

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**KANSER KEMOTERAPİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN
VOLTAMETRİK YÖNTEMLE ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Günay ÖNAL
DANIŞMAN: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK

VAN-2018

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**KANSER KEMOTERAPİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN
VOLTAMETRİK YÖNTEMLE ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Günay ÖNAL

VAN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK danışmanlığında, Güray ÖNAL tarafından sunulan "Kanser Kemoterapisinde Kullanılan Bazı İlaçların Voltametrik Yöntemle Elektroanalitik İncelenmesi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 26.10/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile ~~çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK

İmza:



Üye: Prof. Dr. Necla ÇALIŞKAN KILIÇ

İmza:



Üye: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

İmza:



Üye: Doç. Dr. Cafer SAKA

İmza:



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN

İmza:



Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27.11.2018 tarih ve 708/19...2 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Günay ÖNAL

ÖZET

KANSER KEMOTERAPİSİNDE KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN VOLTAMETRİK YÖNTEMLE ELEKTROANALİTİK İNCELENMESİ

ÖNAL, Günay
Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
Ekim 2018, 79 sayfa

Vinka alkaloidleri, 40 yıldan fazla bir süredir kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Vinka* alkaloidlerinin yarı-sentetik türevlerinden biri olan Vinorelbin tayini için tek-kullanımlık kalem-ucu grafit (PG) elektrotunun yeni bir uygulaması sunulmuştur. Vinorelbin'in elektrokimyasal yükseltgenmesi ilk olarak bu elektrot kullanılarak sulu çözeltiler içerisinde dönüşümlü voltametri tekniği ile incelenmiştir. Özel ilgi ise, geniş bir pH aralığında (2.0-12.0) sürfaktansız ve sürfaktan içeren sulu çözeltilerde PG ve camımsı karbon (GC) (kıyas amaçlı) elektrotlarının yüzeyinde adsorptif sıyırma voltametrisinin kullanılmasına gösterilmiştir. PG elektrotunun kullanıldığı sıyırma voltametrisi ölçümlerinin duyarlılığı, Vinorelbin içeren elektrolit çözeltilerine pH 2.0-4.0 ve pH 9.0-10.0 ortamında sırasıyla anyonik (sodyum dodesilsülfat, SDS) ve katyonik (tetra-*n*-bütilamonyum bromür, TBAB) sürfaktan eklendiğinde önemli ölçüde artmıştır. Kare-dalga sıyırma voltametrisi tekniği kullanılarak 3×10^{-3} M TBAB içeren Britton Robinson tamponu (pH 10.0) içerisinde Vinorelbin, +0.75 V (vs. Ag/AgCl) gerilim değerinde (0.0 V'da 120 s ön-deriştirme sonrası) iyi belirlenmiş voltametrik bir yanıt vermiştir. Bu işlem, gözlenebilirlik sınırı 7.5×10^{-9} M (baz-5.8 ng mL⁻¹) olan 2.3×10^{-8} – 5.8×10^{-6} M derişim aralığında bileşiğin tayini için kullanılmıştır. Önerilen yöntem, ilaç şekillerine ve Vinorelbin-ekli (spike) insan idrar örneklerine başarıyla uygulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Elektrokimyasal yükseltgenme, Gerçek örnekler, Kalem grafit elektrot, Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi, Katyonik sürfaktan, Vinorelbin.

ABSTRACT

ELECTROANALYTIC INVESTIGATION OF SOME DRUGS USED IN CANCER CHEMOTHERAPY BY VOLTAMMETRIC METHOD

ÖNAL, Günay

Ph.D. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK

October 2018, 79 pages

Vinca alkaloids have been used in the treatment of human cancers for more than 40 years. In this study, a novel application of single-use pencil graphite (PG) electrode is introduced for the determination of Vinorelbine, one of the semisynthetic derivatives of *Vinca* alkaloids. The electrochemical oxidation of Vinorelbine was first investigated by cyclic voltammetry using this electrode in aqueous solutions. Special attention was given to the use of adsorptive stripping voltammetry at a surface of PG electrode and glassy carbon (GC) one (for comparison purpose) in aqueous solutions over the pH range of 2.0-12.0 both with and without the addition of surfactants. The sensitivity of the stripping voltammetric measurements was significantly improved when the anionic (sodium dodecylsulfate, SDS) and cationic (tetra-*n*-butylammonium bromide, TBAB) surfactants were present in the Vinorelbine-containing electrolyte solution at pH 2.0-4.0 and pH 9.0-10.0, respectively, by using PG electrode. Using square-wave stripping mode, Vinorelbine yielded a well-defined voltammetric response in Britton-Robinson buffer pH 10.0 containing 3×10^{-3} M TBAB at +0.75 V (vs. Ag/AgCl) (after 120 s accumulation at +0.0 V). The process could be used to determine this compound in the concentration range of 2.3×10^{-8} – 5.8×10^{-6} M, with a detection limit of 7.5×10^{-9} M (base-5.8 ng mL⁻¹). The proposed method was successfully applied to pharmaceutical formulations and the spiked human urine samples.

Keywords: Cationic surfactant, Electrochemical oxidation, Pencil graphite electrode, Real samples, Square-wave adsorptive stripping voltammetry, Vinorelbine.

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasının hazırlanması boyunca her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım çağdaş bilim insanlığıyla ve çalışma azmiyle örnek aldığım, desteğini her an yanımda hissettiğim saygıdeğer danışman hocam; Sayın Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Tez izleme komitesinin saygıdeğer hocalarından Prof. Dr. Necla ÇALIŞKAN KILIÇ'a çalışmalarım sürecinde göstermiş oldukları içtenlikleri, bilimsel düşünceleriyle katılımları ve anlayışlarından dolayı sonsuz teşekkürler.

Tez çalışma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanlarını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren ve gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım tez izleme komitesinin saygıdeğer hocalarından Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT'e teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında yer alan ve emeği geçen bazen demoralize olduğum anlarda "sana güveniyoruz yeter ki iste sen yaparsın" cümlesiyle motivasyonuma olumlu katkıda bulunarak hayatıma güzellik katan arkadaşlarım iyi ki varsınız sonsuz teşekkürler.

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz teşekkürler.

Ayrıca, sosyal yaşantılarından fedakârlık ederek her zaman yanımda yer alan hayatımın anlamları olan kızım Cemre ÖNAL ve sevgili hayat arkadaşım Ahmet ÖNAL'a teşekkür ederim.

2018

Günay ÖNAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	1
ABSTRACT	3
İÇİNDEKİLER.....	7
ÇİZELGELER LİSTESİ	9
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	15
1 GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	3
2.1. Kanser Kemoterapisi ve Antineoplastik İlaçlar	3
2.1.1. <i>Vinka</i> alkaloitleri.....	7
2.1.1.1. Vinorelbin.....	10
2.1.1.1.1. Vinorelbin için uygulanan analiz yöntemleri	12
2.2. Katı Elektrot Voltametrisi ile İlgili Genel Bilgi	17
2.2.1. Camımsı karbon elektrot.....	24
2.2.2. Kalem-ucu grafit elektrot.....	25
2.2.3. Elektrot yüzeyinin sürfaktanlarla modifikasyonu.....	26
2.2.4. Voltametrik teknikler12	29
2.2.4.1. Dönüşümlü voltametri	29
2.2.4.2. Kare-dalga voltametrisi	31
2.2.4.3. Sıyırma voltametrisi	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	35
3.1.1. Kimyasallar	35
3.1.2. Çözeltilerin hazırlanması	35
3.1.2.1. Vinorelbin çözeltisinin hazırlanması.....	35
3.1.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması.....	36
3.1.2.3. Sürfaktan çözeltilerinin hazırlanması	36
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	36
3.2.1. Voltametrik sistem.....	37
3.3. Voltametrik Yöntem	39

	Sayfa
3.3.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması.....	40
3.3.1.1. Enjektabl çözeltiler.....	40
3.3.1.2. İdrar örnekleri.....	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. Vinorelbin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi	41
4.1.1. Dönüşümlü voltametri	41
4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi	43
4.1.2. Sıyırma voltametrisi.....	47
4.1.2.1. Destek elektroliti ve pH etkisi	47
4.1.2.2. Sürfaktan yükünün etkisi	53
4.1.2.3. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi	57
4.1.2.4. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi.....	58
4.1.2.5. Sürfaktan derişiminin etkisi	59
4.2. Vinorelbin'in Kalem-ucu Grafit Elektrot Üzerinde Tayini.....	60
4.2.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi.....	60
4.2.2. Gerçek örnek analizleri.....	63
4.2.2.1. Enjektabl çözeltiler.....	63
4.2.2.2. İdrar örnekleri.....	64
5. SONUÇ	67
KAYNAKLAR.....	69
ÖZ GEÇMİŞ.....	79

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Antineoplastik ilaçların sınıflandırılması	6
Çizelge 2.2. Vinorelbin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri	11
Çizelge 2.3. Vinorelbin bileşiğinin ve diğer antineoplastiklerin ayırma yöntemleriyle analizi.....	15
Çizelge 2.4. Vinka alkaloidlerinin farklı elektrotlar (elektrokimyasal sensör ve biosensör) üzerinde voltametrik analizi	18
Çizelge 4.1. Vinorelbin voltamogramlarındaki pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Vinorelbin derişimi, 4.6×10^{-5} M; yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 10); elektrot, PG.	44
Çizelge 4.2. Vinorelbin voltamogramlarındaki pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerinde pH etkisi. Vinorelbin derişimi, 2.3×10^{-5} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG; yöntem, SW-AdSV	51
Çizelge 4.3. Vinorelbin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel değişkenler	61
Çizelge 4.4. Vinorelbin (ditartarat tuzu şeklinde) içeren flakonlarda voltametrik yöntem analiz bulguları	64
Çizelge 4. 5. Vinorelbin eklenmiş idrar örneğinde voltametrik analiz bulguları	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kanserin evreleri.	3
Şekil 2.2. Hücre proliferasyonunun (çoğalmasının) evreleri (hücre döngüsü) (Weinberg, 1996'dan uyarlama).	4
Şekil 2.3. Catharanthus roseus (Vinca rosea, rozet çiçeği).	8
Şekil 2.4. Vinka alkaloidlerinin etki mekanizması.	8
Şekil 2.5. Temel Vinka alkaloid yapısı.	9
Şekil 2.6. Farklı Vinka alkaloidlerinde vindolin ve katarantin çekirdeklerindeki yapısal farklılıklar.	10
Şekil 2.7. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.	20
Şekil 2.8. Voltametriye üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı.	21
Şekil 2.9. Elektrokimyasal hücre ve bileşenleri (Özkan ve ark., 2015'ten uyarlama).	21
Şekil 2.10. Voltametriye kullanılan çalışma elektrotları.	22
Şekil 2.11. Camımsı karbon malzemesinin yapısı (A) ve ticari camımsı karbon elektrot (B).	24
Şekil 2.12. Ticari kurşun kalem (A) ve kalem-ucu grafit elektrotunun şematik gösterimi (B).	26
Şekil 2.13. Sürfaktan genel yapısı ve bazı örnekler.	27
Şekil 2.14. İn-situ sürfaktan modifiye elektrotun hazırlanması.	28
Şekil 2.15. Yaygın olarak kullanılan voltametrik tekniklerin genel bir sınıflandırması.	29
Şekil 2.16. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri.	30
Şekil 2.17. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gözlenen tersinir (a), yarı-tersinir (b) ve tersinmez (c) elektrokimyasal tepkime çeşitleri.	31
Şekil 2.18. Kare-dalga voltametrisinde kullanılan uyarma sinyali (A) ve tipik bir voltamogram (B).	32
Şekil 2.19. Sıyırma voltametrisi tekniğinin şematik gösterimi (A) ve tipik bir sıyırma voltamogramı (B).	33

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Autolab PGSTAT 128N elektrokimyasal analizör (A) ve BAS C3 katı elektrot hücre standı ünitesi (B).....	38
Şekil 3. 2. Voltametrik hücre bileşenleri.....	38
Şekil 4.1. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR tamponu içinde dönüşümlü voltamogramları. (A) pH 3.0, (B) pH 7.0, (C) pH 10.0, (D) üç farklı pH ortamındaki voltamogramların birarada gösterimi. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs-1. Kesikli çizgi, destek elektroliti.	42
Şekil 4.2. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR (pH 10.0) tamponu içinde iki döngülü voltamogramı. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs-1. Kesikli çizgi, destek elektroliti.....	43
Şekil 4.3. 4.6×10^{-5} M Vinorelbin'in BR (pH 10.0) tamponu içinde (1) 50, (2) 100, (3) 200, (4) 300, (5) 400, (6) 500, (7) 600, (8) 700 mVs-1 gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları. Elektrot, PG.	44
Şekil 4.4. Vinorelbin'e ait gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi. Vinorelbin derişimi, 4.6×10^{-5} M; yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 10.0); elektrot, PG.	45
Şekil 4.5. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR tamponu içinde (pH 2.0-7.0) PG ve GC elektrotlarını kullanarak elde edilen SW-AdSV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.....	48
Şekil 4.6. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR tamponu içinde (pH 8.0-12.0) PG ve GC elektrotlarını kullanarak elde edilen SW-AdSV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.....	49
Şekil 4.7. Vinorelbin pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerine pH etkisi. Vinorelbin, 2.3×10^{-5} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG; yöntem, SW-AdSV (biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V); SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.....	51
Şekil 4.8. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in sürfaktansız ya da sürfaktan (SDS, TBAB) içeren BR tamponu içinde (pH 2.0-7.0) elde edilen SW-AdSV eğrileri. Sürfaktan derişimi, 5.0×10^{-3} M; elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.	54

- Şekil 4.9. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in sürfaktansız ya da sürfaktan (SDS, TBAB) içeren BR tamponu içinde (pH 8.0-12.0) elde edilen SW-AdSV eğrileri. Sürfaktan derişimi, 5.0×10^{-3} M; elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.55
- Şekil 4.10. Hidrofobik yüzeyde hemimisel oluşumu.56
- Şekil 4.11. 5.5×10^{-6} M Vinorelbin'in 5.0×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde biriktirme süresi (A) ve biriktirme gerilimi (B) etkisi. Elektrot, PG; SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.58
- Şekil 4.12. 5.5×10^{-6} M Vinorelbin'in 5.0×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde SW değişkenlerinin (A, frekans; B, adım gerilimi; C, amplitüd) etkisi. Elektrot, PG; biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V.59
- Şekil 4.13. (A) 5.5×10^{-6} M Vinorelbin'in farklı TBAB derişimlerini (0, 0.1, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 mM) içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri. Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. Kesikli çizgi, 3 mM TBAB. Ek (B): ip / CTBAB eğrisi.60
- Şekil 4.14. (A) Vinorelbin'in farklı derişimlerinin [(1) 0.023, (2) 1.15, (3) 2.07, (4) 2.99, (5) 3.91, (6) 4.83, (7) 5.75, (8) 6.67 μ M] 3×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10.0) içerisinde kaydedilen SW-AdSV eğrileri. Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. Kesikli çizgi, destek elektroliti. Ek (B): ip / CVinorelbin eğrisi.62
- Şekil 4.15. (A) İdrar örneğinin BR tamponu (pH 10.0) içerisinde kaydedilen SW-AdSV eğrileri (seyrelme oranı 1:200 (h/h): (a) Vinorelbin eklenmemiş (kesikli çizgi), (b) 2×10^{-7} M Vinorelbin eklenmiş, (c-g) 45, 60, 70, 80 ve 90 μ L standart eklemeler sonrası (CVinorelbin = 2×10^{-4} M). Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. (B) Standart ekleme yöntemiyle analiz sonucu.65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
Ag	Gümüş
AgCl	Gümüş klorür
Pt	Platin
Au	Altın
Bi	Bizmut
Pd	Palladyum
Rh	Rodyum
Cu	Bakır
Ru	Rutenyum
Ni	Nikel
Cd	Kadmiyum
Sn	Kalay
In	İndiyum
C	Kulon
h	Hacim
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
L	Litre
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
M	Molarite
mM	Milimolar
µM	Mikromolar

A	Amper
mA	Miliamper
μ A	Mikroamper
V	Volt
mV	Milivolt
i	Akım
i_p	Pik akımı
i_{pa}	Anodik pik akımı
i_{pc}	Katodik pik akımı
E	Gerilim
E_p	Pik gerilimi
E_{pa}	Anodik pik gerilimi
E_{pc}	Katodik pik gerilimi
s	Saniye
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
m	Eğim
F	Faraday Sabiti (96485, kulon / eşdeğergram)
v	Gerilim tarama hızı
r	Korelasyon katsayısı
α	Yük aktarım katsayısı
n	Redoks tepkimesinde aktarılan elektron sayısı
R	İdeal gaz sabiti (8.314 J K ⁻¹ mol ⁻¹)
T	Mutlak sıcaklık (298 K)
Hz	Hertz
%	Yüzde
s	Standart sapma
K_a	Asitlik sabiti
log	Logaritma
ΔE_s	Gerilim adımı
ΔE_{sw}	Puls amplitüdü
C ⁴ D	Kapasitif eşleşmiş temassız iletkenlik
CMC	Kritik misel derişimi

DPP	Diferansiyel puls polarografisi
SWV	Kare-dalga voltametrisi
SW-AdSV	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
LS	Doğrusal tarama
ASV	Anodik sıyırma voltametrisi
CSV	Katodik sıyırma voltametrisi
AdSV	Adsorptif sıyırma voltametrisi
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
CPE	Karbon pasta elektrot
DME	Damlayan cıva elektrot
BSS	Bağlı standart sapma
Nj-CPE	Nujol-temelli karbon pasta elektrot
DMBA	Dimetilbenz[<i>a</i>]antrasen
RGO-Au/GCE	İndirgen grafit oksit-altın nanokompozit/camımsı karbon elektrot
AuNPs/GCE	Altın nanopartikül/camımsı karbon elektrot
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
CNT	Karbon nanotüp
CME	Kimyasal modifiye elektrot
CF	Karbon-fiber
BDD	Bor-katkılı elmas
SPC	Perde-baskılı karbon
R	İdeal Gaz Sabiti
Bias	Dizgisel hata
rpm	Dakikada döngü sayısı
<i>n</i>	Deney sayısı
E_{acc}	Biriktirme (akümülayon) gerilimi
t_{acc}	Biriktirme (akümülayon) süresi
SPE	Perde-baskılı elektrot
<i>C</i>	Derişim
S/N	Sinyal/gürültü
DMSO	Dimetilsülfoksit

1 GİRİŞ

Kanser, günümüzde toplum sağlığını ve yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen dünya genelindeki kamu sağlığı sorunsalının başında gelmektedir. Bu nedenle, kanser tedavisine yönelik ilaçlara olan ilginin artmış olması da yadsınamaz. Öte yandan, olası toksik özellikleri nedeniyle kanser tedavisinde kullanılan ilaçların uygulamaları sırasında hasta güvenliğinin yanısıra bu tedaviyi uygulayan sağlık çalışanlarının da bu grup ilaçlarla temas riskinden korunması ve güvenli çalışma ortamının sağlanması büyük önem taşımaktadır. Dolayısıyla; kanser tedavisinde kullanılan bileşiklerin değişik ilaç şekillerinden, biyolojik örneklerden (idrara, kan, doku, vb.) ve çevre örneklerinden saptanması ve tayinlerine yönelik yeni bir yöntem geliştirme çalışmalarının önemi çok büyüktür.

Farmasötik (ilaç) ve klinik örneklerdeki analizler analitik kimyanın önemli bir parçası olup, farklı matris ortamında bulunan bileşiklerin tekli ya da eş zamanlı tayinleri tıp ve eczacılık biliminde son derece önemli bir rol oynar. Bu tür analizlere yönelik kullanılan analitik yöntemlerin; güvenilir ve duyarlı olmasının yanında geniş bir analitik derişim aralığında uygulanabilir olması, hızlı olması, basit olması (çok deneyimli personele gereksinim duymaması) ve donanım açısından maliyetinin düşük olması da çok önemlidir. Elektrokimyasal yöntemlerle özellikle voltametrik tekniklerle gerçekleştirilen farmasötik ve klinik analizler, eser analizlerin yapılabilir olmasına ek olarak örneklerin kolaylıkla ve kısa sürede hazırlanabilmesi ve analiz hızının olması gibi üstünlükleriyle kaynakçadaki yerini sağlamlaştırmıştır. Öte yandan; farmakolojik önemi olan bileşiklerin yükseltgenme ve indirgenme mekanizmalarının çalışılması son derece önemlidir. Bu araştırmalar, ilgili moleküllerin karmaşık biyolojik sistemlerle etkileşmesini anlaşılabilir kılar. Elektroanalitik çalışmalarda yeni bir elektrot tasarlamak kadar var olan bir elektroda küçük modifikasyonlar yaparak ya da herhangi bir değişiklik yapmadan elektrotun farklı uygulama alanlarının gösterilmesi de önemlidir.

Bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar sınıfında yer alan *Vinka* alkaloitlerinin bir kısmı 40 yıldan fazla bir süredir kanser tedavisinde kullanılmak üzere pazarlanmasına karşın, etki mekanizmaları ve metabolizmaları üzerine çok az şey bilinmektedir. Bu grup antineoplastiklerin moleküler yapısında redoks etkin grupları yer aldığı halde, yapılarının çok karmaşık olması nedeniyle elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesine

yönelik çalışmaları yok denecek kadar azdır. *Vinka* alkaloidlerinin yarı-sentetik türevlerinden biri olan Vinorelbin bileşiğinin redoks özelliklerinin incelenmesi üzerine kaynakçada eski tarihli tek bir makale olup ilgili araştırmada bileşiğin miktar tayini yapılmamıştır.

Yukarıdaki bilgilerin ışığında belirlenen tez çalışmasında; kanser tedavisinde kullanımı giderek yaygınlaşan Vinorelbin bileşiğinin redoks özelliklerinin incelenmesine ve tayinine uygun voltametrik bir yöntemin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde, Vinorelbin molekülünün karbon-temelli elektrotlar içinde yer alan kalem-ucu grafit ve camımsı karbon (kıyas amaçlı) elektrotlar üzerinde geniş bir pH aralığındaki çeşitli destek elektroliti çözeltileri içerisinde (sürfaktan varlığında) elektrokimyasal davranışı ayrıntılı olarak incelenecektir. İkinci bölümde ise; ilk bölümdeki olumlu bulguların ışığında Vinorelbin tayinine yönelik etkili bir voltametri tekniği tanımlanacak, deneysel/aletsel koşullar optimize edilecek ve analitik performans özellikleri araştırılacaktır. Son bölümde ise bileşiğin farmasötik (ilaç) ve biyolojik örneklerdeki miktarının önerilen voltametrik yöntemle tayin edilebilirliği sınanacaktır.

Vinorelbin bileşiğinin elektrokimyasal özelliklerinin ayrıntılı olarak incelenmesinin yanısıra voltametrik tayininin de gerçekleştirildiği yeni ve kapsamlı bir çalışmanın kaynakçaya ilk defa kazandırılacak olması, bu tez çalışmasının temel özgünlüğünü oluşturacağı açıktır.

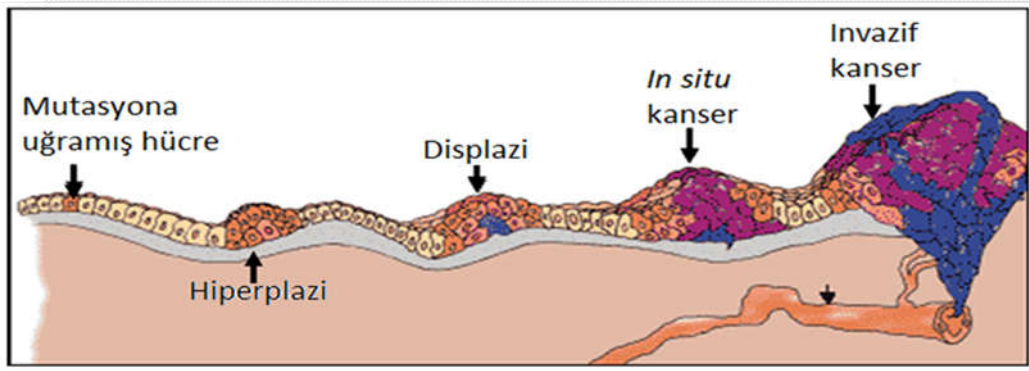
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Kanser Kemoterapisi ve Antineoplastik İlaçlar

Bu tez çalışmasında geliştirilmesi amaçlanan elektroanalitik yöntem, bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar grubu içinde yer alan *Vinka* alkaloidlerinden Vinorelbin üzerinde denenecektir. Bu bölümde ilk olarak ilgili ilaç grubunun ve Vinorelbin bileşiminin kimyası ile farmakolojik etkileri tartışılacak; daha sonra ise Vinorelbin tayininde kullanılan analitik yöntemler hakkında ayrıntılı bilgi verilecektir.

Gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sıradaki ölüm nedeni olan ve küresel bir salgın olarak kabul edilen kanser; neredeyse hayvanlar alemiyle yaşıt görünmektedir. Arkeolojik ve paleopatolojik araştırmalarda, dinazor fosilleri yanısıra binlerce yıllık mumyalarda kanser bulgularına rastlanmıştır. Kanser (Yunanca *karkinos* = yengeç) teriminin, yanlış bilinenin aksine Galen (MS 129-216) tarafından değil yazılı kaynaklara göre ilk kez Hipokrat (MÖ 460-375) tarafından kullanıldığı düşünülmektedir (Temel, 2015).

Kanser, vücudun kendi hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, farklılaşmaması, fonksiyon kaybına uğraması, komşu dokuya yayılımı (invazyon) ve uzak dokulara yayılımı (metastaz) olarak özetlenebilir (Şekil 2.1) (Weinberg, 1996; Shewach ve Kuchta, 2009).



Şekil 2.1. Kanser evreleri.

Kanserin tedavi edilmesinde farklı yaklaşımlar vardır: (i) cerrahi girişim, (ii) radyasyon tedavisi, (iii) ilaç kullanılması (kemoterapi), (iv) hormon tedavisi, (v) immünoterapi, (vi) hedefe yönelik akıllı ilaç tedavisi, (vii) hipertermi. Günümüzde kanser tedavisinde başarılı ve kalıcı sonuçlara, yukarıda çeşitleri sayılan tedavi yöntemlerinin birarada kullanılması ile ulaşılmaktadır.

"Kemoterapi", 1900'lü yıllarda Alman tıp hekimi Paul Ehrlich tarafından, sifilis tedavisiyle ilgili olarak türetilen bir sözcüktür. Günümüzde kemoterapinin ana ilkesi, "sitotoksik ilaçlar" olarak da isimlendirilen "antineoplastik ilaçlar" ile tedavinin temel ilkelerini oluşturur (Bökesoy ve ark., 2000; Moosa ve ark., 2003; Thurston, 2006; Kayaalp, 2012). Tedaviden beklenen, hastanın ya da konakçının normal hücrelerine zarar vermeksizin kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak ya da olabirirse yok etmektir. Antineoplastik ilaçların etkinliği ile hücre döngüsü arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Hücre döngüsünün başlıca dört dönemi bulunmaktadır (Şekil 2.2): (i) DNA sentezine hazırlık dönemi (G_1), süresi en uzun olan ve en fazla değişkenlik gösteren dönem olduğundan G_0 olarak sembolize edilen "istirahat dönemi" de denir; (ii) DNA sentezi ya da replikasyon dönemi (S), 4-24 saat sürer; (iii) mitoz hazırlık dönemi (G_2), mitoz iplikçığının oluştuğu dönem olup ortalama 2 saat sürer; (iv) mitoz (hücre bölünmesi) dönemi (M), 1 saatten kısa sürer.



Şekil 2.2. Hücre proliferasyonunun (çoğalmasının) evreleri (hücre döngüsü) (Weinberg, 1996'dan uyarlama).

Antineoplastik ilaçların etkinliğini kısıtlayan önemli bir durum; ilaç etkisinin hücre döngüsünün dönemine özgü olmamasıdır. Bazı ilaçlar yalnızca hücre döngüsünün belirli bir döneminde etki gösterirken (*döneme-özü ilaçlar*), diğeri hücre yaşamının tüm dönemlerinde etkili olurlar (*döneme-özü olmayan ilaçlar*). İkinci gruptaki ilaçların genel özelliğı, DNA yapısını doğrudan bozmalarıdır.

Antineoplastik ilaçlar, kanser hücresine karşı sitotoksik etki gösterirken diğeri taraftan hızlı bir şekilde çoğalan normal hücreleri de yok edebilir. Bundan dolayı bugün kullanılan ilaçlar *antikanser* olmaktan daha çok *antiproliferatif* (hücre çoğalmasını engelleyici) ilaçlardır. Antineoplastik ilaçlarla tedavi istenmeyen ve hatta yaşamı tehdit eder boyuta ulaşan yan etkilere de yol açabilir. Bu ilaçlar; kanı oluşturan şekilli elementlerden birinin ya da tümünün yapımını azaltan kemik iliğinin baskılanması, lenfotoksik etki ve immunosupresyon (bağışıklık sisteminin baskılanması), bulantı ve kusma, oral ve intestinal ülserasyon, diyare, alopesi (saç dökülmesi) gibi genel yan etkilere neden olurlar. Bu ilaçların mutajenik (hücre çekirdeğindeki DNA üzerinde kalıcı yapı değışikliğı oluşturma), teratojenik (anne karnındaki bebekte biçim bozukluğu ve noksan gelişme oluşturma) ve karsinojenik (kanseri yapıcı) etkileri de vardır. Bunun yanısıra, bireysel olarak çok özel yan etkiler de oluşturabilirler. Bu nedenle ilaçla tedavinin yeterince deneyimli uzmanlar tarafından yapılması gereklidir.

Antineoplastik ilaçların etkinliğini kısıtlayan bir diğeri durum ise, kanser hücresinin ilaca dirençli olması ya da zamanla direnç kazanmasıdır. Tedavi sırasında direnç kazanılmasını önlemek amacıyla ilaçlar ya birarada kullanılır ya da tek ilaç yeterli süre ve dozda verilir.

Antineoplastik ilaçlar genel olarak (i) ağızdan tablet ya da kapsül şeklinde, (ii) kas içine ya da cilt altına enjeksiyon yolu ile, (iii) damardan infüzyon şeklinde verilirler. Birçok ilaç, sindirim yolu ile emilemediğı için damardan verilme tercih edilmektedir. Damar yolu ile verilen ilaçlar dolaşıma hemen katıldığı için etkileri hızlı olmaktadır.

Günümüzde kullanıma sahip antineoplastik ilaçların genel etki mekanizmalarına ya da kaynaklarına göre sınıflandırılması Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Antineoplastik ilaçların sınıflandırılması

<p>I. Alkilleyiciler</p> <p>A. Azotlu hardallar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Mekloreタミン (azotlu hardal) 2. Siklofosfamid 3. Klorambusil 4. Melfalan 5. İfosfamid <p>B. Alkil sülfonatlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Busulfan <p>C. Nitrozoüreler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Karmustin 2. Lemustin 3. Semustin 4. Streptozosin <p>D. Etileniminler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tiotepa <p>E. Triazinler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Dakarbazin <p>II. Antimetabolitler</p> <p>A. Folik asit antimetabolitleri</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Metotreksat <p>B. Pürin analogları</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tioguanin 2. Merkaptopurin 3. Fludarabin 4. Pentostatin 5. Kladrinin <p>C. Pirimidin analogları</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sitarabin 2. 5-fluorourasil <p>D. Sitozin analogları</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Desitabin 2. Gemitabin <p>III. Sitotoksik antibiyotikler</p> <p>A. Antrasiklinler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Doksorubisin (Adriamisin) 2. Daunorubisin (Daunomisin) 3. İdarubisin 4. Epirubisin <p>B. Bleomisin</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Bleomisin sulfat <p>C. Mitomisin C</p> <p>D. Daktinomisin (Aktinomisin)</p> <p>E. Plikamisin (Mitramisin)</p>	<p>IV. Bitkisel kaynaklı ilaçlar</p> <p>A. Vinka alkaloidleri</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vinkristin 2. Vinblastin <p>B. Epipodofilotoksinler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Etopozid 2. Teniposid <p>C. Taksanlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Paklitaksel 2. Doseetaksel <p>D. Kaptotesin türevleri</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İrinotekan 2. Topotekan <p>V. Enzimler</p> <p>A. L-Asparaginaz</p> <p>VI. Stereoid Hormonlar ve Antagonistleri</p> <p>A. Glukokortikoidler</p> <p>B. Östrojen, antiöstrojenler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tamoksifen sitrat 2. Estramustin sodyum fosfat <p>C. Androjenler, antiandrojenler</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Flutamid <p>D. Progestinler</p> <p>E. Lüteinleştirici hormon-salglayan hormon antagonistleri</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Buserelin 2. Leuprolid <p>F. Oktreotid asetat (Sandostatin)</p> <p>VII. Monoklonal antikorlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Setuksimab 2. Bevasizumab 3. İtuksimab <p>VIII. İmmünmodülatörler</p> <p>A. Levamisol</p> <p>B. İnterferonlar</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İnterferon alfa-2a <p>C. İnterlökinler: aldeslökin (interlökinler-2)</p> <p>IX. Diğer antineoplastik ilaçlar</p> <p>A. Hidroksiüre</p> <p>B. Mitotan</p> <p>C. Heksametilmelamin</p> <p>D. Sisplatin</p> <p>E. Karboplatin</p> <p>F. Mitoksantron</p>
--	--

Bu tabloda yer alan alkilleyici ilaçlar, en fazla kullanılan ilaç grubunda olup döneme-özüğü değildirler. Hücreleri her dönemde etkileyebilirler. Önemli özelliklerinden biri; ön-ilaç olmaları dolayısıyla *in-vitro* ortamda etkin olmamalarıdır. İkinci Dünya Savaşı sırasında Bari (İtalya) kentindeki bir bombardımanda sülfürlü hardala (hardal gazı) maruz kalan denizcilerin kemik iliği ve lenf nodlarında atrofi oluşur. Hücre bölünmesi üzerindeki bu olumsuz etkinin gözlenmesi, lösemi ve lenfoma gibi kanserlerin tedavisinde hardal bileşenlerinin kullanılabileceği düşüncesine ilk adım oluşturur. Yale Üniversitesi'nden iki farmakolog, Louis Goodman ve Alfred Gilman, hardal bileşenleri başta olmak üzere çeşitli kimyasalların tedavi edici etkilerini araştırmaya yoğunlaşırlar. Böylece modern kanser kemoterapisinin başlangıcı da, 1940'lı yılların sonunda alkilleyici ilaçlar sınıfından mekloreタミン ve türevlerinin (azotlu hardal) tedavi amacıyla kullanılmasıyla gerçekleşmiş olur.

Antimetabolitler, alkilleyici ilaçlar gibi sık kullanılan antineoplastik ilaçlardır. Onlardan önemli farklarından biri; döneme-özüğü ilaçlar olmaları, maksimum etkilerini S-fazında göstermeleri ve çoğu kez çoğalma fraksiyonu yüksek tipteki tümörlere etkili olmalarıdır.

Sitotoksik antibiyotikler, hücre döngüsüyle ilişkisiz ilaçlar grubundan olup hem hızlı hem yavaş bölünen tümörlere etkilidirler.

Bitkisel kaynaklı ilaçlar ise, mitozun metafaz (M) dönemine özüğü ilaçlardır. Bitkisel kaynaklı ilaçlar grubu içinde yer alan ve bu tez araştırması için seçilen "*Vinka* alkaloidleri" sonraki bölümde ayrıntılı olarak incelenecektir.

2.1.1. *Vinka* alkaloidleri

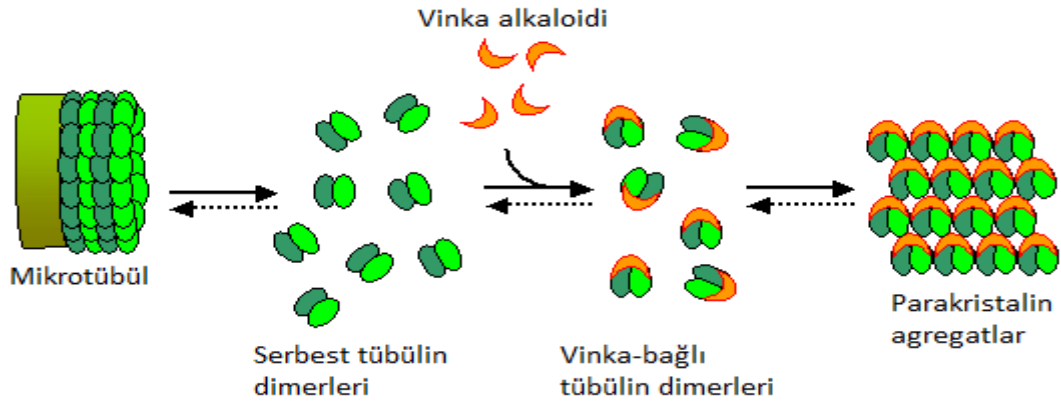
Filipinler ve Jamaika'dan toplanan ve aslen Madagaskar'a endemik olan Zakkumgiller (Apocynaceae) familyasından *Catharanthus roseus* (daha öncesi *Vinca rosea*, rozet çiçeği) bitkisinin (Şekil 2.3) yaprakları II. Dünya Savaşı sırasında Filipinli askerler tarafından kan şekerini düşürmek amacıyla kullanılmaktaydı. 1950'li yıllarda Kanadalı Robert Noble ve Charles Thomas Beer, bitkinin hipoglisemi etkisini araştırırken bitkiden elde ettikleri özütün kandaki beyaz küre sayısını da düşürdüğünü saptamışlardır. *Vinka* alkaloidlerinin antineoplastik etkisi ilk kez 1958 yılında ortaya konmuştur (Creasey, 1975). *Catharanthus roseus* bitkisinin dimerik alkaloidleri olan

Vinblastin (1961) ve *Vinkristin* (1963) yanında onların yarı-sentetik türevleri olan *Vindesin* (1980), *Vinorelbin* (1989) ve *Vinorelbin*'in florlu türevi olan *Vinflunin* (2010) kanser tedavisinde yerini almıştır (Kruczynski ve Hill, 2001; Moudi ve ark., 2013).



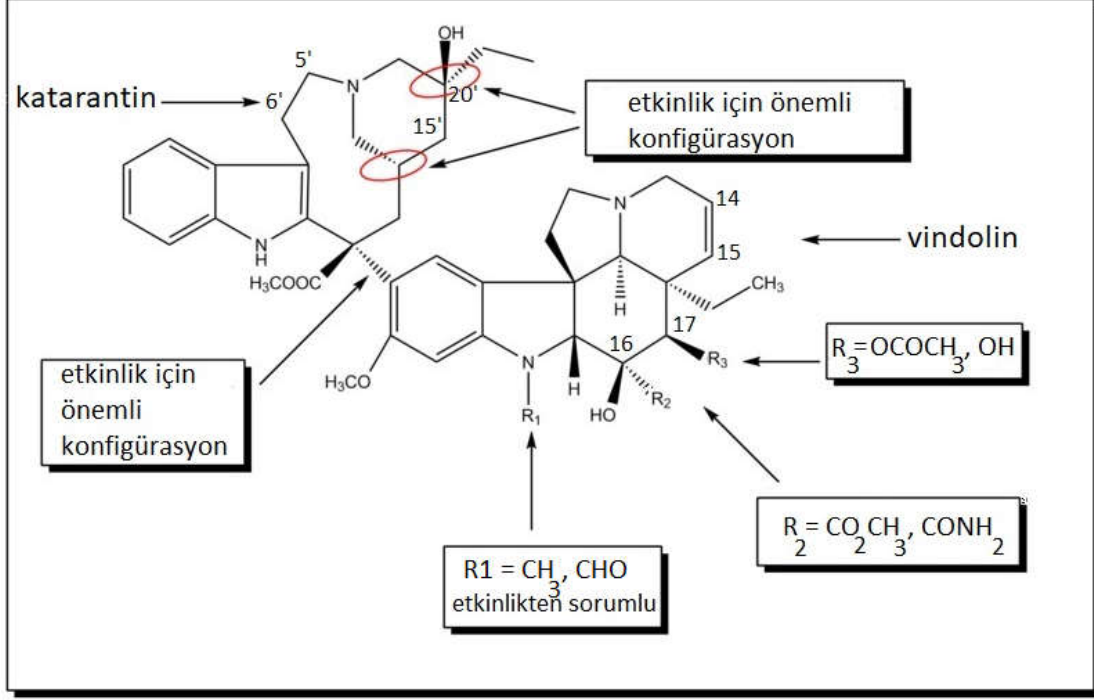
Şekil 2.3. *Catharanthus roseus* (*Vinca rosea*, rozet çiçeği).

Bu gruptaki ilaçların birincil etkileri, mitozun metafaz (M) döneminde mikrotübüllerden ibaret olan mitoz iğciklerinin oluşmasını önlemektir. Mikrotübüler proteinlere ve tübülünlere (mitozda çok önemli rolü olan mikrotüpçükleri oluşturan polipeptit alt birimi) bağlanarak etki göstermektedirler (*mikrotübül inhibitörleri*) (Şekil 2.4). Bundan dolayı mitozun, M dönemine özgü ilaçlardır (*döneme-özü ilaçlar*). DNA sentezini ve yapısını bozmazlar. Bu ilaçlara; *mitoz zehirleri*, *metafaz zehirleri* ya da *iğcik zehirleri* gibi isimler de verilir (Jordan, 2002).



Şekil 2.4. Vinka alkaloitlerinin etki mekanizması.

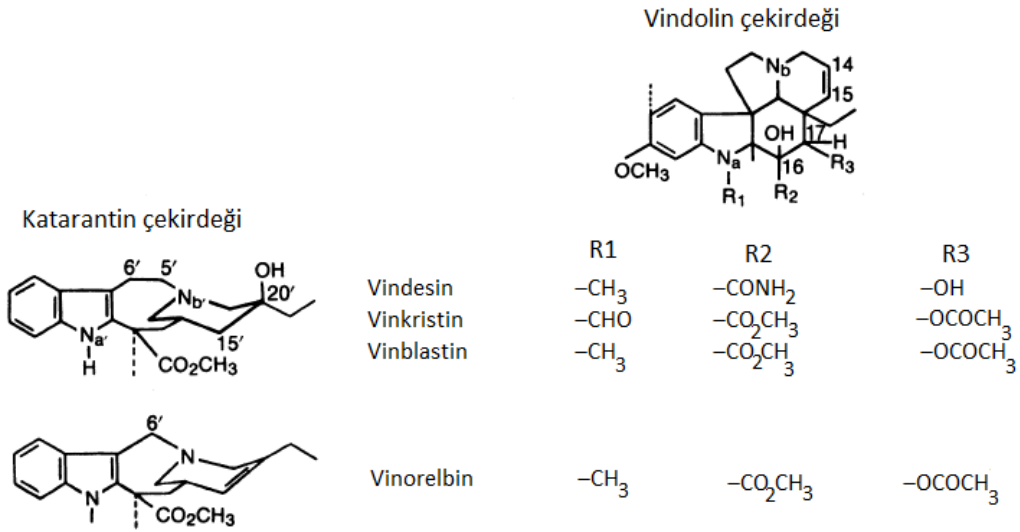
Kimyasal olarak, *Vinka* alkaloitlerinin karbon-karbon bağıyla birleşmiş iki çekirdekten oluşan büyük bir dimerik asimetrik yapısı vardır (Şekil 2.5). Dihidroindol çekirdeği (vindolin), bitkideki en temel alkaloit olmasına karşın indol çekirdeği (katarantin) en düşük düzeyde yer alır (Zhou ve Rahmani, 1992).



Şekil 2.5. Temel *Vinka* alkaloit yapısı.

Vinblastin ve Vinkristin moleküllerinin yapısal farklılıkları R1 grubu üzerindeyken; Vinblastin ve Vindesin farklı R2 ve R3 grupları içermektedir. Diğer *Vinka* alkaloitlerinin aksine Vinorelbin, katarantin çekirdeği üzerinde yapısal bir değişiklik göstermektedir (Şekil 2.6).

Vinkristin molekülünde, diğer üç molekülden farklı olarak vindolin çekirdeğindeki R1 konumunda azot atomuna bağlanmış olarak metil grubu yerine asetaldhid grubu yer almıştır. Buna karşılık; Vinkristin, Vinblastin ve Vinorelbin moleküllerinde R2'deki metil esteri ve R3'deki asetil grubuyla Vindesin molekülünde aynı pozisyonlarda sırasıyla amid grubu ve hidroksil grubu yer değiştirmiştir. Vinorelbin molekülü, katarantin çekirdeğinde farklı yapıya sahiptir. 5' pozisyonundaki karbon atomunun eliminasyonu ile 11-üyelî halka 10-üyelî halka haline dönüşmüştür.



Şekil 2.6. Farklı *Vinka* alkaloitlerinde vindolin ve katarantin çekirdeklerindeki yapısal farklılıklar.

Vinka alkaloitlerinin bir kısmı 40 yıldan fazla bir süredir pazarlanmasına karşın, bu bileşiklerin metabolizması üzerine çok az şey bilinmektedir. Çözünürlüğü ve dayanıklılığı artırmak için genellikle sülfat tuzu halinde doğrudan intravenöz enjeksiyon yoluyla alınırlar. Öncelikle hepatobiliyer sistem (karaciğer, safra kesesi, dalak ve pankreası içine alan sistem) tarafından elimine edilirler. Farklı molekül yapılarına göre değişkenlik gösterebilirler de alınan dozun % 33-80'i dışı ile (%40'ı metabolitleri halinde), %12-30'u idrar yolu ile ve genellikle değişmeden atılır (Levêque ve Jehl, 2007).

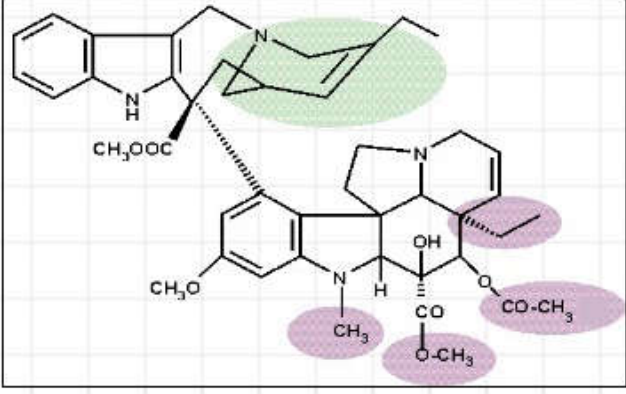
2.1.1.1. Vinorelbin

Bu araştırma için seçilen ve *Vinka* alkaloitleri içinde yer alan Vinorelbin molekülünün kimyasal yapısı, isimlendirilmesi, fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Vinorelbin, Vinblastin'in yarı sentetik türevidir olup Anhidrovinblastin (5'-noranhidrovinblastin) olarak da bilinir. Molekül, 1980 yılında Pierre Potier ve araştırma grubu tarafından (Fransa) keşfedilmiş ve 1989 yılında Navelbin® IV ticari ismiyle (Vinorelbin ditartarat), bronşiyal kanserin tedavisi için geliştirilmiştir. 1991 yılında ise

küçük-hücreli olmayan akciğer kanserinin tedavisi için onay almıştır (Krikorian ve Breillout, 1991).

Çizelge 2.2. Vinorelbin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	<p>Kimyasal formülü: C₄₅H₅₄N₄O₈ (baz), C₅₃H₆₆N₄O₂ (ditartarat tuzu)</p> <p>Molar kütle: 778.932 g/mol (baz), 1079.119 g/mol (ditartarat tuzu)</p> <p>Görünüş: Açık sarı amorf toz</p> <p>Erime noktası: 181-183 °C</p> <p>Çözünürlük: Ditartarat tuzu, su (~10 mg/mL) ve DMSO (~46 mg/mL) içerisinde çözünür. Kloroform ve metanolde ise çözünürlüğü düşüktür.</p> <p>pK_a: pK_{a1}: 5.4; pK_{a2}: 7.6</p> <p>Saklama koşulları: 2-8 °C</p>

Yukarıda açıklandığı üzere; Vinblastin'deki katarantin halkasının modifikasyonu, Vinorelbin'in lipofilitesini ve membran geçirgenliğini diğer *Vinka* alkaloidlerine kıyasla artırmıştır. Değişmiş toksisite profili ile mikrotübül popülasyonu ve dinamikleri üzerinde farklı etkiler oluşturan yapıdaki bu farklılık, Vinorelbin molekülünün farmakokinetik özelliklerini de değiştirmiştir (Johnson ve ark., 1996).

Yapılan araştırmalar Vinorelbin'in mitotik hücrelerde bulunan mikrotübüller üzerinde nöral aksonlardakilere kıyasla daha özgün etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Mikrotübüller üzerindeki bu seçiciliği, klinik araştırmalarda Vinorelbin'in daha düşük nörotoksisite görülme sıklığına (insidans) sahip olduğunun nedenini açıklamaktadır (Toso ve Lindley, 1995). Tümör hücresine karşı rezistans mekanizması bugün için tam olarak bilinmemekle birlikte bileşiğin bu özelliğinin diğer iki *Vinka* alkaloidininkine (Vinkristin ve Vinblastin) benzediği düşünülmektedir.

Vinorelbin, günümüzde diğer kemoterapötik ilaçlarla kombine halde lösemi, lenfoma, ilerlemiş testis kanseri ve Kaposi sarkomunda kullanılmaktadır (Cragg ve Newmann, 2005). Özellikle ilerlemiş meme kanseri ile ilerlemiş küçük-hücreli olmayan akciğer kanserinin tedavisinde çok etkindir (Avada, 2002; Kato ve Saijo; 2002; Semple

ve ark., 2005; Asmis ve ark., 2008; Xu ve ark., 2013). Belirgin miyelotoksik (kemik iliği hasarı) etkisi vardır.

Intravenöz uygulama sonrası karaciğer, dalak, böbrekler, akciğerler, timüs, kalp ve kas dokusunda yüksek derişimlerde bulunur. Yağ, kemik iliği ve beyin dokusuna dağılımı en az düzeydedir. Trombosit ve lenfositlerin yanısıra α_1 -asit glukoprotein ve albumine de bağlanır. Serumda proteinlere total bağlanma oranı %79-91 arasında değişir. Karaciğerde CYP3A4 enzimi ile biyotransformasyona uğrar. Vinorelbin periferik kompartımanlardan yavaş bir şekilde ayrıldığı için ortalama terminal yarı ömrü 27.7-43.6 saattir. Kimyasal yapısının karmaşıklığı nedeniyle, şimdiye kadar Vinorelbin'in metabolizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Bugün için bilinen iki etkili metaboliti vardır. İlki farmakolojik ve toksikolojik olarak ana bileşiğe benzer etkinlik gösteren 4-*O*-deasetilvinorelbin'dir. Bu metaboliti başlangıçta yalnızca idrarda saptanmış (Jehl ve ark., 1991), daha sonra plazmadan da tayin edilmiştir (Puozzo ve ark., 2007). İkinci metaboliti, inaktif ve non-toksik Vinorelbin 6'oksit olup kanda ve idrarda saptanmamıştır (Jehl ve ark., 1991). Vinorelbin ve metabolitleri safra (%34-58) ve böbrek yoluyla (%16-21) atılır. İlacın idrarda bulunan miktarının % 95'i değişmemiş olarak atılır. Renal yolla olan atılımın 2/3'ü ilk 24 saatte gerçekleşir. Vinorelbin tedavi edici doz düzeylerinde verildiğinde farmakokinetiği doza bağımlı değildir. Diğer *Vinka* alkaloidlerinden farklı bir yapısal modifikasyon gösterdiğinden intravenöz yol ile kullanılabilirdiği gibi ağız yoluyla da toz içeren kapsül ya da sıvı dolu jelatin kapsül şeklinde uygulanır. Kapsül formunun biyoyararlanımı % 43 ve jelatin kapsül formunununki % 27'dir. En yüksek plazma derişimlerine 1-2 saat içinde ulaşılır. Oral yoldan verilen Vinorelbin'in farmakokinetiği intravenöz formülasyonunkine benzer (Gregory ve Smith, 2000).

2.1.1.1.1. Vinorelbin için uygulanan analiz yöntemleri

Genelde antineoplastik ilaçların özelde *Vinka* alkaloidlerinin değişik ortamlardan tayinine olanak sağlayan yüksek duyarlılığa sahip, seçici ve güvenilir analitik yöntemlere gereksinim duyulmasının nedeni aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Rauf ve ark., 2005; Kosjek ve Heat, 2011; Nussbaumer ve ark., 2011; Negreira ve ark., 2013):

(i) Farmasötik formülasyonlarda analiz:

♣ İlacın üretim aşamasındaki kalite kontrolü: Temel ilacın, safsızlıklarının ve bozunma ürünlerinin eş zamanlı tayinine olanak sağlayan bir yöntem kullanılmalıdır. Tüm

ilaçlar için gerekli olan kalite kontrol işlemi, farmasötik düzenlemelerle uyumlu olmalıdır. Sıvı kromatografisi (LC) ve kapiler elektroforez (CE) bu basamakta sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Dedeksiyon sistemi olarak da kütle spektrometrisi (MS) tercih edilmektedir. LC-UV, rutin olarak kullanımda olsa da yöntemin duyarlılığı bozunma ya da safsızlık çalışmalarında yeterli olmayabilir.

♣ Tedavi öncesi hazırlanan formülasyonun kalite kontrolü: Hastaya ticari formülasyon verilmeden önce sodyum klorür (NaCl, % 0.9) ya da glukoz (% 5) içerisinde çözülerek seyreltilir. Seyreltik çözeltilerin dayanıklılığı genellikle sınırlıdır (ya da bilinmemektedir) ve deneyimli personel tarafından uygulamadan hemen önce hazırlanmalıdır. İlaç düzenlemeleri son aşamadaki bu kontrolü gerektirmese bile, doğru ilaç derişimini oluşturmak ve ölümlü sonuçlanabilecek hata riskini düşürmek için analiz uygulanabilir. Analitik yaklaşımlardan biri UV-diyot ışını dedeksiyonu (DAD) olan akışa-enjeksiyon analizi (FIA), bir diğeri ise Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi uygulamasıdır.

♣ Formülasyon çalışmaları: Antineoplastik ilaç etken maddesinden hazırlanan farklı formülasyonların, içinde yer aldığı malzeme (cam ya da plastik) ile uyumu, etken maddenin adsorpsiyonu ya da bozunmasını önlemek açısından çok önemlidir. Bu çalışmalarda en çok kullanılan yöntem LC-UV tekniğidir.

(ii) Biyolojik örneklerde analiz:

♣ Bu grup bileşiklerin neden olduğu pekçok yan etki nedeniyle, farmakokinetik özellikleri hakkındaki bilgiyi edinebilmek için temel metabolitleriyle birlikte tayinleri birincil derece önemlidir. Böylece; tedaviyi pekiştirmek, ömrü uzatmak ve hastalığın ilerlemesini önlemek için hem dozları hem de maruziyet süreleri optimize edilebilir. Bu amaçla, biyolojik örneklerden (plazma, idrar, dışkı, doku homojenatı, tümör hücreleri) analizde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerin başında MS dedektörlü gaz (GC) ve LC teknikleri gelmektedir.

♣ Kemoterapötik ajanların biyolojik etkinliği DNA ile bağlanmalarına bağlıdır; bu yolla DNA kopyalanmasını ve hücre bölünmesini bloke ederek kanserli hücrenin ölümünü sağlarlar. Dolayısıyla DNA ile birleşme, bu ilaçların etki mekanizmalarının ve toksisitelerinin anlaşılmasında kullanılabilir. Ayrıca, antineoplastik ilaç-DNA etkileşimi incelenmesinin geniş spektrumlu etkinliğe sahip, yan etkileri düşük ve direnci azaltılmış yeni kemoterapötiklerin tasarımı ve sentezi açısından da önemi büyüktür. Bu amaçla kullanılan tekniklerin başında DNA-ayakizi, nükleer manyetik rezonans (NMR), MS, FT-IR, Raman spektroskopisi, moleküler modelleme teknikleri, yüzey plazma rezonans (SPR) ve CE gelmektedir.

(iii) Çevresel örneklerde analiz:

♣ Yüzey ve hava kontaminasyonu: Farklı ilaçlar ve tekniklerle hazırlanan çok geniş aralıktaki kemoterapi formülasyonu özellikle hastane birimlerinde üretilmektedir. Bu ortamlardaki kirliliğin saptanması için seçiciliği ve duyarlılığı yüksek yöntemlere (LC-MS/MS) gereksinim vardır.

♣ Atıksular: Hastaların bu grup ilaçlarla tedavisi sonrası çok önemli miktarda sitotoksik bileşen metabolize olmadan idrar yoluyla elimine edilerek atıksulara ulaşmaktadır. Çok küçük derişimlerinde bile insan ve çevre sağlığı üzerindeki olası toksisiteleri nedeniyle antineoplastik ilaçların ve metabolitlerinin hastane akıntılarında ve atıksu örneklerinde analizine gereksinim vardır. Bu amaçla kullanılan yöntemlerin başında MS dedektörlü indüktif olarak eşleştirilmiş plazma (ICP), CE-UV, floresans dedektörlü LC, LC-MS/MS gelmektedir.

Vinorelbin için uygulanan ayırma yöntemleri

Çizelge 2.3'de üzerinde çalışılması planlanan Vinorelbin bileşiminin LC ve CE analizlerine ilişkin bazı örnekler verilmiştir.

Vinorelbin için uygulanan elektroanalitik yöntemler

Vinorelbin bileşiminin de içinde yer aldığı antineoplastik ilaçların tayininde kullanılan ve bir kısmı yukarıda verilen yöntemlerden LC; yüksek duyarlılık, seçicilik ve doğruluğa sahip olmasına karşın deneyimli personele, uzun ve zahmetli ön-ayırma işlemlerine, organik çözücülere ya da yüksek maliyetli cihazlara (özellikle dedeksiyon biriminde) gereksinim duymaktadır. Öte yandan elektroanalitik yöntemlerden biri olan voltametrinin basit, hızlı düşük maliyetli, matris etkisine düşük duyarlılıkta ve yerinde analize uygun olması nedeniyle; özelde Vinorelbin, genelde ise *Vinka* alkaloitlerinin tayinine yakın bir gelecekte alternatif bir aday olacağı açıktır (Farghaly ve ark., 2014; Lima ve ark., 2018).

Elektron aktarımı ve oksidatif stresin antineoplastiklerin tedavi edici ve aynı zamanda olumsuz etkileri (toksik) üzerinde büyük rol oynadığı bilinmektedir. İlgili bileşiklerin pek çoğunun moleküler yapısında redoks etkin gruplarının bulunması nedeniyle; elektroanalitik araştırmalara ek olarak, elektrokimyasal çalışmalardan edinilen bulgular, bu grup ilaçların her iki etki mekanizması hakkında önemli bilgiler sunacaktır (Kovacic, 2007).

Çizelge 2.3. Vinorelbin bileşiğinin ve diğer antineoplastiklerin ayırma yöntemleriyle analizi

Analit	Teknik	Dedektör	LOD/LOQ/LLOQ	Matris	Kaynak
Vinorelbin	LC	FL	1.5 µg/L (LOD)	Plazma ve idrar	Van Tellingen ve ark., 1992
Vinorelbin	LC	FL	8 pmol (LOD)	Tümör hücresi	Debal ve ark., 1992
Vinorelbin	LC	Kulometrik	-	Tavşan plazması	Mouchard-Delmas ve ark., 1995
Vinorelbin	LC	EC	-	Plazma (farmakokinetik çalışma)	Sabot ve ark., 1998
Vinorelbin Vinorelbin <i>N</i> -oksit Deasetilvinorelbin	LC	ESI-MS	0.25 ng/mL (LOD) 0.50 ng/mL (LOD) 0.75 ng/mL (LOD)	Serum (farmakokinetik çalışma)	Ragot ve ark., 2001
Vinorelbin 4- <i>O</i> -deacetylvinorelbine 20'-hydroxyvinorelbine Vinorelbine 6'-oxide	LC	MS/MS	250 pg/mL (LOQ) 250 pg/mL (LOQ)	Kan, plazma, idrar, feçes (farmakokinetik çalışma)	Van Heugen ve ark., 2001,
Vinorelbin 11 <i>Vinka</i> alkaloidi	CE	DAD	0.43 µg/mL (LOD)	İlaç (ampul)	Barthe ve ark., 2002
Vinorelbin 17 Metaboliti	LC	ESI-MS/MS	-	Kan, plazma, idrar, feçes, safra (farmakokinetik çalışma)	De Graeve ve ark., 2008
Vinorelbin 4- <i>O</i> -deacetylvinorelbine	LC	ESI-MS/MS	-	İnsan ve fare plazması (farmakokinetik çalışma)	Damen ve ark., 2009

Çizelge 2.3. (Devam ediyor)

Analit	Teknik	Dedektör	LOD/LOQ/LLOQ	Matris	Kaynak
Vinorelbin	LC	ESI-MS/MS	0.1 ng/mL (LLOQ)	Metastatik meme kanserli hasta plazması (farmakokinetik çalışma)	Qian ve ark., 2011.
Vinorelbin ditartarat Katarantin sülfat	CE	C ⁴ D	-	-	Lopez ve ark., 2012
Vinorelbin	CE	ECL	1×10 ⁻¹¹ M (LOD)	Tümörlü hasta idrarı	Zhou ve ark., 2013
Vinorelbin Vinblastin Paklitaksel Dosetaksel	LC	ESI-MS/MS	2 ng/mL (LOD) 2 ng/mL (LOD) 8 ng/mL (LOD) 2 ng/mL (LOD)	Hasta plazması (farmakokinetik çalışma)	Gao ve ark., 2014
Vinorelbin Etopozid Gemsitabin Metabolitleri	UHPLC	ESI-MS/MS	50 ng/mL (LLOQ)	Akciğer kanserli hasta plazması (farmakokinetik çalışma)	Gong ve ark., 2017
Vinorelbin 4- <i>O</i> -deacetylvinorelbine	LC	MS/MS	0.05 ng/mL (LLOQ) 0.05 ng/mL (LLOQ)	Akciğer kanserli hasta kanı (farmakokinetik çalışma)	Corona ve ark., 2018

Teknik: LC, sıvı kromatografisi; CE, kapiler elektroforez; UHPLC, ultra performanslı sıvı kromatografisi. **Dedektör:** FL, floresans; EC, elektrokimyasal; ESI, elektrosprey iyonizasyon; MS, kütle spektrometrik; DAD, diyot ışını dedeksiyonu; C⁴D, kapasitif eşleşmiş temassız iletkenlik.

Bunun yanısıra; son yıllarda antineoplastik ilaçlar ve DNA arasındaki ilişkinin elektrokimyasal incelenmesine büyük ilgi vardır. İlaç-DNA etkileşiminde elde edilen elektrokimyasal sinyaller, etki mekanizması hakkında önemli bilgi sunduğu gibi; bu etkileşim (DNA biyosensörler), ilgili ilaçların ya da DNA-hedefli yeni geliştirilecek ilaçların tayininde kullanılabilir (Rauf ve ark., 2005).

Yukarıda sözü edilen klasik yaklaşımların dışında, elektrokimyasal teknikler, ilaç tedavisi gören kanserli hastalarda ilacın hücre düzeyindeki gerçek-zamanlı etkilerini izlemek amacıyla da kullanılmaktadırlar (Yong ve Qi-Long, 2001; Wooley ve ark., 2002; Chen ve ark., 2005).

Bilgimize göre; Vinorelbin'in elektrokimyasal incelenmesi üzerinde eski kaynaklı tek bir çalışma bulunmaktadır. Brett ve ark. (1993) tarafından yapılan bu çalışmada, Vinorelbin molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesi geniş bir pH aralığında (1.2-12.8) camımsı karbon (GC) elektrot üzerinde dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametrisi (DPV) teknikleri ile incelenmiştir. Araştırma sonucunda molekülün anodik yükseltgenme mekanizmasının çok karmaşık ve pH bağımlı olduğu ortaya konmuştur.

Kaynakça araştırmasından görüldüğü üzere diğer Vinka alkaloidlerinin de voltametik yöntemle tayini üzerinde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlgili bileşiklerin tayinlerinde kullanılan bazı elektrokimyasal sensör/biyosensörlerin analitik performans özellikleri Çizelge 2.4'de özetlenmiştir. Diğer taraftan elektrokimyasal sensörler, bu grup bileşiklerin kapiler elektroforez (CE) (Jin ve Jiang, 2002; Zhou ve ark., 2013) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Naaranlahti ve ark., 1989) ile gerçekleştirilen tayinlerinde dedeksiyon sisteminde de yer almışlardır.

2.2. Katı Elektrot Voltametrisi ile İlgili Genel Bilgi

Bu tez çalışmasında Vinorelbin tayini için elektroanalitik yöntemlerden biri olan voltametri tekniği kullanılacaktır. Bu bölümde ilk olarak ilgili katı elektrot voltametrisinin ve kullanılacak elektrotların (camımsı karbon ve kalem-ucu grafit) özellikleri tartışılacak; daha sonra ise Vinorelbin tayininde kullanılacak voltametik teknikler hakkında kısa bilgi verilecektir.

Çizelge 2.4. Vinka alkaloidlerinin farklı elektrotlar (elektrokimyasal sensör ve biyosensör) üzerinde voltametrik analizi

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Vinblastin Vindolin Katarantin	DPV	CPE	4 µM 1.5 µM 20 µM	-	Russling ve ark., 1984
Vinblastin Vinkristin	DPP	DME	-	Plazma, idrar	Temizer, 1986
Vinblastin Vinkristin	DPV	GCE	-	Mekanizma çalışması	Brett ve ark., 1994
Vinkamin	SW-AdSV	Nj-CPE	6×10^{-9} M	İlaç, serum	Beltagi, 2008
Vinblastin	CV, DPV	Pt	-	Mekanizma çalışması	Haque ve Saba, 2009
Vinkristin	DPV	RGO-Au/GCE	2.6×10^{-8} M	-	Zhang ve ark., 2016
Vinblastin	CV, EIS	AuNPs/GCE	0.084 nM	Serum, bitki özütü	Haghshenas ve ark. 2017

Teknik: DPV, diferansiyel puls voltametri; DPP, diferansiyel puls polarografisi; SW-AdSV, kare-dalga adsorptif sıyırma voltametri; CV, dönüşümlü voltametri; EIS, electrochemical empedans spektroskopisi. **Elektrot:** CPE, karbon pasta elektrot; DME, damlayan cıva elektrot; GCE, camımsı karbon elektrot; Nj-CPE, Nujol-temelli karbon pasta elektrot; RGO-Au/GCE, (indirgen grafit oksit-altın nanokompozit/camımsı karbon elektrot; AuNPs/GCE, altın nanopartikül/camımsı karbon elektrot.

İçinde bulunduğumuz 2018 yılı, Alessandro Volta tarafından "elektrik pili"nin keşfinin 219. yıldönümüne denk gelmektedir. Volta'nın bu keşfi, kimyanın elektriksel temellerinin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Geride bıraktığımız yüzyıl, elektroanalitik kimyanın yükselişi ve olgunlaşması dönemine denk gelmiştir. Son onlu yıllarda ise, örnek minyatürizasyonunun, mikroelektronik ve bilgisayar teknolojilerinin gelişmesine bağlı olarak; çok sayıda farklı teknik geliştirilmiş, cihaz ve aksesuarları tasarlanmış, titiz bir teorik ve matematiksel çerçeve oluşturulmuştur (Lubert ve Kalcher, 2010).

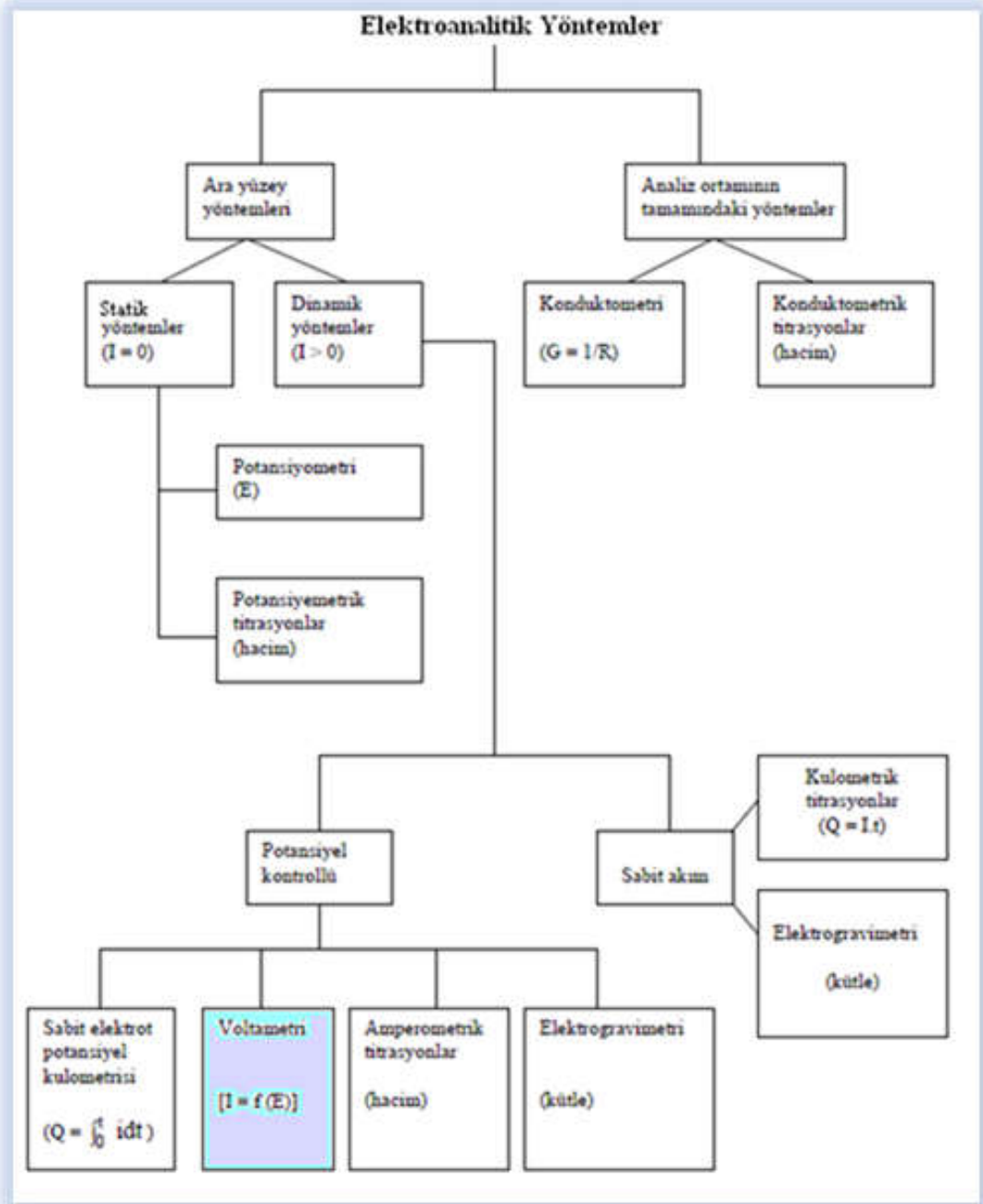
Elektroanalitik yöntemler, elektrik ve kimya arasındaki ilişkiyi, yani akım, gerilim ya da yük gibi elektriksel büyüklüklerin ölçümleri ve kimyasal değişkenlerle olan ilişkilerini inceleyen bir grup nicel analitik yöntemin genel adıdır. Günümüzde kullanılan elektroanalitik yöntemler Şekil 2.7'de gösterilmiştir (Bard ve Faulkner, 2000; Wang, 2006). Şekilden de görüleceği üzere, elektroanalitik yöntemler, analizi yapılacak maddenin (analit) iki temel özelliğine dayalı olup başlıca iki grup altında toplanırlar. Bunlardan ilki, bir elektrik alanındaki yüklü parçacıkların hareketine dayalı yöntemler olup analiz ortamının tamamında gerçekleşirler. İkinci grup yöntemler ise; ara-yüz yöntemleri olup bir elektrot ile çevresindeki ara yüzeyde yer alan iyon, atom ya da moleküller arasındaki elektron aktarımı incelenir. Ölçülen sinyallerdeki çeşitlilik (gerilim, akım, direnç, empedans), bu yöntemlere uygulamada geniş bir pencere açmaktadır.

Elektroanalitik yöntemlerin gelişmesinde çok önemli işlevi olan ve bir ölçme sisteminin en temel bölümünü oluşturan "*kimyasal sensör*", kimyasal bir bilgiyi (genelde analitin derişimi) analitiksel olarak yararlanılacak bir elektrik sinyaline çevirir. Elektrokimyasal sensörlerde, çevirici unsur olarak kullanılan elektrot yüzeyinde ortamdaki elektroetkin (yükseltgenebilen ya da indirgenebilen) türün değişikliğinden yararlanılarak ölçümler alınır (Brett ve Brett, 2011).

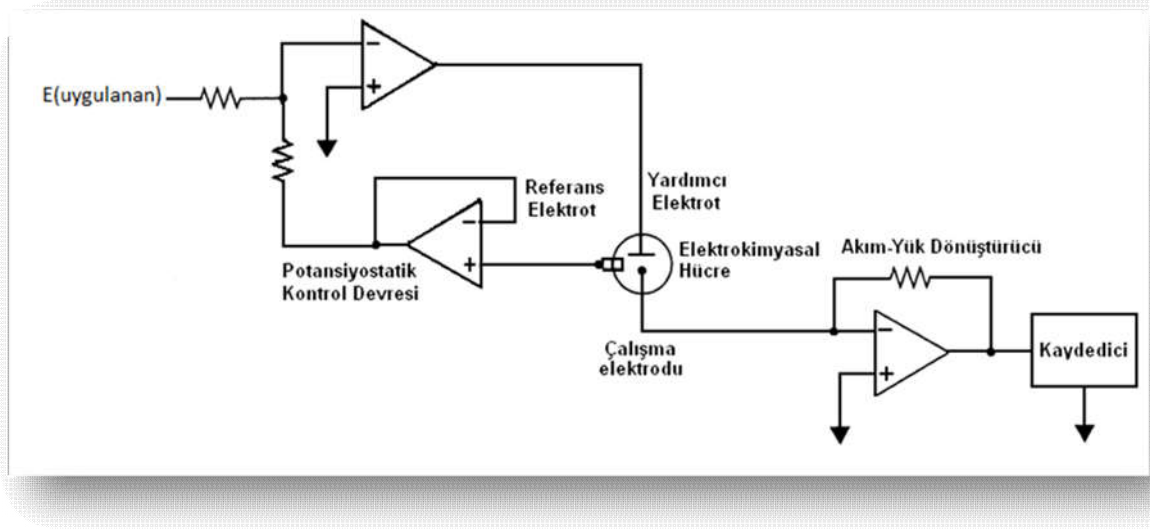
Elektroanalitik yöntemlerin merkezinde yer alan voltametri, 1922 yılında Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografi tekniğinin (damlayan cıva elektrot üzerindeki voltametri) keşfiyle gelişmeye başlamıştır. Heyrovsky, bu keşfiyle 1959 yılında Nobel Kimya ödülünü almıştır.

Voltametri yönteminde, polarize olabilen çalışma elektrotuna değeri bilinen bir gerilim uygulanarak analitin (elektroetkin yani elektrot tepkimesine katılan iyon ya da moleköl) yükseltgenme ve/ya da indirgenmesi sağlanır. Bu redoks işlemi, büyüklüğü analit

derişiminin bir ölçüsü olan akım ile sonuçlanır. Şekil 2.8'de modern voltametrik cihazlardaki potansiyostatik sistem diyagramı gösterilmiştir. Üç elektrotlu voltametrik sistemde, cam, teflon ya da polietilenden üretilen elektrokimyasal hücre içerisinde çalışma elektrotunun yanısıra karşılaştırma (referans) elektrotu ve yardımcı elektrot da yer alır. Ayrıca oksijenin çözelti ortamından uzaklaştırılması için azot gazı girişi bulunmaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.7. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.



Şekil 2.8. Voltametri için üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı.

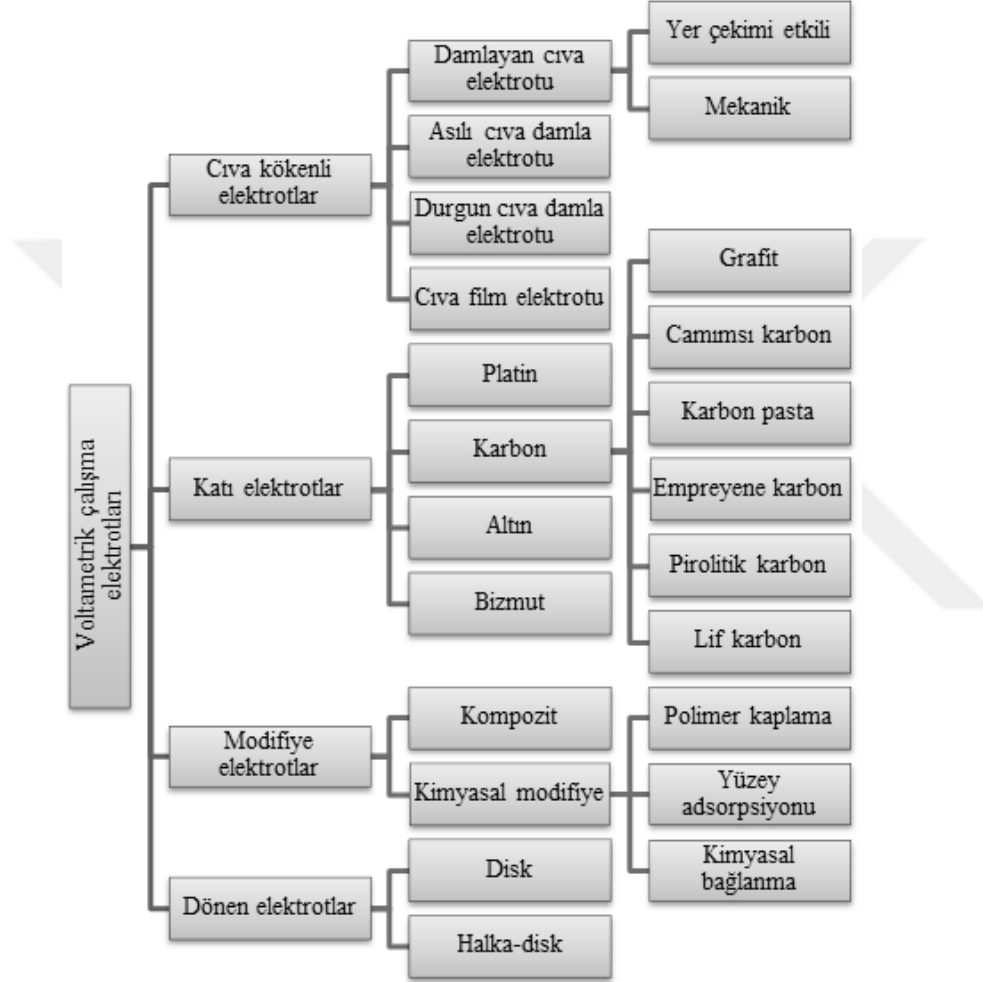


Şekil 2.9. Elektrokimyasal hücre ve bileşenleri (Özkan ve ark., 2015'ten uyarlama).

Voltametik yöntemin performansını büyük ölçüde çalışma elektrotu olarak kullanılan malzeme etkilemektedir. Çalışma elektrotunun seçiminde; analitin redoks davranışı, ölçüm için gerekli olan gerilim bölgesindeki artık akım, gerilim çalışma aralığı, elektrot malzemesinin elektriksel iletkenliği, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikleri, maliyeti, uygulanabilirliği ve toksisitesi gibi ölçütlere dikkat edilmesi gereklidir (Özkan ve ark., 2015). Voltametri için yaygın olarak kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2.10'da verilmiştir.

Voltametrinin ilk uygulaması, cıva-temelli elektrotların da ilk örneği olan damlayan cıva elektrot (DME) kullanarak gerçekleştirilmiş ve yöntem de özel olarak

"polarografi" olarak isimlendirilmiştir. Cıva; pürüzsüz ve kolaylıkla yenilenebilir yüzeye sahip olduğundan yüzey kirliliği azalmış olup tekrarlanabilir yanıt vermektedir. Bunun yanısıra geniş bir negatif gerilim aralığında çalışmaya olanak sağladığından cıva-temelli elektrotlar pekçok metal iyonunun ve indirgenebilen fonksiyonel grupları olan organik bileşiklerin tayininde kullanılmaktadır (Heyrovsky, 2011; Zuman, 2011).



Şekil 2.10. Voltamtride kullanılan çalışma elektrotları.

Ancak; yükseltgenme ya da yükseltgenme/indirgenme özelliğine sahip moleküllerin hem sabit hem de akışkan sistemlerde analizini gerçekleştirebilmek için farklı elektrot malzemesine gereksinim olacağı açıktır. Bu nedenle "voltametri" terimi ilk kez 1940 yılında "katı elektrotlar" ile damlayan cıva dışında cıva-temelli diğer elektrotların yer aldığı analizleri tanımlamak üzere kullanılmaya başlamıştır. Katı elektrotların günümüzde cıva-temelli elektrotlara kıyasla daha yaygın kullanılmalarının nedeni, sınırlı olmak koşulu

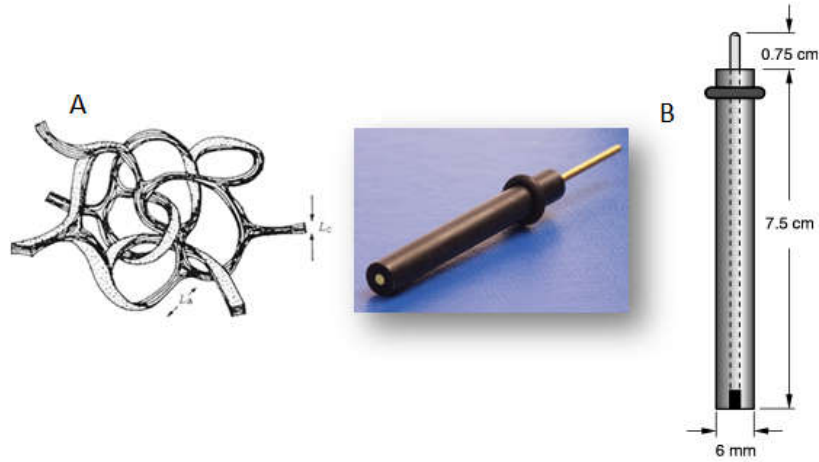
ile hem pozitif hem de negatif gerilim değerlerinde çalışmaya olanak sağlamalarıdır. Katı elektrot yüzeyinde tekrarlanabilir yanıtın kontrol edilme güçlüğüne karşın, bu elektrotların cıva-temelli elektrotlara mekanik olarak dayanıklılık ve kullanılma kolaylığı açısından üstünlükleri bulunmaktadır. Analitik kullanımları dışında katı elektrotlar, farmakolojik, biyolojik ve çevresel önemi olan bileşiklerin redoks özelliklerinin incelenmesine ve dolayısıyla farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına da olanak sağlamaktadırlar (Uslu ve Özkan, 2007a; Kalcher ve ark., 2009; Svancara ve ark., 2009; Cavalheiro ve ark., 2012). Çalışma elektrotu olarak kullanılan katı elektrotlar Şekil 2.10'da özetlenmiştir.

Tel, levha, disk biçiminde olan katı elektrotların sabit, döner ya da titreşen tipleri bulunmaktadır. Bu grup elektrotlar arasında metal elektrotlar (Pt, Au, Bi, Pd, Rh, Cu, Ru, Ni, Cd, Sn, In) özgün elektroanalitik uygulamalar için kullanılmaktadırlar. Farklı karbon formlarına (karbon-temelli) dayanan elektrot malzemeleri ise geniş bir gerilim penceresine, düşük maliyete, zengin yüzey kimyasına, düşük artık akıma, kimyasal inertliğe, pek çok zor analiz için uygunluğa sahip olmaları nedeniyle elektroanalitik kimyada yaygın bir uygulama alanı bulmuşlardır. Karbon-temelli elektrotlar bazı tekniklerdeki (elektrokimyasal dedektörlü HPLC ve CE) dedeksiyon uygulamaları için de uygundur. Bunların arasında grafit, camımsı karbon (GC), karbon pasta (CP), karbon nanotüp (CNT), karbon-fiber (CF), bor-katkılı elmas (BDD), perde-baskılı karbon (SPC), grafen (Gr), fulleren, kalem-ucu grafit (PG) elektrotları sayabiliriz. 1990'lı yıllarda perde-baskı teknolojisi, tek kullanımlık elektrokimyasal sensör (SPE) uygulamalarında yeni bir ufuk açmıştır. Destek bir malzeme (poliester esnek film, seramik ya da plastik) iletken bir mürekkeple (karbon, Au, Pt, Bi, Gr, CNT) kaplanır. Katı elektrotlar içerisinde çok önemli bir gelişme de 1970'lerin ortasında başlayan kimyasal modifiye elektrot (CME) uygulamalarıdır. Modifiye edici olarak, iletken polimerler, killer, zeolitler, inorganik kristaller, enzim tabakaları, organik metaller ve kompozitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemdeki en önemli gelişmelerden biri de biyosensör denilen ve enzim, doku, bakteri elektrotları kapsayan biyolojik modifiye elektrotlarla biyolojik ortam tepkimelerinin reaktant ve ürünleri ölçülerek biyolojik önemi olan bileşiklerin tayinlerinin yapılabilmesidir. Bunların yanısıra, pikoamper altı akım düzeylerinde ölçümleri gerçekleştiren elektrot tasarımı, mikroeletrot ya da ultramikroeletrotlarla özellikle canlı organizmada *in-vivo*

çalışmalar yapılmasına olanak sağlamaktadır (Bard ve Zoski, 2000; Diaz-Ballote ve ark., 2007; Uslu ve Özkan, 2007a, b, Özkan ve ark., 2015).

2.2.1. Camımsı karbon elektrot

İlk kez 1962 yılında geliştirilen camımsı karbon (GC); pekçok polimerik (fenol-formaldehid ya dapoliakrilonitril) reçinenin inert atmosfer altında çok dikkatli ve programlı olarak ısıtılmasıyla elde edilir. Cam benzeri bir görünüşü olması nedeniyle "*camımsı karbon*" olarak isimlendirilmektedir. İyi mekanik ve elektriksel özellikleri, geniş gerilim penceresi, kullanılan çözücülere karşı kimyasal inertliği, görece tekraredilebilirlik performansı nedeniyle uzun yıllar en popüler karbon malzemelerinden biri olmuştur (Wang, 2006). Yapısında sp^2 -bağlı karbon atomları yer almaktadır (Friedrich ve ark., 2004). Karbonun diğer grafit formlarından farklı olarak, sert ve kolay kırılğan bir yapısı olup çapraz bağlanmış grafit-benzeri tabakanın ince ve arapsaçı formunda şeritlerini içerir (Van der Linden ve Dieker, 1986). Şekil 2.11'de GC malzemesinin yapısı ile ticari GC elektrot görülmektedir.



Şekil 2.11. Camımsı karbon malzemesinin yapısı (A) ve ticari camımsı karbon elektrot (B).

Araştırma grubumuz tarafından işlem görmemiş ve modifiye GC elektrotunun kullanıldığı araştırmalara örnek olarak; metronidazol tayini (Özkan ve ark., 1998), nifedipin tayini (Şentürk ve ark., 1998), züklopentiksol tayini (Şentürk ve ark., 2000), pimosit tayini (Özkan ve ark., 2002), amisülpit tayini (Özkan ve ark., 2004),

valasiklovir tayini (Uslu ve ark., 2006), testosteron tayini (Levent ve ark., 2014a), parasetamol, aspirin ve kafeinin eş-zamanlı tayini (Yiğit ve ark., 2016a) verilebilir.

2.2.2. Kalem-ucu grafit elektrot

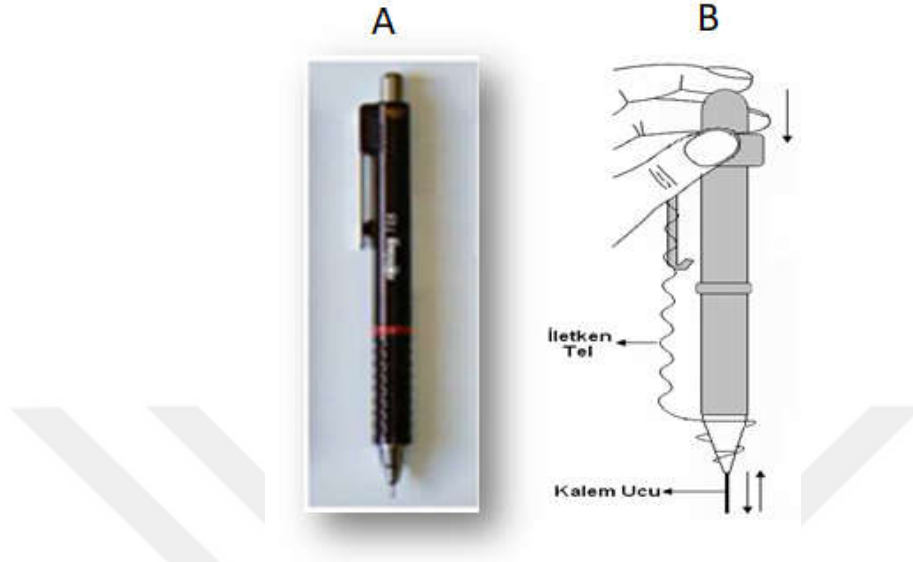
Son yıllarda GC elektrot üzerindeki anodik voltametri, rutin analitik tayinlerden daha çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Bunun nedeni; elektrot yüzeyinin pasifleşmesinin sonucu olarak yöntemin duyarlılığın azalmasıdır.

Katı elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilen anodik voltametrinde karşılaşılan en önemli sorun; analiz sırasında bazı moleküllerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir film olarak birikmesi sonucu (elektrot pasifleşmesi); yöntem duyarlılığının azalması, elektrot temizleme işlemleri uygulansa bile tekrarlanabilirlik kayıplarının oluşmasıdır. 1990'lı yılların sonundan başlayarak el-yapımı kalem-ucu grafit (PG) elektrotlar, özellikle toksik özellikli bileşiklerin basit ve duyarlı tayinlerinde GC ve CP elektrotlara tek kullanımlık özelliklerinin yanısıra çok düşük maliyetlerinden dolayı alternatif olmuşlardır. PG elektrot, yüksek elektrokimyasal reaktifliğe, mekanik sağlamlığa, düşük maliyete, düşük teknolojiye ve kolaylıkla hazırlanabilme özelliklerine sahiptir (Wang ve ark., 2000; Wang ve Kawde, 2001; Kariuki, 2012; David ve ark., 2017).

Elektrot olarak farklı sertlik ve çapta ticari mekanik kurşun kalem uçları kullanılır (Şekil 2.12). Kalem uçları, doğal grafitin kil ve balmumu karışımı içerisine dispersiyonu (dağılması) ve ardından ısı işlem uygulanması ile üretilir. Kalem ucunun sertlik ve siyahlığı ticari olarak grafit ve kil oranlarının ve sıcaklığının değiştirilmesi ile modifiye edilmektedir. Daha fazla grafit içermesi durumunda daha yumuşak ve daha kalın uçlar elde edilir. Kalem ucunun sertliği 19 farklı derece olarak 9H'den (en sert) 8B'ye (en yumuşak) kadar değişir. PG elektrot kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde doğru kalem sertliğinin seçimi de önemlidir (Tavares ve Barbeira, 2008; Keskin, 2009).

PG elektrot, ne GC elektrot kadar sert, ne de CP elektrot kadar kırılımandır. Tek kullanımlık olmaları nedeniyle elektrot temizleme işlemlerine gerek yoktur. Bu nedenle elektrot yanıtının tekrarlanabilirliği yüksektir. Tek kullanımlık ve ekonomik oluşları açısından ileri teknoloji SPC elektrotlara benzerler. Düşük teknolojiye sahip PG elektrotlar; az malzemeye gereksinim duymaları ve kullanımdan sonra atılmak üzere

kolay biriktirilmeleri nedeniyle çevre duyarlılığı açısından çok cazip elektrotlardır (Bond ve ark., 1997; Demetriades ve ark., 2004).



Şekil 2.12. Ticari kurşun kalem (A) ve kalem-ucu grafit elektrotunun şematik gösterimi (B).

Araştırma grubumuz tarafından PG elektrotunun kullanıldığı araştırmalara örnek olarak; nikotin tayini (Levent ve ark., 2009), 7,12-dimetilbenz[*a*]antrasen (DMBA) tayini (Yardım ve ark., 2010), benzo[*a*]piren tayini (Keskin ve ark., 2010), tiyoüre tayini (Levent ve ark., 2011), indol-3-asetik asit tayini (Yardım ve Şentürk., 2011), kapsaisin ve dihidrokapsaisin tayini (Yardım ve Şentürk, 2013) verilebilir.

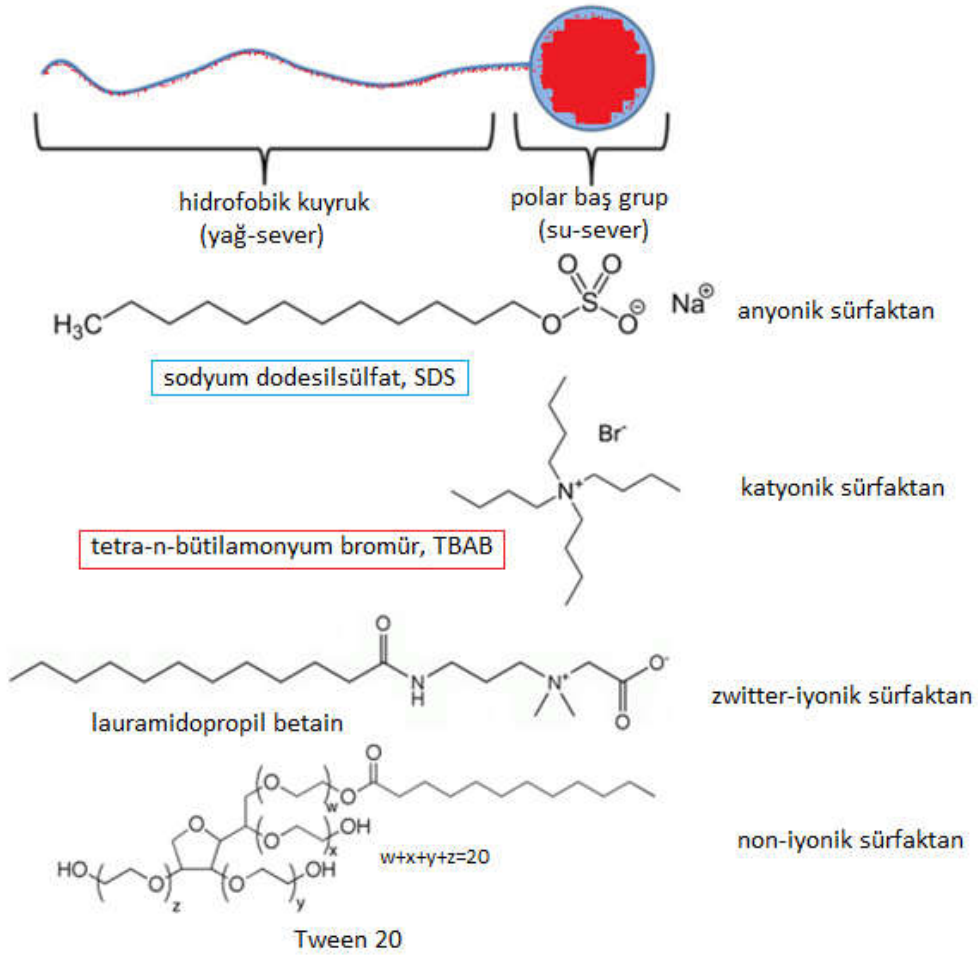
2.2.3. Elektrot yüzeyinin sürfaktanlarla modifikasyonu

Sunulan tez çalışması, Vinorelbin molekülünün PG elektrot üzerindeki elektrokimyasal davranışını sürfaktan varlığında incelemeyi amaçladığından bu bölümde elektrot yüzeyinin sürfaktanlarla modifikasyonu hakkında kısa bir bilgi verilecektir.

Analitik çalışmalarda birincil hedeflerden biri duyarlı bir yöntem geliştirmektir. Elektrot modifikasyonu, elektroanalizde bu amaca hizmet veren önemli bir alandır. Elektrotun modifikasyon işleminde sürfaktan (yüzey aktif madde) kullanmanın yararları, son onlu yıllarda oldukça iyi anlaşılmıştır (Vittal ve ark., 2006).

Sümfaktanlar yapısal olarak; hidrokarbon zinciri (6-22 karbonlu) ya da poli-eter içeren hidrofobik kuyruk ile pozitif, negatif, yüksüz (non-iyonik) ya da zwitter-iyonik özellikli polar baş gruptan oluşan amfifilik iyon ya da moleküllerdir (Şekil 2.13).

Bir bileşiğin yüzey aktif olması için hava ve su, yağ ve su ya da elektrot ve çözelti gibi farklı fazlar arasındaki arayüzeyde adsorbe olması gerekmektedir. Suda ya da sulu bir çözeltide çözüldükleri zaman, yüzey gerilimini (çoğunlukla azaltma yönünde) etkileyen sümfaktanlar, iki önemli özellikleri (arayüzeyde adsorpsiyon ve supramoleküler yapılaraya agregasyon) nedeniyle bu alanda yaygın kullanılışa sahiptirler.

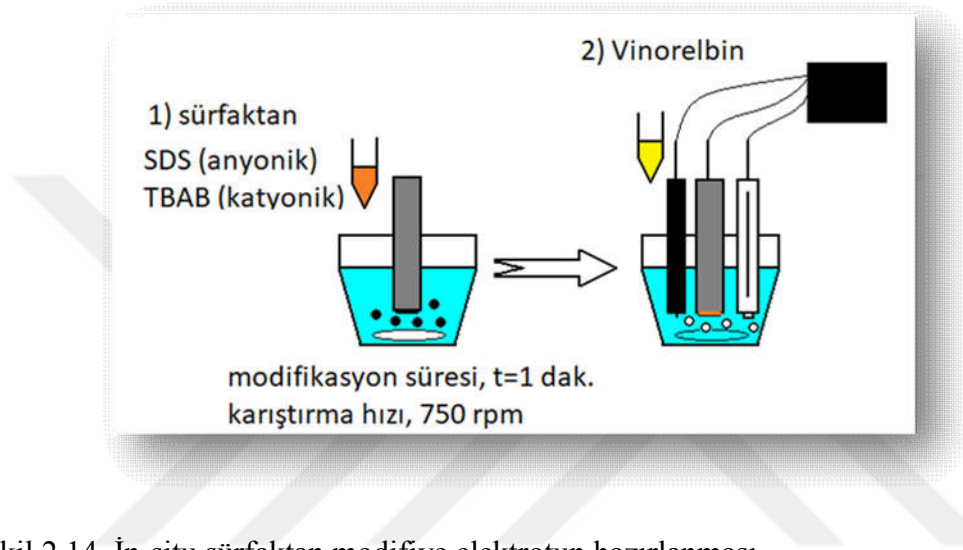


Şekil 2.13. Sümfaktan genel yapısı ve bazı örnekler.

Bu bileşikler, elektrot yüzeyinin özelliklerini değiştirerek modifiye edebilir. Elektrot modifikasyonunda iki şekilde kullanılabilirler:

(i) Yüzey modifikasyonu (*in-situ* modifikasyon): Ana çözeltilen yüzey ya da arayüze taşınarak elektrot yüzeyinde adsorbe olurlar. Bu adsorpsiyon olayı, sürfaktanların hidrofobitesini, yüzey yükünü ve diğer temel özelliklerini değiştirerek pekçok arayüzey işlemini kontrol eder (Şekil 2.14).

(ii) Sürfaktanlar, karbon pasta gibi malzemelerle karıştırılarak elektrotun yapısında doğrudan yer alabilirler.



Şekil 2.14. İn-situ sürfaktan modifiye elektrotun hazırlanması.

Elektrot yüzeyinin sürfaktanlarla modifikasyonunun, elektroanaliz uygulamalarındaki yararları şöyle özetlenebilir:

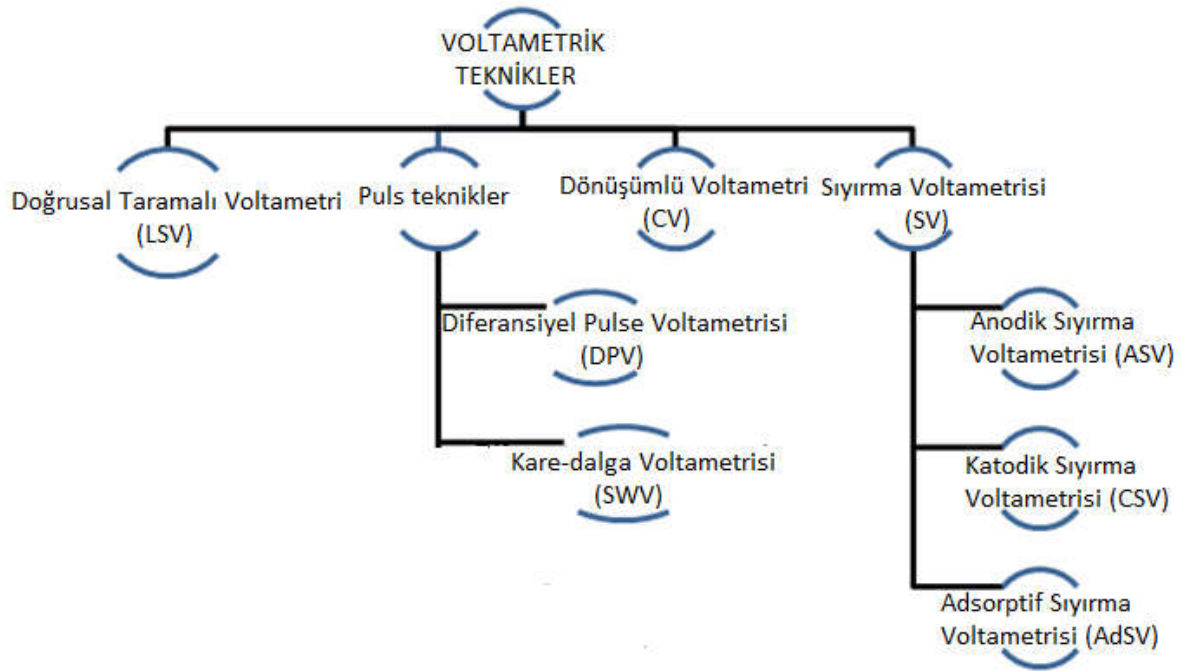
- (i) Çözünürlüğü düşük olan bileşikler misel yapıları içerisinde çözebilirler.
- (ii) Elektrot-çözelti özelliklerini tersine çevirerek elektroaktif türün elektrokimyasal davranışını etkileyebilirler.
- (iii) Elektrot yüzeyinin kirliliğini önleyebilirler.
- (iv) Organik bileşiklerin elektrokimyasal analizinde karbon-temelli elektrotlarla birlikte kullanıldıklarında tayinin hem duyarlılığını hem de seçiciliğini artırabilirler.

Araştırma grubumuz çok sayıda hidrofilik ya da hidrofobik özellikli ilaç, gıda, biyolojik, bitkisel, çevresel etkili bileşiğin analizini sürfaktan içeren çözeltilerde farklı karbon-temelli elektrotlar kullanarak voltametrik yöntemle gerçekleştirmiştir (Levent ve ark., 2009; Yardım, 2011; Yardım ve Şentürk, 2011; Yardım ve ark., 2011; Levent ve

ark., 2014a,b; Talay Pınar ve Şentürk, 2017; Yiğit ve ark. 2016b; Abdullah ve ark., 2018; Dönmez ve ark., 2018; Talay Pınar ve ark., 2018a).

2.2.4. Voltametrik teknikler

Yaygın olarak kullanılan voltametrik tekniklerin genel bir sınıflandırması Şekil 2.15'de görülmektedir.



Şekil 2.15. Yaygın olarak kullanılan voltametrik tekniklerin genel bir sınıflandırması.

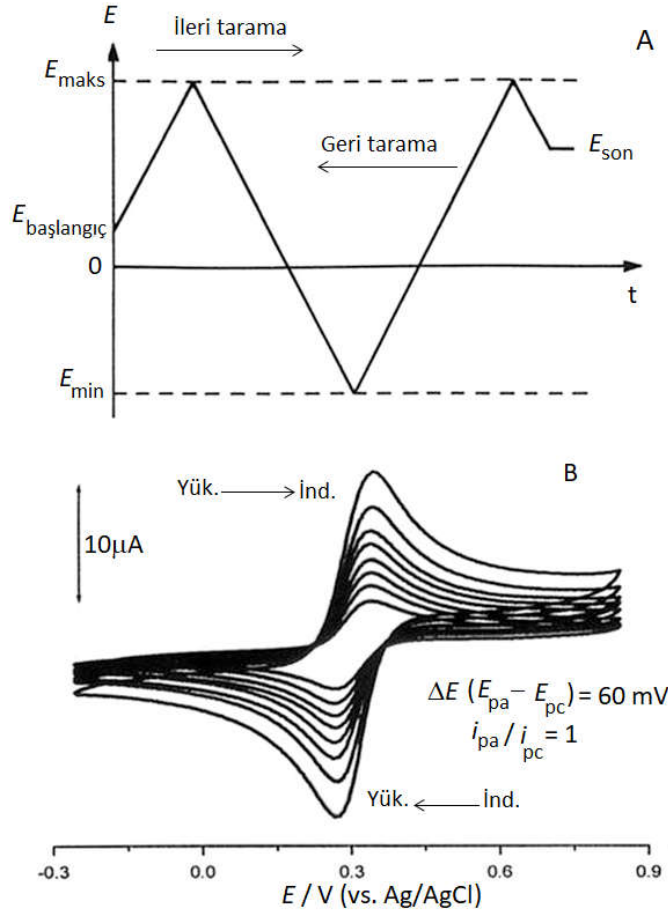
Bu bölümde, sunulan tez çalışmasında kullanılacak olan voltametrik teknikler hakkında kısa bilgi verilecektir (Fogg ve Wang, 1999; Bard ve Zoski, 2000; Barek ve ark., 2001; Wang, 2006; Özkan ve ark., 2003; Özkan, 2009; Uslu ve Özkan, 2011; Özkan ve ark., 2015).

2.2.4.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri (döngülü voltametri, CV), özellikle organik kimya alanında en yaygın kullanılan voltametrik tekniklerden biridir. Bir elektroanalitik çalışmanın

sıklıkla ilk basamağıdır. Karmaşık redoks tepkimelerinin mekanizmalarını incelemek, ara-ürün tepkimelerini ve tepkime ürünlerinin dayanıklılığını araştırmak için kullanılır. Duyarlılığı düşük ($\sim 10^{-5}$ M) olduğu için miktar tayini çalışmalarında kullanım alanları sınırlıdır.

Bu teknikte, seçilen çalışma elektrotuna uygulanan gerilim bir değere kadar (pozitif ya da negatif yönde) belli tarama hızlarında değiştirildikten sonra geri döndürülür (Şekil 2.16 A). Geri dönüşte başlangıç gerilimine (E_1) ya da farklı bir gerilime (E_3) gidilebilir. Bu işlem sırasında gerilimin fonksiyonu olarak akım kaydedilir. Bu koşullarda elde edilen akım-gerilim eğrisine "*dönüşümlü (döngülü) voltamogram*" denir. Aynı işlem ardışık çok kez tekrarlanırsa "*çok döngülü voltamogram*" elde edilir (Şekil 2.16 B).

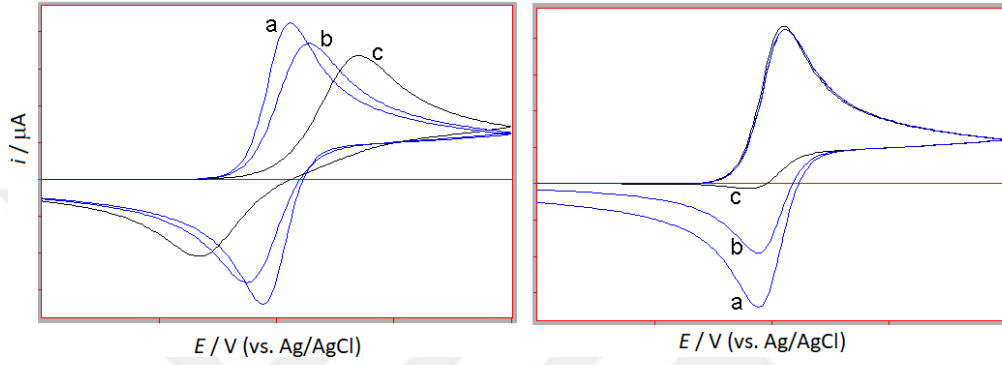


Şekil 2.16. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri.

CV tekniğinde önemli değişkenler; anodik ve katodik piklerin akımları (i_{pa} , i_{pc}) ve gerilimleri (E_{pa} , E_{pc}) olup n sayıda elektronlu tersinir bir redoks tepkimesi için (25

$^{\circ}\text{C}$): $\Delta E_p (E_{pa} - E_{pc}) = 0.0592/n \text{ V}$ değerine yani 1 elektron aktarımı için yaklaşık 60 mV değerine eşittir.

Elektrot tepkimesinin tersinirliği azaldıkça (Şekil 2.17), anodik ve katodik pikler birbirinden daha farklı gerilimlerde ve daha yayvan olarak gözlenir. "Tam tersinmez" bir elektrot tepkimesinde ise ürünün çok hızlı bir şekilde tüketilmesinden ötürü geri pik tamamen kaybolur.



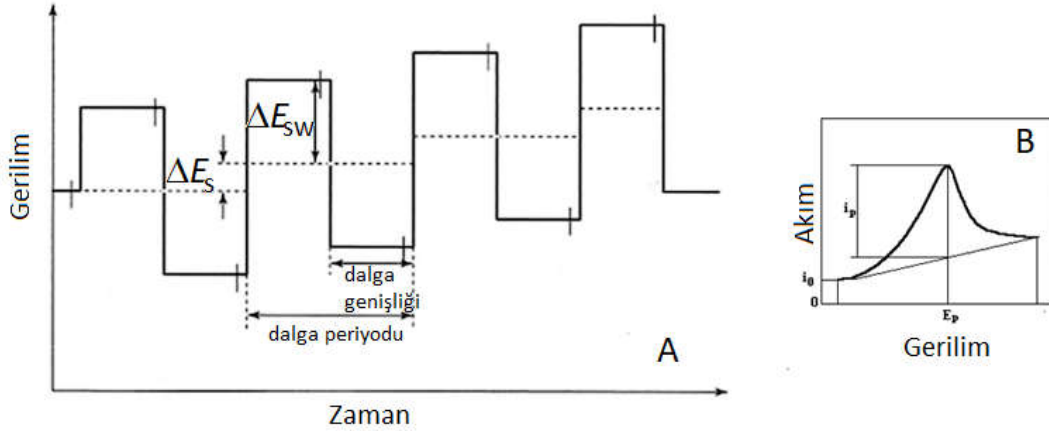
Şekil 2.17. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gözlenen tersinir (a), yarı-tersinir (b) ve tersinmez (c) elektrokimyasal tepkime çeşitleri.

2.2.4.2. Kare-dalga voltametri

Voltametik yöntemin hızını ve duyarlılığını arttırmak için, yıllar boyunca birçok puls teknikleri denenmiştir. Bu teknikler, gerilim adımlarına karşı oluşan akımın örneklenmesi temeline dayanır. Birbirini izleyen bu gerilim adımları, istenilen aralıklarla çalışma elektrotuna uygulanır. Bu puls tekniklerinden biri olan kare-dalga voltametri (SWV) yüksek hıza ve duyarlılığa sahiptir. Bu üstünlüklerinin yanısıra indirgenmenin çok yavaş olmadığı durumlarda çözelti ortamından oksijenin uzaklaştırılmasına gerek yoktur.

SWV tekniğinde, farklı puls uygulama şekilleri (Barker, Kalousek ve Osteryoung) vardır. En çok kullanılan SWV tekniği olan Osteryoung SW voltametrisine ilişkin bir gerilim dalga şekli ve tipik bir SW voltamogramı Şekil 2.18'de gösterilmiştir. Bu teknik kullanılarak 10^{-7} - 10^{-8} M tayin duyarlılığında analizler yapılabilmektedir.

Yüksek hıza sahip olması nedeniyle, SWV tekniği, FIA, LC ve CE gibi akış sistemlerinin dedeksiyon sisteminde kullanılmaktadır.



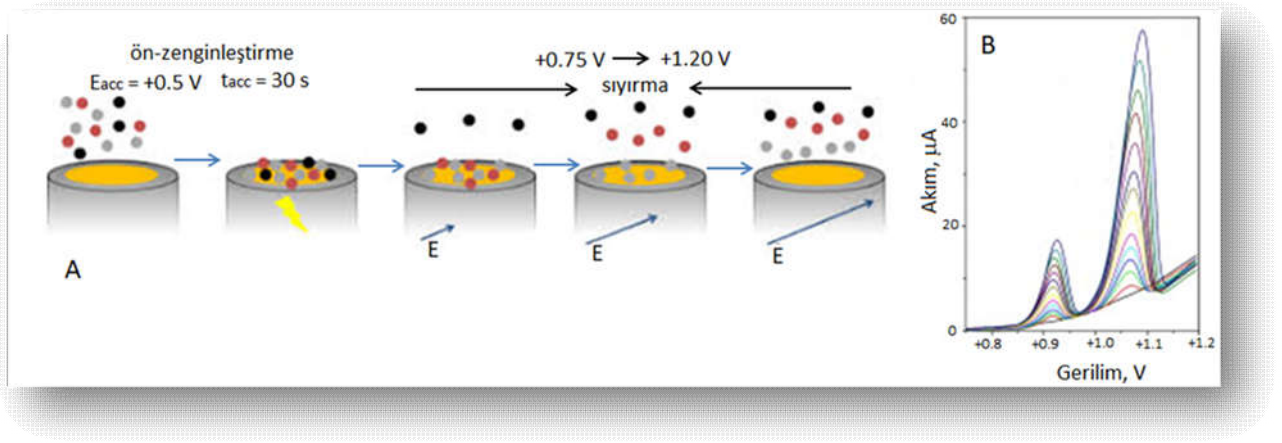
Şekil 2.18. Kare-dalga voltametrisinde kullanılan uyarma sinyali (A) ve tipik bir voltamogram (B).

2.2.4.3. Sıyırma voltametrisi

Sıyırma teknikleri, kullanılan elektroanalitik teknikler içerisinde en düşük gözlenebilirlik sınırına (LOD) sahip ($\leq 10^{-9}$ M) tekniklerdir. Örnek hazırlaması zahmetsiz olup duyarlılık ve seçicilikleri çok iyidir.

En çok kullanılan sıyırma teknikleri; anodik sıyırma voltametrisi (ASV), katodik sıyırma voltametrisi (CSV) ve adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) teknikleridir. Her üçünde de aynı olan iki basamak vardır. İlk olarak örnek çözeltisindeki analit çalışma elektrotu üzerinde deriştirilir. Bu basamağa "*ön-zenginleştirme*", "*ön-deriştirme*", "*biriktirme*" ya da "*akümülyasyon*" basamağı denir. Bu basamak, önceden belirlenen süre ve gerilim değerinde çözelti karıştırılarak gerçekleştirilir. İkinci basamakta, elektrot yüzeyinde biriktirilmiş analit belirli bir gerilim tarama hızı kullanarak yüzeyden sıyırılır. Bu basamakta herhangi bir dalga formu (DP, SW, LS) kullanılabilir. Bunlar içinde en sıklıkla kullanılanları, DP ya da SW formlarıdır. Ancak SW dalga formunun, daha hızlı ve duyarlı olması gibi DP tekniğine üstünlüğü olduğu için daha fazla tercih edilir. Bu iki basamak arasında bir de "*bekleme*" basamağı yer alır. Bu basamak, bir sonraki basamağın hareketsiz bir çözeltide gerçekleşmesini sağlar.

Şekil 2.19, sıyırma voltametrisinde elektrot yüzeyinde etkili olan iki temel basamağı ve tipik bir sıyırma voltamogramını sunmaktadır.



Şekil 2.19. Sıyırma voltametri tekniğinin şematik gösterimi (A) ve tipik bir sıyırma voltamogramı (B).

AdSV tekniği, ilk olarak Lam ve ark. (1983) tarafından kullanılmıştır. Bu teknikte biriktirme basamağında elektroliz adımı olmaksızın analit elektrot yüzeyinde adsorplanır. Bu süreçte elektrot, artan bir adsorpsiyonun geriliminde tutulur ve biriktirme yeterli düzeye ulaştığında anodik ya da katodik yönde gerilim taraması uygulanır.

Araştırma grubumuz geniş bir aralıktaki organik bileşiklerin çok düşük derişim düzeylerinde tayinini bu teknikle gerçekleştirmiştir (Yardım ve ark., 2010; Keskin ve ark., 2010; Yardım ve ark., 2011; Yardım ve ark., 2012; Yardım ve Şentürk, 2013; Yardım ve ark., 2013a,b; Yardım ve Şentürk, 2014; Levent ve ark., 2014a,b; Levent ve ark., 2015; Yiğit ve ark. 2016a,b; Alpar ve ark., 2018; Abdullah ve ark., 2018; Dönmez ve ark., 2018; Talay Pınar ve ark., 2018b; Yiğit ve ark., 2018).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

3.1.1. Kimyasallar

Kimyasalın adı	Üretici firmanın adı
Vinorelbin ditartarat, $C_{45}H_{54}N_4O_8 \cdot 2C_4H_6O_6$	Sigma
Sodyum hidroksit, NaOH	Sigma
Nitrik asit (% 65, a/a), HNO_3	Sigma
Hidroklorik asit (% 37, a/a), HCl	Merck
Fosforik asit (% 85 a/a), H_3PO_4	Merck
Asetik asit (% 99-100 a/a), CH_3COOH	Merck
Borik asit, H_3BO_3	Merck
Disodyum hidrojen fosfat, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	Merck
Sodyum klorür, NaCl	Sigma
Dimetil sülfoksit (DMSO), C_2H_6OS	Merck
Alüminyum oksit, Al_2O_3	Merck
Sodyum dodesilsülfat (SDS), $C_{12}H_{25}NaO_4S$	Sigma
Tetra- <i>n</i> -bütilamonyum bromür (TBAB), $C_{16}H_{36}BrN$	Merck

Tüm çalışmalarda Milli-Q sistemi (Millipore) ile saflaştırılmış su kullanılmıştır.

3.1.2. Çözeltilerin hazırlanması

3.1.2.1. Vinorelbin çözeltisinin hazırlanması

Bu çalışmadaki etken madde olarak seçilen Vinorelbin bileşiğinin ditartarat tuzu suya kıyasla dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde daha fazla çözündüğü için (bakınız, Çizelge 2.2), stok çözeltilerinin (1×10^{-3} M) hazırlanmasında bu çözücüden yararlanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, kullanılmadığı süre içinde ışık almayacak şekilde

+4 °C'de saklanmıştır. Uygun destek elektroliti içerisinde ölçümü yapılacak çeşitli derişimdeki standart çözeltilerin hazırlanmasında stok çözeltilerden yararlanılmıştır.

3.1.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

Deneyleerde destek elektroliti çözeltisi olarak Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M, pH 2.0-10.0), fosfat tamponu (0.1 M, pH 3.0, 7.4) ve asetat tamponu (0.1 M, pH 4.8) çözeltileri kullanılmıştır. BR tamponu için 0.04 M H₃BO₃, 0.04 M H₃PO₄ ve 0.04 M CH₃COOH karışımını içeren çözeltiye 5 M NaOH çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Fosfat tamponu için 0.1 M Na₂HPO₄ · 7H₂O çözeltisine 5 M NaOH ya da 5 M HCl çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Asetat tampon için ise, 0.1 M CH₃COOH çözeltisine 5 M NaOH eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Tampon çözeltileri hazırlandıktan sonra Pyrex® cam şişelerde ve buzdolabında saklanmıştır.

3.1.2.3. Sürfaktan çözeltilerinin hazırlanması

Sürfaktan içeren ortamdaki elektrokimyasal çalışmalar için anyonik sürfaktan olarak SDS, katyonik sürfaktan olarak TBAB kullanılmıştır. Sürfaktanların değişik derişimlerdeki stok çözeltileri su içerisinde hazırlanmıştır. Uygun destek elektroliti içerisinde çeşitli derişimdeki sürfaktan çözeltilerinin hazırlanmasında 0.1 M stok çözeltilerden yararlanılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Elektrokimyasal analiz cihazı	Autolab PGSTAT 128N (EcoChemie, The Netherlands) (Nova 1.1 yazılımı ile) + BAS C3 katı elektrot hücre standı ünitesi (Bioanalytical System, BAS, USA)
Elektrokimyasal deney hücresi	Tek bölmeli 10 mL'lik voltametrik hücre (MR 1208, BAS)

Elektrotlar	
Çalışma elektrotu	<ul style="list-style-type: none"> ●Kalem-ucu grafit (PG) elektrot (etkin elektrot alanı: 15.9 mm²) ●Camımsı karbon (GC) elektrot (Ø: 3mm, çap), MF 2012 (BAS)
Karşılaştırma elektrotu	Ag/AgCl (3 M NaCl, MF 2052, BAS)
Yardımcı elektrot	Platin tel (MF 1032 BAS)
Duyar terazi	Termo scientific Orion 3 star pHmeter
pH metre	WTW, Inolab pH 720
Vorteks	IKA MS3 B
Karıştırma sistemi	Manyetik karıştırıcı (ARE heating magnetic stirrer) Magnet (Spinbar VMR micro)
Santrifüj	Cooled Hettich ROTINA 380R
Ultrasonik banyo	Clifton
Çeşitli boy balonjoje (Pyrex®), pipet (Pyrex®), beher, mezür, deney tüpü, santrifüj tüpü, porselen havan	

3.2.1. Voltametrik sistem

Elektroanalitik çalışmalarda EcoChemie firmasının Autolab PGSTAT 128N elektrokimyasal analiz cihazı, Bioanalytical System Inc. (BAS) firmasının üç elektrotlu hücre ünitesi ile birlikte kullanılmıştır. Voltametrik sistemin bilgisayar teknolojisi ile desteklenmesinden dolayı cihazın kontrolü, verilerin toplanması ve değerlendirilmesi kolaylıkla yapılmaktadır. Bu sistem Şekil 3.1'de verilmiştir.

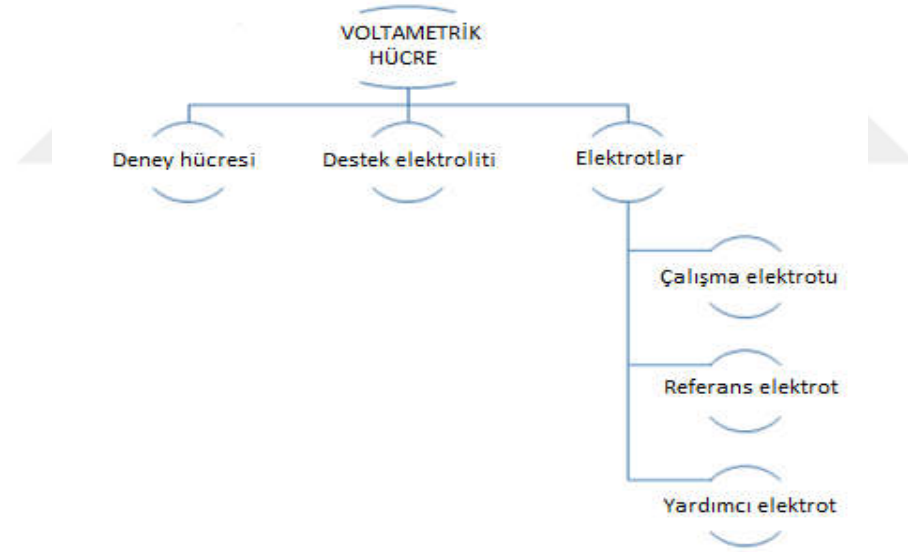
Deneysel çalışmamızda kullandığımız voltametrik hücreyi oluşturan bileşenler Şekil 3.2'de görülmektedir.

Deney hücresi, elektrokimyasal analiz cihazı için özel olarak üretilmiş olup Pyrex® camdan yapılmış tek bölmeli ve kapaklı bir düzenektir (Şekil 2.9 ve 3.1B). Kapağında dört giriş bulunan hücreye elektrotlar bu kapak yardımıyla yerleştirilir. Dördüncü girişe ise gerektiğinde (katodik bölge çalışmalarında) azot gazı yollamak

amacıyla teflon bir boru daldırılır. Bunun yardımıyla hücre içi çözeltide çözülmüş bulunan oksijenin uzaklaştırılması sağlanmış olur.



Şekil 3.1. Autolab PGSTAT 128N elektrokimyasal analizör (A) ve BAS C3 katı elektrot hücre standı ünitesi (B).



Şekil 3. 2. Voltametrik hücre bileşenleri.

Deneylerde, çalışma elektrotu olarak PG elektrot ile kıyas amaçlı GC elektrot kullanılmıştır.

PG elektrot için gerekli olan mekanik kurşun kalem uçları (Model, Tombo 0.5 /2B Japan) kırtasiyelerden sağlanmıştır. Elektrot tasarımında Wang ve ark. (2000)'nın önerdiği yol kullanılmıştır. Elektriksel iletkenliği sağlamak için kalem gövdesinin uç

kısımının metalik bölümü ile dış metalik tutacağı bakır tel ile tutturulmuştur (Şekil 2.12). Kalem uçlarının uzunluğu 60 mm ve çapı 0.5 mm olup, 15 mm boyutu dışarıda kalacak şekilde işaretlenip Rotring kaleme hassas bir şekilde yerleştirilmiştir. Elektrokimyasal hücredeki 10 ml'lik analiz çözeltisine bu uçların 12 mm'lik kısmı daldırılmıştır. Her bir deney öncesi yeni bir kalem ucu kullanılmıştır.

PG elektrotunun ön-işlemi için seçilen destek elektroliti içerisinde (çözeltiyi karıştırmadan) her deney öncesi elektrot yüzeyine 60 s süreyle +1.4 V değerinde gerilim uygulanmıştır. CV çalışmalarında ise ön-işlem, aynı sürede +1.8 V gerilim değerinde gerçekleştirilmiştir.

Bulguların kıyaslanması amacıyla kullanılan GC elektrot (Şekil 2.11) yüzeyine tekrarlanabilir elektrot yüzeyi oluşturabilmek için her voltamogram kaydından önce mekanik ön-işlem uygulanmıştır. Bu amaçla suyla bulamaç haline getirilen Al_2O_3 (alümina, Ø: 0.01 µm, çap), BAS firması tarafından özel üretilen parlatma kiti (MF 1040) üzerine dökülmüş ve elektrot yüzeyi bu bulamaç üzerinde dairesel hareketler yapılarak birkaç dakika parlatılmıştır (Bott, 1997). Alümina kullanımı sonrası elektrot yüzeyinden bu maddenin uzaklaştırılması amacıyla su ile ultrasonik temizleme işlemi uygulanmıştır.

3.3. Voltametik Yöntem

Vinorelbin bileşiğinin elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik ön çalışmalarda PG elektrotu üzerinde CV tekniği uygulanmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde ilgili bileşiğin adsorptif voltametik özellikleri PG ve GC (pH çalışmalarında) elektrotlar üzerinde çalışılmıştır. Bu amaçla; destek elektroliti yapısının ve pH değerinin, sürfaktanların (anyonik ve katyonik), gerilim tarama hızının, biriktirme ve kare-dalga değişkenlerinin elektrot yanıtı üzerine etkileri araştırılmıştır. Son olarak ise geliştirilen voltametik tekniğin (kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi, SW-AdSV) performans özellikleri saptanmış (çalışma aralığı, gözlenebilirlik sınırı, kesinlik) ve ardından teknik, ticari ilaç şekillerine ve idrar örneklerine uygulanmıştır.

Vinorelbin'in sıyırma voltametik tayini için izlenen yol aşağıdaki şekilde özetlenebilir: Üç-elektrotlu sistem, sürfaktansız ya da sürfaktan varlığında belirli

derişimde Vinorelbin içeren destek elektroliti çözeltisine yerleştirilir. Daha sonra çözelti 750 rpm hızda karıştırılırken seçilen bir biriktirme gerilimi (en uygun, 0.0 V) alışma elektrotunun yüzeyine seçilen bir ön-zenginleştirme süresince (en uygun, 120 s) uygulanır. Bu sürenin sonunda, karıştırma durdurulur ve 10 s bekleme süresince çözelti sakinleşmeye bırakılır. Ardından SW dalga formunu kullanarak pozitif yönde belli bir gerilim tarama aralığında (0.0 V ile +1.4 V) voltamogramlar kaydedilir. Tüm ölçümler 3 kez tekrarlanmak koşulu ile laboratuvar sıcaklığında (25 ± 5 °C) alınır.

3.3.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması

3.3.1.1. Enjektabl özeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden temin edilen Navelbine® enjektabl solüsyonu ($50 \text{ mg } 5 \text{ mL}^{-1}$ Vinorelbin) kullanılmıştır. Her flakon 50 mg Vinorelbin'e eşdeğer 69.25 mg Vinorelbin ditartarat içermektedir. İki flakon içeriği karıştırıldıktan sonra optimum koşullar için seçilen destek elektroliti içeren voltametrik hücreye bu karışımdan μL düzeyinde eklemeler yapılmıştır. Örnek özeltisi doğrudan analiz edilmiş ve miktar tayini işlemi kalibrasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Her deney üç kez tekrar edilmiştir.

3.3.1.2. İdrar örnekleri

İdrar örneği, sigara içmeyen ve ilaç kullanmayan sağlıklı bir gönüllüden aç karnına ve deneylerden hemen önce toplanmıştır. Bilinmeyen endojen kimyasalları uzaklaştırmak için örnek, 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki berrak kısımdan alınan 50 μL , 10 mL BR tamponu (pH 10.0) özeltisi içeren voltametrik hücreye aktarılmıştır (seyrelme derecesi 1:200, h/h). Hücre içindeki bu çözeltiye model idrar örneği oluşturmak üzere 10 μL Vinorelbin standart çözeltisinden (2×10^{-4} M) eklenmiştir. Vinorelbin tayini, elektrokimyasal hücreye standart çözeltiden 45, 60, 70, 80 ve 90 μL eklemek suretiyle standart katma yöntemi kullanarak gerçekleştirilmiştir. Aynı işlem Vinorelbin katılmayan idrar örneğiyle de (kör) yapılmıştır. Her deney üç kez tekrar edilmiştir.

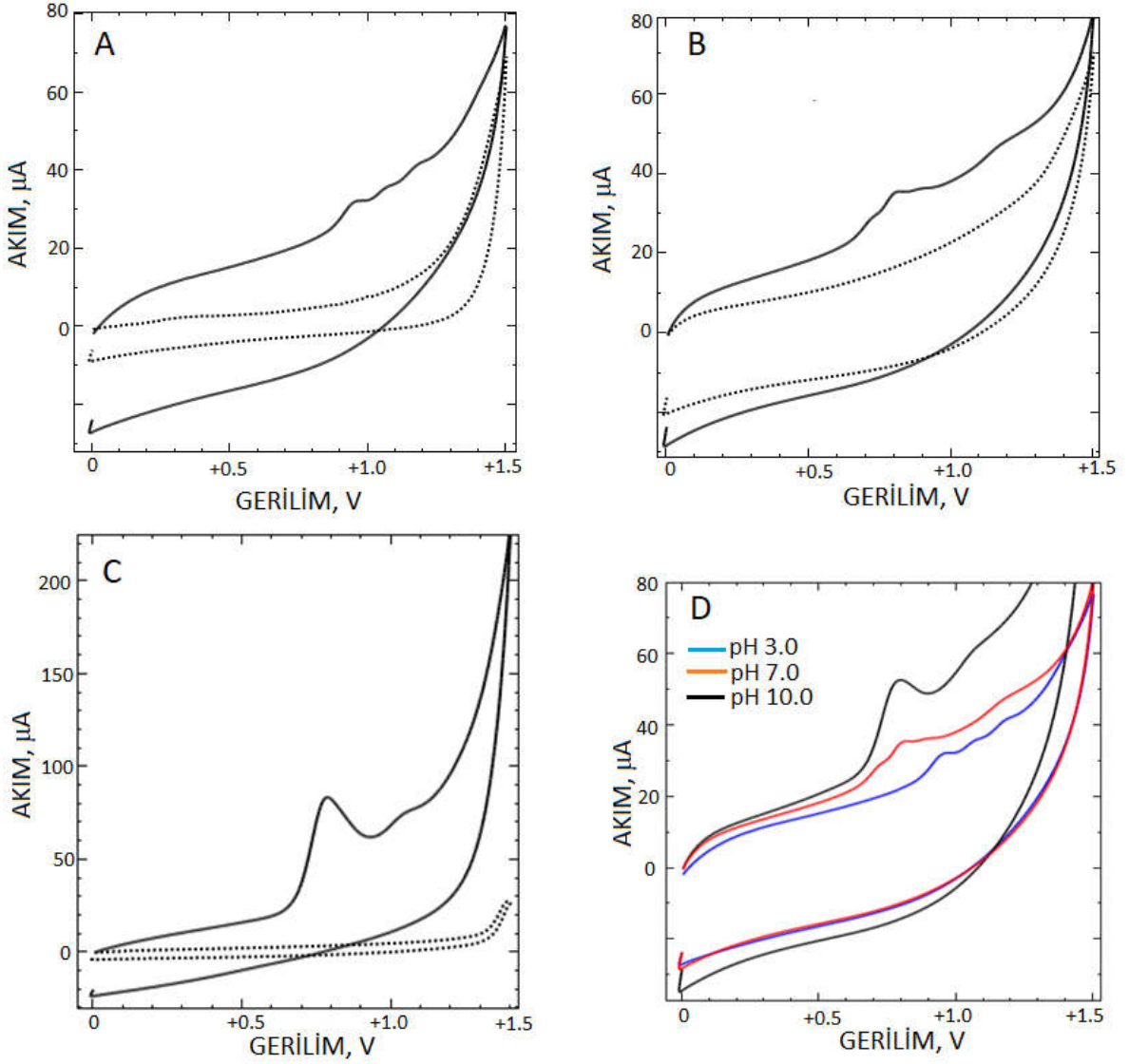
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Vinorelbin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Karbon-temelli elektrotlardan PG ve GC (kıyas amaçlı) elektrotlarının kullanılması durumunda Vinorelbin bileşiğinin pik morfolojisi ve gerilimi üzerindeki elektrokimyasal yanıtını anlamak için başlangıç deneyleri, farklı pH değerlerine sahip sulu ya da sürfaktan içeren sulu çözeltilerde CV ve SW-AdSV teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. (Not: Bölüm 3.1.2'de anlatıldığı gibi ditartarat tuzu halinde kullanılan Vinorelbin'in DMSO içerisindeki çözünürlüğü su içerisindekinden daha iyi olduğu için molekülün stok çözeltileri bu çözücü kullanılarak hazırlanmıştır. Ancak CV ve AdSV eğrilerinin kaydedilmesinde DMSO derişimi ~% 1 (h/h) ve daha altında tutulduğundan kullanılan çözeltiler, "sulu çözelti" olarak ifade edilmiştir).

4.1.1. Dönüşümlü voltametri

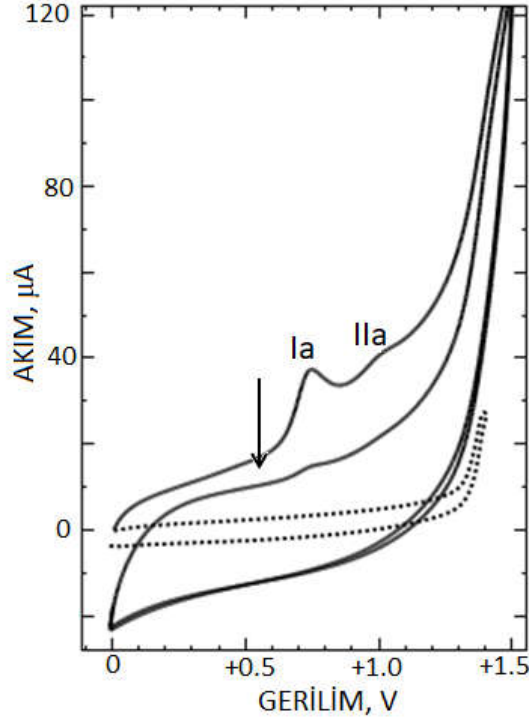
Araştırmanın başlangıcında PG elektrot kullanılarak 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR tamponu (pH 3.0, 7.0, 10.0) içerisinde (0.0 V) - (+1.4 V) - (0.0 V) gerilim tarama aralığında ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. İlgili voltamogramlar Şekil 4.1'de verilmiştir. Voltamogramlardan da görüleceği üzere; molekül, çözelti ortamının pH değerine bağlı olarak üç (pH 3.0), dört (pH 7.0) ve iki (pH 10.0) basamakta yükseltgenmektedir. Asidik ve nötral bölgelerde, piklerin birbirinden iyi ayrılmadığı ve belirginliklerinin düşük olduğu gözlenmektedir. Ancak bazik bölgede iki basamaktan ilkinin keskinliği önemli ölçüde artmış olup her iki basamak birbirinden belirgin biçimde ayrılmıştır. Molekülün yükseltgenmesinden sonra gerilim taramasına katodik bölgede devam edildiğinde çalışılan gerilim aralığında hiçbir indirgenme basamağına rastlanmamaktadır. Bu gözlem, Vinorelbin molekülünün PG elektrotu üzerindeki yükseltgenmesinin tüm pH değerlerinde tam olarak tersinmez olduğunun göstergesidir.



Şekil 4.1. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in BR tamponu içinde dönüşümlü voltamogramları. (A) pH 3.0, (B) pH 7.0, (C) pH 10.0, (D) üç farklı pH ortamındaki voltamogramların birarada gösterimi. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektroliti.

Şekil 4.2'de ise BR tamponu (pH 10.0) içerisinde (daha sonra gösterileceği üzere analitik amaç için en uygun ortam) Vinorelbine bileşiğinin aynı koşullarda iki döngülü voltamogramı görülmektedir. İlk döngüde, Ia basamağının pik gerilimi ve akımı sırasıyla $+0.73 \text{ V}$ ve 11.18 µA iken IIa basamağına ilişkin bu değerler $+1.0 \text{ V}$ ve 10.68 µA olarak saptanmıştır. Buna karşılık ikinci döngüde Ia yükseltgenme pikine ait sinyalin büyük ölçüde azaldığı ve IIa basamağının kaybolduğu gözlenmiştir. Bu oluşum, molekülün yükseltgenme ürünlerinin elektrot yüzeyine kuvvetle adsorbe olduğunun önemli bir göstergesidir. Bu nedenle elektrot etkinliği büyük ölçüde

azalmıştır. Benzer gözlem, Vinorelbin'in GC elektrot üzerindeki elektrokimyasal yükseltgenmesi için Brett ve ark (1993) tarafından yapılan çalışmada da (bileşiğe ilişkin tek voltametrik bulgu) bildirilmiştir. Ancak PG elektrotunun tek-kullanımlık olması nedeniyle çalışmanın analitik bölümünde tekrarlanabilir voltametrik yanıt elde etmek açısından bir sorunla karşılaşılacağı açıktır.

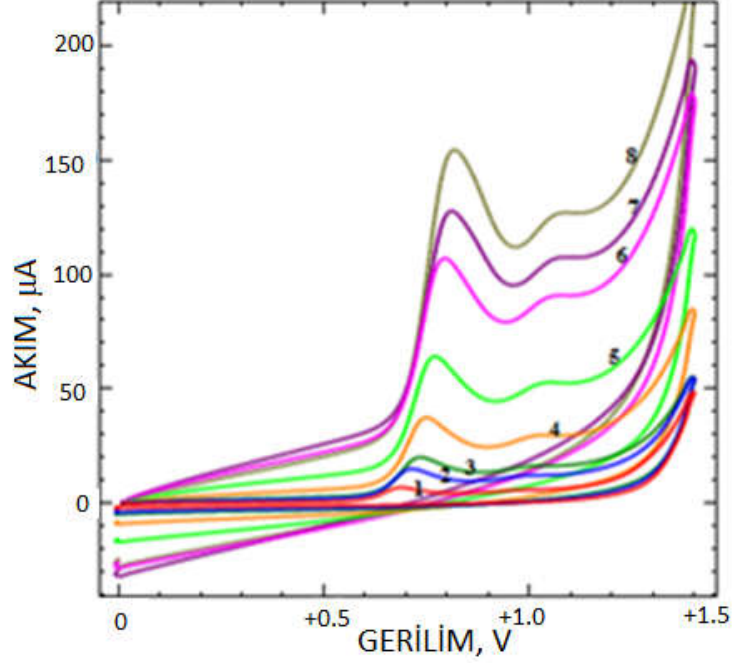


Şekil 4.2. 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in BR (pH 10.0) tamponu içinde iki döngülü voltamogramı. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektroliti.

4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi

Gerilim tarama hızının Vinorelbin molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine etkisini incelemek amacıyla 4.6×10^{-5} M Vinorelbin çözeltisinin BR tamponu (pH 10.0) içerisinde (0.0 V)-(+1.4 V)-(0.0 V) gerilim tarama aralığında 0.0 V başlangıç gerilimi ile $50\text{-}700 \text{ mVs}^{-1}$ arasındaki gerilim tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil. 4.3'ten görüldüğü üzere hız arttıkça ilk yükseltgenme basamağının (Ia) belirginliğinin daha artmış olması nedeniyle çalışmanın devamında analitik sinyal olarak bu basamak seçilmiştir.

İlgili voltamogramlar Şekil 4.3'de ve bu voltamogramlar yardımıyla saptanan gerilim tarama hızı (ν) ile pik akımı (i_p) ve pik gerilimi (E_p) arasındaki ilişki Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

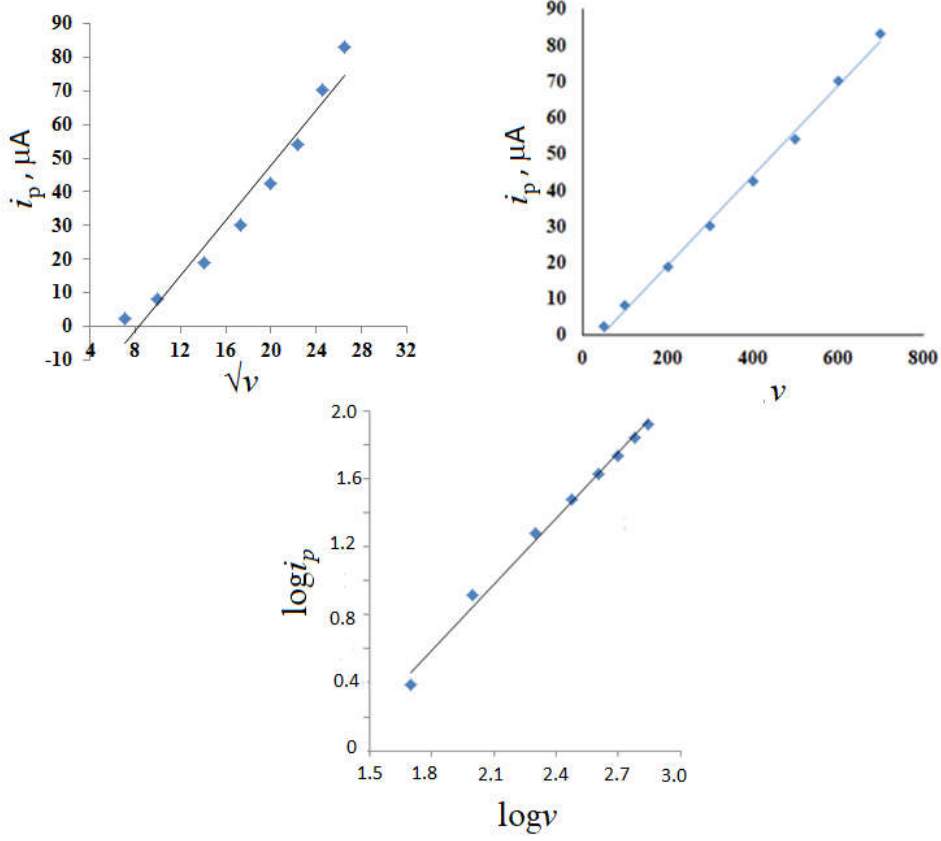


Şekil 4.3. 4.6×10^{-5} M Vinorelbine'in BR (pH 10.0) tamponu içinde (1) 50, (2) 100, (3) 200, (4) 300, (5) 400, (6) 500, (7) 600, (8) 700 mVs^{-1} gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları. Elektrot, PG.

Çizelge 4.1. Vinorelbine voltamogramlarındaki pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Vinorelbine derişimi, 4.6×10^{-5} M; yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 10); elektrot, PG

ν (mVs^{-1})	$\sqrt{\nu}$	$\log \nu$	i_p (μA)	$\log i_p$	E_p (V)
50	7.07	1.70	2.44	0.39	0.72
100	10.00	2.00	8.26	0.92	0.73
200	14.14	2.30	19.01	1.28	0.74
300	17.32	2.48	30.16	1.48	0.74
400	20.00	2.60	42.34	1.63	0.76
500	22.36	2.70	54.28	1.74	0.78
600	24.50	2.78	70.21	1.85	0.79
700	26.46	2.85	83.24	1.92	0.81

Çizelge 4.1'deki bulguların yardımıyla çizilen $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Vinorelbine'ye ait gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi. Vinorelbine derişimi, 4.6×10^{-5} M; yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 10.0); elektrot, PG.

50-700 mVs^{-1} aralığındaki gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallık denklemleri ise aşağıdaki gibidir:

$$i_p (\mu\text{A}) = 4.11 \sqrt{v} (\text{mVs}^{-1}) - 34.22 \quad r = 0.977$$

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.12 v (\text{mVs}^{-1}) - 5.28 \quad r = 0.998$$

$$\log i_p = 1.30 \log v - 1.74 \quad r = 0.996$$

Bu sonuçlara göre; i_p/v ilişkisindeki doğrusallık bulgusu, Vinorelbine molekülünün yükseltgenme olayının çalışılan koşulda adsorpsiyon-kontrollü olduğunu ifade eder. Buna karşılık, i_p/\sqrt{v} ilişkisindeki doğrusallık ise, 50-700 mVs^{-1} aralığında çok

iyi olmayıp, ilgili grafikten de görüldüğü gibi düşük (50 ve 100 mVs⁻¹) ve yüksek (600 ve 700 mVs⁻¹) hızlarda sapma gözlenmektedir. Bu olgu, difüzyon mekanizmasının da Vinorelbin'in elektrokimyasal tepkimesinde yer aldığını ancak orta hızdaki değerlerde etkili olduğunu göstermektedir. Öte yandan; sulu ortamda PG elektrot üzerinde Vinorelbin yükseltgenmesini daha iyi anlayabilmek için $\log i_p / \log v$ ilişkisi de incelenmiştir. İlgili eşitlikteki eğim değerinin 1.0'den büyük olması yükseltgenme olayının adsorpsiyon-kontrollü yürüdüğüdür. Eğim değerlerinin sırasıyla 0.5 ve 1 olması ortamda bulunan çözelti ve yüzey türlerinin ideal tepkimelerine bağlanmaktadır (Laviron ve ark., 1980).

Yukarıda elde edilen tüm bulguların ışığında, Vinorelbin molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesinin temel olarak adsorpsiyonla kontrol edildiği; buna karşılık 200-500 mVs⁻¹ gerilim tarama hızı aralığında difüzyonun da katkısı olduğu söylenebilir.

Diğer taraftan, voltamogramlardan ve çizelgeden de görüldüğü üzere; 50-700 mVs⁻¹ aralığında pik gerilimleri hafifçe daha pozitif bölgeye kaymıştır. Bu olgu, tersinmez ya da yarı-tersinir elektrokimyasal tepkimesi için karakteristiktir (Bard ve Faulkner, 2000).

$E_p / \log v$ ilişkisi çalışılan gerilim tarama hızı aralığında aşağıdaki gibi ifade edilebilir:

$$E_p \text{ (V)} = 0.072 \log v \text{ (mVs}^{-1}\text{)} + 0.80 \text{ (} r = 0.982\text{)}$$

Tersinmez bir elektrot işlemi için, E_p ile v arasındaki ilişki aşağıdaki şekilde tanımlanır (Laviron, 1979):

$$E_p = E^0 + (2.303RT / \alpha nF) \log (RTk^0 / \alpha nF) + (2.303RT / \alpha nF) \log v$$

Eşitlikte yer alan α , yük aktarım katsayısı ve n , redoks tepkimesinde aktarılan elektron sayısıdır. R (8.314 J K⁻¹ mol⁻¹), T (298 K) ve F (96480 C mol⁻¹) ise bilinen sabitlerdir. $E_p - \log v$ ilişkisindeki eğim değeri 0.072'dir. Yukarıdaki eşitlik kullanılarak αn değeri 0.81 olarak hesaplanır. Tam-tersinmez elektrot olayında pekçok sistem için, $\alpha = 0.5$ olarak kabul edilebilir. Böylece, $n = 1.64 (\approx 2)$ değeri elde edilir. Bu değer, PG elektrot yüzeyinde tersinmez olarak yürüyen Vinorelbin molekülünün yükseltgenmesi işlemi, molekül başına 2 elektron aktarıldığını göstermektedir. Elde edilen sonuç, *Vinca minor* bitkisinin indol alkaloidlerinden olan Vinkamin üzerinde modifiye karbon

pasta elektrot kullanılarak BR tamponu içerisinde gerçekleştirilen SW-AdSV bulgusuyla uyumludur (Beltagi, 2008).

4.1.2. Sıyırma voltametri

Yukarıda elde edilen bulguların ışığında, çalışmanın bu bölümünde Vinorelbin molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesi, farklı pH değerlerine sahip sürfaktansız ya da sürfaktan içeren sulu çözeltilerde PG ve GC elektrotlar kullanılarak AdSV tekniği yardımıyla incelenmiştir.

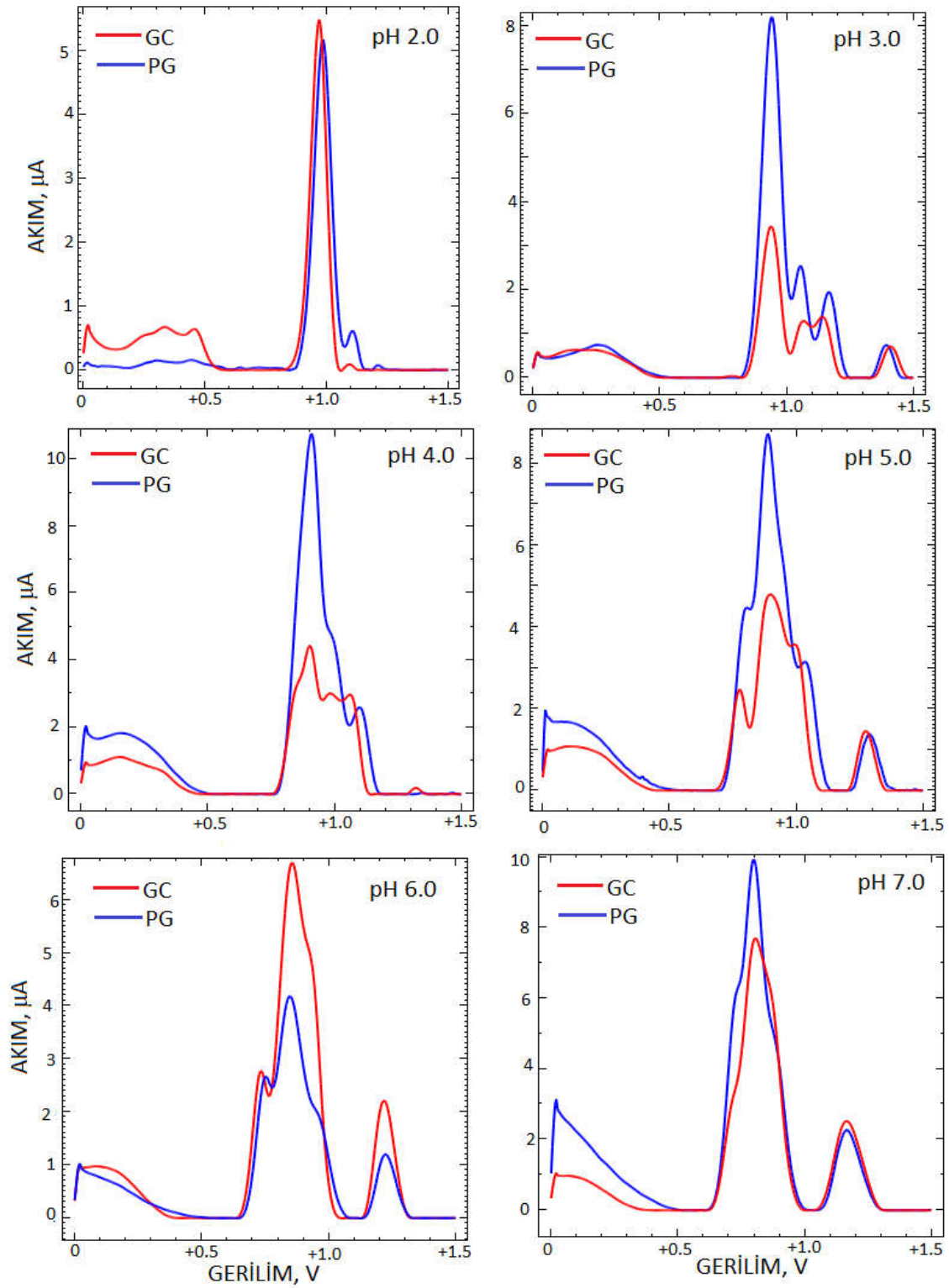
4.1.2.1. Destek elektroliti ve pH etkisi

Voltametik bir çalışmada analit bileşiğinin elektrokimyasal davranışının açıklanmasında kullanılacak destek elektroliti bileşiminin ve pH değerinin seçimi büyük önem taşımaktadır. BR tamponu, çok geniş bir çalışma aralığına sahip olması nedeniyle bu yöntemde çok tercih edilen bir karma tampon sistemidir. Bunun yanısıra; fosfat ve asetat tamponları da doğru çalışma aralıkları seçilme koşuluyla sıklıkla kullanılan çözelti ortamlarıdır.

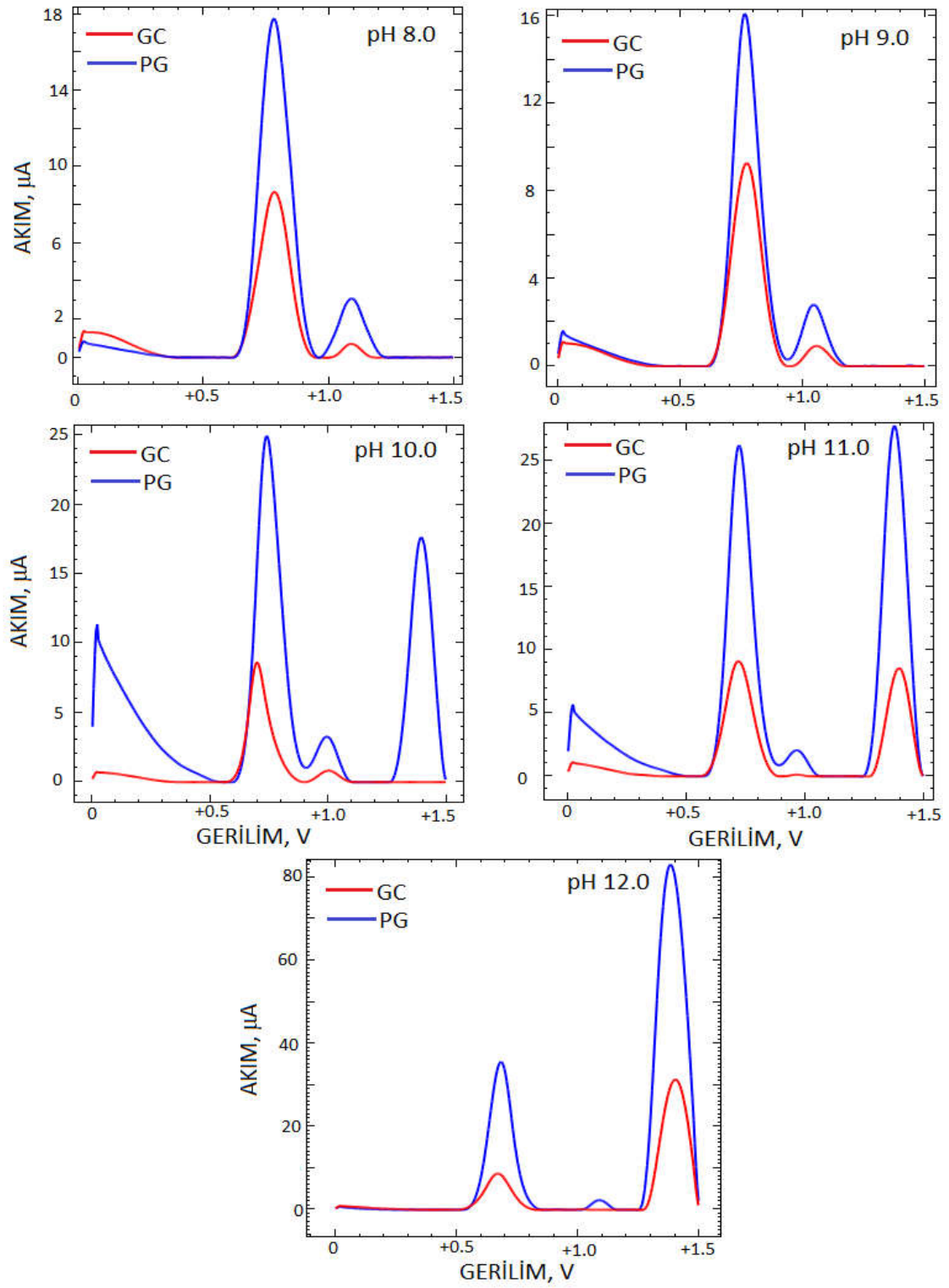
Sıyırma dalga-formları arasında SW dalga-formunun DP formuna kıyasla yüksek hız, yüksek duyarlılık (dolayısıyla düşük madde tüketimi) ve azalmış elektrot kirliliği gibi üstünlükleri vardır.

Yukarıdaki bilgilerden yola çıkarak; araştırmanın bu bölümünde pH 2.0-12.0 aralığında BR tamponu (Şekil 4.5 ve 4.6) ile fosfat (pH 3.0 ve 7.4) ve asetat (pH 4.8) tamponları (Şekil 4.7) içerisinde SW-AdSV tekniği kullanılarak (biriktirme gerilimi, 0.0 V ve süresi 60 s) 2.3×10^{-5} M Vinorelbin'in PG ve GC elektrotları üzerinde voltamogramları kaydedilmiştir.

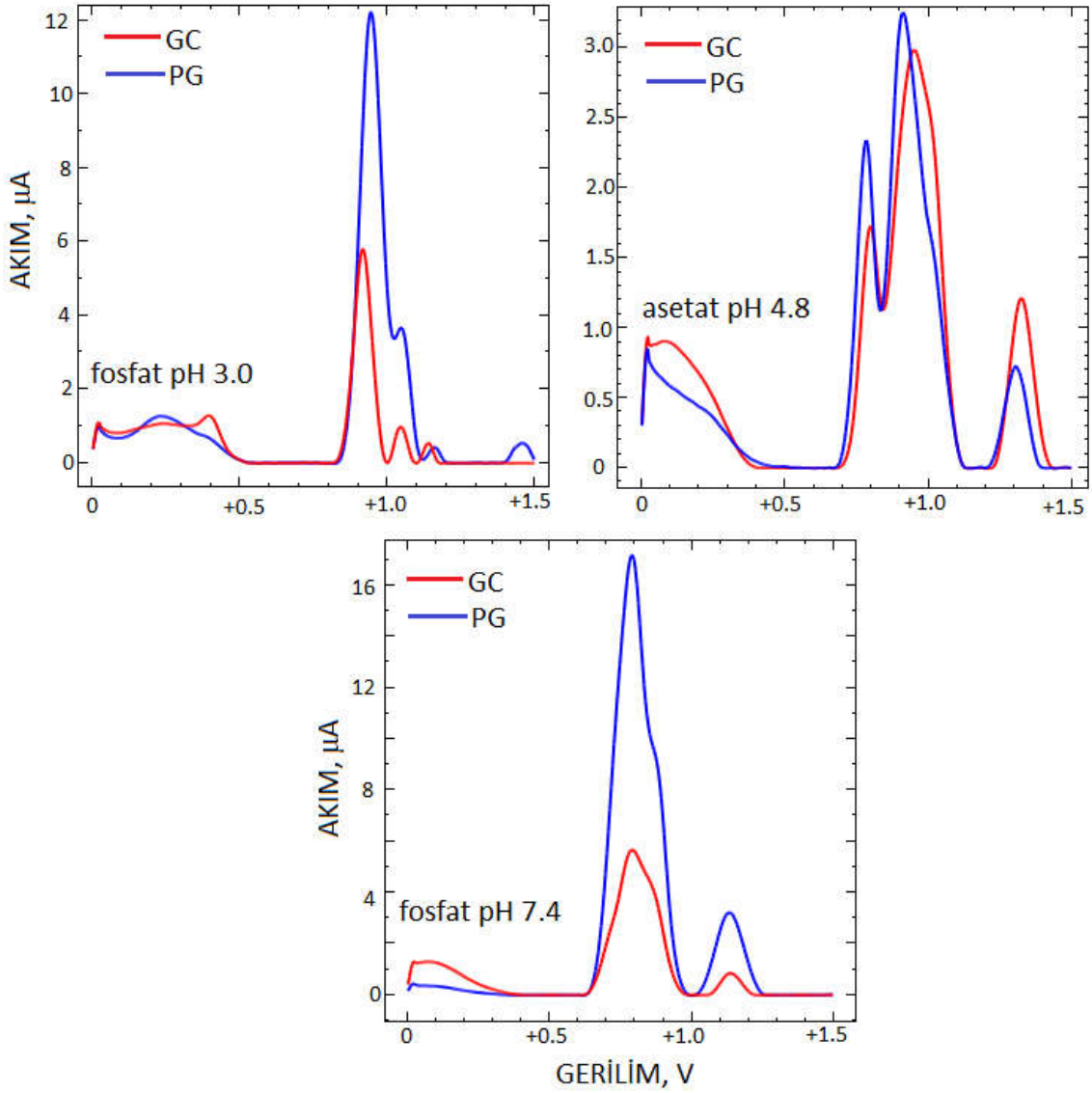
BR tamponu içinde her iki elektrot üzerinde elde edilen voltamogramlardan görüldüğü üzere Vinorelbin molekülünün anodik yükseltgenme mekanizması, pH bağımlı olup karmaşık pek çok elektron aktarım işlemi kapsamaktadır. Özellikle pH 3.0-7.0 aralığında omuz şeklinde çok sayıda yükseltgenme basamağı belirmiş olup bu basamakların değerlendirilmesi çok zordur. Asetat ve fosfat tamponları içinde tekrarlanan deneylerde elde edilen bulgular aynı pH değerlerine karşılık gelen BR tamponu bulgularıyla uyum içindedir.



Şekil 4.5. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in BR tamponu içinde (pH 2.0-7.0) PG ve GC elektrotlarını kullanarak elde edilen SW-AdSV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.



Şekil 4.6. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in BR tamponu içinde (pH 8.0-12.0) PG ve GC elektrotlarını kullanarak elde edilen SW-AdSV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.



Şekil 4.7. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in fosfat (pH 3.0, 7.4) ve asetat (pH 4.8) tamponları içinde PG ve GC elektrotlarını kullanarak elde edilen SW-AdSV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.

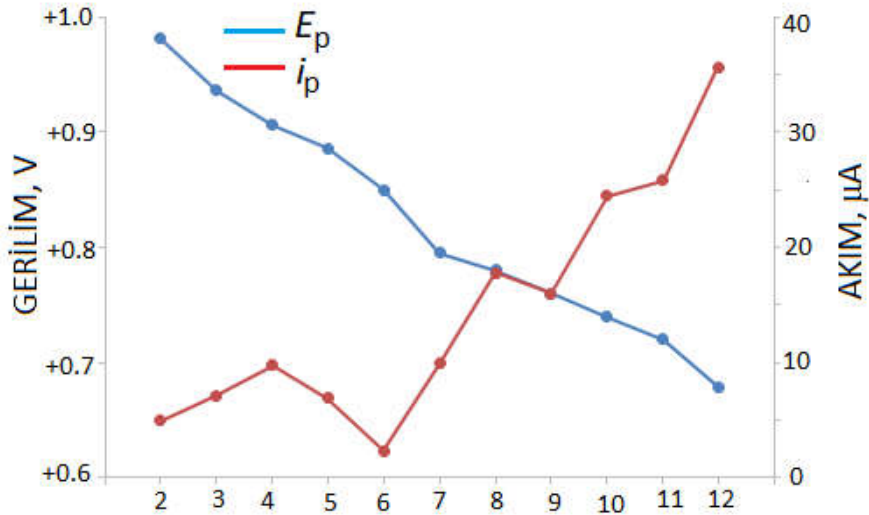
Kuvvetli asidik çözeltilerde (pH=2.0) ve pH>7.0 koşullarında basamaklar birbirinden ayrılmış ve belirginlikleri artmıştır. Brett ve ark. (1993) tarafından GC elektrot üzerinde gerçekleştirilen çalışmada da benzer bulgular gözlenmiştir.

Pik şiddeti açısından GC elektrotu ile PG elektrotu bulguları karşılaştırıldığında, pH 2.0 ortamı dışında GC üzerinde elde edilen tüm yükseltgenme basamaklarının şiddeti önemli ölçüde düşmüştür.

BR (pH 2.0-12.0) içerisinde PG elektrot kullanılarak elde edilen SW-AdSV eğrilerinde saptanan en temel yükseltgenme basamağına ilişkin pik akımı (i_p) ve pik gerilimi (E_p) değerleri Çizelge 4.2'de ve i_p - pH ve E_p - pH grafikleri Şekil 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Vinorelbin voltamogramlarındaki pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerinde pH etkisi. Vinorelbin derişimi, 2.3×10^{-5} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG; yöntem, SW-AdSV

pH	E_p (V)	i_p (μ A)
2	+0.98	4.97
3	+0.94	7.14
4	+0.91	9.78
5	+0.89	6.91
6	+0.85	2.35
7	+0.80	9.94
8	+0.78	17.79
9	+0.76	15.99
10	+0.74	24.47
11	+0.72	25.82
12	+0.68	35.62



Şekil 4.7. Vinorelbin pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerine pH etkisi. Vinorelbin, 2.3×10^{-5} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG; yöntem, SW-AdSV (biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V); SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.

Bulgulardan da görüleceği üzere, pH değeri arttıkça pik gerilimi daha düşük pozitif değerlere kaymaktadır. Bu gözlem, Vinorelbin'in yükseltgenme olayında proton aktarımının da yer aldığı kanıtıdır. E_p - pH ilişkisi incelendiğinde; çalışılan geniş pH aralığında farklı eğim değerlerine sahip iki doğrusal bölge elde edilmiştir:

$$\text{pH } 2.0 - 6.0 \quad E_p \text{ (mV)} = -31.2 \text{ pH} + 1037 \quad r = 0.992$$

$$\text{pH } 7.0 - 11.0 \quad E_p \text{ (mV)} = -19.0 \text{ pH} + 930 \quad r = 0.999$$

E_p - pH ilişkisi bulguları da Vinkamin bulgularıyla uyumludur (Beltagi, 2008).

pH 2.0 - 6.0 aralığındaki ilişkiye ait korelasyon katsayısı (r) değerinin çok iyi olmamasının nedeni, ilgili aralıktaki pik yarılmaları nedeniyle temel yükseltgenme pik şiddetinin olası okuma hatasından kaynaklıdır.

i_p - pH bulguları, alkali çözeltilerde pik şiddetinin en yüksek değere ulaştığı göstermektedir. Ayrıca birbirinden ayrılmış keskin piklerin eldesi, çok kuvvetli asidik çözeltilerin de (pH 2.0) gerektiğinde Vinorelbin'in analitik çalışması açısından uygun olabileceğini göstermektedir.

Molekül yapılarının ve dolayısıyla yükseltgenme mekanizmalarının çok karmaşık olması nedeniyle; bugüne dek *Vinka* alkaloidlerinin farklı katı elektrotlar (CP, GC, Pt) kullanılarak organik çözücüler ya da sulu çözeltiler içerisinde voltametik yöntemle araştırılması üzerine kaynakçada çok sınırlı sayıda makaleye rastlanmıştır. İlgili makalelerin hemen hepsi eski tarihlidir (Rusling ve ark., 1984; Kamau ve ark., 1985; Brett ve ark., 1993; Brett ve ark., 1994; Tabakovic ve Gunic, 1997). Sunulan bu tez çalışmasının amacı, Vinorelbin bileşiğinin elektrokimyasal davranışının nedenlerini ayrıntılı olarak açıklamak olmamakla birlikte kaynakçada yer alan makalelerin açıklamaları ve bu çalışmadan elde edilen bulguların doğrultusunda bir yorum yapılabilir.

Vinorelbin ve yapısal benzeri diğer *Vinka* alkaloidleri, "Genel Bilgiler" bölümünde açıklandığı gibi vindolin ve katarantin yapılarının eşleşmesiyle oluşmuştur. Tabakovic ve Gunic (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, vindolin varlığında katarantin molekülünün GC elektrot üzerinde organik çözücüler (asetonitril+tetraetilamonyum perklorat) içerisinde anodik yükseltgenmesi çalışılmıştır. Her iki molekülün protonlanmış formunun dönüşümlü voltamogramları ayrı ayrı alındığında; iki basamakta yükseltgendikleri gözlenmiştir. İlk basamağın tersiyer amin grubunun, ikinci basamağın ise indolin halkasının yükseltgenmesine karşılık geldiği bildirilmiştir. Protonlarını kaybettiklerinde ise moleküller tek basamakta (daha

az pozitif gerilimde katarantin, daha yüksek pozitif gerilimde vindolin) yükseltgenmektedir. Rusling ve ark. (1984), CP elektrot kullanarak sulu çözeltilerde bu iki molekül üzerinde yaptıkları bir araştırmada benzer sonuçlar bulmuş ve moleküllerin protonlarını kaybettiklerinde daha kolay yükseltgendiklerini söylemişlerdir. Vinorelbin'in $\text{pH} > 7.0$ değerlerinde protonlarını kaybettiği düşünülürse (daha sonra ayrıntılı olarak açıklanacaktır), bu tez çalışmasında sunulan dönüşümlü voltamogram bulguları her iki makaledeki bulgularla uyum içindedir.

Yapısal benzerliği olan indolin-alkaloidlerine ilişkin yukarıda sunulan makalelerdeki bilgilerin ışığında, Vinorelbin molekülünün yükseltgenmesinin, proton kaybıyla birlikte yürüyen çok-basamaklı elektron aktarımını içerdiği ve sonrasında oluşan kimyasal tepkime ürünlerinin (dimerler ya da polimerler) elektrot yüzeyinde kuvvetle adsorplanarak etkin olmayan bir film oluşturduğu söylenebilir.

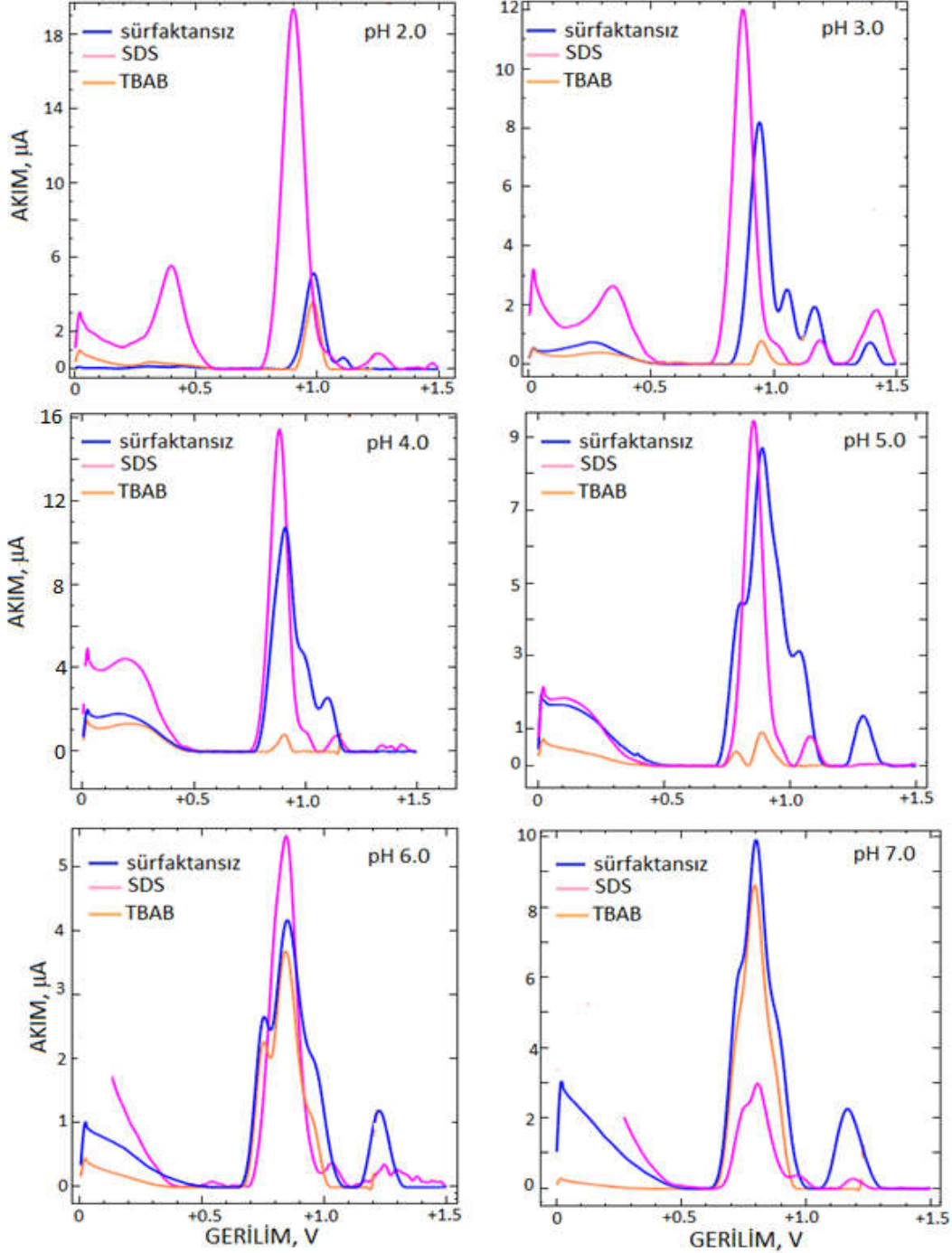
4.1.2.2. Sürfaktan yükünün etkisi

Vinorelbin molekülünün sulu çözeltilerdeki elektrokimyasal yükseltgenmesinin incelenmesinden sonra bu bölümde anyonik (negatif yüklü) sürfaktan SDS ve katyonik (pozitif yüklü) sürfaktan TBAB'ın elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla; 5.0×10^{-3} M sürfaktan içeren BR tamponu (pH 2.0-12.0) çözeltilerinde SW-AdSV tekniği kullanılarak (biriktirme gerilimi, 0.0 V ve süresi 60 s) Vinorelbin'in (2.3×10^{-5} M) PG elektrotu üzerinde voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10).

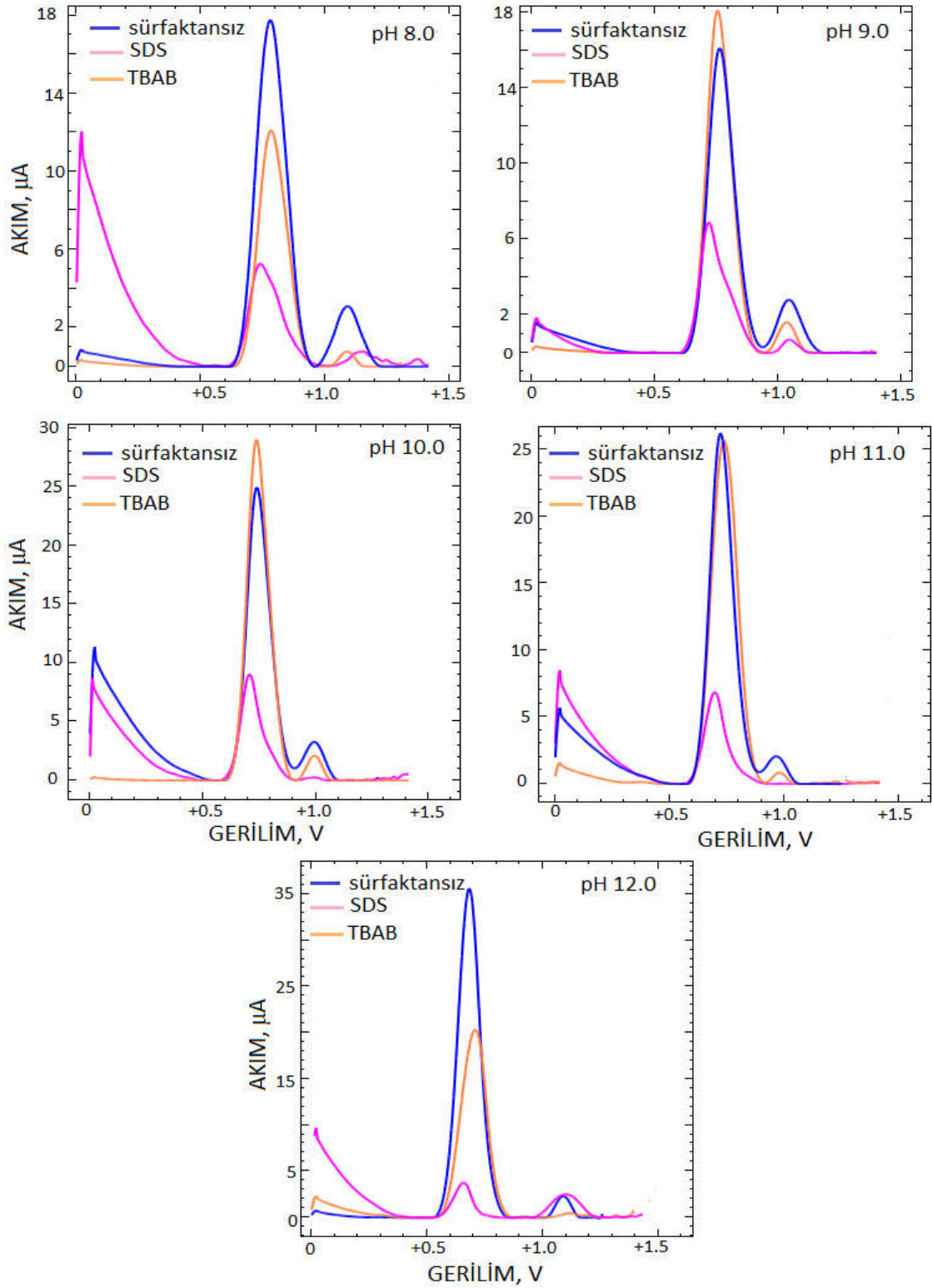
Sürfaktansız ve sürfaktan içeren çözeltilerdeki voltamogramlar incelendiğinde, asidik çözeltilerde (pH 2.0-6.0) Vinorelbin'in pik morfolojisi ve şiddeti üzerinde SDS'nin etkinliğinin çok fazla olduğu gözlenmektedir. Sürfaktansız ortamda birbirinden ayrılmayan ve omuz şeklinde beliren pikler birbirinden ayrılmış ve ilk yükseltgenme basamağının (Ia) pik şiddeti artmıştır. Pik gerilimleri ise daha az pozitif gerilim değerlerine kaymıştır. En yüksek pik akımına, çok kuvvetli asidik çözeltide (pH 2.0) ulaşılmıştır. Nötral ve bazik çözeltilerde ise pik şiddeti azalmaya başlayarak sürfaktansız ortamdaki değerlerin altına düşmüş ve pik morfolojisi bozulmuştur.

Buna karşılık; TBAB varlığındaki asidik çözeltilerde ($\text{pH} \leq 5.0$), pik şiddeti sürfaktansız çözeltilere kıyasla çok azalmış, daha büyük pH değerlerinde pik şiddetinde artış

başlamış, pH 9.0 ve 10.0'da sürfaktansız ortamdaki pik şiddetini geçmiş, $\text{pH} \geq 11.0$ değerlerinde yeniden azalmıştır. Pik gerilimlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.



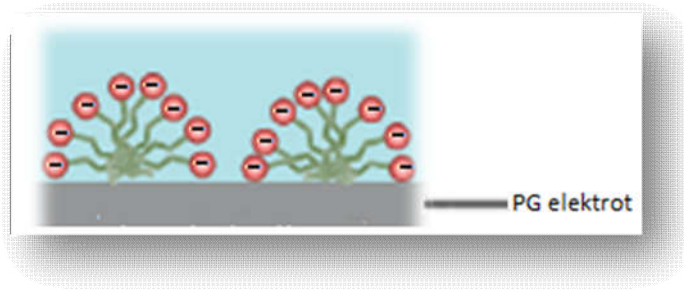
Şekil 4.8. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in sürfaktansız ya da sürfaktan (SDS, TBAB) içeren BR tamponu içinde ($\text{pH} 2.0-7.0$) elde edilen SW-AdSV eğrileri. Sürfaktan derişimi, 5.0×10^{-3} M; elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.



Şekil 4.9. 2.3×10^{-5} M Vinorelbine'in sürfaktansız ya da sürfaktan (SDS, TBAB) içeren BR tamponu içinde (pH 8.0-12.0) elde edilen SW-AdSV eğrileri. Sürfaktan derişimi, 5.0×10^{-3} M; elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.

Vinorelbin molekülü üzerinde bir hidroksil grubu ve dört azot içeren bölge yer aldığı için molekülün beş pK_a değeri olmalıdır. Ancak şimdiye kadar özelde Vinorelbin molekülünün genelde *Vinka* alkaloidlerinin sulu çözeltilerdeki protonlanmış ve protonlanmamış yapısı çok derinliğine aydınlatılamamıştır. Bunun nedeni, azot bölgelerine özgün pK_a değerlerinin saptanma güçlüğü olabilir. Kaynakça araştırmamızda genellikle iki pK_a değeri saptanmıştır. Bu değerler $pK_{a1} \approx 5.4$ ve $pK_{a2} \approx 7.6$ olup moleküldeki tersiyer azotlara karşılık geldiği bildirilmektedir. Bu durumda Vinorelbin molekülünün; çok kuvvetli asidik çözeltilerde ($pH \leq 2.0$) dikatyonik, zayıf asidik ve nötral çözeltilerde katyonik ve $pH > 8.0$ değerine sahip çözeltilerde ise nötral yapıda olması beklenir.

Elektroanalitik kimyada sürfaktan uygulamaları çok sıklıkla kullanılmasına karşın, elektrot yüzeyinde sürfaktan adsorpsiyonunun yapısı çoğu kez doğru biçimde aydınlatılamamaktadır. İyonik sürfaktanların sulu çözeltilerden hidrofobik yüzeylere (bizim çalışmamızda elektrot yüzeyi) adsorpsiyonunda kabul edilen varsayıma göre; kritik misel derişiminin (CMC) altında olmak koşuluyla oldukça yüksek sürfaktan derişimleri çözeltilere eklendiği zaman elektrot yüzeyinde hemimiseller (yüzey miselleri) oluşur. Bu yüzey miselleri, negatif ya da pozitif yüklü hidrofilik film sulu çözelti fazına doğru dizilmek üzere elektrot yüzeyine yerleşirler (Şekil 4.11).



Şekil 4.10. Hidrofobik yüzeyde hemimisel oluşumu.

Dolayısıyla bizim çalışmamızda SDS ($CMC = 8.2 \times 10^{-3} M$) (Nakamura ve ark., 1998) içeren kuvvetli asidik çözeltilerde, dikatyonik Vinorelbin molekülü ile elektrot yüzeyindeki SDS misellerinin negatif yüklü baş grubu arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı Vinorelbin molekülünün elektrot yanıtı yani pik şiddeti çok yüksektir. Kuvvetli asidik çözeltilerden bazik çözeltilere doğru geçildikçe Vinorelbin molekülünün pozitif yükü giderek azalmış; dolayısıyla pik şiddeti düşmüştür. Öte

yandan, pozitif yüklü sürfaktan, TBAB'ın ($CMC = 2.5 \times 10^{-1} M$) (Saxena ve ark., 2018) asidik çözeltilere eklenmesi durumunda ise elektrostatik güçler ters yönde çalışacağından sürfaktansız çözeltilere kıyasla Vinorelbin molekülünün pik şiddetinde azalma gözlenmiştir.

Buna karşılık Vinorelbin molekülünün yükünü kaybedip nötral karakter kazandığı koşulda (pH, 9.0 ve 10.0) pik şiddetinin artmış olması "koadsorpsiyon= yüzey solubilizasyonu" olarak isimlendirilen farklı bir mekanizma ile açıklanabilir (Cherkaoui ve ark., 1998; Adak ve ark., 2005). Bu mekanizma genellikle katyonik sürfaktan varlığında gerçekleşmektedir. Önerilen senaryoya göre; non-iyonize moleküller yüzeyde adsorplanmış katyonik sürfaktan miselleriyle (örn. hemimiseller) etkileşime girerek onların yüzeyinde basitçe adsorbe olurlar. Bu durumda (bizim örneğimizde olduğu gibi) elektron aktarımı kolaylaşmış ve pik şiddeti artmış olacaktır. Sürfaktanın aşırısında (CMC üstündeki değerlerde), koadsorplanmış moleküller yüzeyden ayrılarak çözeltideki serbest miseller içinde çözünecektir (miseler solubilizasyon). Adak ve ark. (2005), substrat (örn., elektrot) yükünün ve yapısının koadsorpsiyon olgusunda önemli rol oynamadığını, gerekli olanın sürfaktan adsorpsiyonuyla yüzeyin yeteri kadar hidrofobik yapılması olduğunu ileri sürmektedir.

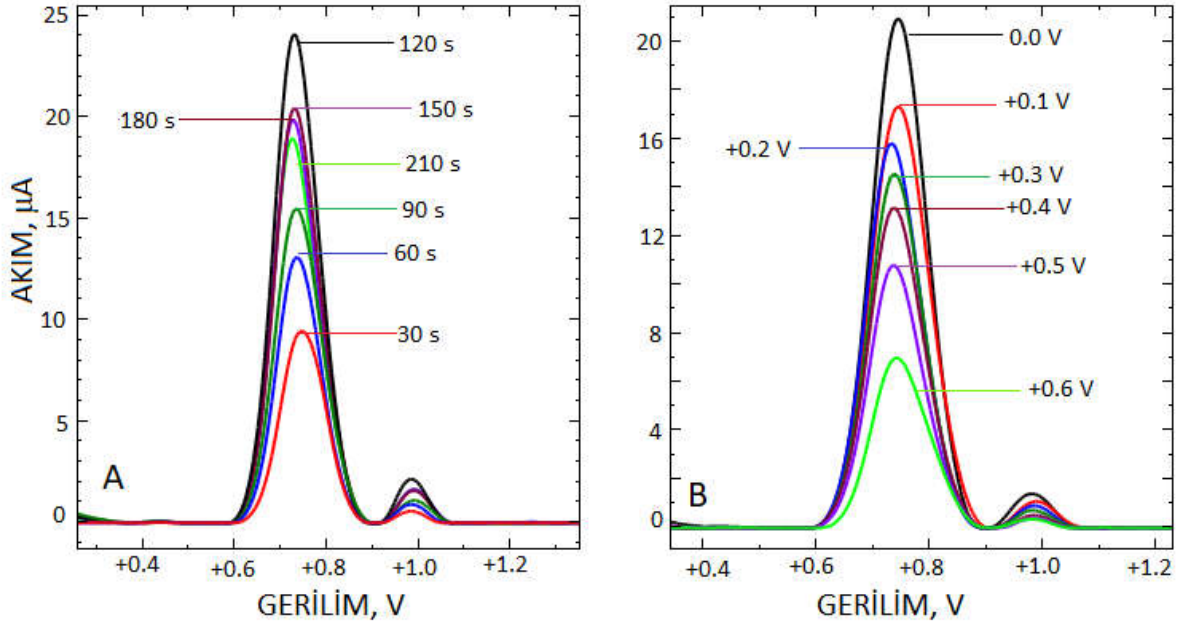
Sürfaktansız ve sürfaktan içeren tüm pH değerlerindeki çözeltiler incelendiğinde, en yüksek pik akımlarına SDS varlığında BR (pH 2.0), TBAB varlığında BR (pH 10.0) ve sürfaktansız BR (pH 12.0) çözeltilerinde ulaşılmıştır. Daha sonra verilecek olan sürfaktan derişiminin elektrot yanıtı üzerindeki etkisi de dikkate alınarak araştırmanın devamında TBAB içeren destek elektroliti içerisinde çalışılmasına karar verilmiştir.

4.1.2.3. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi

Araştırmanın bu bölümünde, Vinorelbin molekülünün PG elektrot üzerindeki adsorptif karakteristikleri analiz edilmiştir. $5.5 \times 10^{-6} M$ derişimindeki Vinorelbin için $5.0 \times 10^{-3} M$ TBAB içeren BR tamponu (pH 10) içinde biriktirme (akümülyasyon) süresi (t_{acc}) ve gerilimi (E_{acc}) koşullarının etkisi Şekil 4.12'de verilmiştir.

Analitik sinyal üzerinde t_{acc} etkisi, E_{acc} değeri 0.0 V'da sabit tutularak 30-210 s aralığında incelenmiştir. Sinyal 120 s değerine kadar artmış, daha sonra bir miktar düşüş

gösterdikten sonra sabit kalmıştır. Bu olgu, elektrot yüzeyinin analit molekülü ile doygun hale geldiğinin göstergesidir. Diğer taraftan, sıyırma pik akımı/ E_{acc} ilişkisi, $t_{acc} = 120$ s koşulunda 0.0 V ile +0.6 V aralığında analiz edildiğinde; pik gerilimi arttıkça pik akımının azaldığı gözlenmiştir. Böylece, analitik incelemenin devamında $t_{acc} = 120$ s ve $E_{acc} = 0.0$ V kullanılmasına karar verilmiştir.



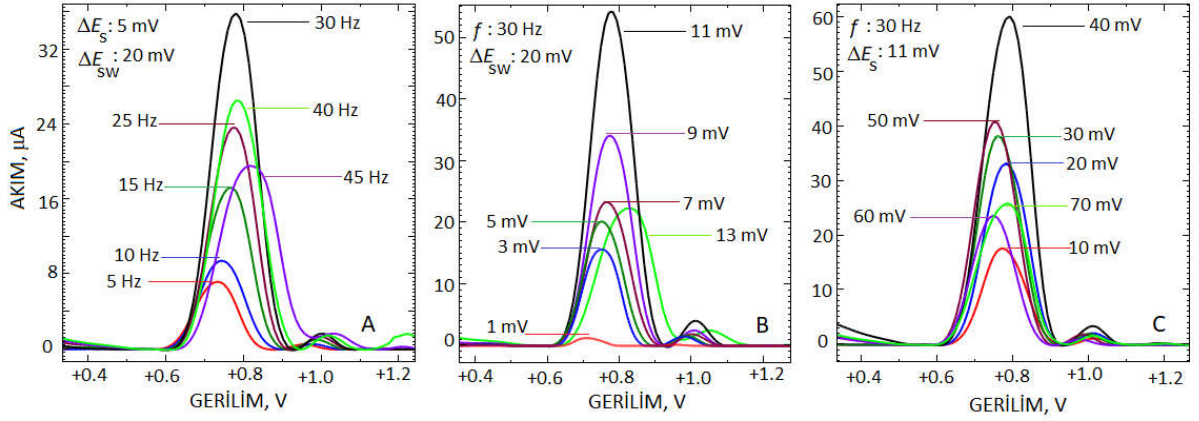
Şekil 4.11. 5.5×10^{-6} M Vinorelbine'in 5.0×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde biriktirme süresi (A) ve biriktirme gerilimi (B) etkisi. Elektrot, PG; SW değişkenleri: frekans, 25 Hz; adım gerilimi, 5 mV; amplitüd, 20 mV.

4.1.2.4. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi

Araştırmanın devamında, en iyi cihaz değişkenlerinin belirlenmesi amacıyla sıyırma yanıtı üzerinde SW değişkenlerinin (kare-dalga frekansı, $f = 5-45$ Hz; adım gerilimi, $\Delta E_s = 1-13$ mV; kare-dalga amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 10-70$ mV) etkisi araştırılmıştır. Deneyler 5.5×10^{-6} M Vinorelbine içeren 5.0×10^{-3} M TBAB + BR tamponu (pH 10.0) çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Her değişken için diğer iki değişkenin değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 4.13).

SWV tekniğinin hızı, frekans ve adım gerilimi ile ilişkilidir. $f = 30$ Hz ve $\Delta E_s = 11$ mV değerlerine kadar artış, etkin gerilim tarama hızındaki artışa bağlı olarak pik

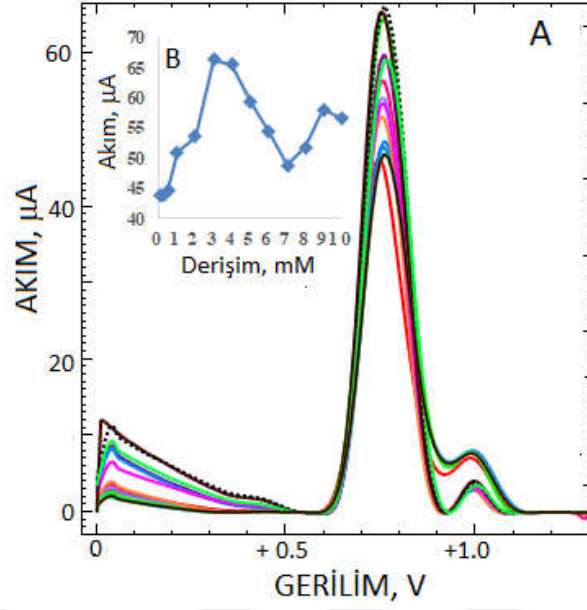
akımı değerlerinde artışı sağlamıştır. Ancak bu değerlerden sonra akım değerleri düştüğü gibi $f = 30$ Hz ve $\Delta E_s = 13$ mV değerlerinde pik genişlemesi ve zemin çizgisi bozulması gözlenmiştir. Analitik sinyal aynı zamanda puls amplitüdü değeriyle de (frekans kadar olmasa da) ilişkilidir. Pik yükseklikleri, $\Delta E_{sw} = 40$ mV değerine kadar artmış, sonrasında azalmıştır. Sonuç olarak; analitik incelemenin devamında $f = 30$ Hz, $\Delta E_s = 11$ mV ve $\Delta E_{sw} = 40$ mV değerlerinin kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.12. 5.5×10^{-6} M Vinorelbine'in 5.0×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri üzerinde SW değişkenlerinin (A, frekans; B, adım gerilimi; C, amplitüd) etkisi. Elektrot, PG; biriktirme süresi, 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V.

4.1.2.5. Sürfaktan derişiminin etkisi

Aletsel değişkenlerin optimize edilmesinin ardından son olarak Vinorelbine'in analitik çalışması için en iyi deneysel koşulu sağlamak amacıyla TBAB derişiminin etkisi araştırılmıştır. Vinorelbine derişimi 5.5×10^{-6} M değerinde sabit tutularak 1×10^{-4} M - 1×10^{-2} M derişim aralığındaki TBAB, BR tamponu (pH 10) çözeltisine eklenerek SW-AdSV eğrileri kaydedilmiştir. Şekil 4.14'den görüldüğü gibi, Vinorelbine yükseltgenme piki 3×10^{-3} M TBAB derişimine kadar artmış, 4×10^{-3} M değerinden sonra azalmaya başlamıştır. Sonuç olarak, analitik incelemenin geri kalan bölümünde tüm deneyler TBAB derişimini 3×10^{-3} M değerinde sabit tutarak gerçekleştirilmiştir. TBAB'ın bu derişimi çözeltide bulunduğu zaman Vinorelbine sinyalleri, sürfaktan içermeyen çözeltilere kıyasla yaklaşık % 50 oranında artmıştır.



Şekil 4.13. (A) 5.5×10^{-6} M Vinorelbine'in farklı TBAB derişimlerini (0, 0.1, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 mM) içeren BR tamponu (pH 10) içinde elde edilen SW-AdSV eğrileri. Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. Kesikli çizgi, 3 mM TBAB. Ek (B): i_p / C_{TBAB} eğrisi.

4.2. Vinorelbine'in Kalem-ucu Grafit Elektrot Üzerinde Tayini

Vinorelbine bileşiminin PG elektrot kullanarak sürfaktan içeren çözeltiler içerisinde elektrokimyasal davranışlarının ayrıntılı olarak incelenmesinden sonra tez çalışmasının bu bölümünde ilgili bileşimin ilaç analizlerinde ve biyolojik örneklerde (idrar örneği) analitik uygulanabilirlik koşulları araştırılmıştır.

4.2.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi

Yukarıda sunulan bulguların değerlendirilmesi sonucunda, analitik kullanım açısından üç farklı çözelti ortamında daha yüksek akım yanıtı ve pik morfolojisi (tek ve iyi ayrılmış pik şekli) elde edilmiştir. Bunlardan ilki, anyonik sürfaktan içeren çok kuvvetli asidik çözeltiler (pH 2.0), ikincisi, katyonik sürfaktan içeren orta kuvvette bazik çözeltiler (pH 9.0 ve pH 10.0), üçüncüsü ise sürfaktan içermeyen çok kuvvetli bazik çözeltiler (pH 12.0)'dir. Gerçek örneklerden gelecek girişim etkisini azaltmak ya

da tamamen yok etmek için koşullara bağlı olarak her üç ortam da Vinorelbin tayininde analitik ortam olarak seçilebilir.

Sunulan tez çalışmasında PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri (çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik), katyonik sürfaktan içeren pH 10.0 değerine sahip çözeltiler içerisinde incelenmiş olup Vinorelbin bileşiğinin tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Vinorelbin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel değişkenler

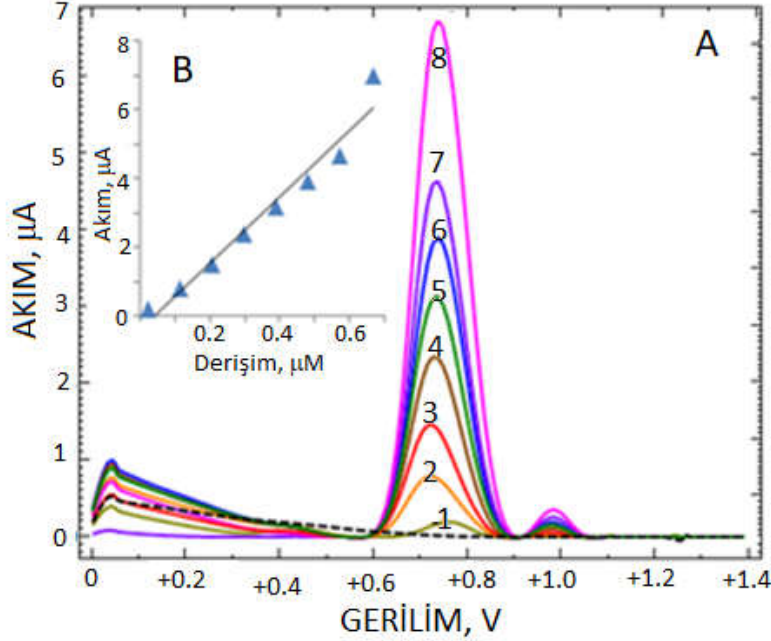
Yöntem	SW-AdSV
Elektrot	PG
Destek elektroliti	BR tampon (pH 10.0) + 3×10^{-3} M TBAB
Adsorptif sıyırma değişkenleri	
E_{acc}	0 V
t_{acc}	120 s
Kare-dalga değişkenleri	
f	30 Hz
ΔE_s	11 mV
ΔE_{sw}	40 mV

Vinorelbin standart çözeltilerinden elektrokimyasal hücreye belirli hacimlerde eklenmiş ve yukarıda verilen koşullarda voltamogramları (üç kez tekrarlanarak) kaydedilmiştir. Her ekleden sonra eğriler üzerinde +0.75 V değerindeki SWV yanıt değerlendirilmiştir. İlgili voltamogramlar ve derişim-pik akımı ilişkisi Şekil 4.15'de verilmiştir.

Şekil 4.15 B'de sunulan analitik eğri, $2.3 \times 10^{-8} - 5.8 \times 10^{-6}$ M (baz olarak, 17.9-4518 ng mL⁻¹) derişim aralığında [i_p (μ A) = 0.0097 C (nM) - 0.4013 ($r = 0.997$, $n = 7$)] doğrusal bir yanıt sunmaktadır. Eşitlikteki i_p adsorptif sıyırma piki, C Vinorelbin derişimi ve r korelasyon katsayısıdır.

Analitik eğriler yardımıyla elde edilen gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve en düşük tayin sınırı (LOQ) değerleri; LOD = 3 s/m ; LOQ = 10 s/m eşitliğine göre hesaplanmıştır. Eşitliklerde yer alan s , doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik

akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasını, m ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini ifade etmektedir. LOD and LOQ değerleri sırasıyla 7.5×10^{-9} M (baz- 5.8 ng mL^{-1}) ve 2.5×10^{-8} M (baz- 19.47 ng mL^{-1}) olarak saptanmıştır.



Şekil 4.14. (A) Vinorelbine'in farklı derişimlerinin [(1) 0.023, (2) 1.15, (3) 2.07, (4) 2.99, (5) 3.91, (6) 4.83, (7) 5.75, (8) 6.67 μM] 3×10^{-3} M TBAB içeren BR tamponu (pH 10.0) içerisinde kaydedilen SW-AdSV eğrileri. Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. Kesikli çizgi, destek elektroliti. Ek (B): $i_p / C_{\text{Vinorelbine}}$ eğrisi.

Bulunan değerlerden de görüldüğü üzere PG elektrota hiçbir kimyasal modifikasyon işlemi uygulanmadan (basit bir elektrokimyasal ön-işlem dışında) Vinorelbine'in oldukça düşük derişimlerinin saptanabilmesine olanak sağlamıştır. Elektrotun elektrokimyasal ön-işlemi, diğer yüzey modifikasyon stratejilerine kıyasla çok hızlı, basit ve düşük maliyetli olup hiçbir toksik kimyasala gerek duymaması nedeniyle çevre-dostudur. Bazı araştırmacılar, GC elektrota kıyasla PG elektrot üzerinde elde edilen artmış pik şiddetinin, yapısındaki kil malzemesinden kaynaklı olduğu görüşündedirler (Kariuki, 2012). Bu malzeme, PG elektrota gözenekli bir yapı ve özel bir yüzey alanı sağlarken pekçok analitin redoks olayında elektrotun elektrokatalitik etkinliğini artırmaktadır. Bu çalışmada sunulan GC ve PG üzerindeki Vinorelbine bulguları da bu görüşü desteklemektedir. Bilgimize göre Vinorelbine'in voltametrik

yöntemle miktar tayini üzerine kaynakçada bugüne dek yapılan hiçbir çalışma yer almamaktadır. İlk kez tarafımızdan geliştirilen voltametrik yöntemin duyarlılık açısından analitik performansı, Çizelge 2.3'de verilen ve MS ya da MS/MS dedektör sistemi kullanılan ayırma yöntemlerinin bir kısmı ile kıyaslanabilir düzeydedir.

Vinorelbin için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirlik düzeyini saptamak için 3.5×10^{-7} M derişimdeki çözeltiler, en iyi deney koşullarında hazırlanmış ve bu çözeltilerin aynı gün içerisinde 9 kez sıyırma voltamogramları kaydedilmiştir. Bu voltamogramlar üzerinde yükseltgenme pik akımı ve gerilimleri değerleri okunmuş ve bulunan değerler gün-içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre yükseltgenme pik akımı ve gerilimi için BSS değerleri sırasıyla % 1.23 ve % 0.32 olarak saptanmıştır.

4.2.2. Gerçek örnek analizleri

Geliştirilen yöntemin gerçek örneklerdeki performans özelliklerini doğrulamak için, uygulanabilirliği ticari ilaç şekillerinde ve biyolojik sıvı (idrâr) örneklerinde denenmiştir.

4.2.2.1. Enjektabl çözeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden temin edilen Navelbine® enjektabl solüsyonu ($50 \text{ mg } 5 \text{ mL}^{-1}$ Vinorelbin) kullanılmıştır. Bölüm 3.3.1.1'de anlatılan yolla hazırlanmış flakon çözeltilerinin voltamogramları standart maddeler için hazırlanan koşullarda alınmıştır. Flakon analizine ilişkin voltamogramlar ile standart Vinorelbin'e ilişkin voltamogramlar karşılaştırıldığında eğrilerin uyumlu olduğu gözlenmiştir. Voltamogramlar üzerinde okunan yükseltgenme pik akımı değerleri ilgili kalibrasyon eğrilerinde yerine konularak flakonların içerdiği Vinorelbin miktarları hesaplanmış ve bu değerler gerçek değerle karşılaştırılmıştır. Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacıyla geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için, aynı enjektabl çözeltisi üzerine standart Vinorelbin çözeltisinden doğrusallık sınırlarını aşmamak koşulu ile ardışık eklemeler yapılmış ve her eklemeden sonra voltamogramlar yeniden kaydedilmiştir. Pik akımlarının ölçümü

hem orijinal enjektabl çözeltisinde hem de ardışık eklemelerden sonra yapılmıştır. Daha sonra enjektabl çözelti örneğine katılan saf maddenin ne kadarının tayin edilebildiği hesaplanmıştır.

Voltametik yöntemle yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Vinorelbin (ditartarat tuzu şeklinde) içeren flakonlarda voltametik yöntem analiz bulguları

Örnek	Bulunan(mg) ^{a,b}	Geri Kazanım ^b (%) ± %BSS
1	64.40	93 ± 3.09
2	66.48	96 ± 3.01
3	71.33	103 ± 2.97
4	74.10	107 ± 3.16
5	67.17	97 ± 3.04

^aBir flakon (5 mL), 50 mg Vinorelbin'e eşdeğer 69.25 mg Vinorelbin ditartarat içerir.

^bSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

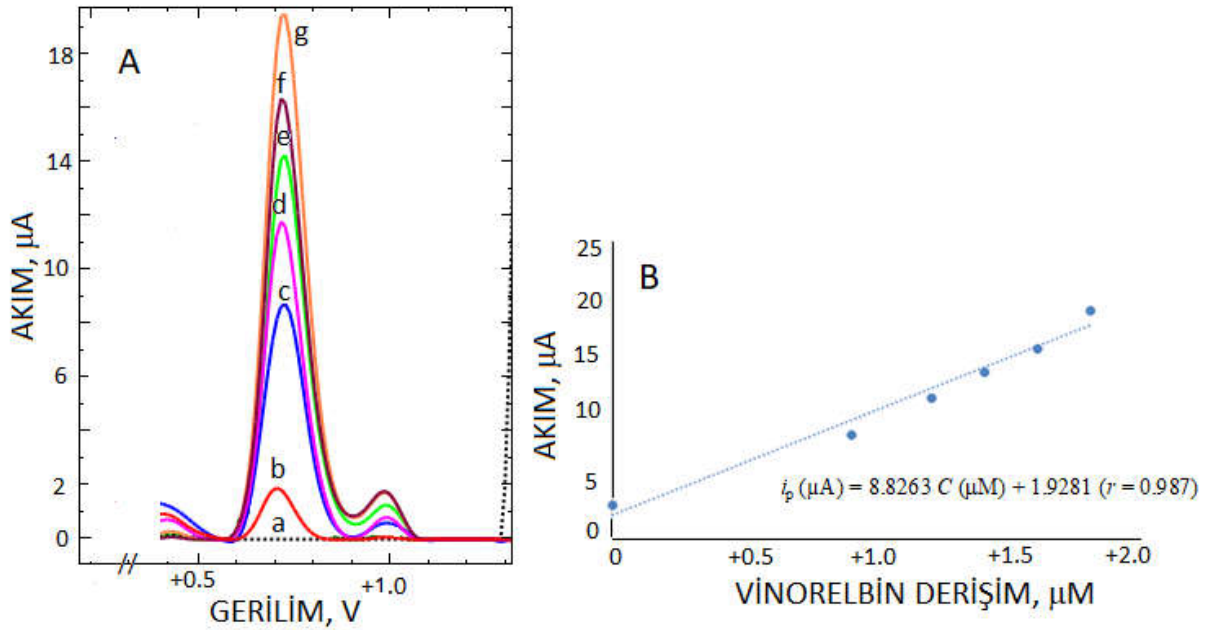
4.2.2.2. İdrar örnekleri

Vinorelbin tayini için tek-kullanımlık PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametik yöntemin yüksek duyarlılığa ve tekrarlanabilirliğe sahip olması nedeniyle, idrar örneği gibi karmaşık matris ortamlarında (su, tuz ve biyomoleküller içerir) da kullanılma koşulları araştırılmıştır.

Deneilerin başlangıcında, Bölüm 3.3.1.2'de anlatılan yol izlenerek hazırlanmış ve Vinorelbin katılmamış idrar örneklerinde (kör örnek) voltamogramlar, sürfaktansız ve sürfaktan (TBAB) içeren iki farklı destek elektroliti çözeltisi (BR tampon, pH 10.0) içerisinde alınmıştır. Sürfaktansız çözeltilerde Vinorelbin sinyalinin gözleendiği gerilim aralığında idrarda bulunan biyomoleküllere (ürik asit, askorbik asit, dopamin) ilişkin hiçbir yükseltgenme basamağı gözlenmemiştir. Levent (2017) tarafından asebutolol bileşiğinin tayini için PG elektrot üzerinde SW-AdSV tekniği ile idrar örneğinde gerçekleştirilen bir araştırmada ürik asit piki BR tamponu (pH 10.0) içerisinde yaklaşık +0.30 V dolayında belirlemiştir. Askorbik asit ve dopamin ise PG elektrot üzerinde genellikle ürik asite kıyasla daha düşük pozitif gerilim değerlerinde ortaya çıkmaktadır (Özcan ve Şahin, 2010; Levent ve Önal, 2018). Buna karşılık, aynı deneyler TBAB içeren çözeltiler içerisinde tekrarlandığı zaman +0.6 ile +0.8 V aralığında şiddeti çok küçük olmakla birlikte bir pik ortaya çıkmıştır. Bu pikin, olasılıkla çalışılan pH

değerinde anyonik formda bulunan ve dolayısıyla katyonik sürfaktanla etkileşime giren farklı bir idrar bileşenine ilişkin olabileceği düşünülmektedir. İdrar analizinde standart katma yöntemi kullanılacağından şiddeti küçük olan bu pikin sonuçları etkilemeyeceği açıktır. Ancak sürfaktan içermeyen bazik çözeltilerde de Vinorelbin pik akımının yüksek ve morfolojisinin düzgün olduğu bulgusundan yola çıkarak idrar çalışmaları bir risk almamak için BR tamponu (pH 10.0) içinde gerçekleştirilmiştir.

Vinorelbin katılmış idrar örneği, hiçbir karmaşık ön-işlem ve ayırma yöntemi kullanmadan yalnızca santrifüj sonrası seçilen destek elektroliti ile seyreltilerek analiz edilmiştir. Elde edilen sıyırma voltamogramları Şekil 4.16'da görülmektedir. Yaklaşık +0.70 V dolayında gözlenen pik, her Vinorelbin standart eklenmesi sonunda düzgün olarak artmıştır. Çizelge 4.5'de gösterildiği gibi, bulunan değerle idrara eklenmiş Vinorelbin derişimi arasındaki uygunluk (yeterli geri kazanım değeriyle birlikte) önerilen yöntemin Vinorelbin'in idrar örneklerinden de doğru olarak tayin edilebileceğini göstermiştir.



Şekil 4.15. (A) İdrar örneğinin BR tamponu (pH 10.0) içerisinde kaydedilen SW-AdSV eğrileri (seyrelme oranı 1:200 (h/h): (a) Vinorelbin eklenmemiş (kesikli çizgi), (b) 2×10^{-7} M Vinorelbin eklenmiş, (c–g) 45, 60, 70, 80 ve 90 μ L standart eklemeler sonrası ($C_{\text{Vinorelbin}} = 2 \times 10^{-4}$ M). Elektrot, PG; biriktirme süresi 120 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 11 mV; amplitüd, 40 mV. (B) Standart ekleme yöntemiyle analiz sonucu.

Çizelge 4. 5. Vinorelbin eklenmiş idrar örneğinde voltametrik analiz bulguları

Eklene (µM)	Bulunan^a (µM)	Geri kazanım (%)	BSS (%)	Bias (%)
0.2	0.218	109.0	4.58	-9.0

^aStandart ekleme yöntemiyle hesaplanan değer, aynı örneğin farklı üç bağımsız analizinin ortalamasıdır.

5. SONUÇ

"Genel Bilgiler" bölümünde açıklandığı üzere, *Vinka* alkaloidlerinin voltametik tayinine yönelik kaynakçada kayıtlı çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bilgimize göre Vinorelbin ile ilgili ise kaynakçada yalnızca elektrokimyasal temelli tek bir makale yer almaktadır. İlgili çalışmada bileşiğin miktar tayini yapılmamış, elektrot mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Bu tez kapsamında sunulan araştırmada, sulu ya da sürfaktan (anyonik/katyonik) içeren sulu çözeltilerde karbon-temelli malzemeler (GC ve PG elektrotlar) üzerinde Vinorelbin molekülünün nasıl yükseltgendiği ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Araştırmadan elde edinilen gözlemin iki açıdan önemi vardır. (i) Günümüzde Vinorelbin ve benzeri bileşiklerin redoks mekanizmasının özellikle serbest radikaller ve ara ürünler oluşturması açısından çok karmaşık olduğu ve pek çok anlaşılmamış noktanın bulunduğu göz önüne alınırsa, sürfaktan ortamında sürdürülen bu araştırmanın devamından edinilecek bilginin *Vinka* alkaloidlerinin yükseltgenme çalışmalarına önemli ölçüde ışık tutacağı açıktır. (ii) Öte yandan, Vinorelbin için ilk kez geliştirilen voltametik yöntem, özelde bu bileşik genelde benzer yapıları diğer bileşiklerin biyolojik örneklerden tayininde sıklıkla kullanılan ancak çok zaman alıcı ve özel deneyim isteyen ön-ayırma işlemlerine gerek duyan kromatografik yöntemlere alternatif oluşturacaktır.

Tek-kullanımlık, ekonomik ve çevre-dostu PG elektrotunun kullanılması ile geliştirilen bu yöntemin, yalnızca Vinorelbin değil diğer *Vinka* alkaloidlerinin özellikle hastane çevresindeki atıklarının yerinde ölçümleri için de ilk adımı oluşturabileceği düşünülmektedir. Sürfaktan varlığında ulaşılan LOD değeri (5.8 ng mL^{-1}) gelecekteki araştırmalar için çok umut verici gözükmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdullah, A.A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018. The performance of cathodically pretreated boron-doped diamond electrode in cationic surfactant media for enhancing the adsorptive stripping voltammetric determination of catechol-containing flavonoid quercetin in apple juice. *Talanta*, **187**: 156-164.
- Adak, A., Bandyopadhyay, M., Pal, A., 2005. Adsorbilization of organic compounds in surfactant-modified alumina. *Journal of Surface Science and Technology*, **21**: 97-112.
- Alpar, N., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018. Selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in foods and beverages by adsorptive stripping voltammetry using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **257**: 398-408.
- Asmis, T.R., Ding, K., Seymour, L., Shepherd, F.A., Leighl, N.B., Winton, T.L., Whitehead, M., Spaans, J.N., Graham, B.C., Goss, G.D., 2008. Age and comorbidity as independent prognostic factors in the treatment of non-small-cell lung cancer: a review of national cancer institute of canada clinical trials group trials. *Journal of Clinical Oncology*, **26**(1): 54-59.
- Avada, A., 2002. New cytotoxic agents and molecular-targeted therapies in the treatment of metastatic breast cancer. *FORUM - Trends in Experimental and Clinical Medicine*, **12**(1): 4-15.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2000. *Electrochemical Methods: Principles and Applications*, 2nd ed.; John Wiley and Sons: New York, USA.
- Bard, A.J., Zoski, C.G., 2000. Voltammetry retrospective. *Analytical Chemistry*, 246-352.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A., Quaiserova, V., 2001. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **369**:556-562.
- Barthe, L., Ribet, J.-P., Péliou, M., Degude, M.-J., Fahy, J., Duflos, A., 2002. Optimization of the separation of Vinca alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **968**(1-2): 241-250.
- Beltagi, A.M., 2008. Development and validation of an adsorptive stripping voltammetric method for the quantification of vincamine in its formulations and human serum using a Nujol-based carbon paste electrode. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **56**(12): 1651-1657.
- Bond, A.M., Mahon, P.J., Schiewe, J., Vicente-Beckett, V., 1997. An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, **345**: 67-74.
- Bott, A.W., 1997. Practical problems in voltammetry 4: Preparation of working electrodes. *Current Separation*, **16**: 79.
- Bökesoy, A., Çakıcı, İ., Melli M., 2000. *Farmakoloji Ders Kitabı*, Türk Farmakoloji Derneği, Ankara.
- Brett, A.M.O., Grazina, M.M.M., Macedo, T.R.A., Oliveira, C., Raimundo, D., 1993. A study of the electrochemical oxidation of Navelbine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **11**(3): 203-206.

- Brett, A.M.O., Grazina, M.M.M., Macedo, T.R.A., Raimundo, D., 1994. Anodic behavior of some vinca alkaloids with cytostatic activity: effect of pH. *Electroanalysis*, **6**: 57-61.
- Brett, C.M.A., Brett, A.M.O., 2011. Electrochemical sensing in solution-origins, applications and future perspectives. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **15**: 1487-1494.
- Cavalheiro, É. T. G., Brett, C.M.A., Brett, A.M.O., Filho, O.F., 2012. Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds. *Bioanalytical Reviews*, **4**: 31-53.
- Chen, J., Du, D., Yan, F., Ju, H.X., Lian, H.Z., 2005. Electrochemical antitumor drug sensitivity test for leukemia K562 cells at a carbon-nanotube-modified electrode. *Chemical European Journal*, **11**(5):1467-1472.
- Cherkaoui, I., Monticone, V., Vaution, C., Treiner, C., 1998. Surface modification of silica particles by a cationic surfactant: adsolubilization of steroids from aqueous solutions. *International Journal of Pharmaceutics*, **176**(1): 111-120.
- Corona, G., Gusella, M., Gaspardo, A., Miolo, G., Bertolaso, L., Pezzolo, E., Steffan, A., Caruso, D., 2018. Rapid LC-MS/MS method for quantification of vinorelbine and 4-O-deacetylvinorelbine in human whole blood suitable to monitoring oral metronomic anticancer therapy. *Biomedical Chromatography*, baskida.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**(1-2): 72-79.
- Creasey, W.A., 1975. Vinca alkaloids and colchicines, *In Antineoplastic and Immunosuppressive Agents II*, 38(2): 686-694.
- Damen, C.W.N., Lagas, J.S., Rosing, H., Schellens, J.H.M., Beijnen, J.H., 2009. The bioanalysis of vinorelbine and 4-O-deacetylvinorelbine in human and mouse plasma using high-performance liquid chromatography coupled with heated electrospray ionization tandem mass-spectrometry. *Biomedical Chromatography*, **23**(12): 1316-1325.
- David, I.G., Popa, D.-E., Bulendra, M., 2017. Pencil graphite electrodes: a versatile tool in electroanalysis. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-23.
- De Graeve, J., van Heugen, J.C., Zorza, G., Fahy, J., Puzo, C., 2008. Metabolism pathway of vinorelbine (Navelbine®) in human: Characterisation of the metabolites by HPLC-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **47**(1): 47-58.
- Debal, V., Morjani, H., Millot, J.-M., Angiboust, J.F., Gourdier, B., Manfait, M., 1992. Determination of vinorelbine (Navelbine) in tumour cells by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **581**(1): 93-99.
- Demetriades, D., Economou, A., Voulgaropoulos, A., 2004. A study of pencil-lead bismuth-film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, **519**: 167-172.
- Diaz-Ballote, L., Alpuche-Aviles, M., Wipf, D.O., 2007. Fast-scan cyclic voltammetry-scanning electrochemical microscopy. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **604**:17-25.
- Dönmez, F., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018. Electroanalytical determination of enrofloxacin based on the enhancement effect of the anionic surfactant at anodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials*, **84**: 95-102.

- Farghaly, O.A., Abdel Hameed, R.S., Abu-Nawwas, A.-A.H., 2014. Electrochemical analysis techniques: A review on recent pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **25**(2): 37-45.
- Fogg, A.G., Wang, J., 1999. Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure and Applied Chemistry*, **71**: 891-897.
- Friedrich, J.M., Ponce de Leon, C., Reade, G.W., Walsh, F.C., 2004. Reticulated vitreous carbon as an electrode material. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **561**: 203-217.
- Gao, S., Zhou, J., Zhang, F., Miao, H., Yun, Y., Feng, J., Tao, X., Chen, W., 2014. Rapid and sensitive liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the analysis of paclitaxel, docetaxel, vinblastine, and vinorelbine in human plasma. *Therapeutic Drug Monitoring*, **36**(3): 394-400.
- Gong, X., Yang, L., Zhang, F., Liang, Y., Gao, S., Liu, K., Chen, W., 2017. Validated UHPLC-MS/MS assay for quantitative determination of etoposide, gemcitabine, vinorelbine and their metabolites in patients with lung cancer. *Biomedical Chromatography*, **31**(11): e3989.
- Gregory, R.K., Smith, I.E., 2000. Vinorelbine - a clinical review. *British Journal of Cancer*, **82**(12): 1907-1913.
- Haghshenas, E., Madrakian, T., Afkhami, Abbas., Nabiabad, H.S., 2017. A label-free electrochemical biosensor based on tubulin immobilized on gold nanoparticle/glassy carbon electrode for the determination of vinblastine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **409**: 5269-5278.
- Haque, I-U., Saba, H., 2009. Voltammetry of an anti-cancer drug. *Electrochemical Society Transactions*, **16**(18): 3-23.
- Heyrovsky, M., 2011. Polarography-past, present, and future. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **15**: 1799-1803.
- Jehl, F., Quoix, E., Leveque, D., Pauli, G., Breillout, F., Krikorian, A., Monteil, H., 1991. Pharmacokinetic and preliminary metabolic fate of navelbine in humans as determined by high performance liquid chromatography. *Cancer Research*, **51**: 2073-2076.
- Jin, W., Jiang, L., 2002. Study of uptake kinetics of vincristine for human erythrocytes by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, **461**(1): 117-121.
- Johnson, S.A., Harper, P., Hortobagyi, G.N., Pouillart, P., 1996. Vinorelbine: an overview. *Cancer Treatment Review*, **22**(2):127-42.
- Jordan, M.A., 2002. Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, **2**: 1-17.
- Kalcher, K., Svancara, I., Buzuk, M., Vytras, K., Walcarius, W., 2009. Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, **140**: 861-889.
- Kamau, G.N., Willis, W.S., Rusling, J.F., 1985. Electrochemical and electron spectroscopic studies of highly polished glassy carbon electrodes. *Analytical Chemistry*, **57**: 545-551.
- Kariuki, J.K., 2012. An electrochemical and spectroscopic characterization of pencil graphite electrodes. *Journal of Electrochemical Society*, **159**(9): H747-H751.

- Kayaalp, O., 2012. **Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik ilaçlar**. 36. Konu. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 1.Cilt, 13. baskı. Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Ankara ss 332-354.
- Keskin, E., 2009. Polisiklik aromatik hidrokarbonlardan benzo[a]piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen'in kalem grafit elektrot kullanarak adsorptif sıyırma voltmetrisi yöntemiyle redoks özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini (Doktora Tezi) YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Keskin, E., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2010. Voltammetry of benzo[a]pyrene in aqueous and non-aqueous media: Adsorptive stripping voltammetric determination at pencil graphite electrode. **Electroanalysis**, **22**(11): 1191-1199.
- Kosjek, T., Heat, E., 2011. Occurrence, fate and determination of cytostatic pharmaceuticals in the Environment. **Trends in Analytical Chemistry**, **30**(7): 1065-1087.
- Kovacic, P., 2007. Unifying mechanism for anticancer agents involving electron transfer and oxidative stress: Clinical implications. **Medical Hypotheses**, **69**: 510-516.
- Krikorian A, Breillout F., 1991. Vinorelbine (Navelbine® 1). A new semisynthetic Vinca alkaloid. **Onkologie**, **4**: 7-12.
- Kruczynski, A., Hill, B.T., 2001. Vinflunine, the latest Vinca alkaloid in clinical development: A review of its preclinical anticancer properties. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, **40**(2): 159-173.
- Lam, N.K., Kalvoda, R., Kopanica, M., 1983. Determination of uranium by adsorptive stripping voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, **154**: 79-86.
- Laviron, E., 1979. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **101**: 19-28.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **112**: 11-23.
- Levent, A., Yardım, Şentürk, Z., 2009. Voltammetric behavior of nicotine at pencil graphite electrode and its enhancement determination in the presence of anionic surfactant. **Electrochimica Acta**, **55**: 190-195.
- Levent, A., Keskin, E., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2011. Electrooxidation of thiourea and its square-wave voltammetric determination using pencil graphite electrode. **Reviews in Analytical Chemistry**, **30**(1): 45-51.
- Levent A., Altun A., Yardım Y., Şentürk Z., 2014a. Sensitive voltammetric determination of testosterone in pharmaceuticals and human urine using a glassy carbon electrode in the presence of cationic surfactant. **Electrochimica Acta**, **128**: 54-60.
- Levent, A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2014b. Electrochemical performance of boron-doped diamond electrode in surfactant-containing media for ambroxol determination. **Sensors and Actuators B: Chemical**, **203**: 517-526.
- Levent A., Altun A., Taş S., Yardım Y., Şentürk Z., 2015. Voltammetric behavior of testosterone on bismuth film electrode: Highly sensitive determination in pharmaceuticals and human urine by square-wave adsorptive stripping voltammetry. **Electroanalysis**, **27**(5): 1219-1228.
- Levent, A., 2017. Voltammetric behavior of acebutolol on pencil graphite electrode: highly sensitive determination in real samples by square-wave anodic stripping voltammetry. **Journal of the Iranian Chemical Society**, **14**: 2495-2502.

- Levent, A., Önal, G., 2018. Application of a pencil graphite electrode for voltammetric simultaneous determination of ascorbic acid, norepinephrine, and uric acid in real samples. *Turkish Journal of Chemistry*, **42**: 460-471.
- Levêque, D, Jehl, F., 2007. Molecular pharmacokinetics of catharanthus (vinca) alkaloids. *Journal of Clinical Pharmacology*, **47**: 579-588.
- Lima, H.R.S., da Silva, J.S., de Oliveira Farias, E.A., Teixeira, P.R.S., Eiras, C., Nunes, L.C.C., 2018. Electrochemical sensors and biosensors for the analysis of antineoplastic drugs. *Biosensors and Bioelectronics*, **108**: 27-37.
- Lopez, C., Nehme, R., Claude, B., Morin, Ph., Max, J.P., Pena, R., Pelissou, M., Ribet, J.P., 2012. A convenient approach to simultaneous analysis of a pharmaceutical drug and its counter-ion by CE using dual-opposite end injection and contactless conductivity detection. *Chromatographia*, **75**(1-2): 25-32.
- Lubert, K.-H., Kalcher, K., 2010. History of electroanalytical methods. *Electroanalysis*, **22**(17-18): 1937-1946.
- Moosa, A., Dobish, R., Watts, C., 2003. Interacting with drugs used in oncology: An Alberta Cancer Board initiative. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, **9**: 87-107.
- Mouchard-Delmas, C., Gourdier, B., Vistelle, R., 1995. Determination of vinorelbine in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography with coulometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **663**(2): 390-394.
- Moudi, M., Go, R., Yien, C.Y.S., Nazre, M., 2013. Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine*, **4**(11): 1131-1135.
- Naaranlahti, T., Ranta, V.-P., Jarho, P., Nordström, M., Lapinjoki, S.P., 1989. Electrochemical detection of indole alkaloids of catharanthus roseus in high-performance liquid chromatography. *The Analyst*, **114**: 1229-1231.
- Nakamura, H. Sano, A., Matsuura, K. 1998. Determination of critical micelle concentration of anionic surfactants by capillary electrophoresis using 2-naphthalenmethanol as a marker for micelle formation, *Analytical Science*, **14**: 379-382.
- Negreira, N., Mastroianni, N., Alda, M.L. Barcelo, D., 2013. Multianalyte determination of 24 cytostatics and metabolites by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry and study of their stability and optimum storage conditions in aqueous solution. *Talanta*, **116**: 290-299.
- Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.-L., Fleury-Souverain, S., 2011. Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, **85**: 2265-2289.
- Özcan, A., Şahin, Y., 2010. Preparation of selective and sensitive electrochemically treated pencil graphite electrodes for the determination of uric acid in urine and blood serum. *Biosensors and Bioelectronics*, **25**: 2497-2502.
- Özkan, S.A., Özkan, Y., Şentürk, Z., 1998. Electrochemical reduction of metronidazole at activated glassy carbon electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **17**: 299-305
- Özkan, S.A., Özkan, Y., Şentürk, Z., 2002. Electrooxidation of pimozide and its differential pulse voltammetric and HPLC-EC determination. *Analytica Chimica Acta*, **453**: 221-229.
- Özkan, S.A., Uslu, B., Aboul-Enein, H.Y., 2003. Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **33**: 155-181.

- Özkan, S.A., 2009. Principles and techniques of electroanalytical stripping methods for pharmaceutically active compounds in dosage forms and biological samples. *Current Pharmaceutical Analysis*, **5**(2): 127-143
- Özkan, S.A., Uslu, B., Şentürk, Z., 2004. Electroanalytical characteristics of amisulpride and voltammetric determination of the drug in pharmaceuticals and biological media. *Electroanalytical*, **16**(3): 231-237.
- Özkan, S.A., Kauffmann, J.M., Zuman, P., 2015. *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Puozzo, C., Ung, H.L., Zorza, G., 2007. A high performance liquid chromatography method for vinorelbine and 4-O-deacetyl vinorelbine: a decade of routine analysis in human blood. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **44**: 144-149.
- Qian, J., Wang, Y., Chang, J., Zhang, J., Wang, J., Xichun, H., 2011. Rapid and sensitive determination of vinorelbine in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic application. *Journal of Chromatography B*, **879**: 662-668.
- Ragot, S., Sauvage, F.L., Rousseau, A., Genet, D., Dupuy, J.L., Tubiana-Mathieu, N., Marquet, P., 2001. Sensitive determination of vinorelbine and its metabolites in human serum using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **753**(2): 167-178.
- Rauf, S., Gooding, J.J., Akhtar, K., Ghauri, M.A., Rahman, M., Anwar, M.A., Khalid, A.M., 2005. Electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **37**: 205-217
- Rusling, J.F., Scheer, B.J., Haque, I-U., 1984. Voltammetric oxidation of vinblastine and related compounds. *Analytica Chimica Acta*, **158**: 23-32.
- Sabot, C., Marquet, P., Debord, J., Carpentier, N., Merle, L., Lachâtre, G., 1998. Bayesian pharmacokinetic estimation of vinorelbine in non-small-cell lung cancer patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **54**(2): 171-175.
- Saxena P., Singh, Y., Jain, P., 2018. Thermodynamic Parameters of Quaternary Ammonium Salts TMAC, TEAB, TBAB and TBAI in Aqueous and Methanolic Solutions at 298.16K,303.16K,308.16K and 313.16K by Conductivity Measurements. *International Journal of Engineering Science and Computing* **8**(6): 18213-18217.
- Semple, S.C., Leone, R., Wang, J., Leng, E.C., Klimuk, S.K., Eisenhardt M.L, Yuan, Z.N., Edwards, K., Maurer, N., Hope, M.J., Cullis, P.R., Ahkong, Q.-F., 2005. Optimization and characterization of a sphingomyelin/ cholesterol liposome formulation of vinorelbine with promising antitumor activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **94**(5): 1024-38.
- Shewach, D.S., Kuchta, R.D., 2009. Introduction to cancer chemotherapeutics. *Chemical Reviews*, **109**(7): 2859-2861.
- Svancara, I., Walcarius, A., Kalcher, K., Vytras, K., 2009. Carbon paste electrodes in the new millennium. *Cent. Eur. Journal of Chemistry*, **7**(4): 598-656.
- Şentürk, Z., Özkan, S.A., Özkan, Y., 1998. Electroanalytical study of nifedipine using activated glassy carbon electrode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **16**: 801-807.

- Şentürk, Z., Özkan, S.A., Özkan, Y., Aboul-Enein, H.Y., 2000. Voltammetric investigation of oxidation of Zuclopenthixol and application to its determination in dosage forms and in drug dissolution studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **22**(2): 315-323.
- Tabakovic, I, Gunic, E., 1997. Anodic fragmentation of catharanthine and coupling with vindoline formation of anhydrovinblastine. *Journal of Organic Chemistry*, **62**: 947-953.
- Talay Pınar, P., Şentürk Z., 2017. Voltammetric investigation of antiviral drug valacyclovir at a boron-doped diamond electrode in different electrolyte media: Its determination enhanced by anionic surfactant in pharmaceuticals and biological fluids. *Current Pharmaceutical Analysis*, **13**(2): 175-187.
- Talay Pınar, P., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018a. Electrochemical oxidation of ranitidine at poly(dopamine) modified carbon paste electrode: Its voltammetric determination in pharmaceutical and biological samples based on the enhancement effect of anionic surfactant. *Sensors & Actuators B-Chemical*, **273**: 1463-1473.
- Talay Pınar, P., Ali, H.S., Abdullah, A.A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018b. Electroanalytical determination of salbutamol in pharmaceutical formulations using cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **22**(3): 460-468.
- Tavares, P.H.C.P., Barbeira, P.J.S., 2008. Influence of pencil lead hardness on voltammetric response of graphite reinforcement carbon electrodes. *Journal of Applied Electrochemistry*, **38**: 827-832.
- Temel, M.K., 2015. Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi. *Türk Onkoloji Dergisi*, **30**(2): 96-108.
- Temizer, A. 1986. Electroanalytical determination of vinca alkaloids used in cancer chemotherapy. *Talanta*, **33**: 791-794.
- Thurston, D.E. 2006. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Toso, C., Lindley, C., 1995. Vinorelbine: a novel vinca alkaloid. *American Journal of Health System Pharmacy*, **52**(12): 1287-304.
- Uslu, B., Özkan, S.A., Şentürk, Z., 2006. Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square-wave and differential voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. *Analytica Chimica Acta*, **555**: 341-347.
- Uslu, B., Ozkan, S.A., 2007a. Solid electrodes in electroanalytical chemistry: present applications and prospects for high throughput screening of drug compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **10**(7): 495-513.
- Uslu, B., Ozkan, S. A., 2007b. Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. *Analytical Letters*, **40**(5): 817-853.
- Uslu, B., Özkan, S.A., 2011. Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and developments. *Analytical Letters*, **44**: 2644-2702.
- Van der Linden, W.E., Dieker, J.W., 1986. Glassy carbon as electrode material in electroanalytical chemistry. *Analytical Chemical Acta*, **199**: 1-24.
- Van Heugen, J.C., De Graeve, J., Zorza, G., Puozzo, C., 2001. New sensitive liquid chromatography method coupled with tandem mass spectrometric detection for the clinical analysis of vinorelbine and its metabolites in blood, plasma, urine and faeces. *Journal of Chromatography A*, **926**(1): 11-20.

- Van Tellingen, O., Kuijpers, A., Beijnen, J.H., Baselier, M.R.P., Burghouts, J.T.M., Nooyen, W.J., 1992. Bio-analysis of vinorelbine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **573**(2): 328-332.
- Vittal, R., Gomathi, H., Kim, K.-J., 2006. Beneficial role of surfactants in electrochemistry and in the modification of electrodes. *Advances in Colloid and Interface Science*, **119**(1): 55-68.
- Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E., 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, **125**: 5-7.
- Wang, J., Kawde, A.N., 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Analytica Chimica Acta*, **431**: 219-224.
- Wang, J. 2006. Analytical Electrochemistry: *Methodology and Applications of Dynamic Techniques*. 3th ed., John Wiley & Sons., Inc., New Jersey, USA.
- Weinberg, R.A., 1996. How cancer arises. *Scientific American*, **275**(3): 62-70.
- Wooley, D.E., Tetlow, L.C., Adlam, D.J., Gearey, D., Eden, R.D., Wardi T.H., Allen, T.D., 2002. Electrochemical monitoring of anticancer compounds on the human ovarian carcinoma cell line a2780 and its adriamycin and cisplatin-resistant variants. *Experimental Cell Research* **273**: 65-72.
- Xu, Y.C., Wang, H.X., Tang, L., Ma, Y., Zhang, F.C., 2013. A systematic review of vinorelbine for the treatment of breast cancer. *The Breast Journal*, **19**(2): 180-188.
- Yardımcı, Y., Keskin, E., Levent, A., Özsöz, M., Şentürk, Z., 2010. Voltammetric studies on the potent carcinogen, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene: Adsorptive stripping voltammetric determination in bulk aqueous forms and human urine samples and detection of DNA interaction on pencil graphite electrode. *Talanta*, **80**: 1347-1355.
- Yardımcı, Y., 2011. Sensitive detection of capsaicin by adsorptive stripping voltammetry at a boron-doped diamond electrode in the presence of sodium dodecylsulfate. *Electroanalysis*, **23**: 2491-2497.
- Yardımcı Y., Şentürk, Z., 2011. Voltammetric behavior of indole-3-acetic acid and kinetin at pencil-lead graphite electrode and their simultaneous determination in the presence of anionic surfactant. *Turkish Journal of Chemistry*, **35**: 413-426.
- Yardımcı, Y., Levent, A., Keskin, E., Şentürk, Z., 2011. Voltammetric behavior of benzo[a]pyrene at boron-doped diamond electrode: A study of its determination by adsorptive transfer stripping voltammetry based on the enhancement effect of anionic surfactant, sodium dodecylsulfate. *Talanta*, **85**: 441-448.
- Yardımcı, Y., Levent, A., Ekin, S., Keskin, E., Oto, G., Şentürk, Z., 2012. Determination of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in orally treated rats by high-performance liquid chromatography and transfer stripping voltammetry. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **15**(5): 418-426.
- Yardımcı Y., Şentürk Z., 2013. Electrochemical evaluation and adsorptive stripping voltammetric determination of capsaicin or dihydrocapsaicin on a disposable pencil graphite electrode. *Talanta*, **112**: 11-19.
- Yardımcı Y., Keskin E., Şentürk Z., 2013a. Voltammetric determination of mixtures of caffeine and chlorogenic acid in beverage samples using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, **116**: 1010-1017.
- Yardımcı Y., Gülcan M., Şentürk Z., 2013b. Determination of vanillin in commercial food product by adsorptive stripping voltammetry using a boron-doped diamond electrode. *Food Chemistry*, **141**(3): 1821-1827.

- Yardıml Y., Şentürk Z., 2014. Electrochemical behavior of folic acid at a boron-doped diamond electrode: its adsorptive stripping voltammetric determination in tablets. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **11**(1): 87-100.
- Yiğit A., Yardıml Y., Çelebi M., Levent A., Şentürk Z., 2016a. Graphene/Nafion composite film modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of paracetamol, aspirin and caffeine in pharmaceutical formulations. *Talanta*, **231**: 688-695.
- Yiğit, A., Yardıml, Y., Selçuk Zorer, Ö., Şentürk Z., 2016b. Electrochemical determination of pterostilbene at a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode using square-wave adsorptive anodic stripping voltammetry in cationic surfactant media. *Sensors and Actuators B- Chemical*, **231**: 688-695.
- Yiğit, A., Alpar, N., Yardıml, Y., Çelebi, M., Şentürk Z., 2018. A graphene-based electrochemical sensor for the individual, selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in food and beverage samples. *Electroanalysis*, **30**(9): 2011-2020.
- Yong, Y., Qi-Long, L., 2001. Electrochemical study on interaction of vincristine with tubulin. *Chinese Journal of Chemistry*, **29**: 1084-1088.
- Zhang, Y., Zheng, J., Guo, M., 2016. Preparation of molecularly imprinted electrochemical sensor for detection of vincristine based on reduced graphene oxide/gold nanoparticle composite film. Chinese. *Journal of Chemistry*, **34**(12): 1268-1276.
- Zhou, X.-J., Rahmani, R., 1992. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. *Drugs*, **44** (Suppl, 4): 1-16.
- Zhou, Q.-W., Wu, D., Meng, Q., Tang, H.-B., Wei, Z.-R., Kuang, Y., Yin, J.-Y., Chen, J.-J., 2013. Rapid and sensitive detection of vinorelbine in the urine of tumor patients by capillary electrophoresis with tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-based electrochemiluminescence assay. *Analytical Sciences*, **29**(7): 757-760.
- Zuman, P., 2011. Past, present, and future of applications of electroanalytical techniques in analytical and physical organic chemistry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **15**: 1753-1759.



ÖZ GEÇMİŞ

Çermik'te 1966 yılında doğdu. İlk ve orta öğretimini Çermik'te lise öğrenimini Diyarbakır'da tamamladı. Yükseköğrenimine 1985 yılında Diyarbakır Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü'nü kazanarak başladı. 1989 yılında aynı bölümden mezun oldu. 1989-1991 yılları arasında M.E.B.'de vekil öğretmen olarak çalıştı. 1991 yılında M.E.B'e kadrolu Kimya Öğretmeni olarak ataması yapıldı. Öğretmenlik yaptığı süreçte 1996 yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda başladığı Yüksek Lisans Programını 1998 yılında aynı Üniversitede tamamladı. 2005 yılında M.E.B.'den kurumlar arası geçişle Dicle Üniversitesi'ne bağlı Batman'da bulunan S.H.M.Y.O.'na okutman olarak atandı. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Programında öğrenim görmeye başladı. 2014 yılında yatay geçişle Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora Programında öğrenim görmeye başladı. Halen Batman Üniversitesi S.H.M.Y.O.'da Öğr.Gör. olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir kız çocuğu annesidir.

T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 27/11/2018

Tez Başlığı / Konusu:

**Kanser Kemoterapisinde Kullanılan Bazı İlaçların Voltametrik Yöntemle
Elektroanalitik İncelenmesi**

Yukarıda başlığı/konusu belirtilen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 27 sayfalık kısmına ilişkin, 27/11/2018 tarihinde şansım/tez danışmanım tarafından Tumütin intihal (espil programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezinin benzerlik oranı % 5(Beş) dir.

Uygulanan filtrlere aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

G.İnal

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Gunay ÖNAL

Öğrenci No:139102114

Anabilim Dalı: Kimya Anabilim Dalı

Programı: Doktora

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

(Prof.Dr.Zahire ŞENTÜRK)

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

(Prof.Dr.Zahire ŞENTÜRK)