4}$  M derişimlerde hazırlanan bu çözeltilerden 60 GF 254 ile kaplanmış plaklara 5  $\mu$ L'lik uygulamalar yapılarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir.  $[A(\text{pik alanı}) = 10076096 C(\text{mg.mL}^{-1}) - 542.2 ; r=0.9998]$  gibi oldukça iyi bir korelasyon elde edilmiştir. Hareketli faz olarak metanol:kloroform:asetik asit (70:30:1) sistemi kullanılmıştır. Densitometrik ölçümler 330 nm de yapılmıştır. Doksazosin içeren tabletlerden  $3.03 \times 10^{-4}$  M olacak şekilde süzülmeden hazırlanan çözeltilerden plaklara 5  $\mu$ L'lik uygulamalar yapılmış ve standart doksazosin çözeltisinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Ancak bölüm 3.9.1 de belirtildiği gibi lekelerin oldukça düzensiz olduğu gözlenmiştir. Elde edilen verilere göre bu yöntemin süzölmüş tablet çözeltilerine uygulandığında iyi sonuç alınabileceği söylenebilir.

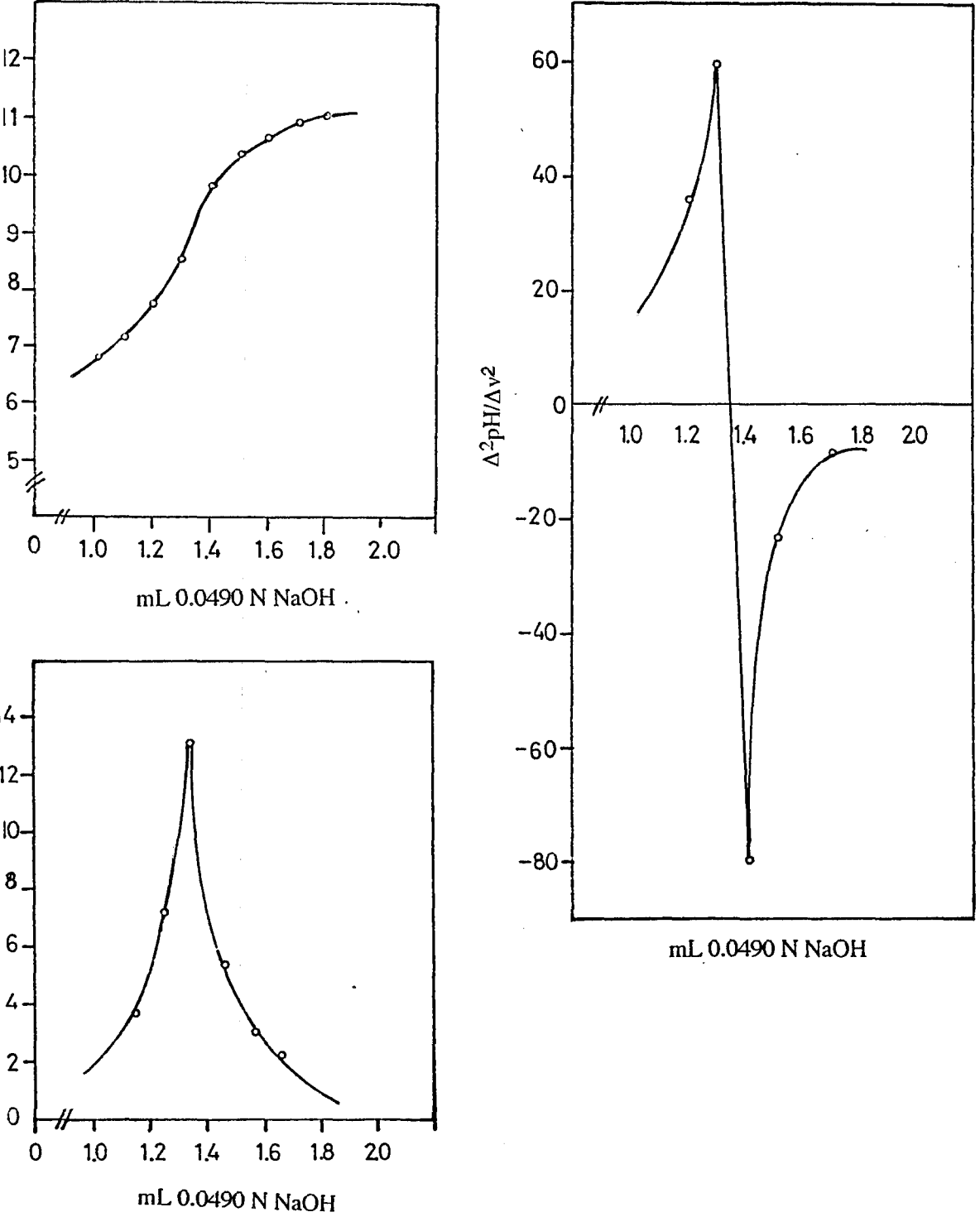
#### 4.3. Doksazosinin Potansiyometrik ve Kondüktometrik Titrasyonu

Doksazosin'in sudaki çözünürlüğü oldukça iyidir. Buna karşın, yinede çözünürlüğü arttırmak amacıyla %20 oranında alkol kullanılmıştır. Doksazosinin sulu çözeltisi zayıf asidik özellik göstermektedir. Bu nedenle, zayıf bir bazla titre edilmesi uygun görölmüştür. Bu amaçla, 40 mg dolayında standart doksazosin duyarlı olarak tartılmış bir behere alınarak 10 mL alkol ve 40 mL su eklenerek analize hazırlanmıştır. pH-metrenin ve kondüktometrenin kalibre edilmesinden sonra hem pH ölçüm elektrodu hemde iletkenlik hücresi birlikte titrasyon kabına batırılarak her iki sinyal birlikte okunmuştur. Böylece bu iki titrasyon aynı koşullarda gerçekleştirilerek sonuçların birbirleri ile karşılaştırılma olanağı sağlanmıştır..

Doksazosin çözeltisi, potasyum hidrojen ftalat ile ayarlanan 0.0490 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Her baz ilavesinden sonra pH değerinin sabit kalması için belirli bir süre beklenmesi gerekmektedir. Başlangıçta berrak olan çözeltinin baz ilavesi sonucu belli pH değerinin üzerinde bulandığı gözlenmiştir. Buda bazik ortamda doksazosinin çözünürlüğünün azaldığını göstermektedir.

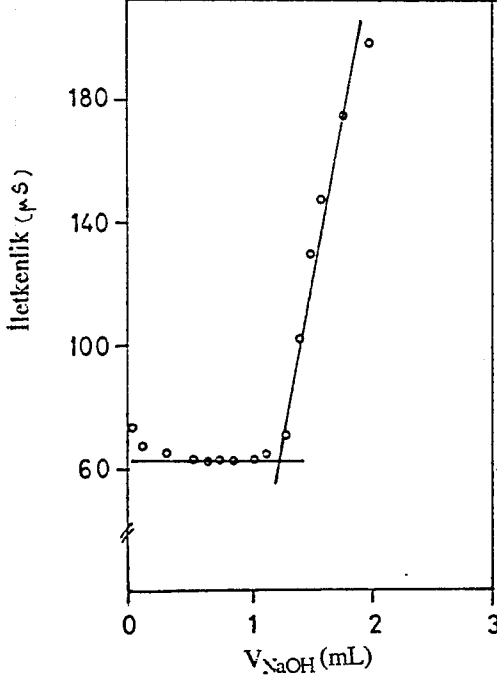
Titrasyon sürecinde, eklenen baz hacmine karşı hem pH hemde iletkenlik değerleri aynı anda kaydedilmiştir. Potansiyometrik yöntem için eklenen baz hacmine karşı okunan pH değerleri grafiğe geçirildiğinde Şekil 4.3 de görölen sigmoid biçimli tipik bir titrasyon

eğrisi elde edilmiştir. Dönüm noktası bu sigmoid eğrinin değerlendirilmesi ile I. ve II. derece türevleri kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.3. Doksazosinin potansiyometrik titrasyon eğrisi

Kondüktometrik yöntemin değerlendirilebilmesi için titrasyon sürecinde okunan iletkenlik değerleri üzerinde hacim düzeltmesi yapıldıktan sonra, eklenen baz hacmine karşı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 4.4 den de görüleceği gibi kondüktometrik titrasyonda da beklenen farklı eğimdeki iki doğru elde edilmiştir. Ancak dönüm noktası potansiyometrik titrasyonda elde edilen sonuca oranla farklılık göstermektedir.

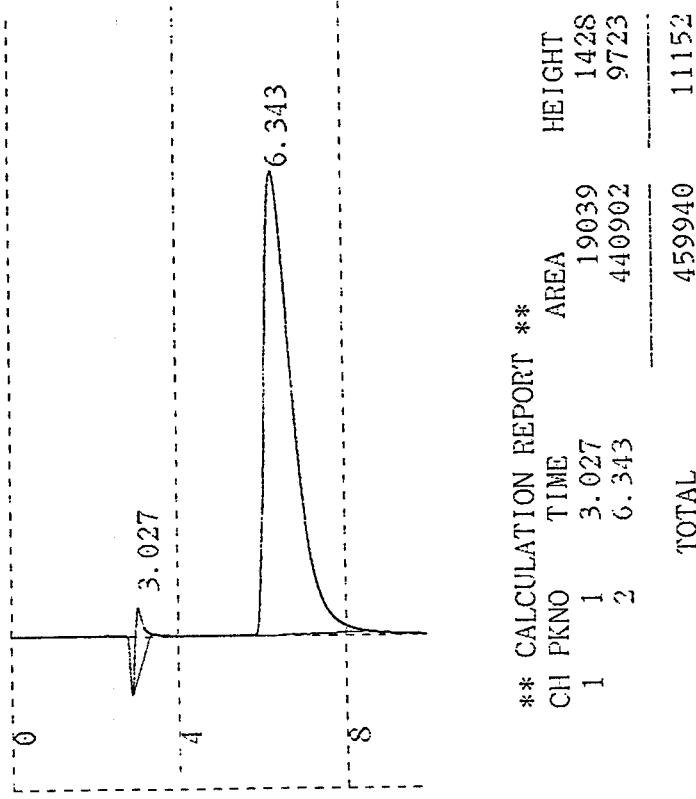


Şekil 4.4. Doksazosinin kondüktometrik titrasyon eğrisi

#### 4.4. Doksazosinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile İncelenmesi

Doksazosinin HPLC kromatogramının kaydedilmesi sürecinde,  $1.46 \times 10^{-3}$  M doksazosin çözeltisinin izokrotik sistemle  $C_{18}$  kolonda %80 metanol:su karışımı kullanarak 330 nm de UV dedektör ile ayırımı sağlanmıştır. Elde edilen verilere göre, doksazosinin alıkonma süresinin 6.2 dakika,  $N = 2 \pi (t_M h/A)^2$  eşitliğinden hesaplanan teorik plaka sayısının 120 000 dolayında olduğu bulunmuştur. Bu eşitlikte, N teorik plaka sayısını,  $t_M$  alıkonma süresini, h pik yüksekliğini ve A pik alanını simgelemektedir. Doksazosinin yukarıda verilen koşullarda kaydedilen kromatogramı Şekil 4.5 de sunulmaktadır.

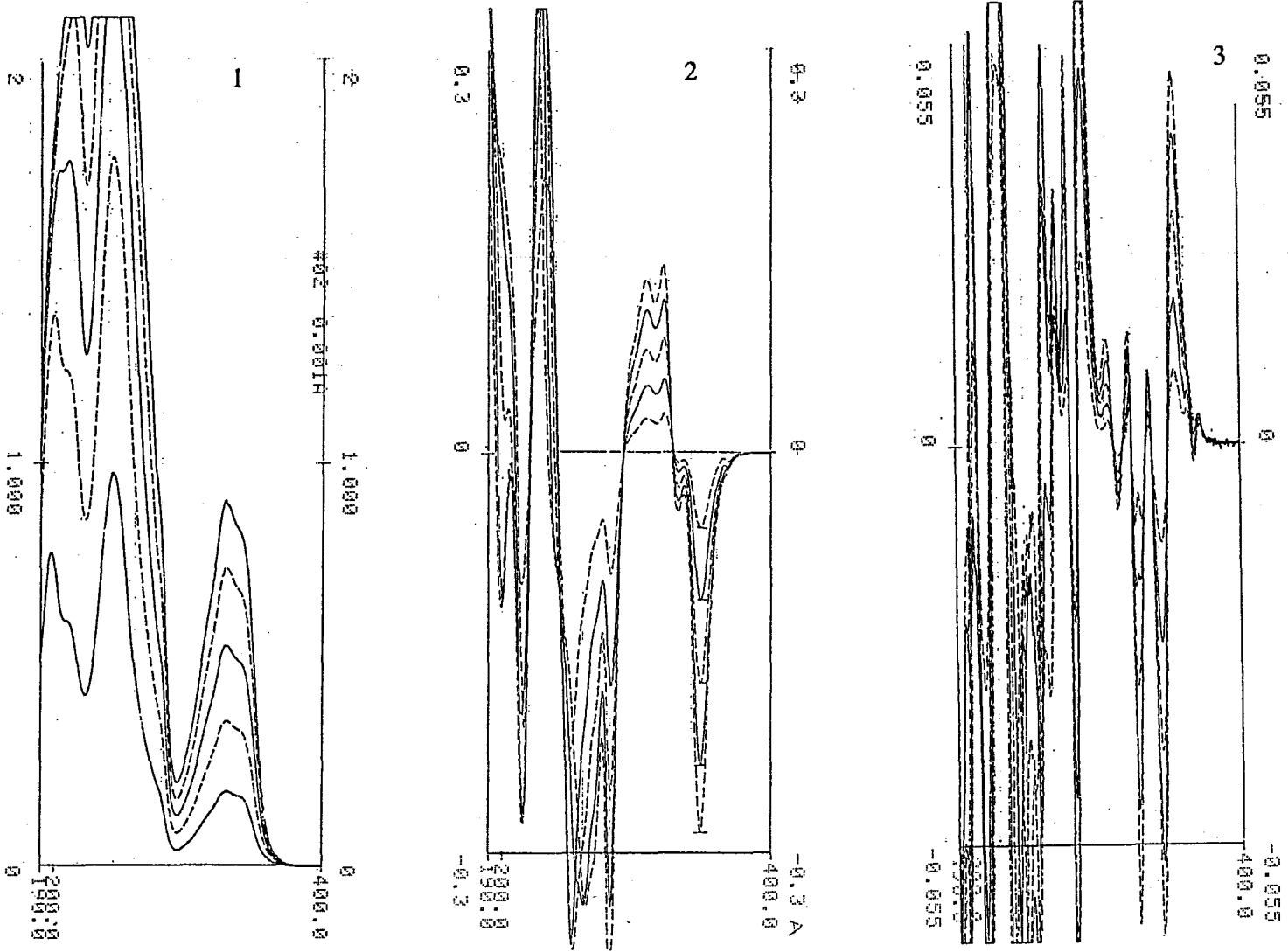




Şekil 4.5. Dokszosinin HPLC kromatogramı

#### 4.5. Dokszosinin UV Spektral Karakteristiklerinin İncelenmesi

Dokszosinin UV spektral karakteristikleri  $4.04 \times 10^{-5}$  M'lık sulu çözeltisi kullanılarak 190-400 nm ler arasında; özgün, birinci ve ikinci türev eğrileri kaydedilmiştir. Özgün spektrum için 0-2.000, birinci derece türev eğrisi için  $\pm 0.3$ , ikinci türev eğrisi için  $\pm 0.055$  absorbans aralıkları kullanılmıştır. Kaydedilen spektrumlar Şekil 4.6 da verilmektedir.



Şekil 4.6. Doksazosinin Artan Derişimlerde Özgün (1),I.Türev (2), II. Türev (3) Spektrumları

Doksazosinin UV spektral karakteristikleri Çizelge 4.1 de verilmektedir

Çizelge 4.1.Doksazosinin UV spektral karakteristikleri

		Orijinal absorbands spektrumu	
Dalga boyu (nm)		329.9	
Eğim C(M)		9084.15	
Kesim		0.0031	
Korelasyon katsayısı		0.9999	
$\epsilon_{ort}$ (abs.L.mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )		9012.70	
I.Türev spektrumu			
Dalga boyu (nm)		270 (+)	350 (-)
Eğim C(M)		1396.03	2871.28
Kesim		0.0002	0.0028
Korelasyon katsayısı		0.9998	0.9999
$\epsilon_{ort}$ (abs.L.mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )		1391.08	2811.21
II.Türev spektrumu			
Dalga boyu (nm)		352 (+)	340 (-)
Eğim C(M)		504.95	707.42
Kesim		0.0001	0.00055
Korelasyon katsayısı		0.9989	0.9996
$\epsilon_{ort}$ (abs.L.mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )		509.68	692.91

Çizelge 4.1 deki derişim-absorbans ilişkilerinden çıkarılan kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları gözönüne alındığında özgün ve I.türev spektrumları için belirtilen tüm dalga boylarında II. türev için ise 352 nm'de pozitif absorbans bölgesinde, Lambert-Beer yasasına uyan doğrusallıklar olduğu görülmektedir. II.türev spektrumunun diğer piklerinde ise korelasyon katsayısının biraz daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuç bize bazı noktaların doğrusallıktan belirli ölçüde saptığını göstermektedir. Bu küçük sapmalar aletin okuma duyarlılığından ve ölçüm farklılıklarından kaynaklanabilmektedir. Bütün bunlar gözönüne alındığında II. türev spektrumunda Lambert-Beer yasasına uyduğu söylenebilir.

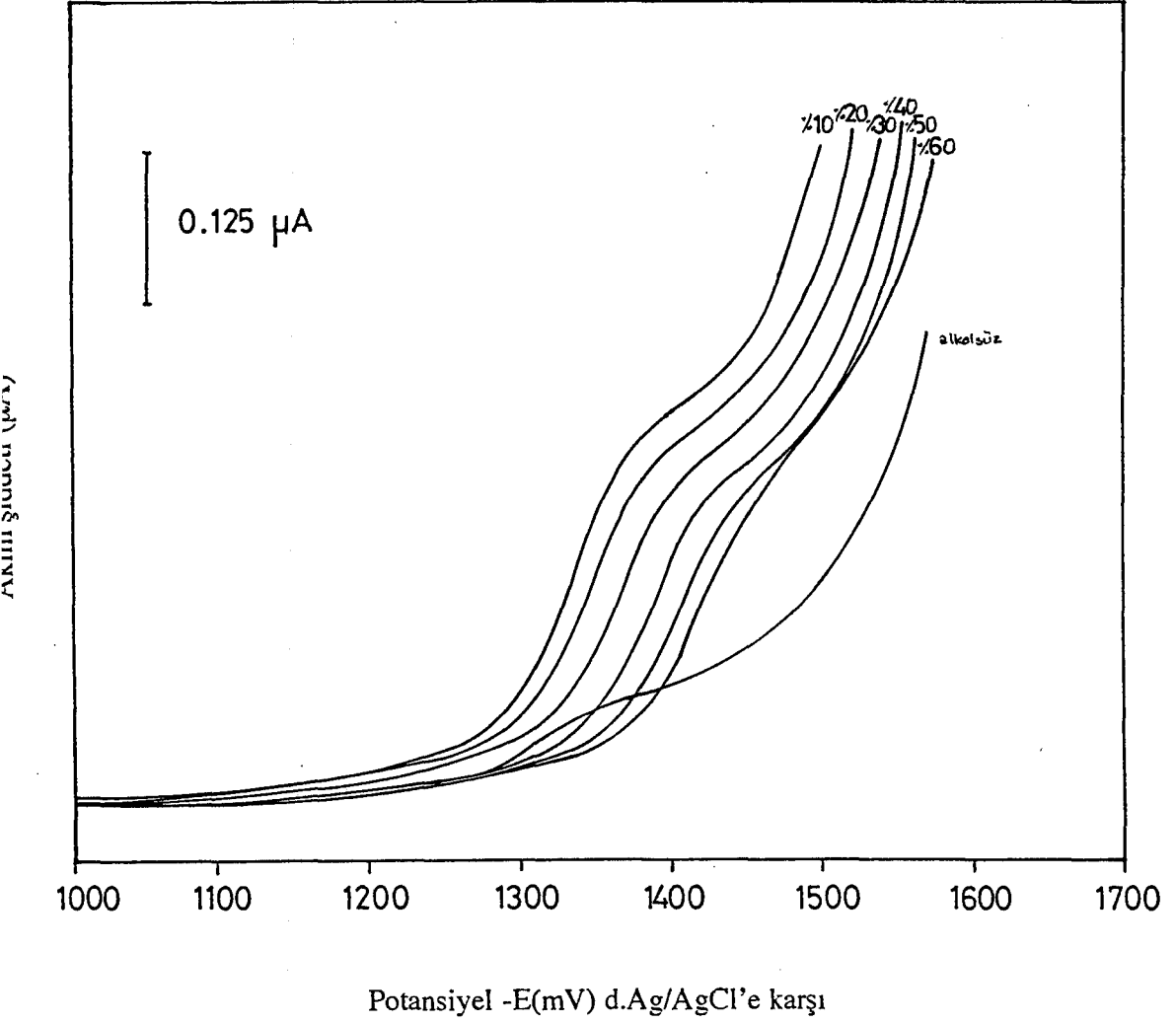
Doksazosinin UV spektrofotometrik yöntemle tayini için Çizelge 4.1 de verilen karakteristiklerdeki tüm piklerin analitik açıdan değerlendirilebilir olduğu, belirtilen derişim aralığında duyarlı tayinlerin yapılabileceği sonucuna varılmaktadır.

#### 4.6. Doksazosinin Polarografik Davranışlarının İncelenmesi

Yapılan bir çalışmada asidik ortamda kinazolin grubunun 2 elektron vererek indirgendiği belirtilmektedir. Bu çalışmadan yola çıkılarak doksazosinin yapısında bulunan kinazolin grubunun da aynı şekilde 2 elektronla indirgendiği saptanmış, çalışmaları bu doğrultuda gerçekleştirilmiştir(37).

##### 4.6.1 Çözücü ve Taşıyıcı Elektrolit Bileşenlerinin Polarografi Üzerine Etkileri

Doksazosin'in sudaki çözünürlüğünün iyi olması ve zayıf asit karakteri sergilemesinden dolayı, sulu bir elektrolit çözeltisi kullanılması amaçlanmıştır. Çözünürlüğü arttırabilmek için alkol kullanmanın iyi olacağı düşüncesinden hareketle çeşitli derişimlerde etanol kullanılarak polarogramlar kaydedilmiştir. Çeşitli yüzdelerde etanol içeren 0.2 M KCl ve pH 3.33 tamponunda  $1.01 \times 10^{-4}$  M doksazosin polarogramları Şekil 4.7 de verilmektedir.



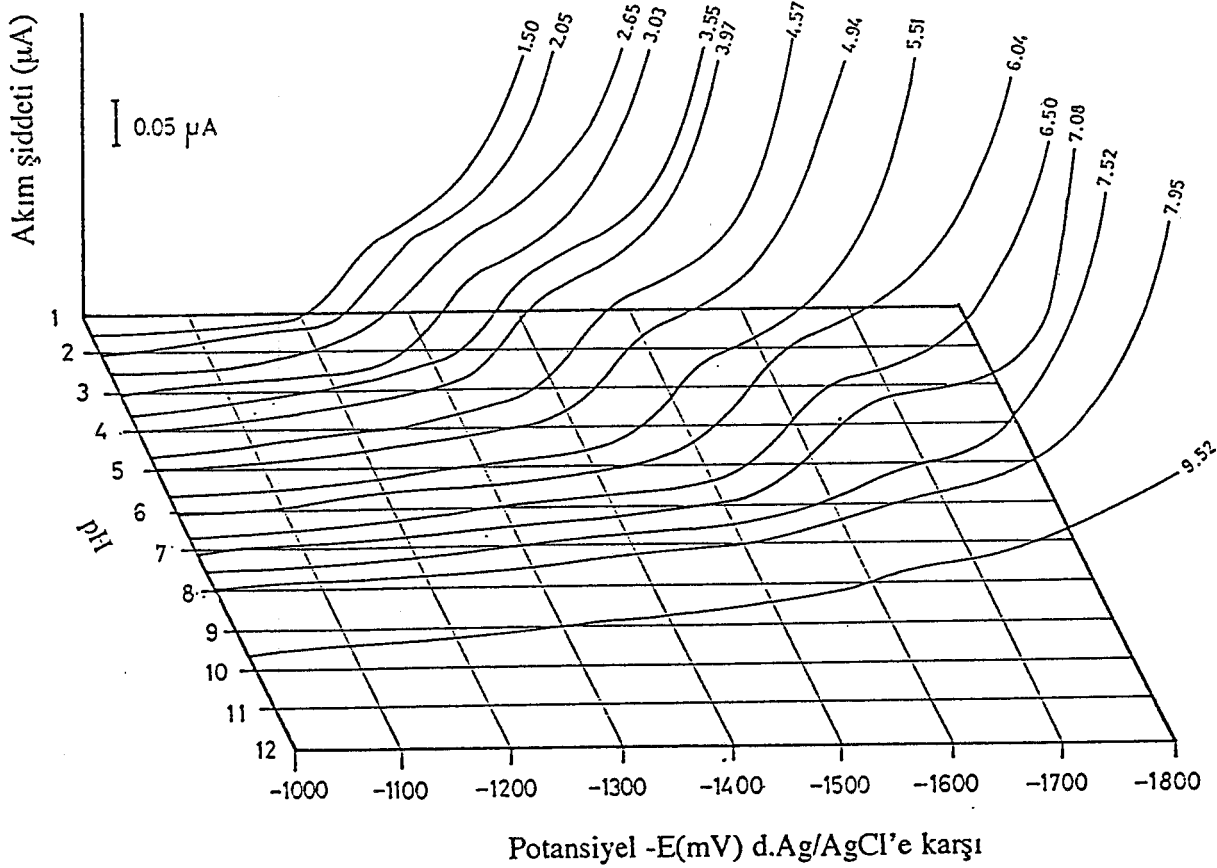
Şekil 4.7. Etanol derişimlerinin limit akım üzerine etkisi

Şekil 4.7 den görüldüğü gibi morfolojik açıdan en iyi polarogramın % 20 etanol içeren çözeltide elde edildiği görülmektedir. Taşıyıcı elektrolitin diğer bileşenleri için; 0.2 M KCl sabit tutulmuş, çeşitli tampon sistemleri değişik oranlarda incelenmiş sonuçta 0.2 M tampon derişimi ile asetat ve fosfat tamponlarının en uygun olduğu bulunmuştur.

Bu bulgulara bağlı olarak taşıyıcı elektrolit bileşiminin %20 etanol 0.2 M KCl ve 0.2 M tampon içeren çözelti olduğu belirlenmiştir. 0.2 M KCl, 0.2 M tampon ve %20

etanolden oluşan taşıyıcı elektrolit içerisindeki  $6.02 \times 10^{-5}$  M derişimdeki doksazosinin - 1000 mV başlangıç potansiyeli,  $4 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  potansiyel tarama hızı, 0.8 s damlama süresi,  $1000 \text{ din} \cdot \text{cm}^{-2}$  basınçta ve çeşitli pH'larda doğru akım polarogramları kaydedilmiştir. Hücre içindeki çözeltinin pH'ı kayıttan önce ve sonra okunarak pH'ların değişip değişmediği gözlenmiştir. Polarogram öncesi ve sonrası pH ları arasındaki değişiklik 0.01-0.04 birim kadar olmaktadır. Bu durum ortamın pH ının çalışma süresince sabit kaldığını ve tamponlamanın iyi olduğunu göstermektedir. pH 1.50-6.04 aralığı asetat tamponları, 6.50-9.52 aralığı içinde fosfat tamponları kullanılmıştır. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.8 de üç boyutlu olarak gösterilmiştir.

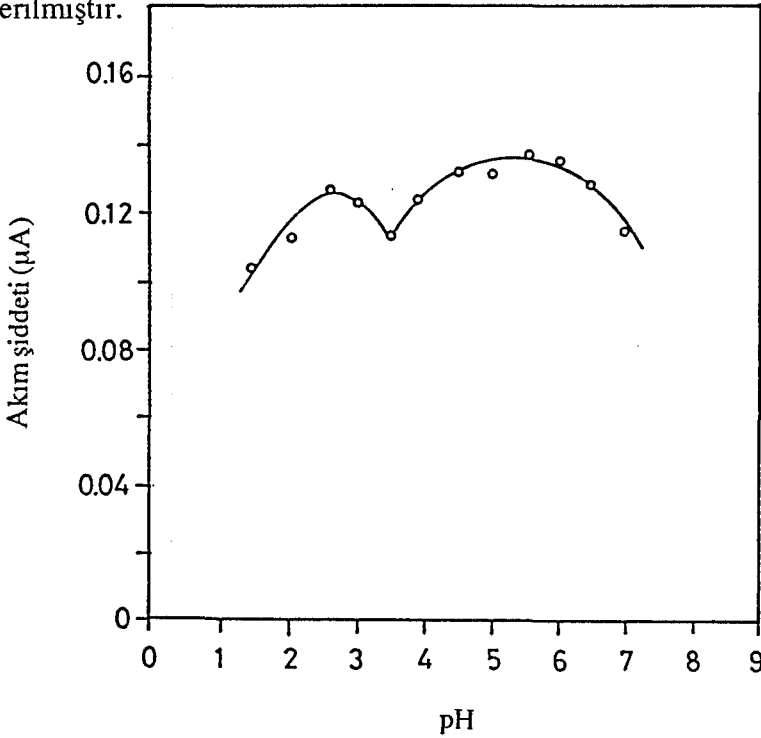
Şekil 4.8 incelendiğinde pH 1.50 de beliren tek basamaklı eğrilerin pH 7.08'e kadar gayet güzel bir morfoloji gösterdiği görülmektedir. PH 7.08'den sonra eğrinin kaybolmaya başladığı ve pH 9.52'de yok olduğu gözlenmektedir.



Şekil 4.8. Doksazosinin çeşitli pH lardaki doğru akım polarogramları

#### 4.6.2. pH-sınır akımı ilişkisi

pH'a karşı sınır akımlarının değişim grafiği Şekil 4.9 da verilmektedir. pH daki küçük değişmelerle sınır akımların büyük ölçüde değiştiği gözlenmektedir. Doksazosinin bazik ortamda çözünürlüğünün az olması nedeniyle asidik ortamda çalışılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalarda pH 3.55 dışındaki diğer pH larda kalibrasyona gidildiğinde kaymalar gözlenmiştir. Bu nedenle tüm çalışmaların pH 3.55 de yapılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.9. pH a karşı sınır akımlarının değişimi

#### 4.6.3. pH-yarı dalga potansiyelleri ilişkisi

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

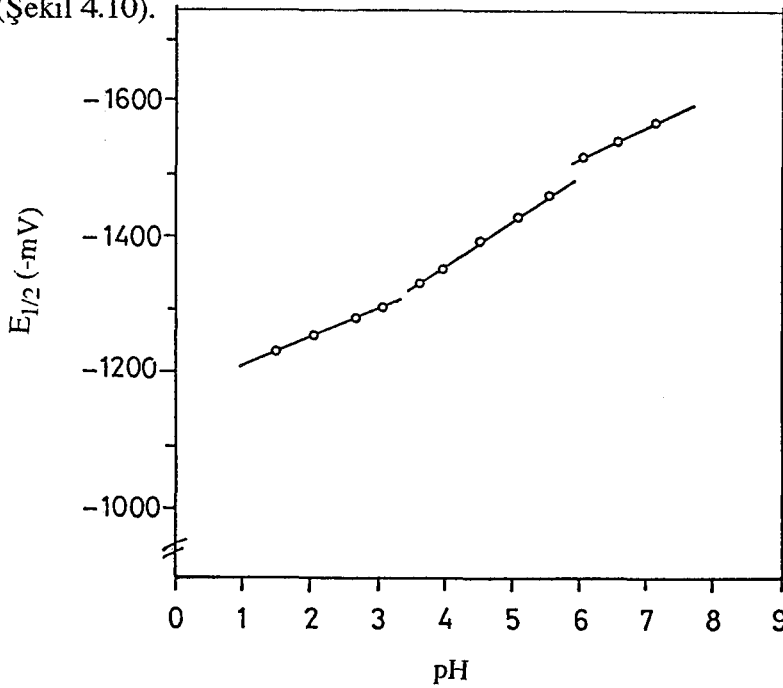
pH'a karşı yarı dalga potansiyel değerleri grafiğe geçirildiğinde pH 1.50-3.03, 3.55-5.51 ve 6.04-7.08 aralığında lineer üç doğru elde edilmiştir. Bu doğruların denklemleri sırasıyla;

$$E_{1/2}(\text{mV}) = -38.76\text{pH}-1179.78 ; r=0.9984,$$

$$E_{1/2}(\text{mV}) = -68.11\text{pH}-1088.58 ; r=0.9942$$

$$E_{1/2}(\text{mV}) = -46.49\text{pH}-1242.78 ; r=0.9969$$

şeklindedir. Bu verilere dayanarak yarı dalga potansiyellerinin pH'a bağlı olarak değiştiği söylenebilir(Şekil 4.10).



Şekil 4.10. pH a karşı yarı-dalga potansiyellerinin değişimi

#### 4.6.4. pH- $\alpha$ değerleri ilişkisi

pH a karşı  $\alpha$  grafiği Şekil 4.11 de verilmektedir. Şekildende görüldüğü gibi hesaplanan  $\alpha$  değerlerinin pH dan bağımsız olarak 3 dolayında bulunduğu gözlenmiştir.

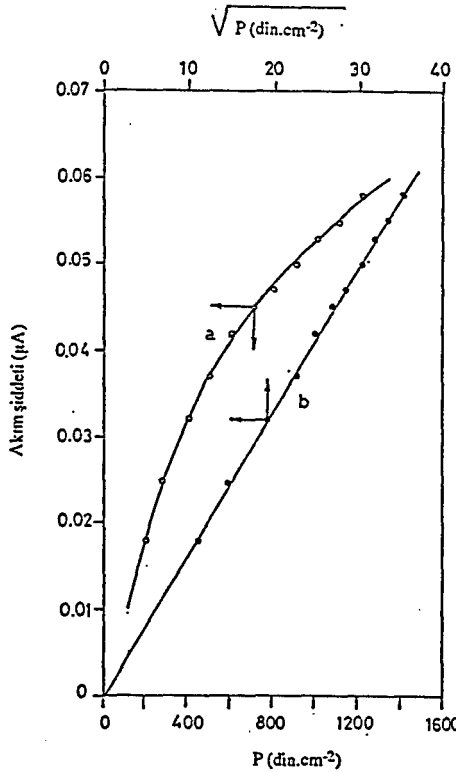
Yukarıdaki bulgulardan yararlanarak doksazosinin polarografik davranışlarının ve parametrelerinin incelenmesinin pH 3.55 dolayında %20 etanol 0.2 M KCl ve 0.2 M asetat tamponunda yapılmasına karar verilmiştir.





#### 4.6.5. Basınç-sınır akımı ilişkisi

Cıva üzerine uygulanan basınç, polarografik akımı kontrol eden faktörlerin belirlenmesinde oldukça önemli bir parametredir(38). Polarografik akımı kontrol eden faktörler adsorpsiyonel, diffüzyonel, kinetik ve katalitik akımlardır. Adsorpsiyon kontrollü olaylarda sınır akımının değişmesi basınç ile, diffüzyon kontrollü akımlarda ise basıncın karekökü ile doğrusal ilişkilidir. Katalitik ve kinetik akımlarda ise sınır akımları cıva üzerine uygulanan basınçtan bağımsızdır. Bu düşüncelerden hareketle  $4.04 \times 10^{-5}$  M doksazosin çözeltisinin pH 3.55'de %20 etanol 0.2 M KCl ve 0.2 M asetat tampon sistemi içerisinde -1400 mV sabit potansiyelde, ve 0.8 s damlama süresi koşullarında, oksijeni uzaklaştırıldıktan sonra 200-1400  $\text{din.cm}^{-2}$  aralığında değişen basınçlar uygulanarak sınır akımları ölçülmüştür. Sınır akımlarının uygulanan basınç ve basıncın karekökü ile olan ilişkileri Şekil 4.12 de gösterilmiştir. Şekil 4.12 incelendiğinde sınır akımının değişimi uygulanan basıncın karekökü ile  $i_s(\mu\text{A}) = 1.622 \times 10^{-3} \sqrt{P(\text{din.cm}^{-2})} - 0.00137$ ;  $r=0.9987$  denklemine uyan doğrusallık göstermektedir. Sınır akımı-basınç ilişkisinde ise ark tipi bir eğri elde edilmektedir. Bu sonuçlar asidik ortamda polarografik akımı kontrol eden faktörün diffüzyonal olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12. Basınç-sınır akımı ilişkisi

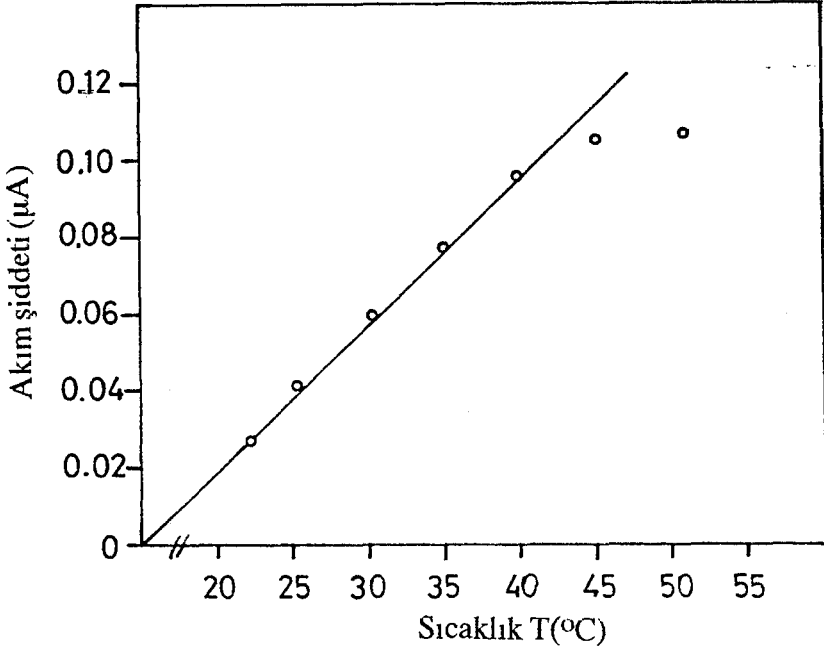
#### 4.6.6. Sınır akımı-damlama süresi ilişkisi

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 sonuçlar da gözlenebilmektedir. Sınır akımları, polarografik akımı etkileyen faktörlerden diffüzyonel 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(38).

pH 3.55 de polarografik akımı etkileyen faktörün ne olduğunun damlama süresine göre araştırılması amacıyla  $1.01 \times 10^{-4}$  M doksazosin çözeltisinin 0.2 M KCl, 0.2 M asetat tamponu içeren taşıyıcı elektrolit sistemi içerisinde -1400 mV sabit potansiyelde, 1000  $\text{din.cm}^{-2}$  basınçta ve 0.6-1.6 s aralığında değişen damlama sürelerinde sınır akımları ölçülmüştür. Damlama sürelerinin -1/3 2/3 ve 1/6' ıncı kuvvetlerine karşı ölçülen sınır akımı değerleri grafiğe geçirildiğinde sadece 1/6' ıncı kuvvetine karşı çizilen grafiğin doğrusal olduğu diğerlerinde ise bir doğrusallık gözlenmediği saptanmıştır. Ancak çalışma pH' ı olarak belirlenen 3.55 de sistemi etkileyen faktörün diffüzyonel olduğu basınç ilişkisi incelendiğinde de saptandığından bu iki veri birleştirildiğinde burada da sistemin diffüzyon kontrollü olduğu sonucu çıkarılmaktadır.

#### 4.6.7. Sıcaklığın sınır akımı üzerine etkisi

Sıcaklığın sınır akımı üzerine etkisi de polarografik akımın karakterini belirlemek için yararlanılabilen bir parametredir. Diffüzyon kontrollü sistemlerde sınır akımı artışının derece başına yaklaşık %1.3 olması gerektiği verilmektedir(38).  $4.04 \times 10^{-5}$  M doksazosinin ve taşıyıcı elektrolitin -1400 mV sabit potansiyelde pH 3.55' de %20 etanol 0.2 M KCl 0.2 M asetat tamponu içerisinde 0.8 s damlama süresi ve 1000  $\text{din.cm}^{-2}$  basınçta 22-45 °C arasındaki sıcaklıklarda sınır akımları ölçülmüştür. Elde edilen değerler Şekil 4.13 deki grafikte gösterilmiştir. Sınır akımı ile sıcaklık arasında  $i_s(\mu\text{A})=3.7 \times 10^{-3} T(^{\circ}\text{C}) - 0.0537$  ;  $r=0.9993$  ilişkisi elde edilmiştir. Burada derece başına sınır akımı artışı, denklemin eğiminden görüleceği gibi %0.37' dir. Bu değer diffüzyon kontrollü sistemler için verilen %1.3 değerine yakındır. Elde edilen bu değer belirtilen çalışma koşullarında, polarografik akımı etkileyen faktörün oldukça diffüzyonel olduğunu, fakat belli bir dereceden sonra sapma gösterdiğinden dolayı büyük ölçüdede diğer faktörlerin etkisi altında olduğunu göstermektedir.



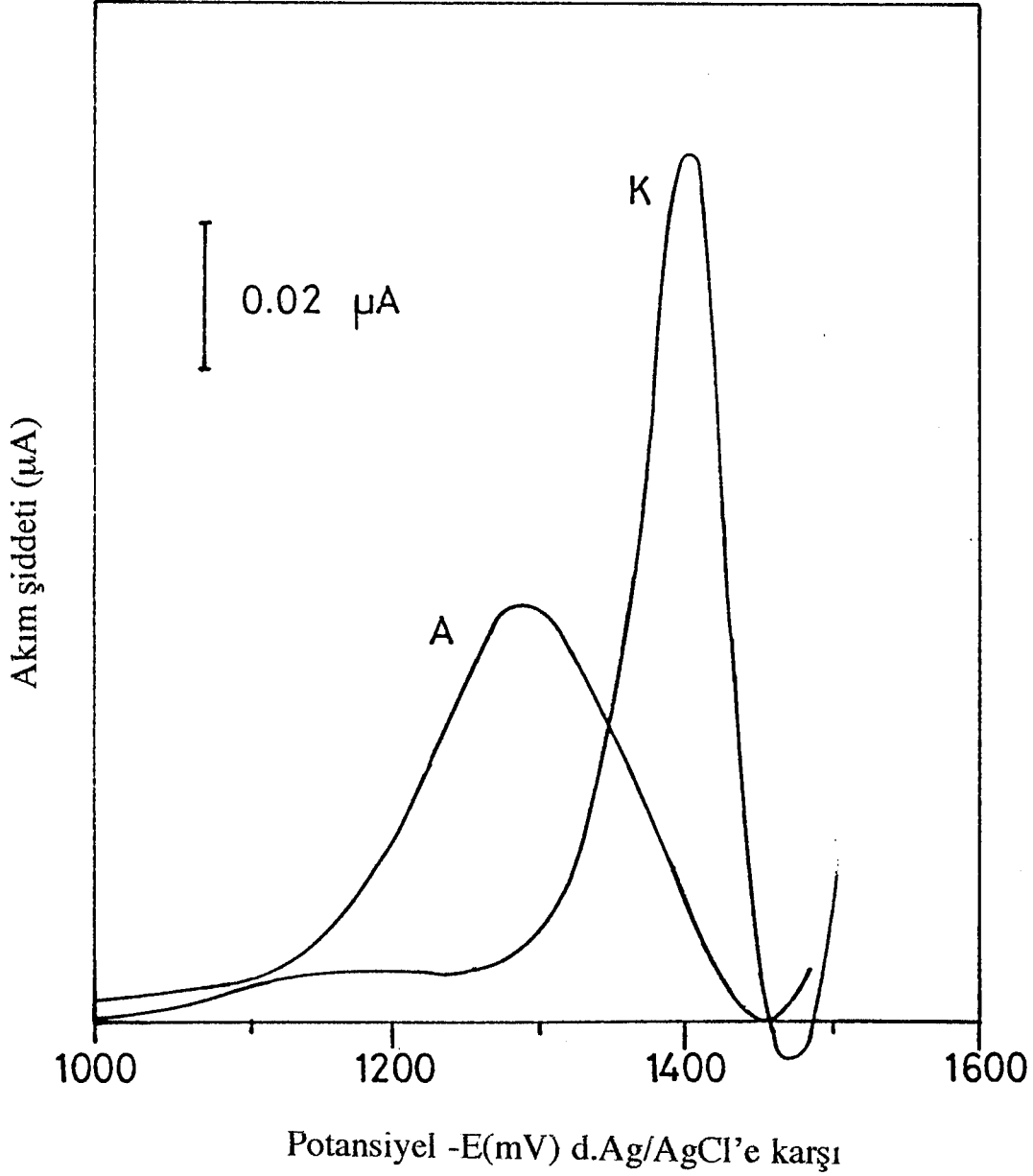
Şekil 4.13. Sınır akımlarının sıcaklıkla değişimi

#### 4.6.8. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerine etkisi

Tüm polarografik koşullar sabit kalarak %20 etanol 0.2 M KCl, 0.2 M asetat tamponunda pH 3.55 de 0.8 s damlama süresi, 1000 din.cm<sup>-2</sup> basınçta, başlangıç potansiyeli -600 mV olmak üzere  $6.06 \times 10^{-5}$  M doksazosin çözeltisinin 4-40 mV.s<sup>-1</sup> potansiyel tarama hızı aralığında doğru akım polarogramları kaydedilmiştir. Potansiyel tarama hızının sınır akımı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

#### 4.6.9. Tersinirliğin incelenmesi

Tersinirliğin incelenmesinde Birke ve arkadaşlarının(39) önerdiği yol izlenmiştir. Buna göre  $6.06 \times 10^{-5}$  M doksazosin çözeltisinin, çalışma koşullarında -1000 mV ile 1450 mV potansiyel aralığında katodik yönde ve -1450 mV ile -1000 mV potansiyel aralığında anodik yönde kaydedilen diferensiyel puls polarogramları Şekil 4.14 de verilmiştir.



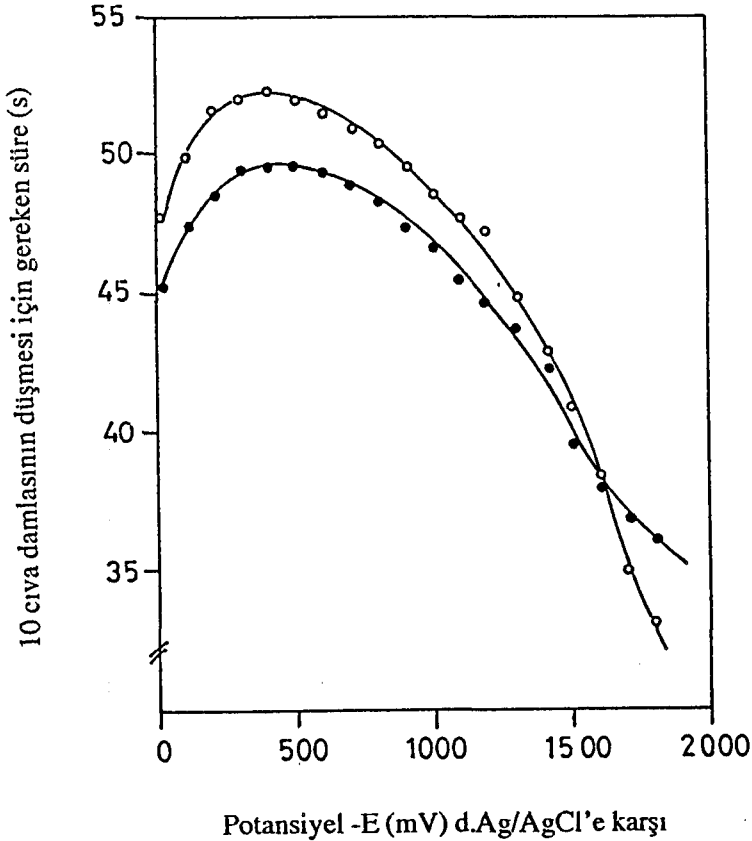
Şekil 4.14. Doksazosinin katodik (K) ve anodik (A) yöndeki diferensiyel puls polarogramları

Katodik yöndeki diferensiyel puls polarogramında pikin maksimum noktasının karşılık geldiği potansiyel  $E_p^c = -1400 \text{ mV}$ , pik akımı ise  $I_p^c = 0.118 \mu\text{A}$ , anodik yöndeki diferensiyel puls polarogramında ise  $E_p^a = -1290 \text{ mV}$ ,  $I_p^a = 0.057 \mu\text{A}$ , olarak

ölçülmüştür.  $|E_p^c - E_p^a|$  değeri ile  $(I_p^a / I_p^c)$  oranı hesaplanarak değerlendirme yapılmıştır.  $|E_p^a - E_p^c| = 110 \cong |\Delta E|$  ve  $(I_p^a / I_p^c) = 0.48 < 1$  gerçekleştiği görülmüştür. Buna göre; belirtilen çalışma koşullarında reaksiyonun tersinmez (irreversible) olarak gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

#### 4.6.10. Elektrokapiler eğrinin incelenmesi

Cıva-elektrolit çözeltisi arayüzeyinde, cıva potansiyeli ile yüzey gerilim arasındaki ilişkiyi gösteren eğriye “elektrokapiler eğri” denilmektedir. Doksazosinin yüzey gerilimi üzerindeki etkisinin araştırılması amacıyla  $4.04 \times 10^{-5}$  M derişimdeki çözeltinin pH 3.55 de ve belirtilen taşıyıcı elektrolit sistemindeki elektrokapiler eğrisi incelenmiştir. Doksazosin çözeltisinin ve taşıyıcı elektrolit içerisindeki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılmasından sonra ,  $1000 \text{ din.cm}^{-2}$  basınç altında, 0 ile  $-1800 \text{ mV}$  potansiyel aralığında, her  $100 \text{ mV}$ 'luk potansiyel artışı değerlerinde 10 cıva damlasının serbestçe düşmesi için gereken süreler ölçülmüştür. Elde edilen değerlere göre çizilmiş olan, taşıyıcı elektrolitin ve doksazosin çözeltisinin elektrokapiler eğrileri Şekil 4.15 de gösterilmektedir.



Şekil 4.15. Doksazosinin (●) ve taşıyıcı elektrolitin (○) elektrokapiler eğrileri

Şekil 4.15 den görüldüğü gibi, doksazosin içeren çözeltinin elektrokapiler eğrisinin, taşıyıcı elektrolitin elektrokapiler eğrisinin daha altında yer aldığı gözlenmektedir. Her iki çözelti içinde elde edilen eğrilerin -400 mV dolayında maksimum değere eriştikleri, -1600 mV dolayında ise bu eğrilerin çakıştığı görülmektedir. Bu verilerde doksazosinin yüzey gerilimini bir ölçüde değiştirdiğini göstermektedir.

#### 4.6.11. Derişimin sınır akımı üzerine etkisi

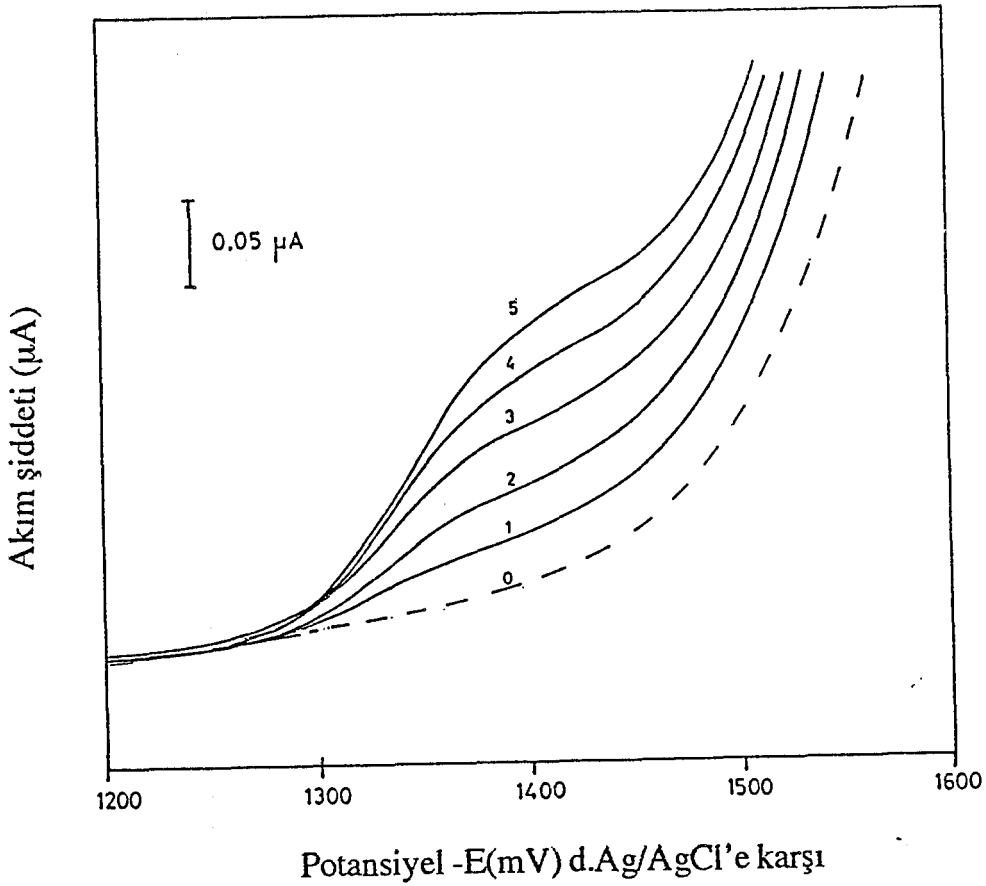
Doksazosinin polarografik davranışlarının incelenmesi sırasında belli bir derişimdeki çözelti için pH'ın, basıncın, damlama süresinin, potansiyel tarama hızının, sıcaklığın etkileri araştırılmış ve tayinler için en uygun koşulların saptanmasına çalışılmıştır. Derişimin sınır akımı üzerindeki etkisinin araştırılması dört ayrı polarografik teknik kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, diğer polarografik koşullar sabit kalarak  $2.02 \times 10^{-5}$  -  $1.01 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında ve pH 3.55'de çalışılmıştır. Her dört polarografik teknik için kullanılan diğer çalışma koşulları Çizelge 4.3 de topluca verilmiştir.

Çizelge 4.3. Derişim-sınır akımı ilişkisinin incelenmesinde kullanılan tekniklerdeki çalışma koşulları

	DCP	DPP	SIAPP	SCAPP
Langmuir potansiyeli -E (mV)	-1000	-1000	-1000	-1000
Damlama süresi t (s)	0.8	0.8	0.8	0.8
Basınç P (din.cm <sup>-2</sup> )	1000	1000	1000	1000
Potansiyel tarama hızı v (mV.s <sup>-1</sup> )	4	10	10	10
Duyarlık R (µA)	1.25	0.5	1.25	1.25

#### 4.6.11.1. Doğru akım polarografisi (DCP) ile yapılan çalışmalar

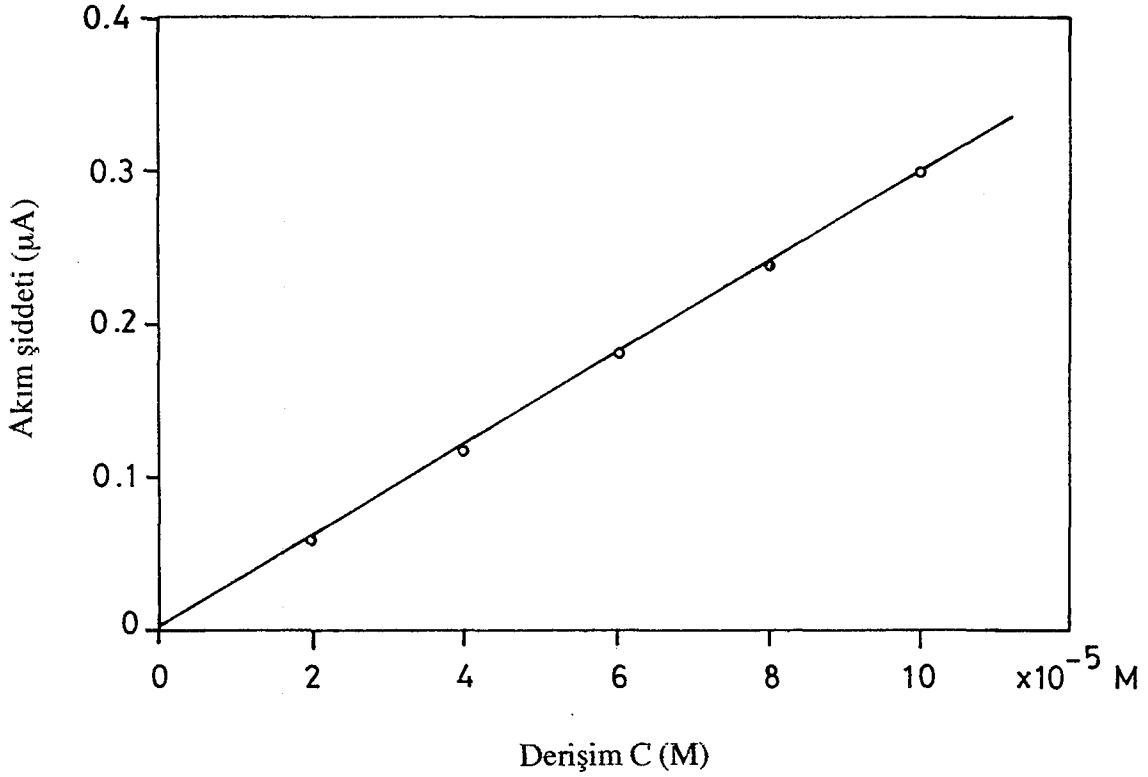
Çizelge 4.3 de belirtilen doğru akım polarografisi koşullarında  $2.02 \times 10^{-5}$ - $1.01 \times 10^{-4}$  M derişim aralığındaki doksazosin çözeltilerinin ve taşıyıcı elektrolitinin doğru akım polarogramları alınmıştır. Artan derişimlerde elde edilen polarogramlar Şekil 4.16 da gösterilmiştir. Şekil 4.16 incelendiğinde -1400 mV'da sınır akımına ulaşıldığı görülmektedir. Derişim ile sınır akımları arasındaki en iyi korelasyon katsayısına sahip ilişkinin -1400 mV'da olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.16. Artan derişimlerde doksazosinin doğru akım polarogramları



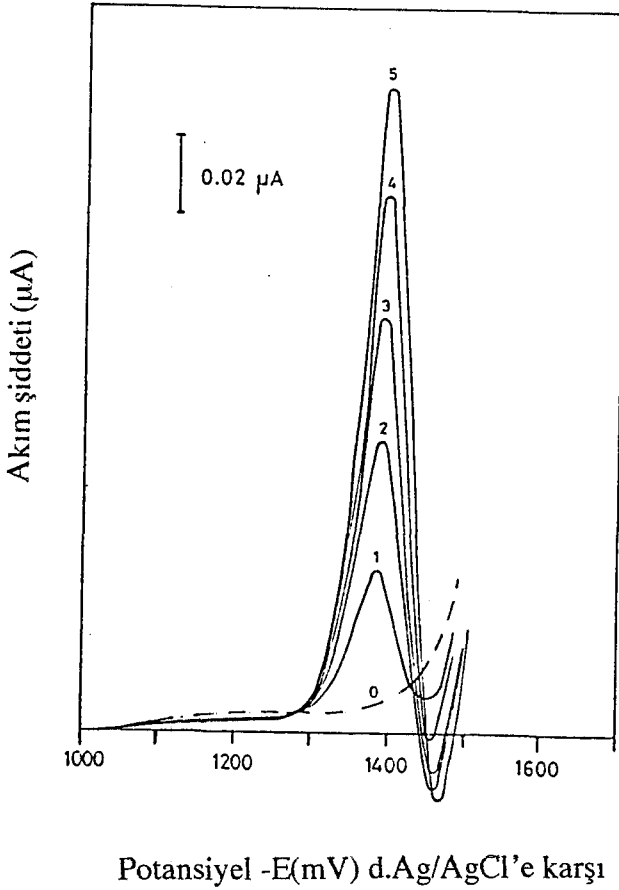
Bu potansiyelde sınır akımları ölçülüp derişime karşı grafiğe geçirildiğinde Şekil 4.17 deki kalibrasyon grafiği elde edilmektedir. Doğru akım polarografisi ile -1400 mV'da doksazosin derişimi ile sınır akımı arasında  $i_s(\mu A) = 2999.4 C(M) + 8.58 \times 10^{-4}$  ;  $r = 0.9998$  son derece iyi bir ilişki elde edilmiştir.



Şekil 4.17. Doksazosinin doğru akım polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği

#### 4.6.11.2. Diferensiyel puls polarografisi (DPP) ile yapılan çalışmalar

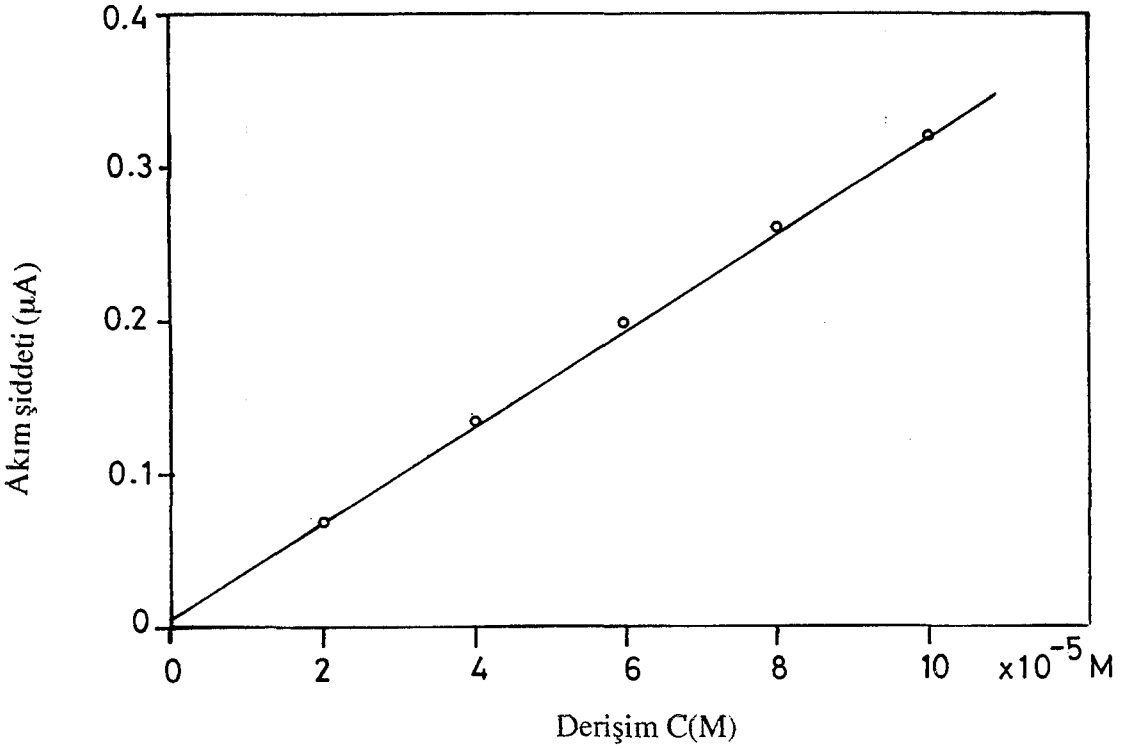
Çizelge 4.3 de belirtilen koşullarda  $2.02 \times 10^{-5}$  -  $1.01 \times 10^{-4}$  M derişim aralığındaki doksazosin çözeltilerinin diferensiyel puls polarogramları kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.18 de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Artan derişimlerdeki doksazosinin diferensiyel puls polarogramları

Şekil 4.18 incelendiğinde akım artışlarının -1300 mV dolayından başlayıp, -1390 mV'da maksimum değere ulaştığı ve bir pik halini aldığı görülmektedir. Doksazosinin derişimi ile pik yükseklikleri arasındaki ilişki Şekil 4.18 deki kalibrasyon grafiğini vermektedir. Burada  $i_{\text{pik}} (\mu\text{A}) = 3099.0 C(\text{M}) + 9.6 \times 10^{-3}$  ;  $r = 0.9998$  gibi oldukça iyi bir ilişki elde edilmiştir.

Diferensiyel puls polarogramlarından görüldüğü gibi, derişime bağlı olarak pik potansiyellerinde bir kayma olmadığı görülmektedir. Elde edilen bulgulara dayanarak bu derişimlerde polarografik akımı etkileyen faktörün adsorpsiyon kontrollü olmadığı sonucuna varılmaktadır. Diferensiyel puls polarogramlarına ait kalibrasyon grafiği Şekil 4.19 da verilmektedir.

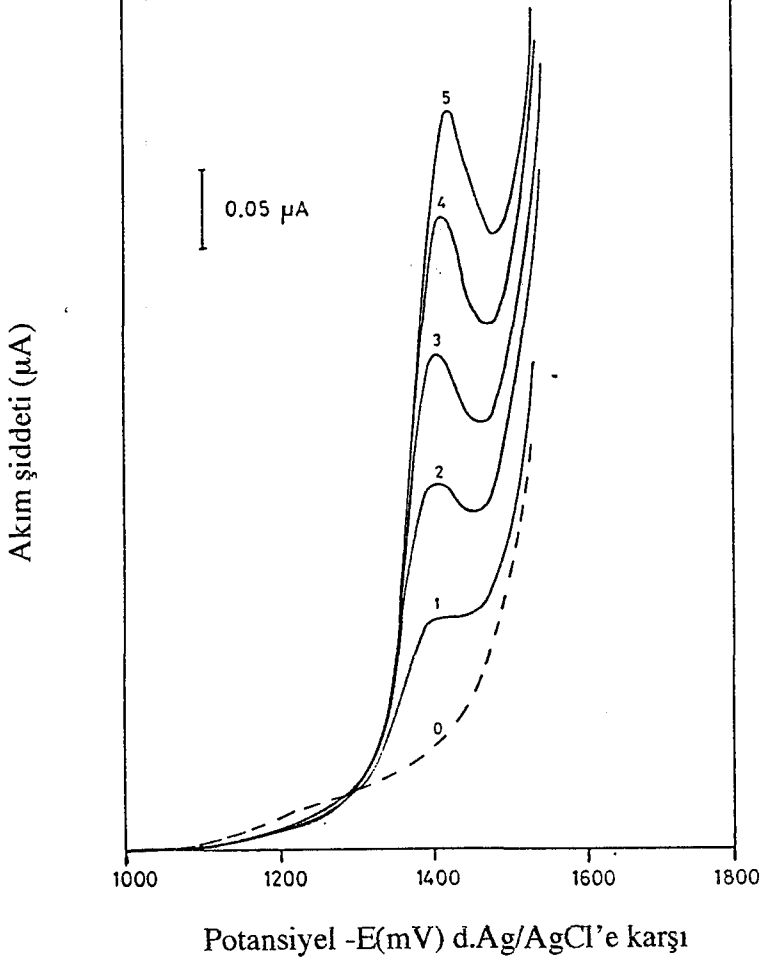


Şekil 4.19. Doksazosinin diferensiyel puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği

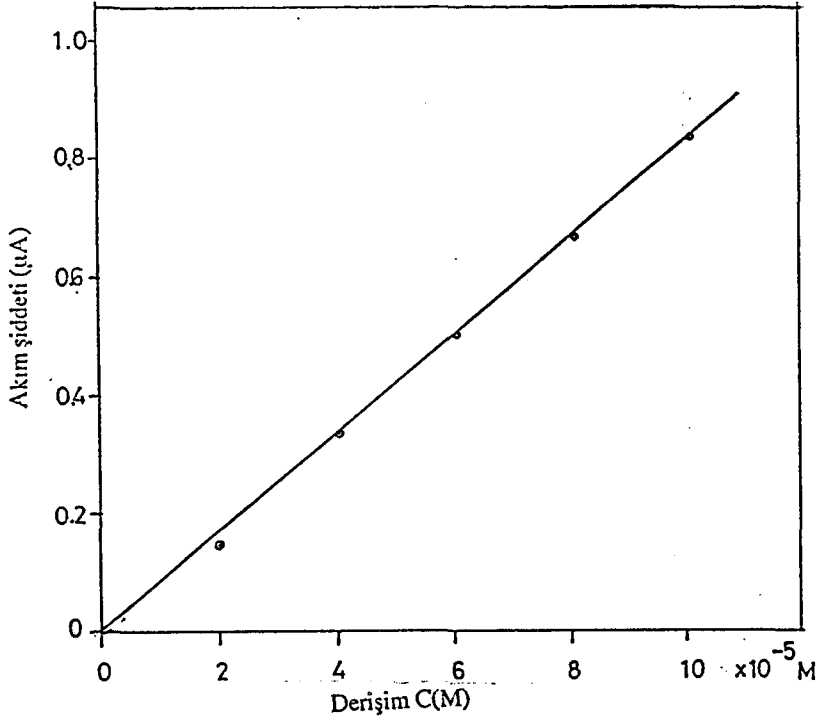
#### 4.6.11.3. Aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi (SIAPP) ile yapılan çalışmalar

$2.02 \times 10^{-5}$  ile  $1.01 \times 10^{-4}$  M derişim aralığında doksazosin çözeltilerinin aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarogramları Çizelge 4.3 de belirtilen koşullarda kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.20 da gösterilmiştir.

Şekil 4.20 den görüldüğü gibi akım artışları -1150 mV dolayında başlayıp, -1250 mV'dan sonra hızlı bir artışla yükselmekte, -1380 mV'dan sonra sınır akımına ulaşılmaktadır. -1400 mV'da sınır akımının maksimumunda olduğu gözlenmektedir. -1400 mV'da derişim-sınır akımı ilişkileri incelendiğinde  $i_s(\mu A) = 8118.8 C(M) - 9 \times 10^{-3}$   $r=0.9998$  gibi oldukça iyi bir korelasyon vermektedir. -1400 mV daki derişim-sınır akımı grafiği Şekil 4.21 da verilmiştir.



Şekil 4.20. Artan derişimlerdeki doksazosinin aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarogramları

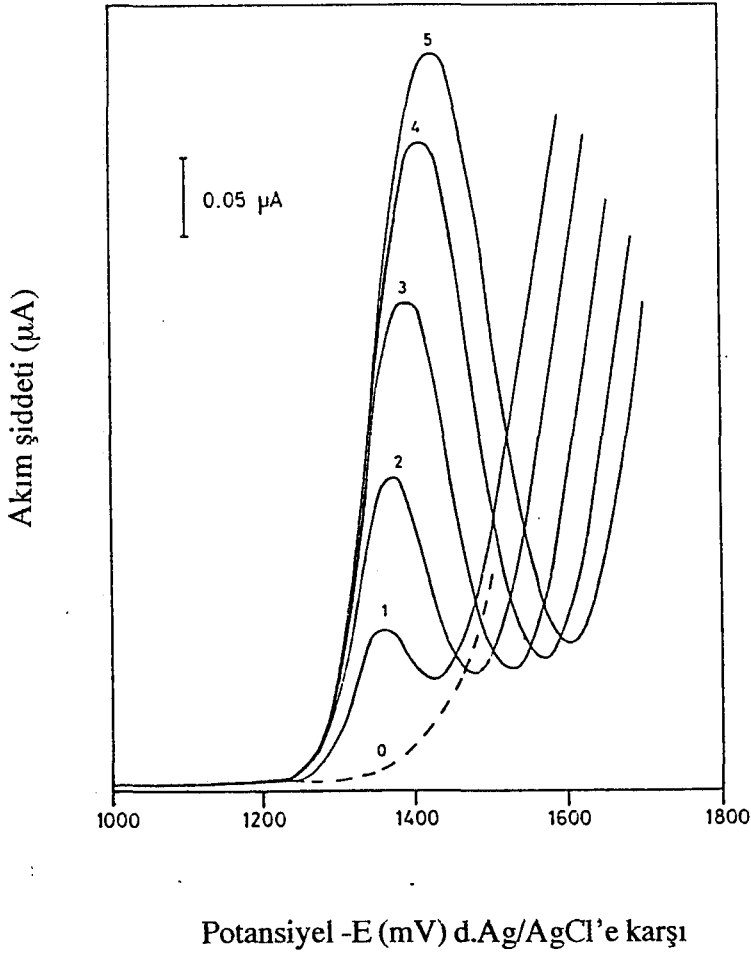


Şekil 4.21. Doksazosinin aşırı yüklenmiş artan genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği

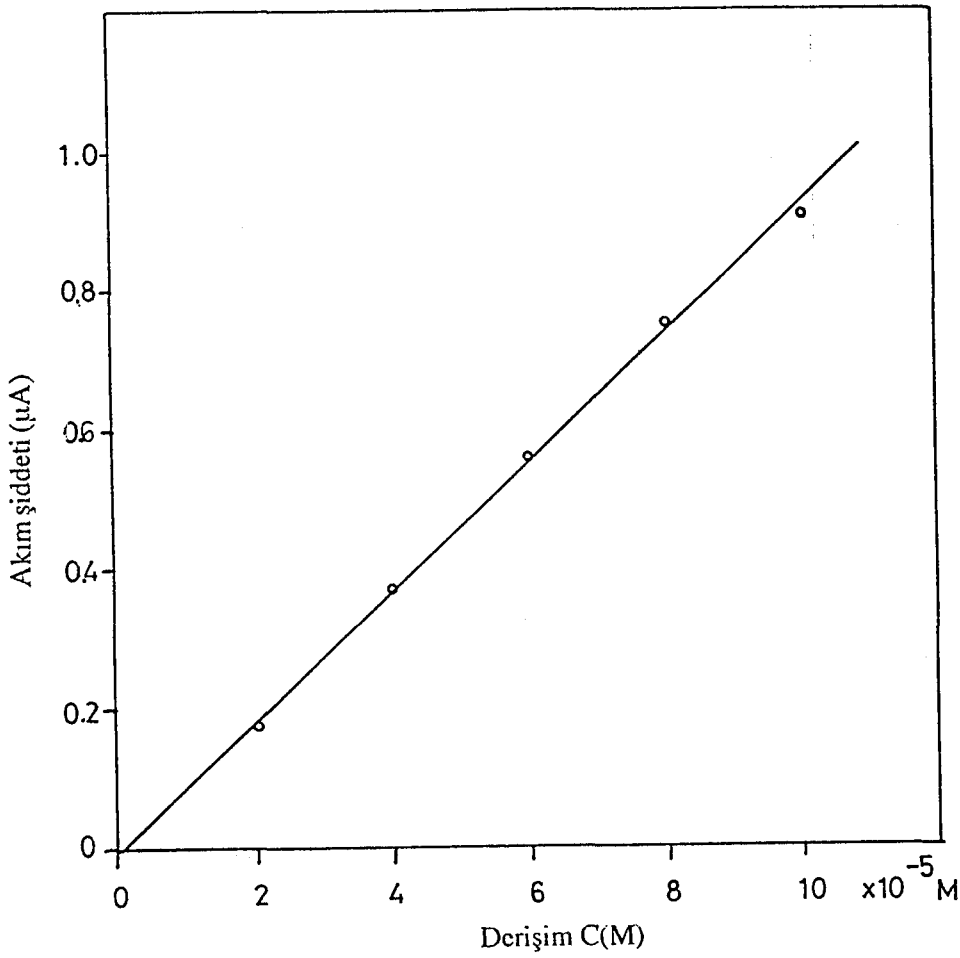
#### 4.6.11.4. Aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi (SCAPP) ile yapılan çalışmalar

$2.02 \times 10^{-5}$  -  $1.01 \times 10^{-4}$  M derişim aralığındaki doksazosin çözeltilerinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarogramları Çizelge 4.3 de belirtilen koşullarda kaydedilmiştir. Elde edilen polarogramlar Şekil 4.22 de gösterilmiştir.

Şekil 4.22 de görüldüğü gibi, akım artışları -1250 mV dolayında başlayıp, -1300 mV'dan sonra hızlı bir artışla yükselmektedir. Şekil 4.21 incelendiğinde artan derişimlerle sınır akımları -1360 ile -1420 mV arasında sırasıyla 10, 20, 20, 10 mV'luk kaymalarla maksimum değere ulaşmaktadır. Doksazosinin artan derişimlerine karşı pik maksimumlarına karşılık gelen akım değerleri Şekil 4.23 deki kalibrasyon grafiğini vermektedir. Buradada derişim-sınır akımı arasında  $i_{pik}(\mu A) = 9163.3 C(M) - 1.5 \times 10^{-3}$ ;  $r=0.9998$  denklemine uyan oldukça iyi bir ilişkinin varlığı görülmektedir.



Şekil 4.22. Artan derişimlerdeki doksazosinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarogramları



Şekil 4.23. Doksazosinin aşırı yüklenmiş sabit genlikli puls polarografisi ile elde edilen kalibrasyon grafiği

#### 4.7. Katı Elektrotlarla Yapılan Çalışmalar

Doksazosinin katı elektrotlar üzerinde yükseltgenbilmesi ile ilgili olarak tayinlerin yapılabilirliği de araştırılmıştır. Bu amaçla çalışma elektrodu olarak grafit, platin tel ve karbon pasta elektrotlar hazırlanmıştır. Referans elektrodu olarak doygun KCl içerisinde Ag/AgCl, çalışma elektrodu olarak da platin tel elektrot kullanılmıştır. Çeşitli pH değerlerinde ve taşıyıcı elektrolit sistemlerinde anodik yönde voltamogramlar alınabilmesi için kayıtlar yapılmıştır. Grafit ve karbon pasta elektrot ile herhangi olumlu bir yanıt alınamamıştır. Ancak platin elektrot ile anodik yönde, %20 etanol ,0.2 M KCl, 0.2 M asetat tamponu içerisinde, pH=3.55'de ve  $4.04 \times 10^{-4}$  M doksazosin derişimi düzeyinde bir voltamogram elde edilebilmiştir. Ancak artan derişimlere geçildiğinde bir artma görülmesine karşın tekrar edilebilirlik sağlanamamıştır. Bu bulgular ışığında, katı elektrotlarla kantitatif çalışmaların olası olmadığı görülmektedir.

#### 4.8. Doksazosin Preparatlarının Polarografik Yöntemlerle İncelenmesi

Polarografik yöntemin üç ayrı tekniği ile 2 ve 4 mg'lık tabletler ile süzülerek ve süzülmeden yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile UV spektrofotometrik yöntemlerle elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4 a ve 4.4 b' de topluca verilmiştir.

Polarografik teknikler kullanılarak yapılmış çalışmalar sonucu süzölmüş ve süzölmemiş örnekler arasında çok küçük farklar gözlenmiştir. Bunun da süzme sırasında bir miktar maddenin filtrede kalmasından kaynaklanabileceği düşünölebilir.

Güvenilir ve duyarlı bir yöntem olması açısından karşılaştırma yöntemi olarak UV spektrofotometrik yöntem seçilmiştir.

Çizelge 4.4. a ve 4.4. b incelendiğinde polarografik tekniklerle elde edilen tüm sonuçların UV spektrofotometrik yöntem sonuçları ile uyum içerisinde olduğu görölmektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde bunu kanıtlar niteliktedir.

İstatistiksel değerlendirmeler,  $\alpha=0.05$  önem ve %95 olasılık düzeyinde yapılmıştır.  $n-1=7$  serbestlik derecesine göre istatistiksel değerlendirmelerde F testi için 4.12, t testi için 2.14 kritik değerleri verilmektedir. Her iki test için de hesaplanmış olan değerler bu kritik değerlerden düşük çıkmışlardır. Buda polarografik ve UV spektrofotometrik yöntemlerle elde edilen sonuçlar arasındaki farkın anlamsız olduğunu açıklamaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızda geliştirilen ve uygulanan polarografik, UV spektrofotometrik yöntemlerin farmasötik preparatlar içerisindeki doksazosin tayini için kullanışlı ve geçerli yöntemler olduğu söylenebilir. Ayrıca polarografik yöntemle yapılan çalışmalarda preparat örneklerinin süzölmenden tayinlerinin yapılabilmesi, süzme işlemi gerektiren diğer yöntemlere göre bir üstünlük olarak görölmektedir.

Çizelge 4.4.a. 2 mg doksazosin içeren tabletlerdeki tayin sonuçları(mg doksazosin/tablet)

DPP		SIAPP		SCAPP		UV
Süzülmemiş	Süzülmüş	Süzülmemiş	Süzülmüş	Süzülmemiş	Süzülmüş	
2.01	1.99	2.01	2.00	2.05	2.00	2.00
2.07	2.05	2.05	2.07	2.07	2.02	2.06
2.06	2.04	2.01	2.00	2.02	2.00	1.99
2.05	2.03	2.02	2.01	2.07	2.07	2.04
2.04	2.03	2.10	2.01	2.05	2.05	2.02
2.10	2.10	2.10	2.05	2.02	2.02	2.04
2.06	2.06	2.06	2.05	2.07	2.07	2.02
2.01	2.00	2.07	2.00	2.14	2.02	2.02
2.050	2.037	2.05	2.02	2.06	2.03	2.02
0.0302	0.0345	0.0369	0.0282	0.0379	0.0285	0.0232
1.47	1.69	1.80	1.39	1.83	1.40	1.14
± 0.025	± 0.028	± 0.031	± 0.024	± 0.032	± 0.024	± 0.019
1.69	2.21	2.53	1.47	2.66	1.51	----
2.24	1.16	1.96	0.30	2.55	0.77	----

n tablodaki kritik değer : 4.12

n tablodaki kritik değer : 2.14



Çizelge 4.4.b. 4 mg doksazosin içeren tabletlerdeki tayin sonuçları(mg doksazosin/tablet)

DPP		SIAPP		SCAPP		UV	
Süzülmemiş	Süzülmüş	Süzülmemiş	Süzülmüş	Süzülmemiş	Süzülmüş		
3.98	3.98	4.01	4.00	4.01	4.01	4.00	
3.99	3.99	3.99	3.99	3.97	3.97	3.97	
3.99	3.99	3.99	3.99	4.00	4.00	3.98	
3.99	3.99	3.98	3.97	4.00	3.97	3.98	
4.01	4.01	4.02	3.99	4.01	4.01	3.98	
4.01	4.01	4.01	4.00	4.05	4.02	4.01	
4.00	3.96	3.95	3.94	4.05	4.03	3.99	
4.00	3.93	3.94	3.90	3.96	3.94	3.95	
$\bar{x}$	3.996	3.982	3.986	3.972	4.006	3.993	3.982
$s$	0.0106	0.0265	0.0287	0.0353	0.0325	0.0306	0.0183
el	0.265	0.665	0.721	0.888	0.811	0.766	0.459
$S$	$\pm 0.0088$	$\pm 0.022$	$\pm 0.024$	$\pm 0.029$	$\pm 0.027$	$\pm 0.026$	$\pm 0.015$
0.05	2.98	2.09	2.45	3.72	3.15	2.79	----
0.05	1.33	0.18	0.33	0.85	1.52	0.88	----

$\bar{x}$  için tablodaki kritik değer : 4.12

$s$  için tablodaki kritik değer : 2.14

## KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Young, R.A.; Brogden, R.N. Doxazosin: A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in mild or moderate hypertension. *Drugs*, **1988**, 35, 525-541.
2. Cowlshaw, M.G.; Sharman, J.R. Doxazosin determination by high-performance liquid chromatography using fluorescence detection. *J. Chromatogr.*, **1985**, 344, 403-407.
3. Conrad, K.A.; Fagan, T.C.; Makie, M.J. Doxazosin in patients with hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **1988**, 35, 21-24.
4. Cubeddu, L.X.; Fuenmayer, N.; Caplan, N. Clinical pharmacology of doxazosin in patients with essential hypertension. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1987**, 41, 439-449.
5. Kaye, B.; Cussans, N.J.; Faulkner, J.K. The metabolism and kinetics of doxazosin in man, mouse, rat and dog. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, 21, 19 S-25 S.
6. Mohammed, E.M.; Hassan, Y.A. Spectrophotometric and fluorimetric assay of prazosin hydrochloride in tablet form. *Pharmazie*, **1985**, 40, H, 5.
7. Wolf, B.; Beitrage zur analytik von prazosin hydrochlorid. *Pharmazie*, **1993**, 48, H, 3.
8. Tanninen, V.P.; Yliruvsu, J. X-ray powder diffraction profile fitting in quantitative determination of two polymorphs from their powder mixture. *International J. Pharmaceutics*, **1992**, 81, 169-177.
9. Goicolea, M.A.; Balugera, Z.G.; Portela, M.J. Evaluation of amperometric detection at a glassy carbon electrode for the liquid-chromatographic determination of antihypertensive substances. *Analyst*, **1994**, 119, 269-272.
10. Kayaalp, O.; *Tıbbi farmakoloji*. Cilt 2, **1982**, 809-856.
11. Alabester, V.A.; Davey, M.J. The alpha - adrenoceptor antagonist profile of doxazosin: preclinical pharmacology. *Br. J. Clin. Pharmacol.*; **1986**, 21, 9 S-17 S.
12. Davey, M.J. Mechanism of alpha blockade for blood pressure control *Am. J. Cardiol.*, **1987**, 59, 18 G-28 G.
13. Donnelly, R.; Meredith, P.A.; Elliot, H.L. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of alpha-adrenoceptor antagonists. *Clin. Pharmacokin.*, **1989**, 17, 264-274.

14. Davey, M.J., Pharmacologic basis for the use of doxazosin in the treatment of essential hypertension. *Am. J. Med.*, **1989**, 87(Suppl 2A), 36-44.
15. Graham, R.M., Selective alpha-1 adrenergic blockade, lipids and coronary heart disease risk. *Am.J.Med.* , **1989**, 87 (Suppl 2a) , 53 S-56 S.
16. Baez, M.A.; Garg, D.C.; Jallad, N.S. Antihypertensive effects of doxazosin in hypertensive patients: comparison with atenolol. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, 21(Suppl) 63 S-67 S.
17. Hayduk, K.; Schneider, H. Antihypertensive effects of doxazosin in systemic hypertension and comparison with terazosin. *Am. J. Cardiol.* ,**1987**, 59, 95 G-98 G.
18. Hjortdahl, P ; Von, K.H.; Deae, L. A 24 week multicenter double-blind study of doxazosin and hydrochlorothiazide in patients with mild to moderate essential hypertension. *Acta. Med. Scandinav.* , **1987**, 221, 427-434.
19. Harmse, D.P. Clinical experience with doxazosin in general medical practice in the Netherlands. *Am. Heart. J.*, **1991**. 121, 341-345.
20. Halme, I.;Fauchold, P.; Rugstad, H.E. Preliminary results of the Norwegian doxazosin, postmarketing surveillance.
21. Lindner, U.K.; manteuffel, G.E.; Stafunsky, M. The addition of doxazosin to the treatment regimen of hypertensive patients not responsive to nifedipine. *Am. Heart. J.*, **1988**, 116, 1814-1820.
22. Englert, R.G.; Maversberg H. A single-blind study of doxazosin in the treatment of essential hypertension when added to nonresponders to angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. *Am. Heart. J.*, **1988**, 116, 1826-1832.
23. Soltero, I.; Guevera, J.; Silva, H. A multicenter study of doxazosin in the treatment of several essential hypertension. *Am. Heart. J.*, **1988**, 116, 1767-1771.
24. Castrignano, R, D.; Angelo, A.; Panti, T. A single-blind study of doxazosin in the treatment of mild to moderate essential hypertensive patients with concomitant noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Am. Heart. J.*, **1988**, 116- 1778-1784.
25. Taylo, S.H. Efficacy of doxazosin in specific hypertensive patient groups. *Am. Heart. J.*, **1991**, 121, 286-292.
26. Bartels, A.C.C.; Vries, Pm, J.M.; Oe, L.P. Doxazosin in the treatment of patients with mild or moderate hypertension and mild or moderate renal insufficiency. *Am. Heart. J.*, **1988**, 116, 1172-1177.
27. Lecerof, H.; Bornmyr, S.; Lilza, B. Acute effects of doxazosin and atenolol on

- simoking-induced peripheral vasoconstriction in hypertensive habitual smokers. *J.Hypertens.*, **1990**, 8(Suppl 5), 29 S-33 S.
28. Kannel, W.B. Hypertension: relationship with other risk factors. *Drugs*, **1986**, 31(Suppl 1) 1-11.
  29. Talseth, T.; Westlie, L.; Daae, L. N.W. Longterm effects of doxazosin and atenolol on serum lipids and blood pressure in hypertensive smokers. *J. Hypertens.*, **1990**, 8(Suppl 5), 47 S-51 S.
  30. Frick, M.H.; Halttunen, P.; Himanen, P.A. A Long-term double-blind comparison of doxazosin and atenolol in patients with mild to moderate essential hypertension. *Br.J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, 21, 55 S-62 S.
  31. Elliot, H.L.; Meredith, P.A.; Vincent, J. Clinical pharmacological studies with doxazosin. *Br. J. Clin. Pharm.*, **1986**, 21, 27 S-31 S.
  32. Conway, E.L.; McNeil, J.J.; Meng, L. Single-dose and steady -state pharmacokinetics of doxazosin given in combination with chlorothiazide to hypertensive subjects. *Clin. Pharmacokinet.*, **1989**, 16, 387-391.
  33. Product Information: Cardura<sup>®</sup> doxazosin, Roering Laboratories. **1990**, NewYork, NY.
  34. Taylor, S.H. Clinical pharmacotherapeutics of doxazosin. *Am. J. Med.*, **1989**, 87(Suppl 2 A), 2 S-11 S.
  35. Ames, R.; Kiyasu, J.P.; Alpha-1 adrenoceptor blockade with doxazosin in hypertension effects on blood pressure and lipoproteins. *J. Clin. Pharmacol.*, **1989**, 29, 123-127.
  36. Vincent, J.; Meredith, P.A.; Elliot, R. The pharmacokinetics of doxazosin in elderly normotensives. *Br.J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, 21, 521-524.
  37. Priyamvada, T.; Kalides, C.; C.S.; Venkatachalam, C.S. Electrochemical behaviour of quinazoline in amphiprotic media. *Monatshefte für Chemie*, **1984**, 115, 1279-1292.
  38. Bauer, H.H.; Christian, G.D.; O'Reilly, J.E. Instrumental Analysis, Allyn, and Bacon Ins.Boston, **1978**, s.60.
  39. Birke, R.L.; Kim, M.Y.; Strassfeld, M. Diagnosis of reversible, quasireversible, and irreversible electrode process with differential pulse polarography. *Anal.Chem.* **1981**, 53, 852-856.