

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

**OPIYAT GRUBU BAZI BİLEŞİKLERİN MODİFİYE KARBON-TEMELLİ
ELEKTROTLAR ÜZERİNDE VOLTAMETRİK TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN:Serkan KORKMAZ
DANIŞMAN:Prof. Dr. ZühreŞENTÜRK

VAN-2018

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

**OPIYAT GRUBU BAZI BİLEŞİKLERİN MODİFİYE KARBON-TEMELLİ
ELEKTROTLAR ÜZERİNDE VOLTAMETRİK TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Serkan KORKMAZ

VAN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK danışmanlığında, Serkan KORKMAZ tarafından sunulan OPIYAT GRUBU BAZI BİLEŞİKLERİN MODİFİYE KARBON-TEMELLİ ELEKTROTTLAR ÜZERİNDE VOLTAMETRİK TAYİNİ isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Zühre Şentürk

İmza:

Üye: Prof. Dr. Abdulkadir
LEVENT

İmza:

Üye: Prof. Dr. Necla
Çalışkan Kılıç

İmza:

Üye:.....

İmza:

Üye:.....

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30.10.2018 tarih ve 2018/54-2 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Süleyman Söğüt
Enstitü Müdürü

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 atf yapıldığını bildiririm.

(İmza)

Serkan KORKMAZ

ÖZET

OPIYAT GRUBU BAZI BİLEŞİKLERİN MODİFİYE KARBON-TEMELLİ ELEKTROTLAR ÜZERİNDE VOLTAMETRİK TAYİNİ

KORKMAZ, Serkan
Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
Ekim 2018, 75sayfa

Kodein (3-metilmorfin), haşhaş bitkisinde doğal olarak bulunan opiyat grubundan analjezik ve antitussif etkili bir bileşiktir. Bu çalışmada, poli(guanin) ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrotun hazırlanması ve kodein bileşiğinin elektrokimyasal yükseltgenmesi ve voltametrik tayini için yeni bir uygulaması tanımlanmıştır. Voltametrik ölçümlerin duyarlılığı, işlem görmemiş elektrota kıyasla modifiye elektrot kullanıldığında önemli ölçüde artmıştır. Bunun yanısıra, anyonik sürfaktan (sodyum dodesilsülfat, SDS) varlığında kodein saptama duyarlılığında da ek bir artış olmuştur. Kare-dalga voltametri tekniği kullanılarak 5×10^{-4} M sodyum SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde +1.13 V (vs. Ag/AgCl) gerilim değerinde 2×10^{-7} - 3×10^{-6} M derişim aralığında 1.3×10^{-8} M (0.4 ng mL^{-1}) saptama sınırına sahip hayli doğrusal bir analitik eğri elde edilmiştir. Önerilen yöntem, ticari ilaç şekline uygulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Elektrokimyasal yükseltgenme, İlaç, Kare-dalga voltametri, Kodein, Poli(guanin) modifiye karbon pasta elektrot.



ABSTRACT

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF SOME OPIATES AT MODIFIED CARBON-BASED ELECTRODES

KORKMAZ, Serkan
M.Sc.Thesis, Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
October 2018, 75 pages

Codeine (3-methylmorphine) is an analgesic and antitussive agent which belongs to the family of opiates naturally found in the poppy plant. In this study, the preparation of a carbon paste electrode modified with poly(guanine) as well as its novel application for the electrochemical oxidation and voltammetric determination of codeine are described. The sensitivity of the voltammetric measurements was significantly increased at modified electrode in comparison to the bare one. Besides, a further increase in the detecting sensitivity of codeine could be obtained in the presence of anionic surfactant (sodium dodecylsulfate, SDS). Using square-wave voltammetry, the compound yielded a well-defined voltammetric response in phosphate buffer (pH 4.0) containing 5×10^{-4} M SDS at +1.13 V (vs. Ag/AgCl). The process could be used to determine codeine in the concentration range from 2×10^{-7} to 3×10^{-6} M, with a detection limit of 1.3×10^{-8} M (0.4 ng mL^{-1}). The suggested method was applied to pharmaceuticals.

Keywords: Codein, Electrooxidation, Pharmaceuticals, Poly(guanine) modified carbon paste electrode, Square-wave voltammetry.



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, bana destek olan, bilgisini ve deneyimini esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında göstermiş olduğu ilgi ve destekle birikimlerinden faydalandığım değerli danışman hocam Prof.Dr. Zühre ŞENTÜRK'e, ayrıca bu tez çalışması boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Yavuz YARDIM, Fen Fakültesi Fizikokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Özlem SELÇUK ZORER ile çalışmalarımın önemli kısmını yanına giderek gerçekleştirdiğim bana laboratuvar olanaklarını sunan Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğ. Pınar TALAY PINAR'a ve her zaman yanımda olup sabır gösteren sevgili eşim Özgül KORKMAZ ile çocuklarım Mert ve Ela KORKMAZ'ateşekkürlerimi sunarım.

2018

Serkan KORKMAZ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLER.....	3
2.1. Opioid Analjezikler ile İlgili Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Kodein.....	7
2.1.1.1. Kodein için uygulanan analiz yöntemleri.....	8
2.1.1.1.1. Kodein için uygulanan elektroanalitik yöntemler..	13
2.2. Katı Elektrot Voltametrisi ile İlgili Genel Bilgi.....	20
2.2.1. Karbon pasta elektrot.....	25
2.2.1.1. Kimyasal modifiye karbon pasta elektrot	26
2.2.2. Voltametrik teknikler.....	30
2.2.2.1. Dönüşümlü voltametri.....	30
2.2.2.2. Kare-dalga voltametrisi.....	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	33
3.1.1. Kimyasallar.....	33
3.1.2. Çözeltilerin hazırlanması.....	34
3.1.2.1. Kodein çözeltisinin hazırlanması.....	34
3.1.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması.....	34
3.1.2.3. Elektrot modifikasyon için kullanılan çözeltilerin Hazırlanması.....	34
3.1.2.4. Yüzey aktif madde çözeltilerinin hazırlanışı.....	34
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	35

	Sayfa
3.3. Modifiye elektrotun hazırlanması.....	35
3.4. Voltametik Yöntem.....	36
3.5. Voltametik Yöntemin Tabletler Uygulanması.....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Kodein'in Karbon Pasta Elektrot Üzerinde Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	37
4.1.1. Kodein'in sulu ortamda elektrokimyasal davranışı.....	37
4.1.2. Kodein'in yüzey aktif madde varlığında elektrokimyasal Davranışı.....	42
4.2. Kodein'in Modifiye Karbon Pasta Elektrot Üzerinde Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	44
4.2.1. Polimer modifiye karbon pasta elektrotlarının hazırlanması.....	44
4.2.2. Kodein'in elektrokatalitik yükseltgenmesi.....	47
4.2.3. PGA/CPE üzerinde deneysel değişkenlerin incelenmesi.....	49
4.2.3.1. Gerilim tarama hızının etkisi.....	49
4.2.3.2. pH etkisi.....	52
4.2.3.3. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi.....	57
4.2.4. Analitik uygulama.....	58
4.2.4.1. Çalışma elektrotunun analitik performans özellikleri.....	58
4.2.5. Yöntemin farmasötik preparata uygulanması.....	61
5. SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR	65
ÖZ GEÇMİŞ.....	75

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Afyon alkoloitlerinin kimyasal yapıları	4
Çizelge 2.2. Kodein bileşiğinin moleküler yapısı, kimyasal isimleri ve genel özellikleri	7
Çizelge 2.3. Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların kromatografik yöntemlerle Analizi.....	10
Çizelge 2.4. Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların kapiler elektroforez yöntemiyle analizi.....	12
Çizelge 2.5.Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların katı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi	14
Çizelge 2.6.Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların tayininde kullanılan elektrokimyasal dedektörlü analiz sistemleri.....	18
Çizelge 2.7.Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların tayininde kullanılan elektrokimyasal biyosensör sistemleri	19
Çizelge 4.1. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat ve BR tamponları içerisinde elde edilen SW voltamogramlarına ilişkin pik gerilimi ve pik akımı üzerine pH etkisi.....	40
Çizelge 4.2. Optimum modifikasyon değişkenleri	45
Çizelge 4.3. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin SDS içermeyen ve 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4) içerisinde CPE ve mCPE ile elde edilen pik akımı ve pik gerilim değerleri	49
Çizelge 4.4. Kodein bileşiğinin pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Yöntem, CV; kodein derişimi, 1×10^{-4} M; destek elektroliti, 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4); elektrot, PGA/CPE.....	50
Çizelge 4.5. Kodein tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel değişkenler.....	58
Çizelge 4.6. Kodein bileşiğinin PGA/CPE üzerinde SWV tekniği ile elde edilen kalibrasyon grafiklerinin analitik performans verileri	59
Çizelge 4.7. Geliştirilen voltametrik yöntemle kodein içeren tabletlerin analiz sonuçları.....	61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Haşhaş bitkisi, çizilmiş haşhaş kapsülü ve afyon parçaları.....	3
Şekil 2.2. Haşhaş bitkisinin M.Ö. 2000 yıllarında mağara duvarlarında ve basılan paralar üzerindeki görüntüleri.....	5
Şekil 2.3. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	21
Şekil 2.4. Voltametrizde üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı	22
Şekil 2.5. Voltametrik hücre ve bileşenleri	22
Şekil 2.6. Voltametrizde kullanılan çalışma elektrotları	23
Şekil 2.7. Karbon pasta elektrotun şematik olarak gösterimi	26
Şekil. 2.8. Kimyasal modifiye elektrotların farklı hazırlama yollarının şematik gösterimi	27
Şekil 2.9. Guanin, Dopamin ve Epinefrin'in kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.10. Yüzey aktif madde (sürfaktan) genel yapısı ve bazı örnekler.....	29
Şekil 2.11. Dönüşümlü voltametri tekniğinde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri	31
Şekil 2.12. Dönüşümlü voltametri tekniğinde tersinir ve tersinmez voltamogramlar.....	31
Şekil 2.13. Kare-dalga voltametrisinde A) kullanılan uyarma sinyali ve B) tipik bir voltamogram	32
Şekil 4.1. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin farklı pH değerlerindeki (A, 2.0; B, 3.0; C, 4.0; D, 5.0; E, 6.0; F, 7.0) fosfat tamponu içerisinde dönüşümlü voltamogramları. Elektrot, CPE; gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1}	38
Şekil 4.2. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu içerisinde farklı pH değerlerinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 30 \text{ mV}$	39
Şekil 4.3. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin BR tamponu içerisinde farklı pH değerlerinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 30 \text{ mV}$	39

- Şekil 4.4. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin (A) fosfat tamponu (pH 2.0-9.0) ve (B) BR tamponu (pH 2.0-9.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Yöntem, SWV. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV41
- Şekil 4.5. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin değişik derişimlerde SDS içeren fosfattamponu (pH 4.0) içerisinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SWdeğişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV42
- Şekil 4.6. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-9.0) içerisinde SW voltamogramları. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV43
- Şekil 4.7. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren BR tamponu (pH 2.0-7.0) içerisinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV43
- Şekil 4.8. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlemgörmemiş CPE ve üç farklı mCPE üzerinde elde edilen SW voltamogramları. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV45
- Şekil 4.9. CPE yüzeyinde PGA elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramları. Guanin derişimi, 5×10^{-4} M; destek elektroliti, fosfattamponu (pH 10.0); gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} ; döngü sayısı, 10; gerilim tarama aralığı, (-0.2 V) – (+1.4V)46
- Şekil 4.10. CPE (A) ve PGA/CPE (B) yüzeylerinin SEM görüntüleri47
- Şekil 4.11. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlemgörmemiş CPE (siyah) ve PGA/CPE (kırmızı) üzerinde elde edilen CV eğrileri. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} 47
- Şekil 4.12. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlemgörmemiş CPE (kırmızı) ve PGA/CPE (siyah) üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV48
- Şekil 4.13. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin SDS içermeyen ve 5×10^{-4} M SDS içeren fosfattamponu (pH 4) içerisinde işlem görmemiş CPE ve PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV48
- Şekil 4.14. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tampon (pH 4) içerisinde PGA/CPE üzerinde $30-1000 \text{ mVs}^{-1}$ aralığında gerilim tarama hızıyla elde edilen CV eğrileri50

Şekil	Sayfa
Şekil 4.15.Kodein'e ait gerilim tarama hızı – pik akımı ilişkisi. Yöntem, CV; kodein derişimi, 1×10^{-4} M; destek elektroliti, 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4); elektrot, PGA/CPE.....	51
Şekil 4.16.Kodein molekülünün ilk yükseltgenme basamağı için önerilen redoks mekanizması	52
Şekil 4.17. 1×10^{-4} M kodein bileşğinin fosfat tamponu (pH 2.0-10.0) çözeltilerinde PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değışkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV	53
Şekil 4.18. 1×10^{-4} M kodein bileşğinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) çözeltilerinde PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değışkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV	54
Şekil 4.19. 1×10^{-4} M kodein çözeltilerinin fosfat tamponu (pH 2.0-10.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Elektrot, PGA/CPE; yöntem, SWV. SW değışkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV	54
Şekil 4.20. 1×10^{-4} M kodein çözeltilerinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Elektrot, PGA/CPE; yöntem, SWV. SW değışkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV	55
Şekil 4.21. Kodein molekülünün PGA/CPE yüzeyinde SDS ile etkileşim mekanizması.....	56
Şekil 4.22. 1×10^{-4} M kodein çözeltilerinin fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde (A) kare-dalga frekansı, (B) adım gerilimi, (C) kare-dalga amplitüdü değışiminin incelendiğı SW voltamogramları	57
Şekil 4.23. 1×10^{-4} M kodein çözeltilerinin fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde (A) kare-dalga frekansı, (B) adım gerilimi, (C) kare-dalga amplitüdü grafikleri.....	57
Şekil.4.24. 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde farklı derişimlerdeki kodein bileşğinin PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değışkenleri: $f=100$ Hz, $\Delta E_s = 16$ mV, $\Delta E_{sw} = 50$ mV	59
Şekil.4.24. 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde 1×10^{-6} M kodein, 1×10^{-4} M parasetamol ve 1×10^{-5} M kafein çözeltilerinin PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değışkenleri: $f=100$ Hz, $\Delta E_s = 16$ mV, $\Delta E_{sw} = 50$ mV	60



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
A	Amper
cm	Santimetre
dak	Dakika
M	Molarite
gL ⁻¹	Gram/litre
mV	Milivolt
mVs ⁻¹	Milivolt/saniye
ms	Milisaniye
mL	Mililitre
M	Molar
ppm	Milyonda bir (derişim birimi)
ppb	Milyarda bir (derişim birimi)
mg	Miligram
µg	Mikrogram
nm	Nanometre
µgmL ⁻¹	Mikrogram/mililitre
s	Saniye
rpm	Dakikadaki döngü sayısı

Kısaltmalar	Açıklama
BR	Britton-Robinson
DPV	Diferansiyel pulsvoltametrisi
CV	Dönüşümlüvoltametri
SWV	Kare-dalgavoltametrisi
E_p	Pikgerilimi
i_p	Pikakımı
r	Korelasyonkatsayısı
s	Standartsapma
BSS	Bağıl standart sapma
GCE	Camımsı karbonelektrot
CPE	Karbon pastaelektrot
PGA/CPE	Poliguanin ile modifiye edilmiş karbonpastaelektrot
PDA/CPE	Polidopamin ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot
PEP/CPE	Poliepinefrin ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot
CME	Kimyasal Modifiye Elektrot
SDS	Sodyum dodesilsülfat
CTAB	Setiltrimetilamonyum bromür

1. GİRİŞ

Analitik Kimya, fen ve yaşam bilimleri alanlarında sonucu etkileyen kimyasal maddelerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla klasik ya da ileri teknoloji yöntemlerini kullanma, geliştirme ve ölçme bilimidir. Yaşam bilimlerinde karşılaşılan pekçoksorunun çözümünde kimyasal değişkenin ne olduğu ve miktarının saptanması önemli aşama olarak göze çarpar. Adli tıp ile ilgili bir olayın açığa kavuşturulmasından, Mars'ta yaşamın varlığına ilişkin uç araştırmalara, hastalıkların tanı ve tedavisinden, üretimde kalite-kontrol süreçlerine, çevre kirliliğinin belirlenmesine ve önlenmesine kadar uzanan geniş bir yaşam yelpazesindeki öncelikli alanlarda Analitik Kimya sorun çözücü olarak hep merkezde yer almaktadır.

İnsanoğlu, varoluşundan itibaren ağrı ile baş etmek için uğraş vermiş, çeşitli yöntemler ve maddeler saptamaya çalışmıştır. Haşhaş ve afyon tarihinin insanlık tarihi kadar eski olduğu bilinmektedir. Antibiyotikler, hormonlar, antipsikotik ilaçların henüz pratik kullanımda yer almadığı 19. yüzyılda başta morfin olmak üzere diğer benzeri bileşikler, uzun yıllardır analjezik olarak kullanılmaktaydı. Morfin benzeri bu grup ilaçlara; bilinç kaybına neden olmaksızın güçlü analjezik etki oluşturmalarından dolayı "**opioid analjezikler**"ya da diğer deyişle "**opioidler**"denilmektedir. Opioidler, başlıca 5 grup altında incelenirler: (i) Doğal Opioidler, (ii) Morfin Esterleri, (iii) Yarı-sentetik Opioidler, (iv) Sentetik Opioidler, (v) Endojen Opioid Peptidler. Doğal opioidler ile morfin esterleri özel olarak "**opiyatlar**"olarak da isimlendirilir.

Opioidler tıbbi açıdan; genel bir kural olarak, inflamatuvar niteliği bulunmayan ve antiinflamatuvar analjeziklere yeterli yanıt vermeyen orta ya da şiddetli ağrı tedavisinde kullanılırlar. Ancak opioid ilaçlar güçlü analjezik etki ile birlikte santral sinir sistemi üzerinde oldukça yaygın depresif etki yaparlar ve doğal olarak uzun süre kullanımlarında ilaca karşı tolerans, fiziksel ve psişik bağımlılık oluşturabilirler.

Giderek artan kullanımları nedeniyle bu bileşiklerin özellikle biyolojik örneklerde analizi, klinik ve adli toksikoloji açısından oldukça önemlidir. 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), donanım açısından maliyetinin düşük olması yanısıra yerinde analize olanak tanınması da çok önemlidir.

Elektrokimyasal yöntemlerle özellikle voltametrik tekniklerle gerçekleştirilen farmasötik, klinik ve adli tıp analizleri, eser analizlerin yapılabilir olmasına ek olarak örneklerin kolaylıkla ve kısa sürede hazırlanabilmesi ve analiz hızının hızlı olması gibi üstünlükleriyle kaynakçadaki yerini sağlamlaştırmıştır. Elektroanalitik çalışmalarda yeni bir elektrot tasarlamak (modifiye elektrot) son yılların en önemli konusunu oluşturmaktadır.

Opiyatların tek başına, türevleriyle ya da farklı moleküllerle eşzamanlı tayinlerine yönelik özellikle son yıllarda basılmış makaleler incelendiğinde karbon-temelli elektrotların kullanıldığı voltametrik analizlerin çok popüler olduğu görülmektedir. Ancak gerçek örneklerdeki uygulamalarında geleneksel sensörlerle sınırlı seçicilik elde edilebildiği için yüksek seçiciliğe ve duyarlılığa sahip modifiye sensörlerinin tasarımı için yeni stratejilerin geliştirilmesi çok önemlidir. Bilimsel etki değeri yüksek dergilerde basılan opiyat analizlerine ilişkin makalelerde sunulan araştırmaların özgünlüğünü belirleyen farklılığın genellikle kullanılan çalışma elektrotlarının ve elektrot modifikasyonlarının farklılığı açısından olduğu gözlenmektedir.

Yukarıda kısaca sunulan bilgilerden yola çıkılarak; önerilen bu tez çalışmasında, opiyat grubunda yer alan "**kodein**" bileşiğinin ölçümü için fabrikasyonu ilk kez tasarlanacak olan kimyasal-modifiye elektrotların elektrokatalitik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tez çalışması üç ana başlık altında toplanacaktır: (i) İlk bölümde yeni bir modifikasyon tekniği kullanılarak geliştirilen kimyasal modifiye karbon pasta elektrotları üzerinde sulu ve yüzey aktif madde içeren çeşitli destek elektroliti çözeltileri içerisinde ve geniş bir pH aralığında kodein molekülünün elektrokimyasal davranışı ayrıntılı olarak incelenecektir. (ii) İkinci bölümde ilgili bileşiğin tayinine yönelik etkili bir voltametri yöntemi tanımlanacak ve deneysel/aletsel koşullar optimize edilecektir. (iii) Son bölümde ise diğer bölümlerde elde edilen olumlu bulguların ışığında bileşiğin gerçek örneklerdeki miktarının önerilen yöntem ile tayin edilebilirliği sınanacaktır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLER

2.1. Opioid Analjeziklerle ilgili Genel Bilgiler

Bu tez çalışmasında geliştirilmesi amaçlanan elektroanalitik yöntem, opioid analjezikler grubu içinde yer alan kodein üzerinde denenecektir. Bu bölümde ilk olarak ilgili analjezik grubunun ve kodein bileşiğinin kimyası ile biyolojik etkileri tartışılacak; daha sonra ise kodein tayininde kullanılan analitik yöntemler hakkında bilgi verilecektir.

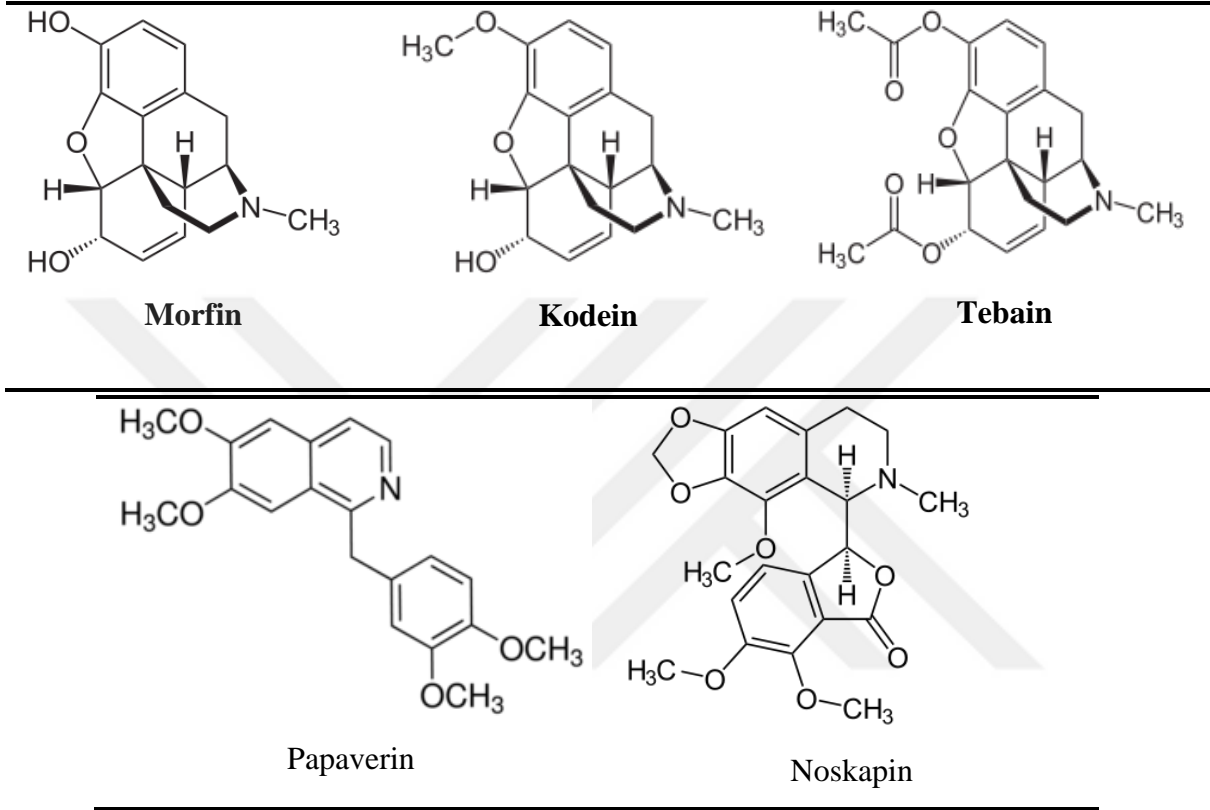
İlk kez 1960'larda kullanılan **opioid** ismi, opyum (afyon)'dan türemiştir. Sözcük anlamı; "*afyonumsu*" demektir. Afyon, haşhaş (*Papaver somniferum*) bitkisinin yaş meyve kapsülünün (kellesinin) (Şekil 2.1) çizilmesi ile çıkan öz suyunun kurutulmuş şeklidir. Ham afyonun bileşiminde; reçineler, yağ asitleri, şekerler ve yaklaşık yirmi dolayında alkaloid bulunmaktadır.



Şekil 2.1. Haşhaş bitkisi, çizilmiş haşhaş kapsülü ve afyon parçaları.

Afyon alkaloitleri kimyasal yapılarına göre ikiye ayrılırlar: (i) *fenantren* türevleri (morfin, kodein, tebain), (ii) benzilizokinolin türevleri (papaverin, noskabin). İlgili bileşiklerin kimyasal yapıları Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Afyon alkaloitlerinin kimyasal yapıları



Haşhaş ve afyon tarihinin insanlık tarihi kadar eski olduğu bilinmektedir. M.Ö. 4000'li yıllarda Mezopotamya'da yaşayan Sümerlerin, M.Ö. 2000'li yıllarda Mısır'da, Orta Asya'da eski Çin ve Hint uygarlıklarında haşhaş ekimi, afyon üretimi ve afyondan yapılan ilaçlarla ilgili ayrıntılı yazılar ve kalıntılara rastlanmaktadır. Asurluların başkenti olan Ninova şehri kütüphanesinde bulunmuş olan çivi yazılı tabletlerde ise haşhaştan mutluluk bitkisi olarak bahsedilmektedir. Hititler döneminden (M.Ö.2000-1500 yılları) beri ise Anadolu'da haşhaş yetiştirilmektedir. Boğazköy'de (Hattuş) bulunmuş olan Hitit tabletleri, Anadolu'da haşhaş ekimi ve afyon ile ilgili bilgiler vermektedir. Bu tabletlerdeki bitki isimleri üzerinde yapılan bir araştırma, Hititlerin haşhaşı "haşşika" olarak isimlendirdiğini ortaya koymuştur. M.Ö. 2000 yıllarında mağara duvarlarında ve basılan paralarda buğday başağı ile haşhaş kapsülünün yan yana

resimleri görülür (Şekil 2.2). Bu da insanların haşhaş bitkisine verdikleri önemi ve bu bitkiyi her yönü ile çok iyi tanıdıklarını göstermektedir (Mat, 1994).



Şekil 2.2. Haşhaş bitkisinin M.Ö. 2000 yıllarında mağara duvarlarında ve basılan paralar üzerindeki görüntüleri.

Antibiyotikler, hormonlar, antipsikotik ilaçların henüz pratik kullanımda yer almadığı 19. yüzyılda başta morfin olmak üzere diğer benzeri bileşikler, uzun yıllardır analjezik olarak kullanılmaktaydı. Özellikle morfin, 1861-1865 yılları arasındaki Amerikan İç Savaşında ve 1870-1871 Fransız-Almanya savaşında yaralı askerlerin ağrılarını dindirmek amacıyla sıklıkla kullanılmıştır. Askerlerin tedavi sonrası yoksunluk krizine girmeleri üzerine bu durum "Asker Hastalığı" olarak isimlendirilmiştir. 1870'lerden sonra bu bileşiğin bağımlılık yapıcı etkisi olup olmadığı araştırma konusu olmuştur (Toklu, 2011).

Morfin benzeri bileşiklere, ağrıyı önlerken merkezi sinir sistemi üzerinde depresif etki yapmaları nedeniyle "**narkotik analjezikler**" denilmiştir. Yunanca'da "*algesia*", ağrı anlamına gelmektedir. Bu sözcükten türetilen **analjezik**, "*ağrısızlık*" anlamına taşır. Yunanca uyku anlamındaki "*narke*"den türetilen **narkotik** sözcüğü ise, "*uyuşturma özelliği olan, uyuşturan, duymaz hale getiren*" demektir. Oysa morfin benzeri bileşiklere; bilinç kaybına neden olmaksızın güçlü analjezik etki oluşturmalarından dolayı "**opioid analjezikler**" denmesi daha doğrudur (Kayaalp, 2002, Holzer, 2014).

Opioid analjezikler ya da diğerk deyişle **opiooidler**, başlıca 5 grup altında incelenirler:

(i)Doğal Opioidler: Afyon içinde yer alan ve doğal yolla elde edilen alkoloitlerden özellikle morfin, kodein, tebain bu grup içinde yer almalarına karşın papaverin ve noskapin alkaloitleri; farklı etki mekanizmaları olduğundan bu grup içinde yer almazlar.

(ii)Morfin Esterleri: Doğal opiooidler ile yarı-sentetikler arasında yer alırlar ancak kimyasal olarak doğal olanlara daha yakındırlar. Genellikle morfinden türemişlerdir: Diasetil morfin (eroın), nikomorfin (morfin dinikotinat), dipropanoilmorfin (morfin dipropianat), dezomorfin, asetilpropionilmorfin, dibenzoilmorfin, diasetildihidromorfin. Doğal opiooidler ile morfin esterleri özel olarak "**opiyatlar**" olarak da isimlendirilir.

(iii)Yarı-sentetik Opioidler: Doğal opiooidlerden ya da morfin esterlerinden elde edilirler. Oksikodon, hidromorfon, hidrokodon, etilmorfin, buprenorfin, vb.

(iv)Sentetik Opioidler: Fentanil, petidin, metadon, tramadol, vb.

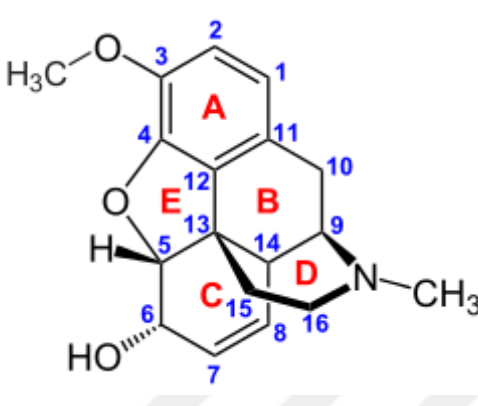
(v)Endojen Opioid Peptidler: Doğal olarak vücutta oluşurlar. Endorfin, enkefalin, dinorfin vb. Morfin gibi bazı opiooidler, düşük dozlarda da olsa vücutta da oluşabildiklerinden bu grup altında da incelenebilirler.

Opioidler tıbbi açıdan; genel bir kural olarak, inflamatuvar niteliğı bulunmayan ve antiinflamatuvar (iltihap giderici) analjeziklere yeterli yanıt vermeyen orta ya da şiddetli ağrı tedavisinde kullanılırlar. Sıklıkla ameliyat sonrası akut ağrının tedavisinde ve kanser ağrıları gibi non-steroid antiinflamatuvar ilaçlarla dindirilemeyen durumlarda tercih edilirler. Bunun dışında günümüzde diyare, öksürük, uykusuzluk ve anksiyetenin kontrol altına alınmasında da opiooidlerden yararlanılmaktadır. Ancak opiooid ilaçlar güçlü analjezik etki ile birlikte santral sinir sistemi (SSS) üzerinde oldukça yaygın depresif etki yaparlar ve doğal olarak uzun süre kullanımlarında ilaca karşı tolerans, fiziksel ve psişik bağımlılık oluşturabilirler (Jordan ve Devi, 1998; Plerce ve Kumaresan, 2006; Trescot ve ark., 2008; Hakkinen ve ark., 2012; Li ve Lin, 1998; Örken ve Tavşanlı, 2014).

2.1.1. Kodein

Bu araştırma için seçilen ve doğal opioidler (opiyatlar) içinde yer alan kodein molekülünün kimyasal yapısı, isimlendirilmesi, fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Kodein bileşiğinin moleküler yapısı, kimyasal isimleri ve genel özellikleri

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	<p>IUPAC ismi: (5α,6α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy- 3-methoxy-17-methylmorphinan-6-ol</p> <p>Kimyasal formülü: C₁₈H₂₁NO₃ (baz), C₁₈H₂₂ClNO₃ (HCl tuzu), C₁₈H₂₄NO₇P (fosfat tuzu)</p> <p>Molar kütle: 299.364 g/mol (baz), 335.825 (HCl tuzu), 397.359 (fosfat tuzu)</p> <p>Görünüş: Beyaz renkli kristal</p> <p>Erime noktası: 154 °C</p> <p>Çözünürlük: 1:120 oranında suda, 1:15 oranında kaynar suda, 1:2 oranında alkolde, 1:0,5 oranında kloroformda, 1:50 oranında eterde çözünür.</p> <p>pK_a: 8.2</p> <p>Saklama koşulları: Işık görmeyen yerde saklanmalıdır.</p>

İlk kez 1832 tarihinde Fransız kimyager Pierre-Jean Robiquet tarafından izole edilen ve doğal afyon içerisinde % 0.5 oranında bulunan kodein kimyasal olarak fenantren alkaloidi olup morfinin fenolik hidroksil grubundan metillenmiş şeklidir (3-metilmorfin). Bir benzen halkası (A), iki kısmen doymamış sikloheksan halkası (B ve C), piperidin halkası (D) ve tetrahidofuran (E) halkasından oluşmuştur. A, B, C, fenantren halka sistemidir. Yapısında alisilik hidroksil grubu içermektedir.

Kodeinin eldesi, afyondan ya da haşhaş kapsülünden ekstraksiyonla gerçekleşeceği gibi morfinin metillenmesi ile yarı-sentez yoluyla da sağlanır.

Kodein sülfat ve kodein fosfat tuzu şeklinde bulunmaktadır. Morfinin metillenmiş şekli olması nedeniyle analjezik ve bağımlılık yapıcı etkinliği önemli ölçüde azalmıştır

ancak antitussif (öksürük kesici) etkinliğinde önemli bir değişme görülmez. Diyare tedavisinde de kullanımı bulunmaktadır. Ağız yoluyla diğer analjeziklerle beraber kullanıldığında onların etkisini kuvvetle artırdığından bilhassa aspirin ve parasetamol ile beraber kullanımı çok yaygındır (Sproule ve ark., 1999; Thorn ve ark., 2009; Bhandari ve ark., 2011).

Kodein (baz şeklinde) antitussif olarak ağızdan bir kezde 10-20 mg dozunda analjezik olarak ise 30-60 mg dozunda kullanılır. Şurup, eliksir vb. sıvı farmasötik şekiller kodein fosfatla hazırlanır. Kodein fosfat tuzu halinde kullanıldığında antitussif doz, 15-30 mg'dır. Kodein fosfatın analjezik olarak kullanılan enjeksiyonluk çözeltisi debulunmaktadır.

Ağız yolundan alındığında kodeinin sistemik biyoyararlanımı yaklaşık % 65'tir. Karaciğerde O- ve N- demetilasyona uğrar, böylece, kısmen morfin ve norkodeine dönüşür. Analjezik etkisi, esas olarak karaciğerde demetilasyonu sonucu oluşan morfine bağlıdır. Bu metabolitler ve değişmemiş kodein, glukuronik asid konjugatı şeklinde idrarla atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü 3-4 saattir.

Kodeinin ender görülen yan etkileri arasında konstipasyon (kabızlık), sedasyon ve uyuşukluk hali sayılabilir. Bu bileşik, diğer opiyatlar gibi, solunum yolları mukozasındaki bezlerin salgısını azaltarak mukozada kuruluk yapar. Aşırı mukus salgılanması durumunda bu kurutucu etkinin yararı olabilir ancak bronkospazm durumunda tehlike oluşturabilir. Balgamın atılmasını zorlaştırarak infeksiyon ve atelektazi (akciğerin işlevini yitirmesi) tehlikesi yaratabileceğinden bronşiyal astma ve amfizem olgularında kullanılmamalıdır.

Kodein kullanımı kontrole tabi olmakla birlikte Türkiye'deki mevzuata göre kodein içeren bazı müstahzarlar "uyuşturucu" sayılmaz.

2.1.1.1. Kodein için uygulanan analiz yöntemleri

Gerek opioidlerin gerekse alt grubu opiyatların tedavideki kullanımları yanısıra suiistimal olasılığı da yüksek olduğundan; bu bileşiklerin farklı biyolojik ortamdan (kan, idrar, saç, ter, ağız sıvısı/tükürük, perikart sıvısı, anne sütü, plasenta, tırnak, kemik) klinik ve adli analizleri ayrı bir önem taşımaktadır (Hueastis ve Smith, 2006;

Bosch ve ark. 2007; Kraemer ve Paul, 2007; Barroso ve ark., 2011a; Cruces-Blanco ve ark., 2013, Lad ve ark., 2016).

Opiyatların ve türevlerinin analizinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerin başında kütle spektrometrik dedektörlü gaz kromatografisi (GC-MS) gelmektedir. Bir diğer yöntem ise farklı dedektörlü sıvı kromatografisi (LC) tekniğidir (Staub, 1995; Bosch ve ark., 2007; Barraso ve ark., 2011b). Kromatografik yöntemlerin dışında fizikokimyasal yöntemlerden biri olan kapiler elektroforez (CE) tekniği de opiyat grubu bileşiklerin analizinde sıklıkla kullanılmaktadır (Tagliaro ve Bortolotti, 2006; Pascali ve aek., 2012). Çizelge 2.3 ve 2.4'de üzerinde çalışılması planlanan kodein bileşiğinin GC, LC ve CE analizlerine ilişkin bazı örnekler verilmiştir.

Bunların dışında, ilgili bileşiklerin tayinlerinde kullanımı giderek artan ve önem kazanan elektroanalitik yöntemler sonraki bölümde ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

Çizelge 2.3.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların kromatografik yöntemlerle analizi

Analit	Teknik	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Kodein Morfin Eroin 6-monoasetilmorfin	LC	Kemiluminesans	$1.0 \times 10^{-9} \text{ g L}^{-1}$ $1.0 \times 10^{-13} \text{ g L}^{-1}$ $1.0 \times 10^{-10} \text{ g L}^{-1}$ $1.0 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$	Biyolojik sıvı	Zhu ve ark., 1996
Kodein Diğer	LC	UV	$0.100 \mu\text{g mL}^{-1}$	İlaç örneği	Kartal, 2001
Kodein Eroin Morfin Diğer	GC	MS	0.10 ng mL^{-1} 0.20 ng mL^{-1} 0.10 ng mL^{-1}	Saç örneği	Skender ve ark., 2002
Kodein Morfin Oripavin Tebain	LC	Kemiluminesans	$5 \times 10^{-10} \text{ M}$ $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ $1 \times 10^{-9} \text{ M}$	İşlem görmüş bitki örneği	Costin ve ark., 2007
Kodein Morfin Diğer	UPLC	MS/MS	-	Tükürük örneği	Badawi ve ark., 2009
Kodein Morfin	GC	MS	-	Kemik örneği	Mc Grath ve Jenkins, 2009
Kodein Diğer	LC	MS/MS	-	Av köpeği plazma örneği	Hu ve ark., 2011

Çizelge 2.3.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların kromatografik yöntemlerle analizi(Devam)

Analit	Teknik	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Kodein Eroin Morfin Asetilkodein 6-monoasetilmorfin Diğer	GC	FID	0.5 µg mL ⁻¹ 1.3 µg mL ⁻¹ 6.1 µg mL ⁻¹ 0.8 µg mL ⁻¹ 1.9µg mL ⁻¹	Adli örnekler	Chan ve ark., 2012
Kodein Morfin Morphine 3β- glucuronide Morphine 6β- glucuronide	LC	MS/MS	0.05 ng mL ⁻¹ 0.05 ng mL ⁻¹ 0.05 ng mL ⁻¹ 0.05 ng mL ⁻¹	İnsan plazma örneği	Wu ve ark., 2013
Kodein Morfin	GC	MS	25 ng mL ⁻¹ 25 ng mL ⁻¹	İnsan idrar örneği	Zhang ve ark., 2013
Kodein Morfin 6-monoasetilmorfin	GC	MS	0.44 ng mL ⁻¹ (kan) 0.29 ng mL ⁻¹ (kan) 0.15 ng mL ⁻¹ (kan)	İnsan idrar ve kan örneği	Chericoni ve ark., 2014
Kodein Diğer	LC	UV	0.21 µg/mL	İlaç örneği	Vojta ve ark., 2015
Kodein	LC	MS/MS	5 ng mL ⁻¹	İnsan plazma örneği	Cruz ve ark., 2017
Kodein Morfin Metadon	LC	PDA	9 µg mL ⁻¹ 25 µg mL ⁻¹ 10 µg mL ⁻¹	Otopsi idrar örneği	Alahyari ve ark., 2018

Teknik: LC, sıvı kromatografisi; GC, gaz kromatografisi; UPLC, ultra performanslı sıvı kromatografisi. **Dedektör:** UV, ultra-viyole spektrofotometrik; MS, kütle spektrometrik; FID, alev iyonlaşma; PDA, foto diyot dizisi

Çizelge 2.4. Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların kapiler elektroforez yöntemiyle analizi

Analit	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Kodein	Kemiluminesans	5×10^{-8} M	-	Barnett ve ark., 1998
Tebain		1×10^{-7} M		
6-metoksi kodein		5×10^{-8} M		
Kodein	MS	10 ng mL ⁻¹	İnsan idrar örneği	Wey ve ark., 2000
Morfin		10 ng mL ⁻¹		
Kodein-6-glukuronid		40 ng mL ⁻¹		
Dihidrokodein		40 ng mL ⁻¹		
Morfin-3-glukuronid		40 ng mL ⁻¹		
Kodein	LIF	65 pg mL ⁻¹	-	Alnajjar ve ark., 2004
Morfin		50 pg mL ⁻¹		
6-asetilmorfin		100 pg mL ⁻¹		
Kodein	UV	2.5×10^{-6} M	Bazı proses örnekleri	Hindson ve ark., 2007
Morfin				
Oripavin				
Tebain				
Kodein	ECL	6.5×10^{-7} M	İdrar örneği	Liu ve ark., 2009
Tebain		3.6×10^{-6} M		
6-asetilkodein		4.6×10^{-7} M		
Kodein	ESI-MS	0.6 ng mL ⁻¹	İn-vitro metabolizma	Lu ve ark., 2011
Eroin		1.0 ng mL ⁻¹	çalışması	
Diğer				
Kodein	C ⁴ D	1.5×10^{-5} M	İlaç örneği	Cunha ve ark., 2017
Diğer				

Dedektör: UV, ultra-violet spektrofotometrik; MS, kütle spektrometrik; LIF, lazerle indüklenmiş floresans; ECL, elektrokemiluminesans; ESI, elektrosprey ionizasyon; C⁴D, kapasitif eşleşmiş temassız iletkenlik

2.1.1.1.1. Kodein için uygulanan elektroanalitik yöntemler

Genelde opiyatların özelde kodein bileşiminin tayininde kullanılan yukarıda sözü edilen yöntemlerin bir bölümü, yüksek duyarlılık ve seçiciliğe sahip olmalarına karşınuzun ve zahmetli ön-ayırma işlemlerine, organik çözücülere ya da yüksek maliyetli cihazlara (özellikle dedeksiyon biriminde) gereksinim duymaktadır. Öte yandan; ilgili bileşikler üzerinde redoks etkin gruplarının bulunması yanısıra basit, hızlı, düşük maliyetli, matris etkisine düşük duyarlılıkta ve yerinde analize uygun olması nedeniyle; elektroanalitik yöntemlerden voltametri opiyatların analizinde hergeçen gün daha sık tercih edilmeye başlamıştır (Garrido ve ark., 2004; Slepchenko ve ark., 2017)

Kodein bileşiği ve diğer opiyatların voltametrik tayininde işlem görmemiş elektrotların kullanımı oldukça sınırlıdır. Araştırmaların pekçoğunda modifiye karbon-temelli elektrotlar kullanılmıştır. Kodein bileşiminin tekli ya da diğer bileşiklerle ya da metabolitleriyle eş-zamanlı tayinlerinde kullanılan bazı elektrotların analitik performans özellikleri Çizelge 2.5'de özetlenmiştir.

Diğer taraftan elektrokimyasal sensörler, akışa-enjeksiyon analizi (FIA), batch-enjeksiyon analizi (BIA), kapiler elektroforez (CE) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile gerçekleştirilen kodein tayini araştırmalarında dedeksiyon sisteminde de yer almaktadır (Çizelge 2.6). Yukarıda sözü edilen klasik analitik yöntemlerin dışında elektrokimyasal biyosensörler bu bileşiğin yalnız başına da ya da çoklu tayininde sıklıkla kullanılmaktadır (Çizelge 2.7).

Çizelge 2.5.Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların katı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein	SWV	Nafion/rutenyum oksit Piroklor/GCE	10 nM	İlaç ve insan plazma örneği	Zen ve ark., 1998
Kodein	SWV	Nontronit kil/SPE	20 nM	İlaç ve idrar örneği	Shih ve ark., 2002
Kodein	SWV	GCE	5×10^{-6} M	İlaç örneği	Garrido ve ark., 2002
Kodein Diğer	CV SWV	Parafin emdirilmiş grafit çubuk	-	-	Komorsky-Lovric ve ark., 2003
Kodein Morfin	Amperometri	PB/Pd-Al/	8×10^{-7} M	-	Pournaghi-Azar ve Saadatirad, 2008
Kodein Diğer	DPV	Pd/Al	5×10^{-6} M	İlaç örneği	Pournaghi-Azar ve Saadatirad, 2010
Kodein Papaverin Diğer	SWV	EA-GCE	7.7×10^{-8} M 2.7×10^{-8} M	İlaç örneği	Câmpean ve ark., 2011
Kodein Diğer	DPV	MWCNTs/GCE	2×10^{-7} M	İlaç, serum ve idrar örneği	Babei ve ark., 2012
Kodein	SWV	GR/Nafion/GCE	0.015 μ M	İlaç ve idrar örneği	Li ve ark., 2013
Kodein	DPV	BDD	0.08 μ M	İlaç ve idrar örneği	Svorc ve ark., 2013
Kodein Diğer	DPV	SWCNT/CCE	1.1×10^{-7} M	İlaç, çay ve idrar örneği	Habibi ve ark., 2014

Çizelge 2.5.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların katı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi(Devam)

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein Diğer	DP-AdSV	TiO ₂ NP/CPE	0.018 µM	Serum örneği	Mashhadizadeh ve Rasouli, 2014
Kodein Diğer	SWV	CoFe ₂ O ₄ /GR/CPE	1.1×10 ⁻⁸ M	İlaç, plazma ve idrar örneği	Afkhami ve ark., 2014
Kodein Morfin	DP-AdSV	Pt/PSi-CILE/CPE	2×10 ⁻⁸ M 3×10 ⁻⁸ M	Serum ve idrar örneği	Ensafi ve ark., 2015a
Kodein Diğer	SWV	CP-BDD	1.19×10 ⁻⁹ M (tekli analiz) 1.4×10 ⁻⁸ M (eşzamanlı analiz)	Serum ve idrar örneği	Santos ve ark., 2015
Kodein Diğer	SWV	NiONPs-CB/GCE	4.8×10 ⁻⁷ M	İlaç ve sentetik idrar örneği	Batista Deroco ve ark., 2015
Kodein Diğer	DPV	PSi/Pd-NS/CPE	3×10 ⁻⁷ M	İlaç, serum ve idrar örneği	Ensafi ve ark., 2015b
Kodein	DP-AdSV	Nafion/MWCNTs/GCE	4.5 µg L ⁻¹	İlaç, plazma ve idrar örneği	Piech ve ark., 2015
Kodein Diğer	DPV	HTP/MWCNT/CPE	6.3×10 ⁻⁸ M	İlaç, serum ve idrar örneği	Garazhian ve Shishehbore, 2015
Kodein Morfin Noskapin Tebain Papaverin	DPV- kemometri	GCE	-	Serum örneği	Gholivand ve ark., 2015

Çizelge 2.5.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların katı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi(Devam)

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein	CV DPV SWV	NiO/CNT/CPE	5×10^{-8} M	İlaç, serum ve idrar örneği	Shokri ve ark., 2015
Kodein	DP-AdSV	MHCF/(MWCNT)/GCE	6×10^{-8} M	Serum örneği	Mashadizadeh ve ark., 2016
Kodein Oksikodon	DPV	CFCPE	2×10^{-8} M 5×10^{-8} M	Plazma ve idrar örneği	Afkhami ve ark., 2016
Kodein Morfin	DPV	MWCNTs/SnO ₂ -Zn ₂ SnO ₄ /CPE	9×10^{-9} M 9×10^{-9} M	İdrar örneği	Taei ve ark., 2016a
Kodein Diğer	DPV	MWCNTs/ZnCrFeO ₄ /CPE	1×10^{-8} M	İlaç, serum ve idrar örneği	Taei ve ark., 2016b
Kodein	DPV	WO ₃ /MWCNT/GCE	2×10^{-8} M	İlaç ve idrar örneği	Yu ve ark., 2016
Kodein Morfin	DP-AdSV	HA-FeNPs-MWCNTs/GCE	2.2×10^{-8} M 1.4×10^{-8} M	Serum ve idrar örneği	Babei ve ark., 2017
Kodein	SWV	ND-DHP/GCE	5.45×10^{-8} M	İlaç, sentetik serum ve idrar örneği	Simioni ve ark., 2017
Kodein Diğer	SWV	DLC:VAMWCNT	1.57×10^{-7} M	Sentetik serum ve idrar örneği	Silva ve ark., 2017

Çizelge 2.5.Kodein bileşiğinin ve diğer opiyatların katı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi(Devam)

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein Diğer	DP-AdSV	CeO ₂ -SPEs	4.3×10 ⁻⁸ M	Serum örneği	Khairy ve ark., 2018
Kodein Diğer	DPV	CuO-CuFe ₂ O ₄ /CPE	1×10 ⁻⁸ M	Plazma ve idrar örneği	Hasanpour ve ark., 2018

Teknik: SWV, kare-dalga voltametri; CV, dönüşümlü voltametri; DPV, diferansiyel puls voltametri; AdSV, adsorptif sıyırma voltametri. **Elektrot:**GCE, camımsı karbon elektrot; SPE, perde baskılı elektrot, PB/Pd-Al, Prusya mavisi film modifiye-palladize olmuşalüminyum elektrot, EA, elektrokimyasal işlem görmüş; MWCNT, çok-duvarlı karbon nanotüp; GR, grafen; BDD, bor-katkılı elmas elektrot; SWCNT, tek-duvarlı karbon nanotüp; CCE, Karbon-seramik elektrot; TiO₂NP-MCPE, TiO₂ nanoparçacıkları; CPE, karbon pasta elektrot; Pt/PSi-CILE, Gözenekli silikon unu üzerinde Pt nanoparçacıkları desteklenmiş modifiye iyonik sıvı;CP, katodik ön işlem görmüş; NiONPs-CB,Nikel oksit nanoparçacıkları ve karbon siyahı; PSi/Pd-NS, gözenekli silikon/palladyum nanoyapı, HTP, 4-hidroksi-2-(trifenilfosfonio)fenolat; CNT, karbon nanotüp; MHCF, metal hegzasiyanoferrat; CF, CoFe₂O₄nanoparçacıkları; HA-FeNPs, hidroksiapatit-Fe₃O₄nanoparçacıkları, ND-DHP, didekzadesil fosfat film içerisinde stabilize edilmiş nanoelmas; DLC, elmas-benzeri karbon film; VAMWCNT, dikey olarak hizalanmış çok-duvarlı nanotüp;FSGO, fonksiyonelleştirilmiş süngerimsi grafen

Çizelge 2.6.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların tayininde kullanılan elektrokimyasal dedektörlü analiz sistemleri

Analit	Yöntem	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein	FIA	Nafion/rutenyum oksit Piroklor/GCE	0.86 ng in 20 µL loop	İlaç örneği	Zen ve ark., 1998
Kodein	FIA	Nontronit kil/SPE	1 ng in in 20 µL loop	İlaç örneği	Shih ve ark., 2002
Kodein	FIA	GCE	3×10^{-6} M	İlaç örneği	Garrido ve ark., 2002
Kodein Diğer	FIA	BDD	3.5×10^{-8} M	Serum ve idrar örneği	Santos ve ark., 2017
Kodein Diğer	BIA	BDD	1×10^{-6} M	İlaç örneği	Gimenes ve ark., 2013
Kodein Diğer	BIA	BDD	0.35 mg L ⁻¹	İlaç örneği	Pereira ve ark., 2014
Kodein Morfin	CE	PGE	1.6×10^{-7} M 6.8×10^{-8} M	İdrar örneği	Zhou ve ark., 2002

Yöntem: FIA,akışa-enjeksiyon analizi; BIA, batch-enjeksiyon analizi; CE, kapiler elektroforez. **Elektrot:** GCE, camımsı karbon elektrot;BDD, bor-katkılı elmas elektrot; PGE, kalem-ucu grafit elektrot

Çizelge 2.7.Kodein bileşiminin ve diğer opiyatların tayininde kullanılan elektrokimyasal biyosensör sistemleri

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Kodein Morfin	DPV	PDDA-MWCNTs/PGE	0.041mg L ⁻¹ 0.043 mg L ⁻¹	İlaç, serum ve idrar örneği	Ensafi ve ark., 2013
Kodein	Kronoamperometri	TTF-SPCEs	2×10 ⁻⁵ M	İlaç ve idrar örneği	Asturias-Arribas ve ark., 2013
Kodein	CV	FcNHS/Au disk	2×10 ⁻⁹ M	-	Saberian ve ark., 203
Kodein	DPV	Au-MSN/GCE	3×10 ⁻¹² M	-	Huang ve ark., 2013
Kodein	Kronoamperometri	Ag/AgCl SPE	4.9×10 ⁻⁶ M	İlaç ve idrar örneği	Asturias-Arribas ve ark., 2014
Kodein	DPV	AuNP/PAMAM/SPE	3×10 ⁻¹³ M	Seum örneği	Niu ve ark., 2016

Teknik: DPV, diferansiyel puls voltametrisi; CV, dönüşümlü voltametri.**Elektrot:** PDDA, poly(diallyldimethylammoniumchloride; MWCNT, çok-duvarlı karbon nanotüp; PGE, kalem-ucu grafit elektrot; TTF, tetrathiafulvalene; SPCE, perde-baskılı elektrot; FcNHS, ferrosen karboksilik asid N-hidroksisüksinimid esteri; Au-MSN, Au-mesoporous silica nanoparticles, GCE, camımsı karbon elektrot; AuNP, Au nanoparçacık; PAMAM, poliamidoamin dendrimerleri

2.2.Katı Elektrot Voltametrisiile ilgili Genel Bilgi

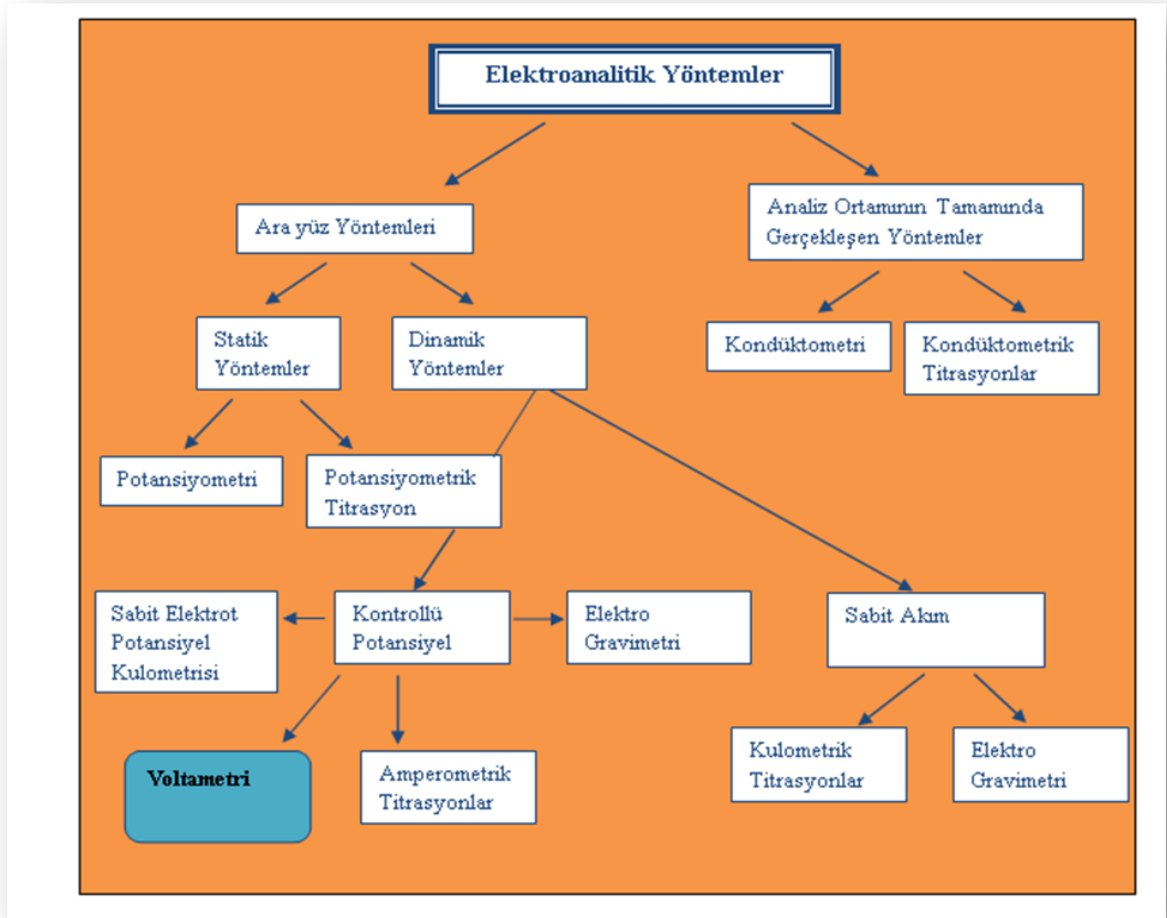
Bu tez çalışmasında kodein tayini için elektroanalitik yöntemlerden biri olan voltametri tekniği kullanılacaktır. Bu bölümde ilk olarak ilgili katı elektrot voltametrinin ve kullanılacak elektrotların özellikleri tartışılacak; daha sonra ise kodein tayininde kullanılacak voltametrik teknikler hakkında kısa bilgi verilecektir.

Geçen yüzyıl, elektroanalitik kimyanın yükselişi ve olgunlaşması dönemine denk gelmiştir. Son onlu yıllarda, mikroelektronik ve bilgisayar teknolojilerinin gelişmesine bağlı olarak; çok sayıda farklı yöntem geliştirilmiş, cihaz tasarlanmış, titiz bir teorik ve matematiksel çerçeve oluşturulmuştur (Bard ve Zoski, 2000).

Elektroanalitik yöntemler, elektrik ve kimya arasındaki ilişki, yani akım, gerilim ya da yük gibi elektriksel büyüklüklerin ölçümleri ve kimyasal değişkenlerle olan ilişkileri ile ilgilidir. Bu yöntemlerin özgün özellikleri: (i) yüksek duyarlılık, (ii) organik ve inorganik özellikli analiz örneklerinin önemli matris etkisi olmaksızın eş zamanlı tayinlerinin yapılabilirliği, (iii) düşük hacimli çözücü kullanarak düşük hacimli örneklerin analiz olanağı, (iv) başka yöntemlerle birleşmeye uygunluk, (v) basit ve düşük maliyetli cihazlarla çalışılabilirlik, (vi) kullanılan cihazların taşınabilir özellikleri nedeniyle yerinde analiz olanağı (Brainina, 2001; Farghaly ve ark., 2014).

Fiziksel bir büyüklüğü elektriksel bir veriye çeviren sisteme "sensör" denir. Kimyasal sensör (algılayıcı), kimyasal bir bilgiyi (genelde analitin derişimi) analitiksel olarak yararlanılacak bir elektrik sinyaline çeviren küçük düzeneklerdir. Elektrokimyasal sensörler, çevirici unsur olarak genelde bir elektrotun kullanıldığı ve elektrot yüzeyinde ortamdaki elektroetkin (yükseltgenebilen ya da indirgenebilen) türün değişikliğinden yararlanılarak yapılan ölçüm sistemini kapsar. Sensör, herhangi bir ölçme sisteminin temeli olduğu için elektroanalitik yöntemlerin gelişmesinde çok önemli rol üstlenmiştir (Brett ve Brett, 2011).

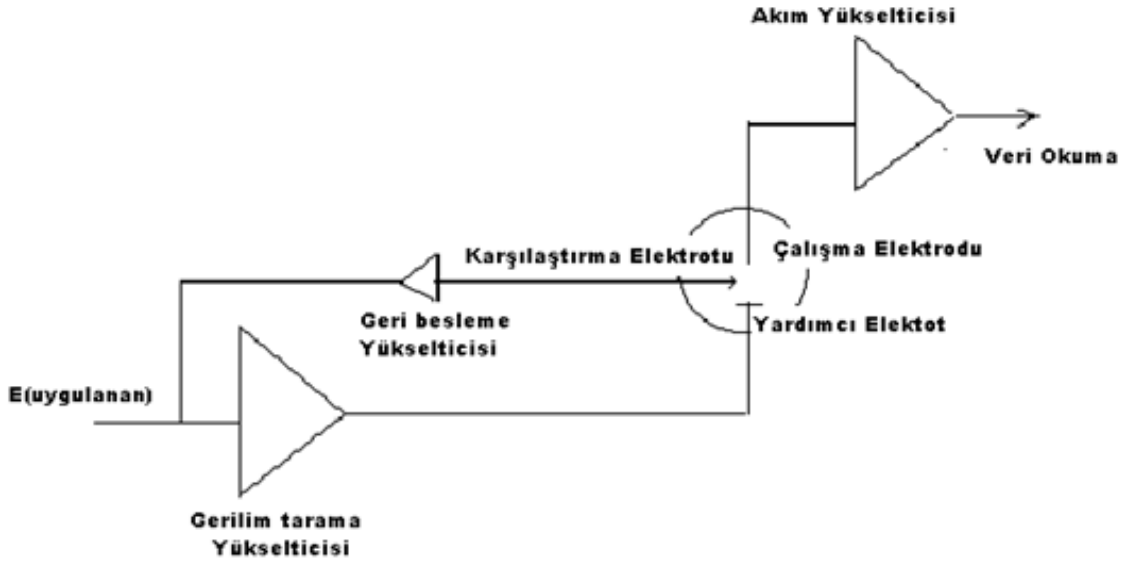
Günümüzde kullanılan elektroanalitik yöntemler Şekil 2.3'de gösterilmiştir (Bard ve Faulkner, 2000; Wang, 2006). Ölçülen sinyallerdeki çeşitlilik (gerilim, akım, direnç, empedans), bu yöntemlere uygulamada geniş bir pencere açmaktadır.



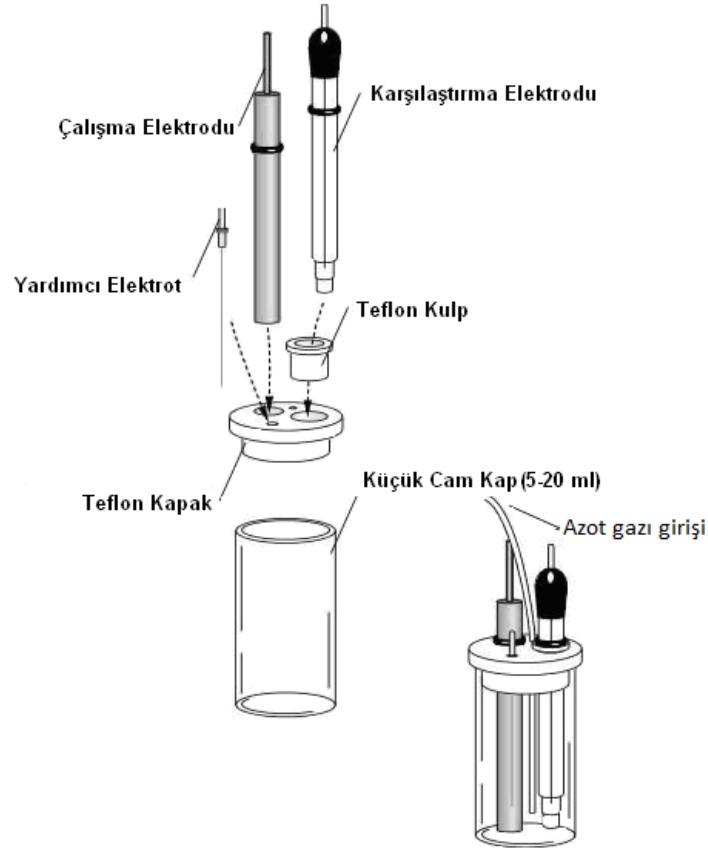
Şekil 2.3.Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.

Voltametri, elektroanalitik yöntemlerin merkezinde yer almaktadır. Bu yöntem 1922 yılında Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografi tekniğinin keşfiyle gelişmeye başlamıştır. Heyrovsky, bu keşfiyle 1959 yılında Nobel Kimya ödülünü almıştır.

Voltametri yöntemi, uygulanan gerilime bağlı olarak çalışma elektrotunun yüzeyinde analitin(elektroetkin yani elektrot tepkimesine katılan iyon ya da molekül) yükseltgenme ve/ya da indirgenmesini içerir.Redoks işlemi, büyüklüğü analit derişiminin bir ölçüsü olan akım ile sonuçlanır. Modern voltametrik sistemlerde, çalışma elektrotuna ek olarak cam, teflon ya da polietilenden üretilenelektrokimyasal hücre içerisinde karşılaştırma elektrotu, yardımcı elektrot ve oksijenin çözelti ortamından uzaklaştırılması için azot gazı girişi de yer almaktadır (Şekil 2.4 ve 2.5).



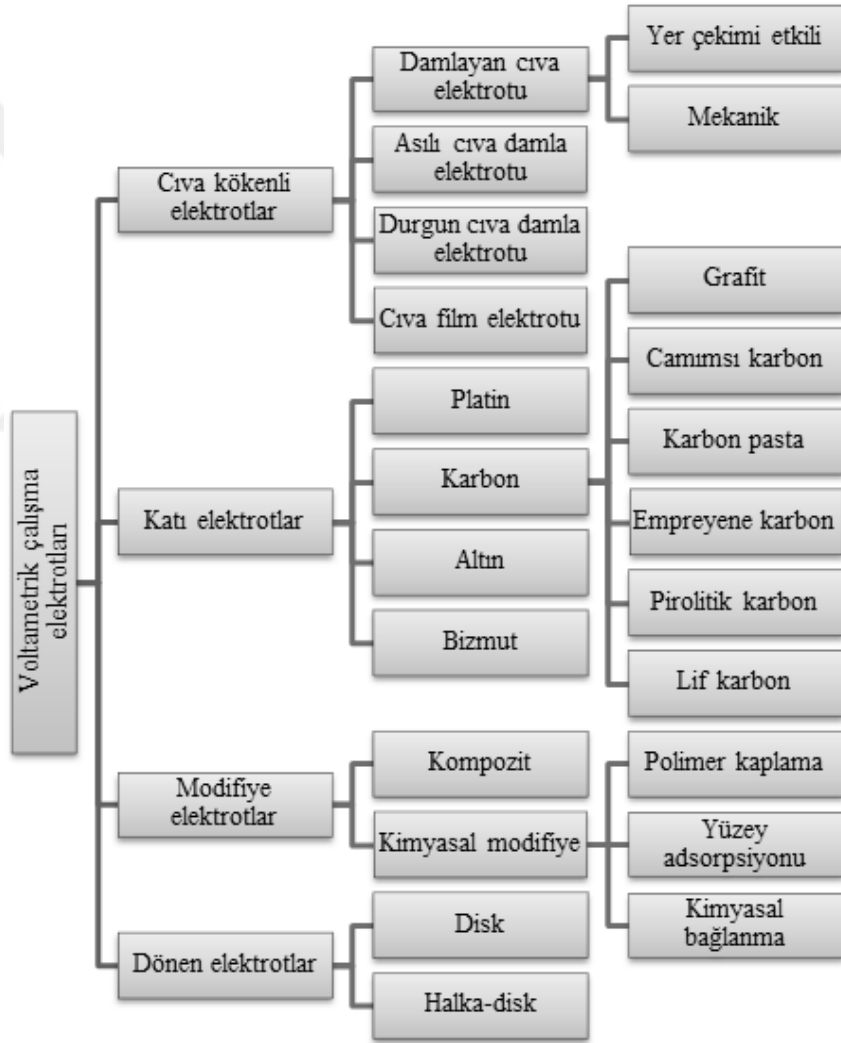
Şekil 2.4. Voltametri de üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı.



Şekil 2.5. Voltametrik hücre ve bileşenleri.

Voltametik yöntemin performansı, çalışma elektrotu olarak kullanılan malzemeden büyük ölçüde etkilenmektedir. Çalışma elektrotunun yüksek sinyal/gürültü karakteristikleri ve tekrarlanabilir yanıt oluşturması önemlidir. Bundan dolayı; çalışma elektrotunun seçimi iki temel ölçüte bağlıdır: (i) analitin redoks davranışı, (ii) ölçüm için gerekli olan gerilim bölgesindeki artık akım. Diğer koşullar arasında; gerilim çalışma aralığı, elektriksel iletkenliği, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikleri, maliyeti, uygulanabilirliği ve toksisitesi gelmektedir (Wang, 2006).

Voltametrde sıklıkla kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları.

Çalışma elektrotu olarak "damlayan cıva" elektrodunun kullanılması durumunda yöntem özel olarak "polarografi"olarak isimlendirilir. Cıva; pürüzsüz ve kolaylıkla yenilenebilir yüzeye (daha az kirlenme ve yüksek tekrarlanabilir davranış), geniş bir negatif gerilim aralığında çalışmaya olanak sağlayan hidrojen aşırı gerilimine sahiptir. Bu nedenle; bu yöntem 1960'lı yılların başına kadar pekçok metal iyonunun tayininde kullanılmıştır (Heyrovsky, 2011; Zuman, 2011).

Ancak; pozitif gerilim değerlerinde ya da her iki gerilim bölgesinde çalışmaya olanak sağlayan farklı elektrot malzemesine gereksinim olacağı açıktır. Bu nedenle "**voltametri**" terimi ilk kez 1940 yılında "**katı elektrotlar**" ve damlayan cıva dışında cıva temelli diğer elektrotların yer aldığı analizleri tanımlamak üzere kullanılmaya başlamıştır.Katı elektrot yüzeyinde tekrarlanabilir yanıtın kontrol edilme güçlüğüne karşın, bu elektrotların cıva-temelli elektrotlara mekanik dayanıklılık, daha geniş anodik çalışma aralığı, daha kolay kullanım açısından üstünlükleri bulunmaktadır. Diğer taraftan, farmakolojik, biyolojik ve çevresel önemi olan bileşiklerin elektrokimyasal ve enzimatik yükseltgenmeleri benzer mekanistik yol izlediğinden, bu elektrotlarla elde edilen bilgi çok karmaşık olan *in-vivo* yükseltgenme yollarının açıklanmasına da yardımcı olabilir (Uslu ve Özkan, 2007a).

Farklı voltametrik tekniklerde yıllar boyunca çok çeşitli katı elektrotlar kullanılmıştır (Şekil 2.6). Bu amaçla kullanılan soy metaller arasında platin, altın, rutenyum, bizmut sayılabilir.Farklı karbon formlarına (karbon-temelli) dayanan elektrot malzemeleri ise elektroanalitik kimyada yaygın bir uygulama alanı bulmuştur. Katı elektrot voltametrisinde önemli bir başka gelişme; dönen elektrot düzeneğinin kullanılması ile olmuştur. 1970'lerin ortasında ise, elektroanalitik kimyacılar modifiye elektrotların tasarımı ve fabrikasyonu üzerinde çalışmaya başlamışlardır. Polivinilferrosen, polielektrolitler (Nafion), elektronik olarak iletken polimerler (polipirol) gibi farklı tip polimerler modifiye edici olarak kullanılmıştır. Daha yeni olarak, değişik elektrot modifikasyon stratejileri (örn., killer, zeolitler, inorganik kristaller, enzim tabakaları, organik metaller ve kompozitler ile kaplama)araştırılmaktadır. Öte yandan nanoamper, pikoamper ve hatta femtoamper aralığındaki akımların ölçülmesini sağlayan elektrot tasarımı, mikroeletrot olarak isimlendirilen mikrometre boyutlu (ya da daha küçük) elektrotlarla çalışma yapılmasını olanaklı kılmıştır.Bu nedenle; kromatografik ve spektroskopik yöntemlere alternatif yöntem

olarak nitelendirilen modern voltametri, bu yöntemlerle yarışmalı olmaktan çok onları tamamlayıcı niteliktedir (Bard ve Zoski, 2000; Uslu ve Özkan, 2007a).

2.2.1. Karbon pasta elektrot

Sunulan tez çalışması, kodein bileşiğinin voltametrik yöntemle elektrokimyasal incelemesini yüzey aktif madde varlığında poli(guanin) modifiye karbon pasta elektrot üzerinde gerçekleştirmeyi amaçladığı için bu bölümde ilgili konular kısaca tartışılacaktır.

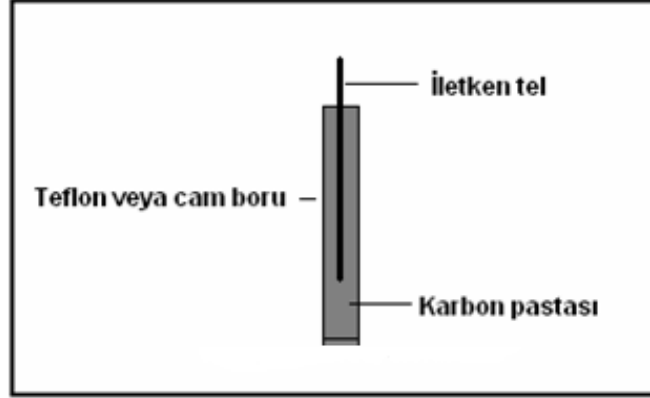
Karbon materyalleri, değişik allotroplarının (örn., grafit, fulleren, karbon nanotüp, grafen, elmas) yapısal farklılıkları ve bunun sonucu farklı elektronik ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle günümüzün ilgi odağı olan malzemeleridir. Karbon-temelli elektrot malzemeleri, bazı durumlarda karşılaşılan düşük elektrot kinetiklerine karşın, geniş bir gerilim penceresine, düşük maliyete, zengin yüzey kimyasına, düşük artık akıma, kimyasal inertliğe, pek çok zor analiz için uygunluğa sahiptir. Ayrıca bazı tekniklerdeki (elektrokimyasal dedektörlü yüksek-performanslı sıvı kromatografisi ve kapiler elektroforez) dedeksiyon uygulamaları için de uygundur. (Tural ve Ark, 2003).

Bu elektrotların bir sınıflama biçimi, homojen ve heterojen olma özellikleri açısından 2018 yılı, keşfinin 60. yılına denk gelen karbon pasta elektrot (CPE), heterojen elektrotların ilk ve en bilinen örneklerinden biri olup biyo(elektroanalizlerde) en yaygın kullanıma sahiptir. Bunun nedenlerinin başında hazırlamasının kolaylığı, ucuzluğu, yüzeyinin yalnızca parlatılarak kolaylıkla yenilenebilir olması, geniş bir gerilim penceresinde çalışmaya olanak tanınması, düşük artık akımda ve yüksek duyarlılıkta voltametrik yanıt vermesi sayılabilir (Svancara ve ark., 2009; Talay Pınar, 2013).

CP

E, spektroskopik karbon (grafit) tozu ya da daha yeni uygulamalarda camımsı karbon tozu ile uygun bir hidrofobik bağlayıcı maddenin (pasta sıvısı) karışımından oluşur. Bağlayıcı madde olarak parafin yağı (mineral) yağı, silikon yağı, bromonaftalen, ya da organofosfat, fitalat gibi esterler kullanılabilir. Elektrot genellikle %70 spektroskopik grafit tozu ile %30 bağlayıcı madde homojen karışımının, 2-4 mm çapında camdan, teflondan ya da polietilenden yapılmış tüplere sıkıştırılarak yerleştirilmesi ile hazırlanır. Elektriksel iletkenliği sağlamak üzere tüp içine iletken bir tel yerleştirilir (Şekil 2.7). CPE yüzeyi

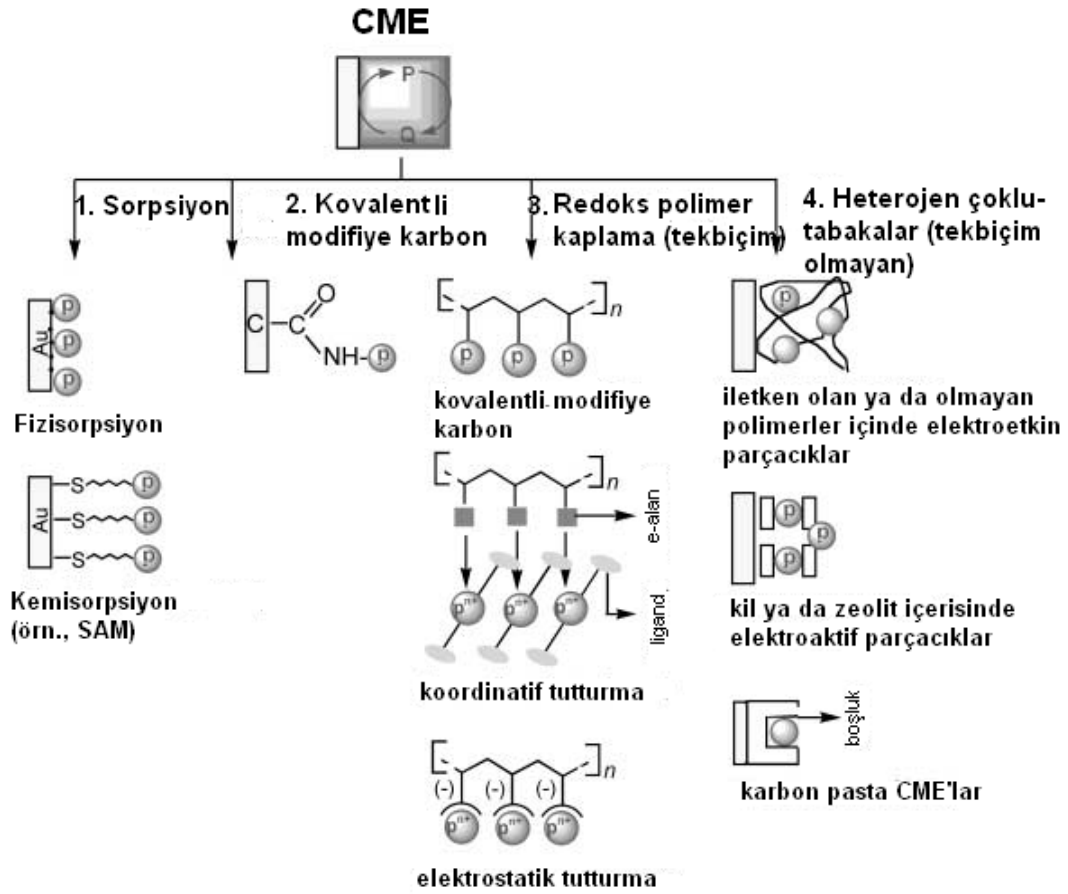
kullanılmadan önce plastik, cam, metal, kağıt gibi yumuşak bir zemin üzerinde parlatılır. CPE hazırlığı çok kolay olmakla birlikte deneyler sırasında elektrot yüzey katmanının düzenli olarak uzaklaştırılmasından ötürü karbon pastanın tüpe yeniden doldurulması gereklidir (Vytras ve ark., 2009).



Şekil 2.7. Karbon pasta elektrotun şematik olarak gösterimi.

2.2.1.1. Kimyasal modifiye karbon pasta elektrot

CPE, yukarıda sayılan üstünlükleri yanısıra hazırlanmasında iletkenliği çok az olan ya da hiç olmayan bağlayıcılar kullanıldığı için metal ve diğer karbon elektrotlarda gözlenenenden daha düşük yüzey elektron aktarım hızına sahiptir. Bundan dolayı, voltametrik sinyal için daha yayvan pikler gözlenirken yöntemin duyarlılığı da düşer. Bu sorunu gidermek için elektrot hazırlık aşamasında elektrot malzemesine değişik materyaller eklenebilir. Son otuz yıl içerisinde elektrot tasarımındaki yeni gelişmeler (yüzey modifikasyonları gibi), heterojen yapısı gereği CPE için çok geniş bir kullanım alanı sağlamıştır (Kalcher, 1990; Kalcher ve ark., 2009; Svancara ve ark., 2009b). Kimyasal modifiye elektrot (CME) hazırlanmasında kullanılan tekniklerden biri, seçilen kimyasalın ince filminin elektrot yüzeyine bağlanması ya da kaplanmasıdır. Bir başka izlenen yol, modifiye edicinin ya bağlayıcı içerisinde çözülerek ya da pastanın homojenizasyon işlemi sırasında ortama katılması şeklinde de olabilir. Elektrot pasta yüzeyinin, in situ modifikasyonu da sıklıkla kullanılan tekniklerden biridir (Gilmartin ve Hart, 1995; Durst ve ark., 1997; Zen ve ark., 2003). CME hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan modifikasyon teknikleri Şekil 2.8’de sunulmuştur.



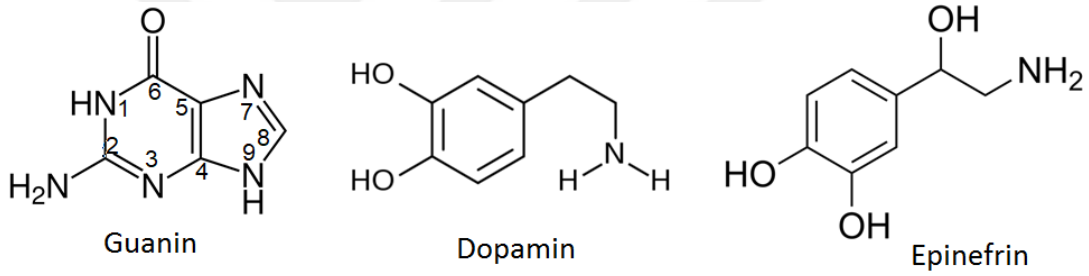
Şekil. 2.8. Kimyasal modifiye elektrotların farklı hazırlama yollarının şematik gösterimi (Zen ve ark., 2003'ten uyarlama).

CME kullanılmasının başlıca nedenleri aşağıdaki şekilde verilebilir:

- (i) Kararlı kimyasal yapıya sahip yüzey morfolojisi oluşturmak
- (ii) Gerilim çalışma aralığını genişletmek
- (iii) Girişim sinyallerinin etkisini azaltmak
- (iv) Voltametrik yöntemin duyarlılığını artırmak

Kimyasal olarak modifiye edilmiş karbon-temelli elektrotlar arasında, polimer film modifiye elektrotlar, elektroanaliz alanında giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bunun nedeni, elektrokimyasal etkin merkezler içeren polimer filmlerin, analitlerin elektrokatalitik özelliklerini, elektrot tepkisinin kararlılığını ve tekrarlanabilirliğini önemli ölçüde artırabilmeleri, yüzeydeki kirlenmeyi azaltmaları ve tepkime hızını arttırmalarıdır.

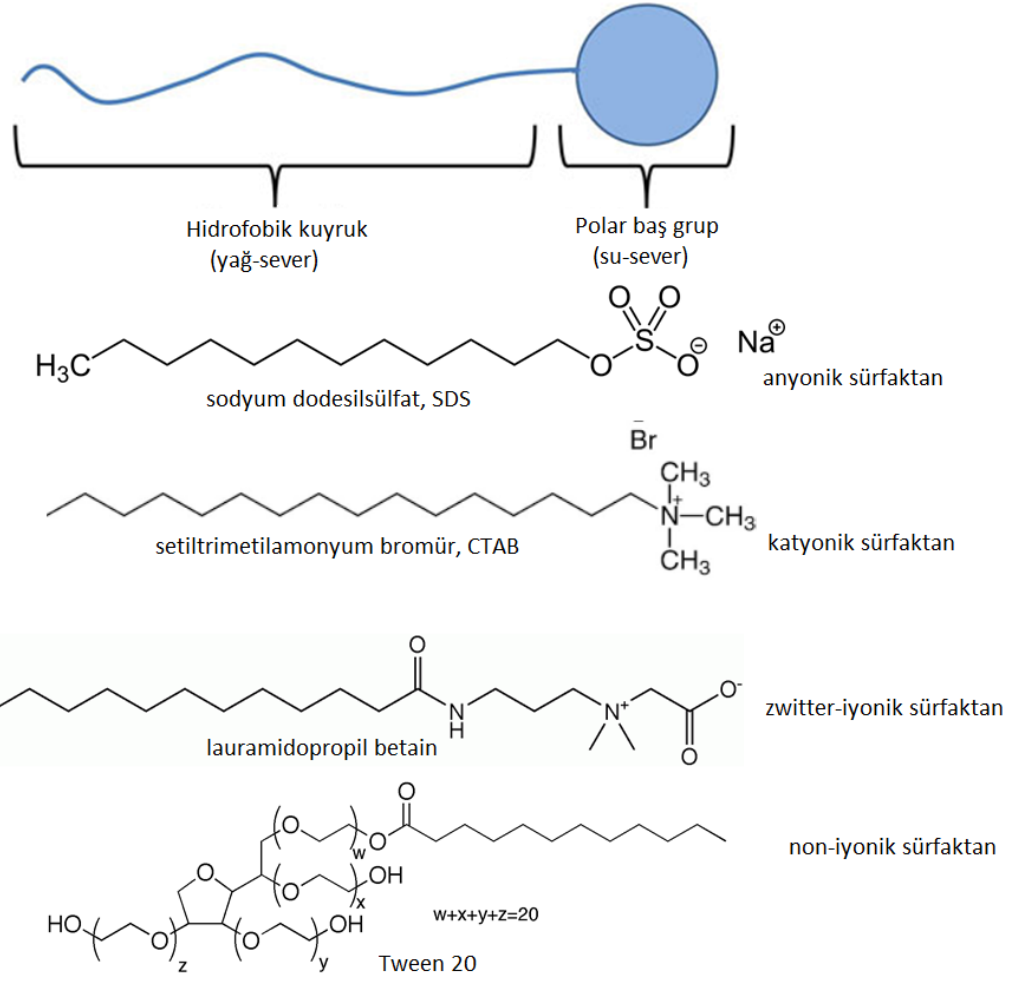
Son yıllarda polimer film modifiye elektrot tasarımında aminoasitler ve katekolaminler, yukarıda sayılan özelliklerin yanısıra kolay temin edilmeleri, dayanıklılıkları ve biyoyumluluk açısından pekçok biyolojik ve klinik etkili maddenin tayininde araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. DNA ve RNA nükleik asitlerinde bulunan beş temel azotlu bazdan (diğerleri; sitozin, timin, adenin ve urasil)biri olan **guanin** (2-amino-6-hidroksipürin),nörotransmitter (sinir ileticisi)ve hormon işlevli katekolaminlerden böbreküstü bezlerinin öz kısmından (adrenal medulla) salgılanan**epinefrin** (adrenalin, 4,5-β-trihidroksi-N-metilfeniletilamin)ilemerkezi sinir sisteminde yaygın (%80) olarak bulunan ayrıca, hipotalamustan da salgılanan**dopamin** (3,4-dihidroksifeniletilamin);**poli(guanin)**, **poli(epinefrin)** ve**poli(dopamin)**yapısını oluşturmak üzere elektrot yüzeyinde kolaylıkla elektropolimerize edilebilir.İlgili monomerlerin kimyasal yapıları Şekil 2.9'da görülmektedir.



Şekil 2.9.Guanin, Dopamin ve Epinefrin'inkimyasal yapısı.

Kolay tasarımları nedeniyle **poli(guanin)**(Li ve Wang, 2015; Li ve ark., 2017), **poli(epinefrin)** (Abdel-Hamid ve Newair, 2013) ve **poli(dopamin)**(Zhang ve ark. 2013; Manokaran ve ark., 2015; Amiria ve ark., 2015; Lee ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2017; Talay Pınar ve ark., 2018) modifiye elektrotlarının biyolojik ve klinik etkili bileşiklerin tayinindeki kullanımları kaynakçada çok yeni olarak yer almaya başlamıştır.

Öte yandan; elektrot modifikasyonunda yüzey aktif madde (sürfaktan) kullanılışı, bu alana yeni ve önemli bir ivme kazandırmıştır(Vittal ve ark., 2006). Yüzey aktif maddeler, hidrokarbon zinciri 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 moleküller olup (Şekil 2.10)suda ya da sulu bir çözeltide çözündükleri zaman, yüzey gerilimini (çoğunlukla azaltma yönünde) etkilerler.



Şekil 2.10. Yüzey aktif madde (sürfaktan) genel yapısı ve bazı örnekler.

Bu eşsiz moleküllerin yapıları nedeni ile elektrokimyadaki kullanılışı ve özellikle de polarografik maksimaları yok ettiği çok iyi bilinmektedir. Elektrot modifikasyonunda ise iki farklı şekilde yol izlerler:

(i) Yüzey modifikasyonu: Ana çözeltilerden yüzey/arayüzeğe taşınarak elektrot yüzeyinde adsorbe olurlar. Bu adsorpsiyon olayı, yüzey aktif maddelerin hidrofobisitesini, yüzey yükünü ve diğer temel özelliklerini değiştirerek pekçok arayüzey işlemini kontrol eder.

(ii) Yüzeyaktif maddeler karbon pasta gibi malzemelerle karıştırılarak da kullanılabilirler.

Elektrot yüzeyinin yüzeyaktif maddelerle modifikasyonunun, elektroanaliz uygulamalarındaki yararı şöyle özetlenebilir:

(i) Çözünürlüğü düşük olan bileşikler misel oluşumu içerisinde çözebilirler.

(ii) Elektrot-çözelti özelliklerini tersine çevirerek elektroetkin türün elektrokimyasal işlemini etkileyebilirler.

(iii) Elektrot yüzeyinin kirlenmesini önleyebilirler.

(iv) Organik bileşiklerin elektroanalizinde yüzeyaktif maddelerin karbon-temelli elektrotlarla birlikte kullanılmasıyla tayinin hem duyarlılığı hem de seçiciliği artabilir.

Çalışma grubumuz çok sayıda hidrofilik ya da hidrofobik karakterli biyomolekülün karbon-temelli elektrotlar üzerinde yüzeyaktif maddeler ile etkileşimini inceleyerek voltametrik analizini gerçekleştirmiştir (Levent ve ark., 2009; Yardım, 2011; Yardım ve Şentürk, 2011; Yardım ve ark., 2011; Levent ve ark., 2014a; Levent ve ark., 2014b; Talay Pınar ve Şentürk, 2016; Yiğit ve ark. 2016; Abdullah ve ark., 2018; Dönmez ve ark., 2018; Talay Pınar ve ark., 2018).

2.2.2. Voltametrik teknikler

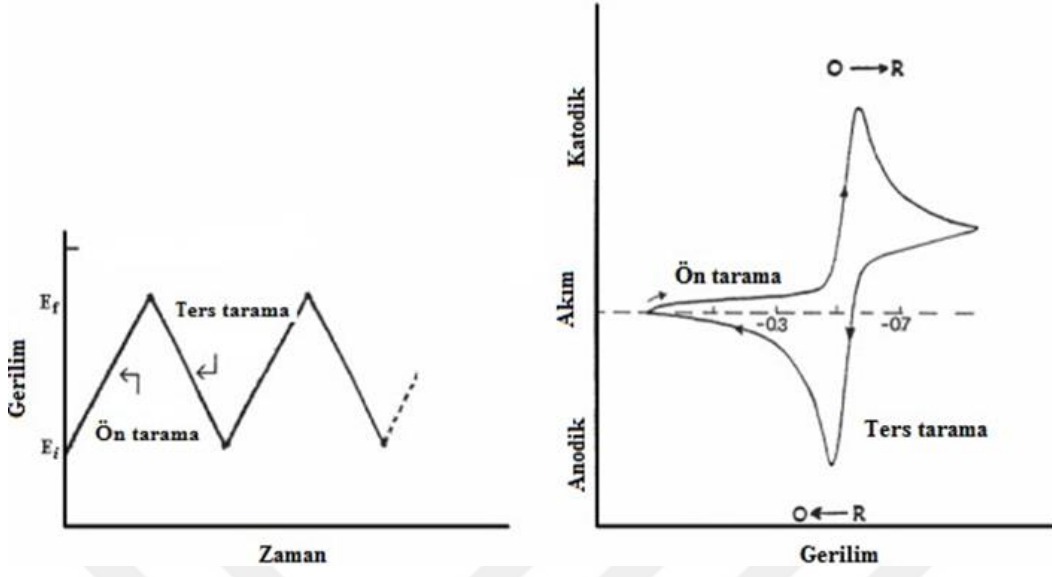
Bu bölümde, sunulan tez çalışmasında kullanılacak olan voltametrik teknikler hakkında kısa bilgi verilecektir (Wang, 2006; Talay Pınar, 2013).

2.2.2.1. Dönüşümlü voltametri

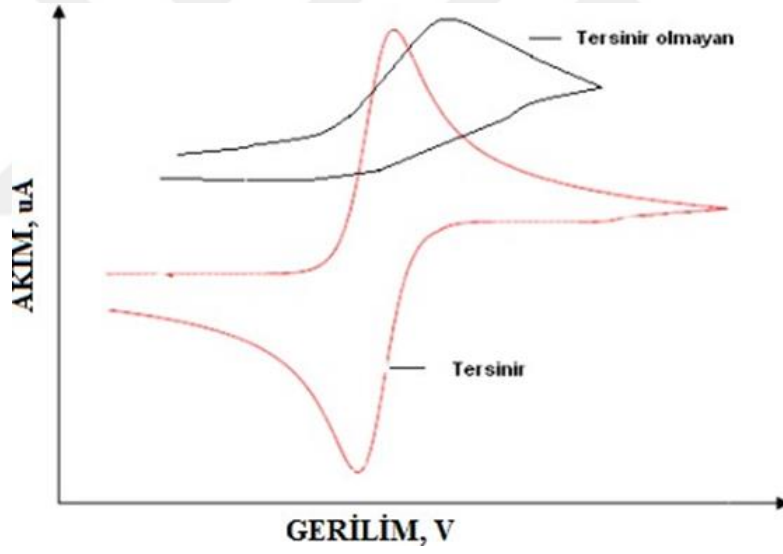
Dönüşümlü voltametri (CV), kimyanın pek çok alanında en yaygın kullanılan elektroanalitik tekniklerden biridir. Miktar tayinine dayalı analizlerde kullanım alanları sınırlı olmakla birlikte redoks tepkimelerinin mekanizmalarını incelemek, ara ürün tepkimelerini araştırmak ve tepkime ürünlerinin stabilitesini elde etmek için kullanılır.

Bu teknik, seçilen çalışma elektrotuna uygulanan gerilimi hem ileri hem de geri yönde (belli tarama hızlarında) değiştirirken akımın kaydedilmesine dayanmaktadır. Bu koşullarda elde edilen akım-gerilim eğrisi bir dönüşümlü voltamogramdır (Şekil 2.11).

Dönüşümlü voltametride önemli değişkenler; anodik ve katodik piklerin gerilimleri (E_{pa} , E_{pc}) ve akımları (i_{pa} , i_{pc}) olup n sayıda elektronlu tersinir bir redoks tepkimesi için 25 °C'de ΔE_p ($E_{pc} - E_{pa}$) = 0.0592/ n V değerine ya da diğer bir deyişle 1 elektron aktarımı için yaklaşık 60 mV değerine eşittir (Şekil 2.12).



Şekil 2.11.Dönüşümlü voltametri tekniğinde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri.

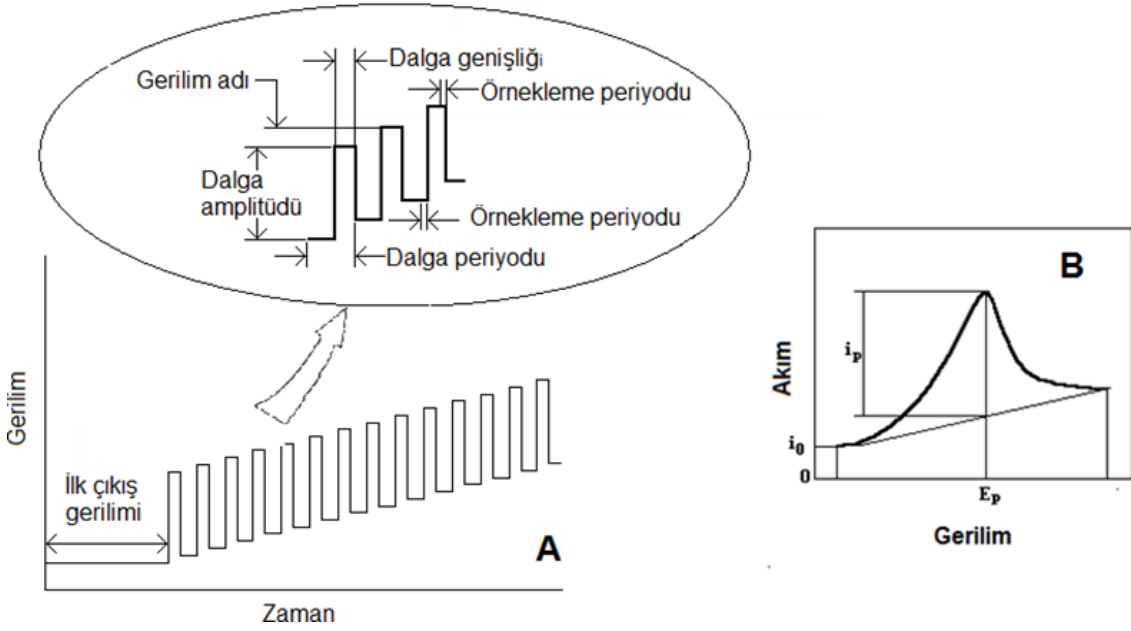


Şekil 2.12.Dönüşümlü voltametri tekniğinde tersinir ve tersinmez voltamogramlar.

2.2.2.2.Kare-dalga voltametrisi

Voltametik yöntemin hızını ve duyarlılığını arttırmak için, yıllar boyunca birçok gerilim modülasyon biçimi denenmiştir. Bu puls tekniklerinden biri olan kare-dalga voltametrisi (SWV) yüksek hıza ve duyarlılığa sahiptir.

SWV tekniğinde pulslar farklı şekillerde uygulanabilir. En çok kullanılan kare-dalga tekniği olan Osteryoung kare-dalga voltametrisine ilişkin bir gerilim dalga şekli ve tipik bir kare-dalga voltagramı Şekil 2.13'de gösterilmiştir. Bu teknik kullanılarak 10^{-7} - 10^{-8} M tayin duyarlılığında analizler yapılabilmektedir.



Şekil 2.13. Kare-dalga voltametrisinde A) kullanılan uyarma sinyali ve B) tipik bir voltagram.

3. MATERYAL VEYÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

3.1.1. Kimyasallar

Kimyasalın adı	Üretici firmanın adı
Kodein HCl	Ipomed
Guanin	Sigma
Dopamin HCl	Sigma
Epinefrin HCl	Sigma
Grafit tozu	Sigma
Parafin yağı	Sigma
Asetik asit (% 100 a/h)	Merck
Hidroklorik asit	Merck
Sülfürik asit	Merck
Fosforik asit (% 85 a/h)	Merck
Borik asit	Merck
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Merck
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Sodyum dodesil sülfat, SDS	Merck
Setiltrimetilamonyum bromür; CTAB (% 99)	Merck

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

3.1.2. Çözeltilerin hazırlanması

3.1.2.1. Kodein çözeltisinin hazırlanması

Kodein stok çözeltisi için standart kodein HCl tuzundan gerekli olan miktar duyarlı olarak tartılmış, 1×10^{-2} M derişimde olacak şekilde su içerisinde günlük olarak ve ışık almayacak şekilde hazırlanmış ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Kodein standart çözeltileri ise analizinden hemen önce seçilen destek elektroliti ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.1.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

Deneylerde destek elektroliti çözeltisi olarak aksi söylenmedikçe fosfat tamponu (0.2 M, pH 2.0-10.0) ve Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M, pH 2.0-10.0) çözeltileri kullanılmıştır. Fosfat tamponu için 0.2 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisine 5 M NaOH çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. BR tamponu için 0.04 M H_3BO_3 , 0.04 M H_3PO_4 ve 0.04 M CH_3COOH karışımını içeren çözeltilere 5 M NaOH çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Tampon çözeltileri hazırlandıktan sonra plastik şişelerde, buzdolabında saklanmıştır.

3.1.2.3. Elektrot modifikasyonu için kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Karbon pasta elektrotunun modifikasyonu için kullanılan guanin monomeri, sudaki çözünürlüğü düşük olduğundan 0.1 M NaOH içerisinde çözüldükten sonra derişimi 1×10^{-2} M olacak şekilde su ile hacme tamamlanmıştır. Aynı derişimdeki dopamin HCl ve epinefrin HCl monomerleri ise doğrudan su içerisinde hazırlanmıştır. Çözeltiler, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.1.2.4. Yüzey aktif madde çözeltilerinin hazırlanması

Yüzey aktif madde içeren ortamdaki elektrokimyasal çalışmalar için anyonik sürfaktan olarak SDS, katyonik sürfaktan olarak CTAB kullanılmıştır. Sürfaktanların değişik derişimlerdeki stok çözeltileri su içerisinde hazırlanmıştır. Uygun destek elektroliti içerisinde çeşitli derişimdeki sürfaktan çözeltilerinin hazırlanmasında stok çözeltilerden yararlanılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Elektrokimyasal analiz cihazı	Autolab PGSTAT 128N (EcoChemie, The Netherlands) GPES 4.9 yazılımı ile (EcoChemie)
Elektrokimyasal deney hücresi	Tek bölmeli 10 mL'lik voltametrik hücre (BAS)
Elektrotlar	
Çalışma elektrotu	● Karbon pasta elektrot ● Modifiye karbon pasta elektrot
Karşılaştırma elektrotu	Ag/AgCl (3 M NaCl, Model RE-1, BAS)
Yardımcı elektrot	Platinum wire (MW 1032BAS)
Taramalı elektron mikroskopu	SEM, Zeiss Evo-Ma 15 (Zeiss, Almanya)
Duyar terazi	Vibra
pH metre	WTW, Inolab pH 720
Ultrasonik banyo	Clifton
Manyetik karıştırıcı	Are
Magnet	Spinb VM micro
Santrifüj	Cooled Hermle Z320
Otomatik mikropipet (Pyrex®)	Eppendorf
Çeşitli boy balonjoje (Pyrex®), pipet (Pyrex®), beher, mezür, deney tüpü, santrifüj tübü, porselen havan	

3.3. Modifiye elektrotun hazırlanması

İşlem görmemiş karbon pasta elektrot (CPE) hazırlamak için 70:30 (a/a) oranında grafit tozu ile mineral yağ homojen şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım daha sonra iç çapı 3 mm olan silindirik bir tüpün boşluğuna sıkıştırılarak doldurulmuştur. Elektriksel iletkenliği sağlamak için tüpteki pastanın içine bakır bir tel yerleştirilmiştir (Şekil 2.7). Hazırlanan CPE yüzeyi yağlı bir kağıt üzerinde homojen hale getirilmiştir. Yeni bir yüzey yaratmak gerektiği zaman pastanın ucundan bir miktar çıkarılarak yüzey parlatma işlemi yinelenmiştir.

İşlem görmemiş CPE'a daha sonra ilgili kimyasal monomerler (guanin, dopamin, epinefrin) ile elektropolimerizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla bu monomerlerin belli

derişimlerini içerendestek elektrolitiçözeltisivoltametrik hücreye konulmuş ve içerisine elektrotlar yerleştirilmiştir. Modifikasyon işlemi için kullanılan CV tekniğı ile belligerilim aralığında, gerilim tarama hızında vedöngü sayısında (ilgili değerler Çizelge 4.2'de sunulmuştur)750 rpm karıştırma hızında voltamogramlar alınmıştır. Elde edilen poli(guanin), poli(dopamin) vepoli(epinefrin) modifiye karbon pasta elektrotlar tezin sonraki bölümlerinde sırasıyla **PGA/CPE**, **PDA/CPE** ve **PEP/CPE** olarak gösterilecektir. Elektropolimerizasyon işleminden sonra modifiye elektrotlar monomer çözeltilisinden gelebilecek kalıntıları uzaklaştırmak için su ile yıkanmış ve havada kurumaya bırakılmıştır.

3.4. Voltametrik Yöntem

Kodein bileşiğinin elektrokimyasal davranışının incelenmesine yönelik işlem görmemiş ve modifiye CPE'lar kullanılarak gerçekleştirilen ön çalışmalarda CV tekniğı uygulanmıştır. Elektroanalitik yöntem geliştirme aşamasında ise SWV tekniğinden yararlanılmıştır. Tüm ölçümler 3 kez tekrarlanmak koşulu ile Şekil 2.5'de gösterilen 10-mL'likvoltametrik hücre içerisinde laboratuvar sıcaklığında ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) gerçekleştirilmiştir.

3.5. Voltametrik Yöntemin Tabletlere Uygulanması

Yöntemin tablet ilaç şekline uygulamasında eczanelerden temin edilen ve ağrı kesici ve ateş düşürücü etkili Gergaline-K® tabletleri kullanılmıştır. Her bir tablet 500 mg parasetamol, 30 mg kafein ve 10 mg kodein fosfat içermektedir. Beş adet tablet tartılarak bir tabletin ortalama ağırlığı hesaplanmıştır. Tabletler bir havanda iyice toz haline getirildikten sonra 10^{-3} M kodeine eşdeğer miktarda tartılmış ve içerik 100-mL'lik balonjojede su ile hacme tamamlanmıştır. Balonjojedeki içerik, etken maddenin tam çözünmesinin sağlanması için yaklaşık 20 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur. Tabletlin çözünmeyen kısımlarının tamamen çökmesi beklendikten sonra üstteki berrak kısımdan belirli hacim alınmış veen iyi koşullar için seçilen destek elektroliti içeren voltametrik hücreye eklenmiştir. Voltamogramlar daha önceden belirlenen SWV değişkenlerine göre kaydedilmiştir. Miktar tayini işlemi kalibrasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kodein'in Karbon Pasta Elektrot Üzerinde Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

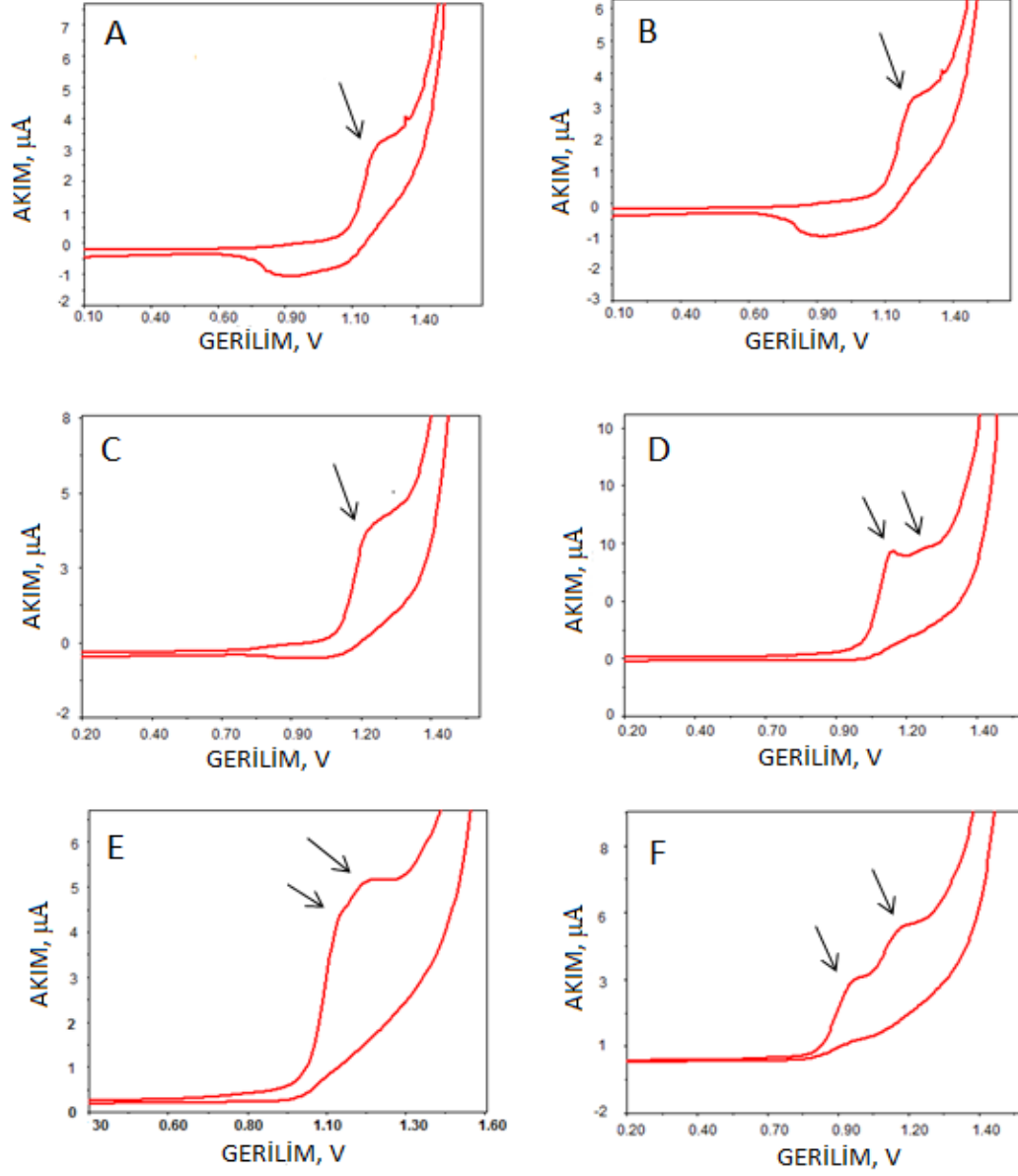
Kodein bileşiminin işlem görmemiş CPE üzerindeki elektrokimyasal yükseltgenmesini anlamak için başlangıç deneyleri pH 2.0-9.0 aralığında sulu ve yüzey aktif madde içeren ortamda CV ve SWV teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. Kodein'in sulu ortamda elektrokimyasal davranışı

Araştırmanın başlangıcında 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) içerisinde (+0.2 V) - (+1.4 V) - (+0.2 V) gerilim tarama aralığında ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. İlgili voltamogramlar Şekil 4.1'de verilmiştir. Kodein molekülü, pH 2.0-4.0 aralığında tek basamakta yükseltgenmektedir. Yükseltgenme pik gerilimleri pH değeri arttıkça daha düşük pozitif gerilime kaymaktadır (pH 2.0 değerinde +1.95 V, pH 3.0 değerinde +1.23 V ve pH 4.0 değerinde +1.20 V). pH > 4 değerlerinde ise tek basamaklı yayvan pik iki ayrı basamağa ayrılmakta ve nötral çözeltide (pH = 7.0) bu basamaklar birbirinden ayrılmaktadır. pH 5.0 değerinde ilk yükseltgenme basamağının gerilimi, +1.13 V, ikinci yükseltgenme basamağının gerilimi +1.24 V, pH 6.0 değerinde ilk yükseltgenme basamağının gerilimi +1.09 V, ikinci yükseltgenme basamağının gerilimi +1.17 V, pH 7.0 değerinde ise ilk yükseltgenme basamağının gerilimi +0.95 V, ikinci yükseltgenme basamağının gerilimi +1.13 V olarak okunmuştur. Molekülün yükseltgenmesinden sonra gerilim taramasına katodik bölgede devam edildiğinde çalışılan gerilim aralığında hiçbir indirgenme basamağına rastlanmamaktadır.

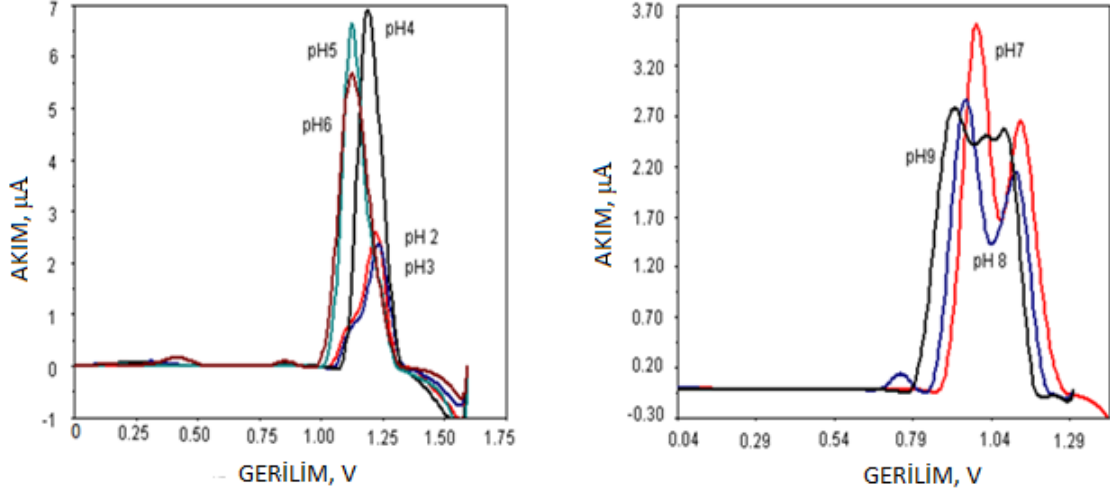
Kodein molekülünün CPE üzerindeki elektrokimyasal yükseltgenmesi, bu molekül ve metabolitlerinin camımsı karbon elektrot (GCE) kullanılarak gerçekleştirilen deney bulguları ile büyük benzerlik göstermektedir (Garrido ve ark., 2004). Araştırmacıların kodein metabolitlerinden norkodein (tersiyer amin grubu içermez) ve 6-klorodezoksikodein (6-OH grubu 6-Cl grubuyla yer değiştirmiştir) bileşikleriyle

yaptıkları kıyaslamalı çalışma, bu iki yükseltgenme basamağının moleküldeki tersiyer amin ve 6-OH grubuyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

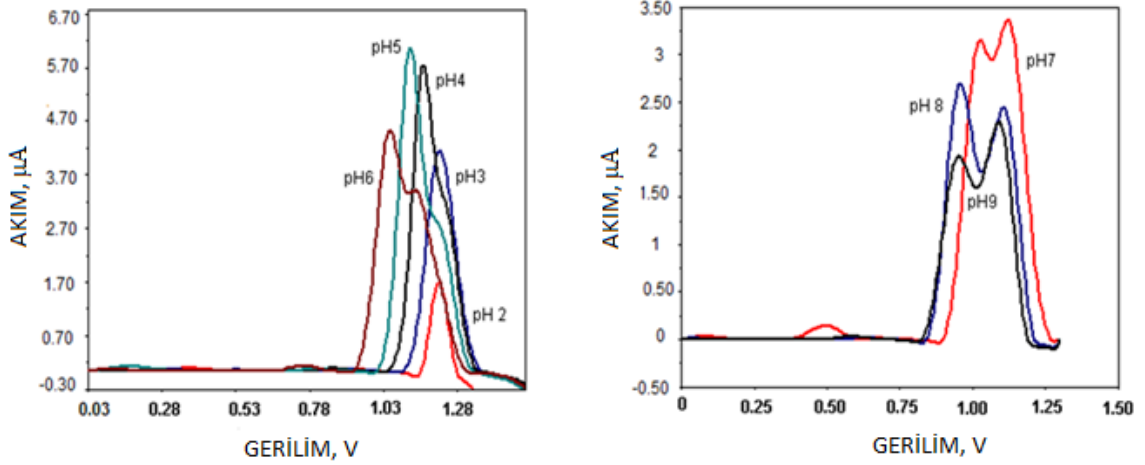


Şekil 4.1. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin farklı pH değerlerindeki (A, 2.0; B, 3.0; C, 4.0; D, 5.0; E, 6.0; F, 7.0) fosfat tamponu içerisinde dönüşümlü voltamogramları. Elektrot, CPE; gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} .

SWV tekniğinin ayırıcılığı ve duyarlılığı daha iyi olduğu için araştırmanın devamında 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin voltamogramları pH 2.0-9.0 aralığında fosfat (Şekil 4.2) ve BR (Şekil 4.3) tamponları içerisinde bu teknik kullanılarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.2. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu içerisinde farklı pH değerlerinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.



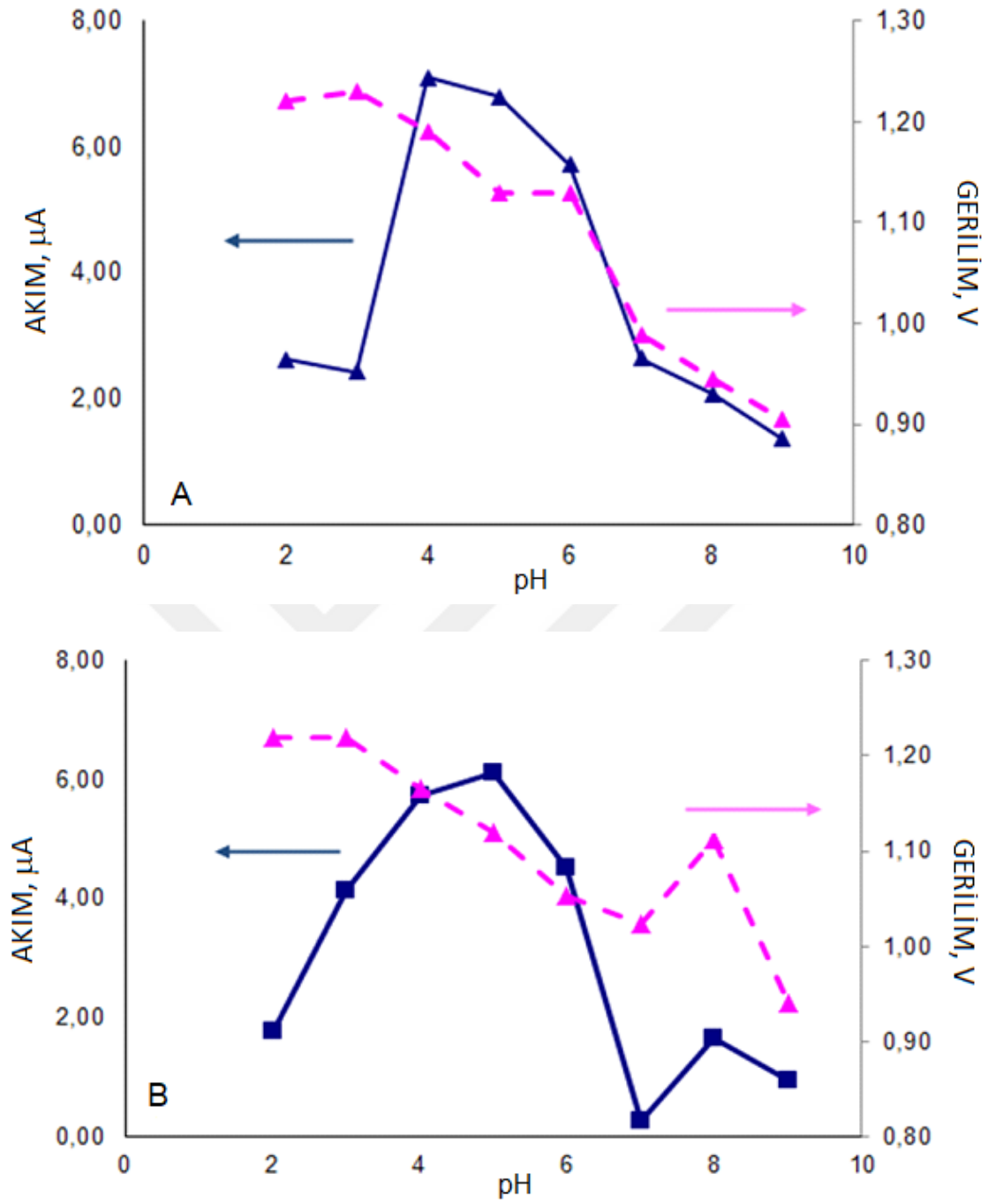
Şekil 4.3. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin BR tamponu içerisinde farklı pH değerlerinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

SW eğrilerinden de görüldüğü üzere; kodein bileşiğinin anodik yükseltgenmesi, pH bağımlı çok karmaşık bir mekanizma ile yürümektedir. Fosfat tamponu, pH 9.0 ortamında iki yükseltgenme basamağına ek olarak üçüncü bir basamak daha gözlenmektedir. Bu yeni pik, GCE üzerinde de gözlenmiş (Garrido ve ark., 2004) ve molekülün 3-metoksi grubuyla ilişkilendirilmiştir.

SWV eğrileriyle saptanan ilk yükseltgenme basamağına ilişkin pik akımı (i_p) ve pik gerilimi (E_p) değerleri Çizelge 4.1'de ve pH- i_p ve pH- E_p grafikleri Şekil 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat ve BR tamponları içerisinde elde edilen SW voltamogramlarına ilişkin pik gerilimi ve pik akımı üzerine pH etkisi.

Ortam	E_p (V)	i_p (μA)	Ortam	E_p (V)	i_p (μA)
pH 2.0 fosfat tamponu	+ 1.22	2.64	pH 2.0 BR tamponu	+ 1.22	1.79
pH 3.0 fosfat tamponu	+ 1.23	2.43	pH 3.0 BR tamponu	+ 1.22	4.15
pH 4.0 fosfat tamponu	+ 1.19	7.10	pH 4.0 BR tamponu	+ 1.17	5.72
pH 5.0 fosfat tamponu t	+ 1.13	6.80	pH 5.0 BR tamponu	+ 1.12	6.10
pH 6.0 fosfat tamponu	+ 1.13	5.72	pH 6.0 BR tamponu	+ 1.05	4.53
pH 7.0 fosfat tamponu	+ 0.99	2.65	pH 7.0 BR tamponu	+ 1.02	0.27
pH 8.0 fosfat tamponu	+ 0.95	2.09	pH 8.0 BR tamponu	+ 1.11	1.68
pH 9.0 fosfat tamponu	+ 0.91	1.38	pH 9.0 BR tamponu	+ 0.94	0.95



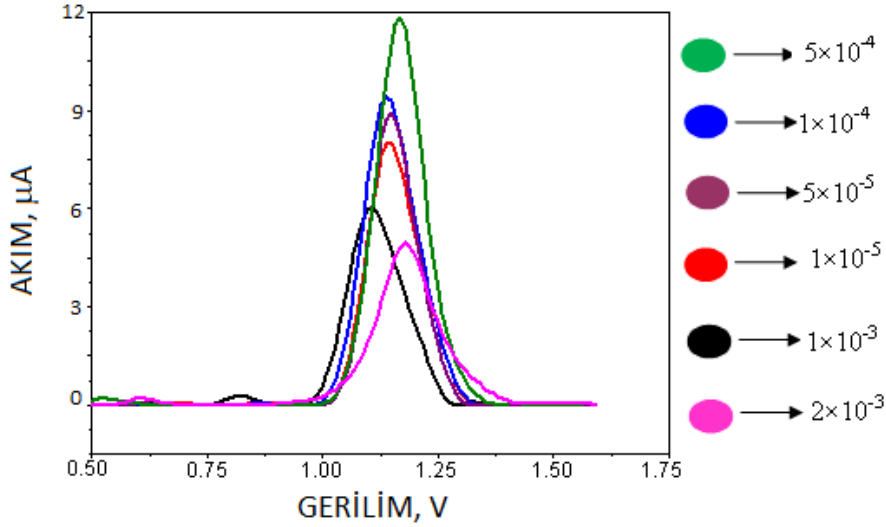
Şekil 4.4. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin (A) fosfat tamponu (pH 2.0-9.0) ve (B) BR tamponu (pH 2.0-9.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Elektrot, CPE; yöntem, SWV. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

SWV ile elde edilen bulgulardan görüldüğü üzere pik gerilimi genel olarak pH arttıkça daha düşük gerilim değerlerine kaymaktadır. Bazı pH değerlerindeki sapma, birinci basamak üzerinde diğer basamakların etkili olabileceğini düşündürmektedir. Pik akımı açısından en yüksek değerlere zayıf asidik çözeltilerde (pH 4.0 ve 5.0), en yüksek pik akımı değerine ise fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde ulaşılmıştır. Ayrıca bu ortamda tek basamaklı keskin, sivri ve iyi belirlenmiş pikler elde edilmiştir.

4.1.2. Kodein'in yüzey aktif madde varlığında elektrokimyasal davranışı

Kodein bileşiğinin işlem görmemiş CPE üzerinde sulu ortamdaki elektrokimyasal yükseltgenmesinin incelenmesinden sonra bu bölümde anyonik (negatif yüklü) sürfaktan olan SDS'nin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi araştırılmıştır. İyi ayrılmış ve keskin sinyaller SWV tekniği ile elde edildiği için, çalışmalara bu teknik kullanılarak devam edilmiştir.

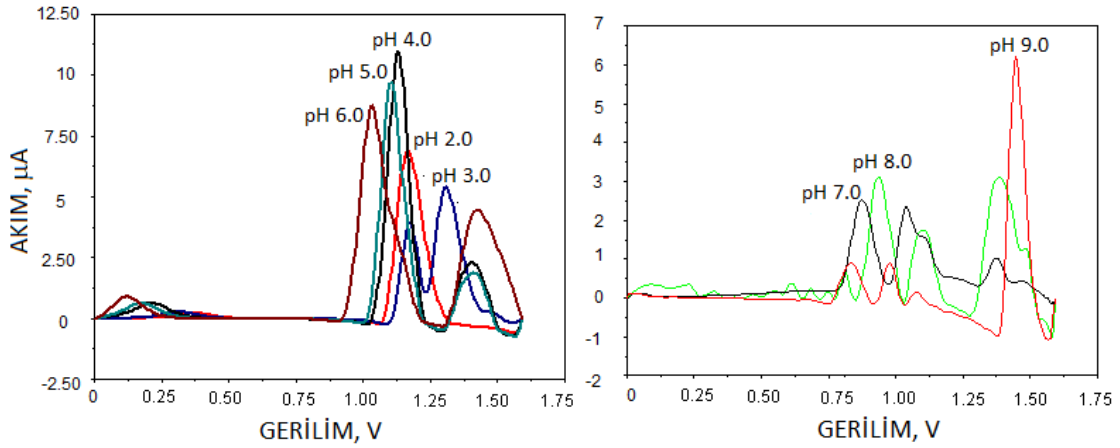
Şekil 4.5'de 1×10^{-4} M kodein içeren fosfat tamponu (pH 4.0) çözeltisine farklı derişimlerde (1×10^{-5} , 5×10^{-5} , 1×10^{-4} , 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 2×10^{-3} M) katılan SDS varlığında elde edilen voltamogramlar görülmektedir.



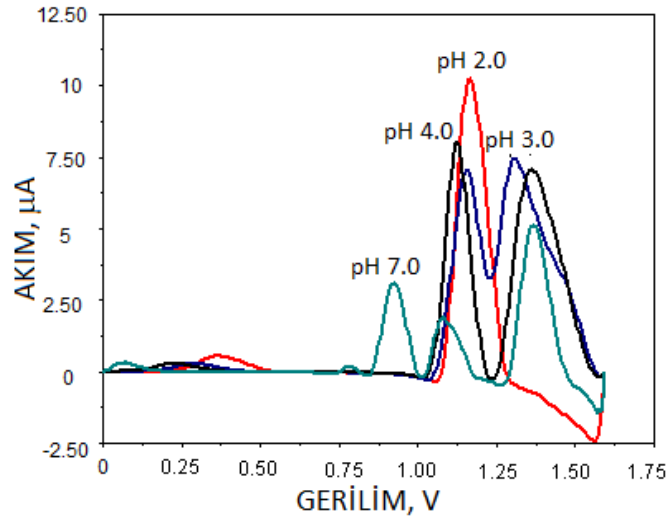
Şekil 4.5. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin değişik derişimlerde SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

Kodein molekülü üzerinde anyonik sürfaktan derişiminin etkisi incelendiğinde; pik akımı şiddetinin $5 \times 10^{-4} \text{M}$ SDS derişimine kadar arttığı sonrasında düşmeye başladığı gözlenmektedir.

SDS varlığında kodein tayini için en iyi çalışma ortamınıyeniden belirlemek amacıyla $5 \times 10^{-4} \text{M}$ SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-9.0) (Şekil 4.6) ve BR tamponu (pH 2.0-7.0) (Şekil 4.7) çözeltilerinde voltamogramlar kaydedilmiştir.



Şekil 4.6. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ kodein çözeltisinin $5 \times 10^{-4} \text{M}$ SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-9.0) içerisinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 30 \text{ mV}$.



Şekil 4.7. $1 \times 10^{-4} \text{M}$ kodein çözeltisinin $5 \times 10^{-4} \text{M}$ SDS içeren BR tamponu (pH 2.0-7.0) içerisinde SW voltamogramları. Elektrot, CPE. SW değişkenleri: $f = 50 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$, $\Delta E_{sw} = 30 \text{ mV}$.

SDS içeren fosfat ve BR tamponu içerisindeki voltamogramlar incelendiğinde, SDS'siz ortamda tek yükseltgenme basamağının gözlemlendiği daha düşük pH değerlerinde (pH 3.0 ve 4.0) de piklerin yarıldığı, iki ya da üçüncü basamakların belirdiği gözlemlenmiştir. Sürfaktan varlığında artan piklerin oluşumu, SDS'nin olası ara tepkime ürünlerini sağlamlaştırdığının göstergesi olabilir. Günümüzde kodein 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 çalışmamızın devamından edinilecek bilginin bu grup bileşiklerin yükseltgenme çalışmalarına önemli ölçüde ışık tutacağı açıktır.

SDS varlığında da analitik açıdan en iyi ortamın fosfat tamponu pH 4.0 olduğu saptanmıştır. Bu koşulda ilk yükseltgenme basamağı ikinci basamaktan gayet belirgin bir şekilde ayrılmış olup pik akımı en yüksek değerine ulaşmıştır. SDS eklenmemiş fosfat tamponu pH 4.0 çözeltilerinde + 1.19 V'da beliren kodein yükseltgenme pikinin şiddeti 7.1 μA değerinde iken; 5×10^{-4} M SDS içeren aynı çözeltilerde bu basamak daha negatif gerilim değerine kaymış (+ 1.13 V) ve şiddeti de 11.4 μA değerine ulaşmıştır.

4.2. Kodein'in Modifiye Karbon Pasta Elektrot Üzerinde Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Araştırmanın bu bölümünde kodein bileşiğinin üç farklı modifiye CPE (mCPE) üzerindeki elektrokimyasal yükseltgenmesi, sulu ve yüzey aktif madde içeren ortamda CV ve SWV teknikleri kullanılarak araştırılmıştır.

4.2.1. Polimer modifiye karbon pasta elektrotlarının hazırlanması

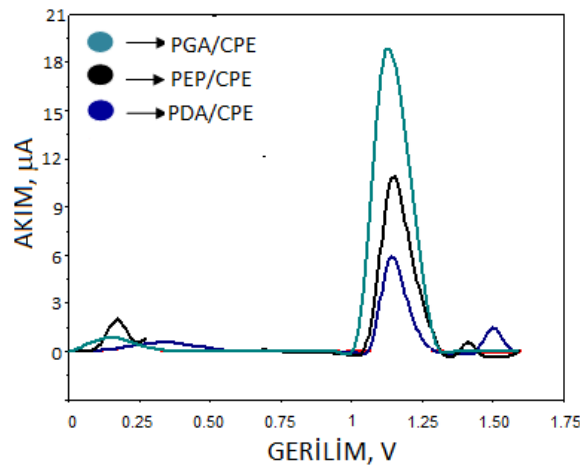
Polimerik film modifiye elektrotların hazırlanmasında şimdiye kadar kullanılan yöntemler arasında en uygun olanı elektropolimerizasyon tekniğidir. Bu yolla hazırlanan iletken polimer filmin tasarımı kontrol edilebilir ve basit olup çözücü-buharlaştırma tekniğinden kaynaklanan sorunlarla karşılaşmaz (Harsanyi, 2000; Rajesh ve ark.,

2009).CPEmodifikasyon işleminde modifiye edici maddeler olarak guanin, dopamin ve epinefrin isimli üç farklı kimyasal kullanılmıştır. Bu üç bileşiğin Bölüm 3.3'de anlatıldığı şekilde CPE yüzeyine CV tekniği ile elektropolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerinin CPE yüzeyine modifikasyonu için kullanılan eniyideğişkenlere ilişkin bilgiler Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2.Optimum modifikasyon değişkenleri

Modifiye edici	Ortam	Derişim (M)	Gerilim aralığı (V)	Gerilimtarama hızı (mV s^{-1})	Döngü sayısı
Guanin	fosfat tamponu pH 10.0	5×10^{-4}	-0.2/+1.4/-0.2	100	10
Dopamin	fosfat tamponu pH 5.0	1×10^{-3}	-0.4/+1.4/-0.4	100	8
Epinefrin	fosfat tamponu pH 5.0	1×10^{-3}	-0.1/+1.4/-0.1	100	5

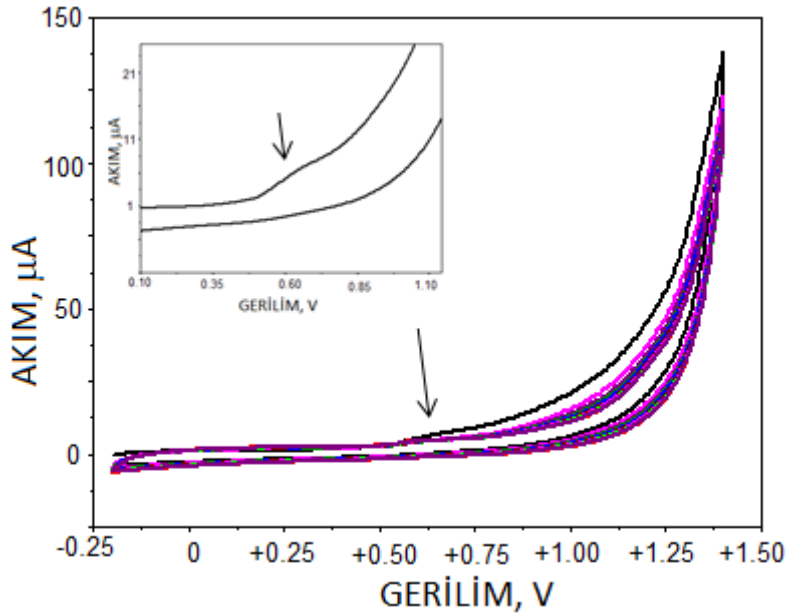
Üç farklı mCPE kullanılarak (PGA/CPE, PDA/CPE ve PEP/CPE), 1×10^{-4} M kodein bileşiğinin fosfat tamponu (pH 4.0) çözeltisi içerisinde kıyaslamalı SW voltamogramları Şekil 4.8'de sunulmuştur. Voltamogramlardan görüldüğü gibi kodein bileşiğinin yükseltgenmesine ilişkin pikin en yüksek değeri PGA/CPE kullanıldığında elde edilmiştir.



Şekil 4.8. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde üç farklı mCPE üzerinde elde edilen SW voltamogramları. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

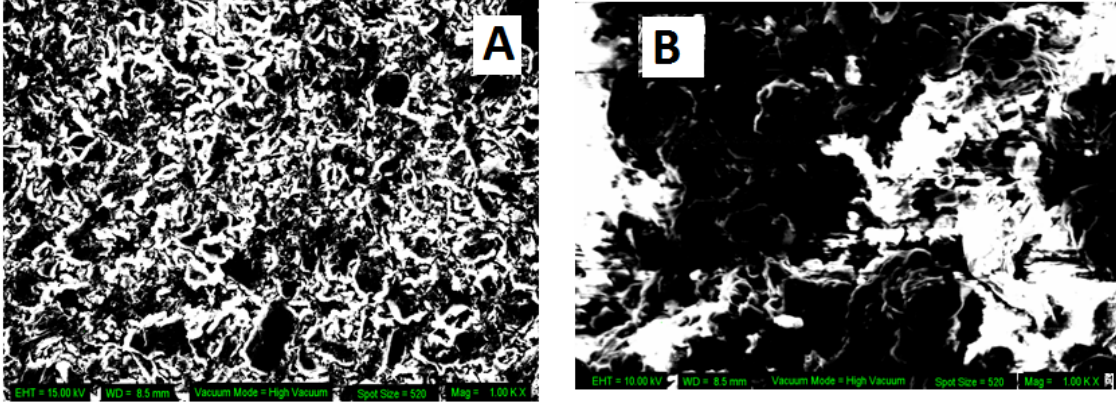
Polimer modifiye elektrot tasarımına yönelik ön çalışma bulgularımız sonucunda araştırmanın sonraki bölümüne poli(guanin) modifiye karbon pasta elektrot (PGA/CPE) kullanılarak devam edilmesine karar verilmiştir.

Şekil 4.9'da guanın bileşiğinin fosfat tamponu (pH 10.0) çözeltisi içerisinde CPE yüzeyinde elektropolimerizasyonu sırasında kaydedilen çok döngülü voltamogramları görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, ilk döngüde çalışılan gerilim tarama aralığında +0.70 V dolayında $4e^-$ aktarımı ile yürüyen (guanin için tipik) bir yükseltgenme basamağı belirlemiştir. Sonraki 9 döngü hemen hemen üst üste binmiş olup bu olgu CPE yüzeyinde guanın kütsel elektropolimerleşmesinin ilk döngüde oluştuğunu göstermektedir. Bununla birlikte; tekrarlanabilir sonuçları garanti edebilmek için elektrota 10 CV döngüsü uygulanmıştır.



Şekil 4.9. CPE yüzeyinde PGA elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramları. Guanin derişimi, $5 \times 10^{-4} M$; destek elektroliti, fosfat tamponu (pH 10.0); gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} ; döngü sayısı, 10; gerilim tarama aralığı, (-0.2 V) – (+1.4V).

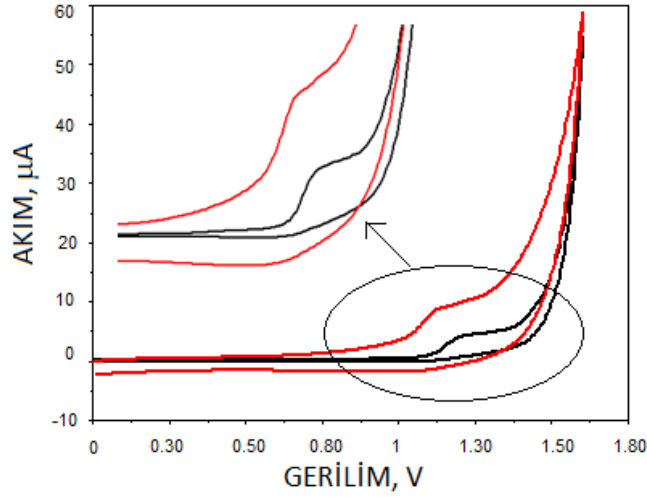
PGA/CPE için elektrot yüzey karakterizasyonu (tanımlanması) amacıyla taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.10'da CPE ve PGA/CPE yüzeylerinin SEM görüntüleri görülmektedir. Elektrot yüzeylerinin SEM görüntüleri kıyaslandığı zaman yüzey morfolojisindeki değişiklik açıkça görülmektedir.



Şekil 4.10.CPE (A) ve PGA/CPE (B) yüzeylerinin SEM görüntüleri.

4.2.2.Kodein'in elektrokatalitik yükseltgenmesi

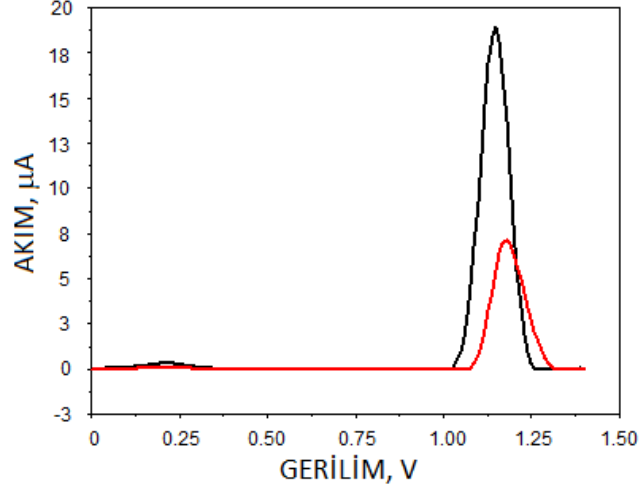
Kodein bileşiğinin (1×10^{-4} M), CPE ve PGA/CPE kullanılarak fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde kaydedilen CV eğrileri Şekil 4.11'de, SWV eğrileri ise Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.11. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlem görmemiş CPE (siyah) ve PGA/CPE (kırmızı) üzerinde elde edilen CV eğrileri. Gerilim tarama hızı, 100 mV s^{-1} .

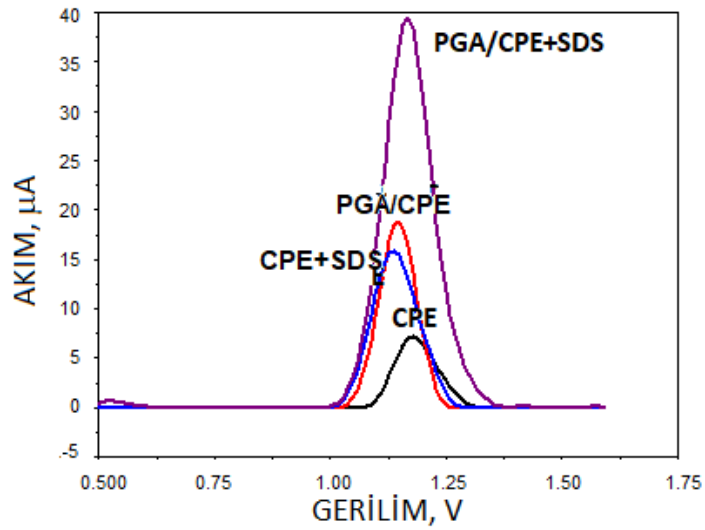
Eğriler kıyaslandığında; PGA/CPE kullanılması durumunda kodein pik geriliminin daha düşük pozitif gerilim değerine kaymış olması ve pik akımında da bir artış gözlemlenmesi polimer modifiye elektrotun kodein yükseltgenmesi üzerinde

elektron aktarım hızını artırdığını ve mükemmel elektrokatalitik etkisi olduğunu vurgulamaktadır.



Şekil 4.12. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlem görmemiş CPE (kırmızı) ve PGA/CPE (siyah) üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

Anyonik sürfaktan, SDS varlığında ise en yüksek pik akımı değerine PGA/CPE kullanıldığında ulaşılmıştır. Şekil 4.13'de, SDS'siz ve 5×10^{-4} M SDS'li fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde CPE ve PGA/CPE ile alınan SW voltamogramları görülmektedir. Voltamogramlara ilişkin veriler Çizelge 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.13. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin SDS içermeyen ve 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4) içerisinde işlem görmemiş CPE ve PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

Çizelge 4.3. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin SDS içermeyen ve 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4) içerisinde CPE ve PGA/CPE ile elde edilen pik akımı ve pik gerilim değerleri.

	E_p (V)	i_p (μ A)
CPE	+ 1.19	7.0
CPE+SDS	+ 1.14	12.1
PGA/CPE	+ 1.15	19.5
PGA/CPE+SDS	+ 1.17	39.4

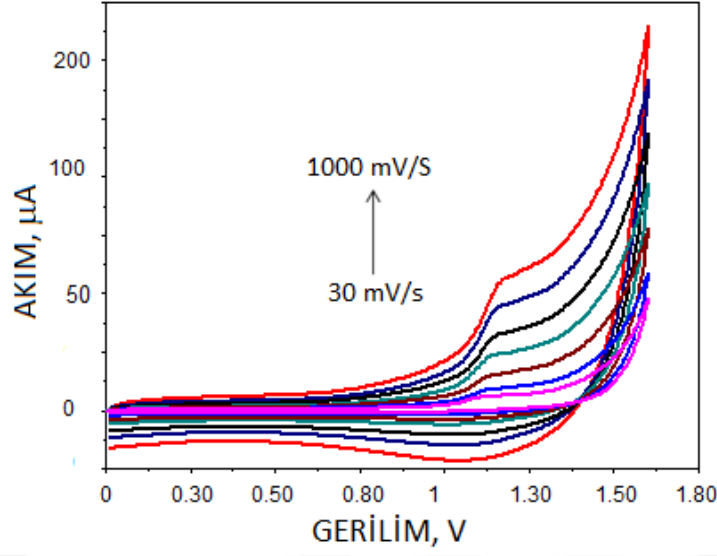
4.2.3. PGA/CPE üzerinde deneysel değişkenlerin incelenmesi

Önceki bölümde verilen bulguların ışığında; tez çalışmasının devamında PGA/CPE kullanılarak anyonik sürfaktan, SDS içeren çözelti ortamında kodein bileşiğinin elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerinde deneysel koşulların etkisi araştırılacaktır.

4.2.3.1. Gerilim tarama hızının etkisi

Gerilim tarama hızının kodein molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine etkisini incelemek amacıyla 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4) içerisinde (0.0V)-(+1.6V)-(0.0V) gerilim tarama aralığında 0.0 V başlangıç gerilimi ile 30-1000 mVs^{-1} arasındaki gerilim tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir.

İlgili voltamogramlar Şekil 4.14'de ve bu voltamogramlar yardımıyla saptanan gerilim tarama hızı (ν) ile pik akımı (i_p) ve pik gerilimi (E_p) arasındaki ilişkisi Çizelge 4.4'de verilmiştir.

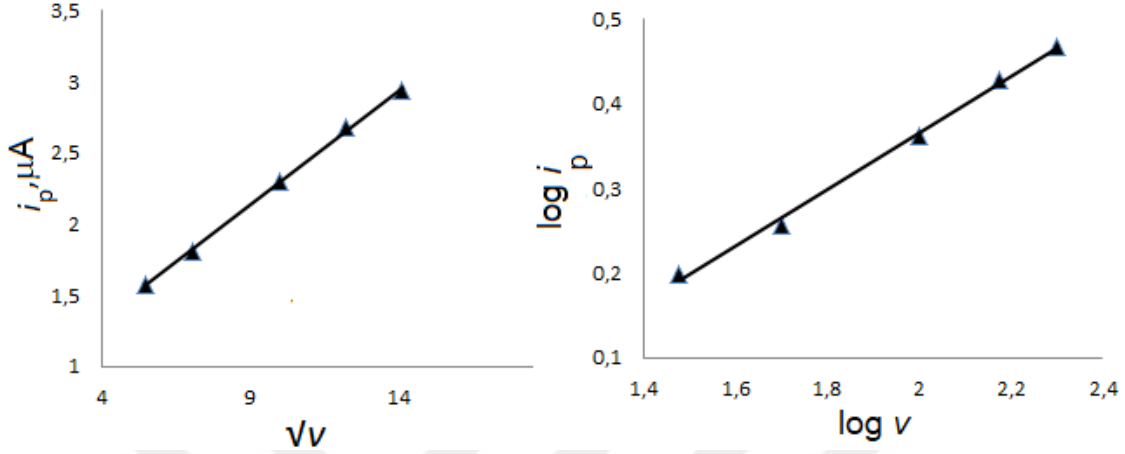


Şekil 4.14. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4) içerisinde PGA/CPE üzerinde 30-1000 mVs⁻¹ aralığında gerilim tarama hızıyla elde edilen CV eğrileri.

Çizelge 4.4. Kodein molekülünün pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Yöntem, CV; kodein derişimi, 1×10^{-4} M; destek elektroliti, 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4); elektrot, PGA/CPE

ν (mVs ⁻¹)	$\sqrt{\nu}$	log ν	i_p (µA)	log i_p	E_p (V)
30	5.48	1.48	1.62	0.21	1.09
50	7.07	1.70	1.80	0.26	1.10
75	8.66	1.88	1.77	0.25	1.12
100	10.00	2.00	2.14	0.33	1.12
150	12.25	2.18	2.68	0.43	1.13
200	14.14	2.30	2.94	0.47	1.14
300	17.32	2.48	5.97	0.78	1.14
400	20.00	2.60	7.05	0.85	1.14
500	22.36	2.70	7.04	0.85	1.15
600	24.49	2.78	10.17	1.01	1.15
700	26.46	2.85	9.90	1.00	1.15
800	28.28	2.90	9.95	1.00	1.16
900	30.00	2.95	12.03	1.08	1.16
1000	31.62	3.00	12.72	1.10	1.17

Çizelge'deki bulguların yardımıyla çizilen $\sqrt{v} - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri incelendiğinde pik akımının 30-200 mVs^{-1} hız aralığında doğrusal olarak değiştiği görülmüştür (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Kodein molekülünün gerilim tarama hızı-pik akımı ilişkisi. Yöntem, CV; kodein derişimi, 1×10^{-4} M; destek elektroliti, 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4); elektrot, PGA/CPE.

30-200 mV s^{-1} gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallık denklemleri aşağıdaki gibidir:

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.16 \sqrt{v} (\text{mV s}^{-1}) + 0.694 \quad r = 0.999$$

$$\log i_p = 0.334 \log v - 0.30 \quad r = 0.998$$

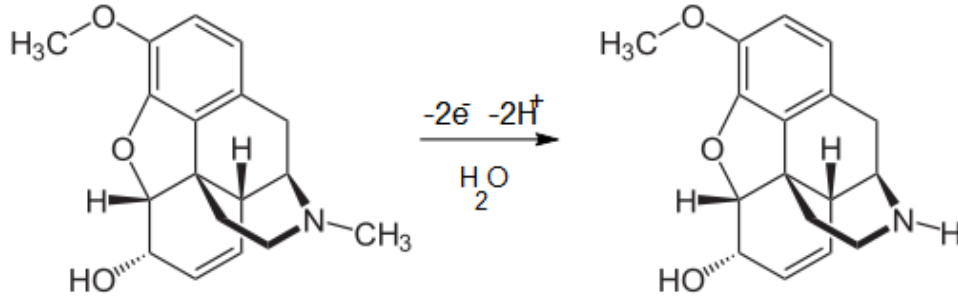
$\sqrt{v} - i_p$ ilişkisindeki doğrusallık bulgusu, kodein molekülünün yükseltgenme olayının çalışılan koşulda diffüzyon kontrollu olduğunu ifade eder. Bunun yanı sıra $\log v - \log i_p$ ilişkisinde doğru denkleminin 0.5 değerinden küçük olması yükseltgenme olayının diffüzyon karakterli olduğunu kanıtlamaktadır (Bard ve Faulkner, 2000).

Diğer taraftan, çalışılan gerilim tarama hızı aralığında (30-1000 mV s^{-1}) yükseltgenme basamağı hafifçe daha pozitif gerilim değerlerine doğru kaymıştır. Bu olgu, tersinmez ya da yarı-tersinir elektrokimyasal tepkime için karakteristiktir.

Kodein yükseltgenme işleminde aktarılan elektron sayısı (n), tersinmez elektrot işleminde geçerli olan $an = 47.7 / (E_p - E_{p/2})$ eşitliği gereğince CV ölçümlerini kullanarak hesaplanabilir (Gosser, 1993). Voltamogramlardan pik gerilimi ile yarı-dalga geriliminin arasındaki fark ($E_p - E_{p/2}$), 0.41 V olarak hesaplanmıştır. Böylece yaklaşık

olarak $an = 1.163$ olarak saptanır. Genellikle tersinmez elektrot işleminde α (aktarım katsayısı) = 0.5 kabul edilebilir. Bu durumda, $n = 2.33 (\approx 2)$ olarak elde edilir. Bu sonuç, tersinmez olarak yürüyen kodein molekülünün yükseltgenmesi işleminde molekül başına 2 elektronaktarıldığını göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı, kodein bileşiğinin redoks işlemini ayrıntılı olarak incelemek olmamakla birlikte kısa bir yorum yapılabilir: Kodein ve metabolitlerinin GCE üzerinde gerçekleştirilen ve bu tez kapsamında sunulan çalışmada elde edilen bulgularla benzerlik gösteren bulgularının ışığında (Garrido ve ark., 2004), molekülün ilk yükseltgenme basamağının, yapısında bulunan tersiyer amin grubunun norkodein yapısını oluşturmak üzere $2e^-$ ve $2H^+$ aktarımı ile sekonder amine yükseltgenmesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz (Şekil 4.16). Molekülün ikinci yükseltgenme basamağı 6-OH grubunun, üçüncü yükseltgenme basamağı ise 3-OCH₃ grubunun yükseltgenmesi ile ilişkili olabilir.

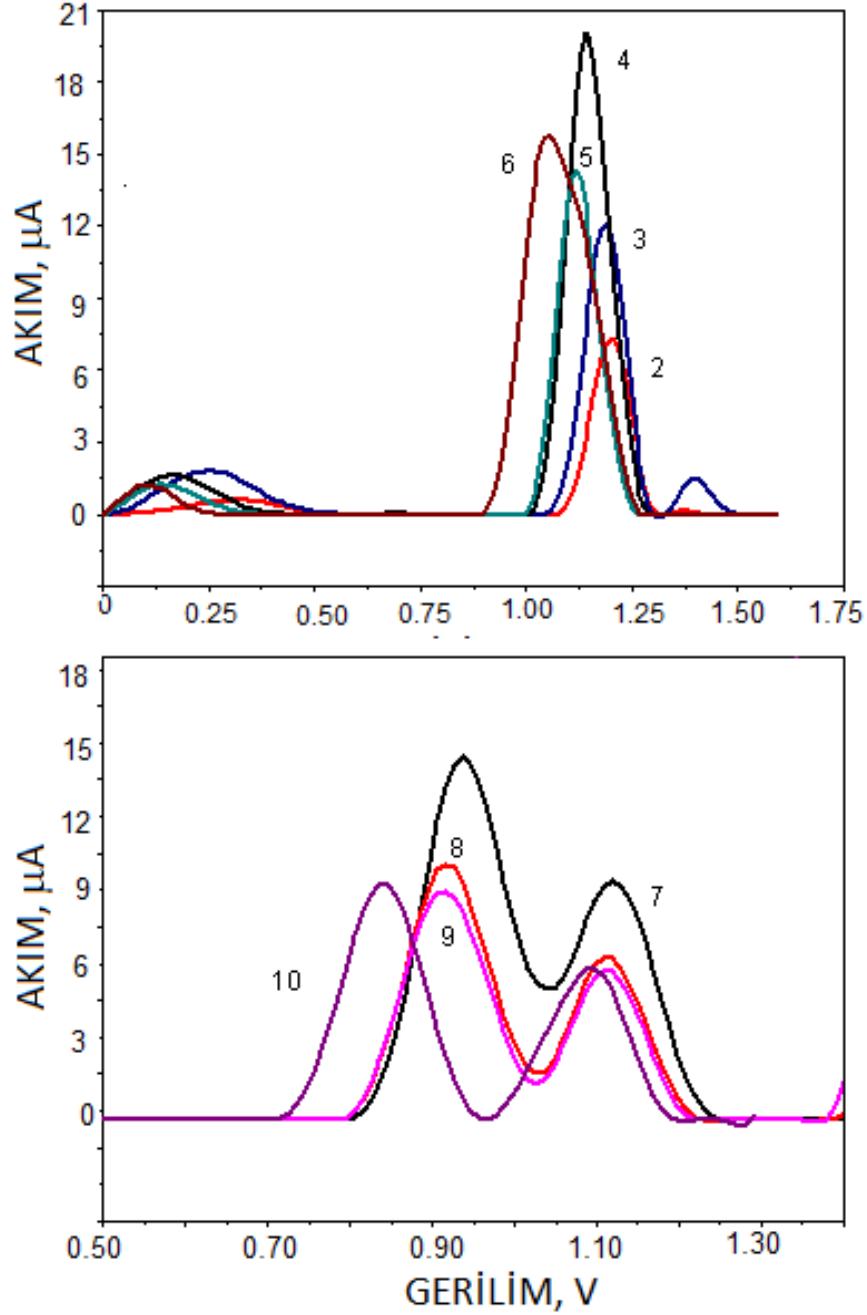


Şekil 4.16.Kodein molekülünün ilk yükseltgenme basamağı için önerilen redoks mekanizması.

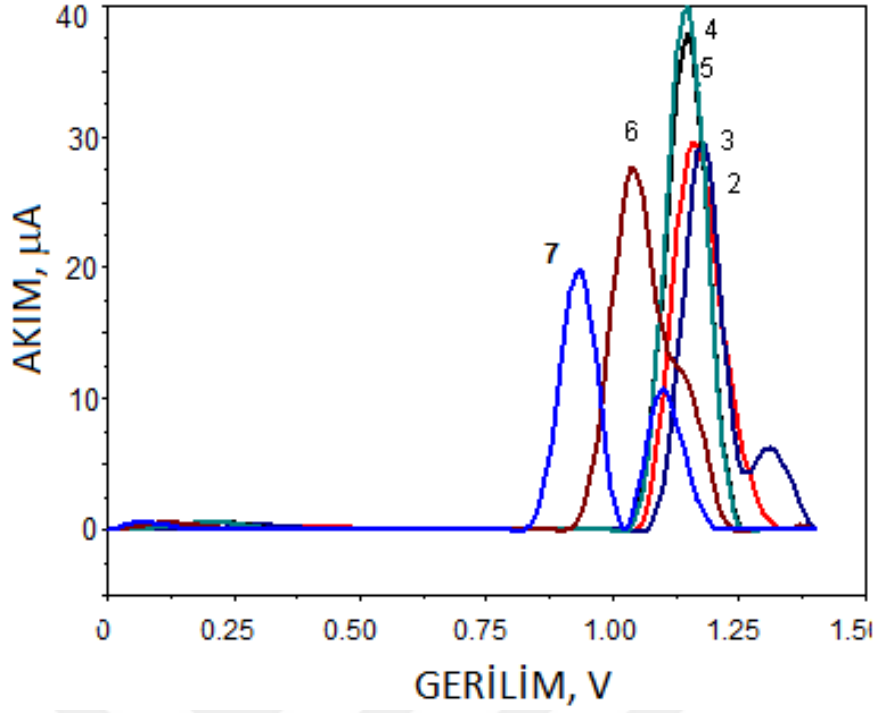
4.2.3.2. pH etkisi

Kodein bileşiğinin elektrokimyasal yanıtı üzerinde pH değişikliğinin etkisi SDS içermeyen fosfat tamponu (pH 2.0-10.0) ve SDS varlığında fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) çözeltileri kullanılarak araştırılmıştır. SWV tekniği ile daha iyi ayrılmış yanıt elde edildiği için çalışmanın bu bölümünde bu teknik kullanılmıştır. Deney bulguları Şekil 4.17 ve 4.18'de, SWV eğrileriyle saptanan ilk yükseltgenme basamağına ilişkin pH- i_p ve pH- E_p grafikleri ise Şekil 4.19 ve 4.20'de sunulmuştur.

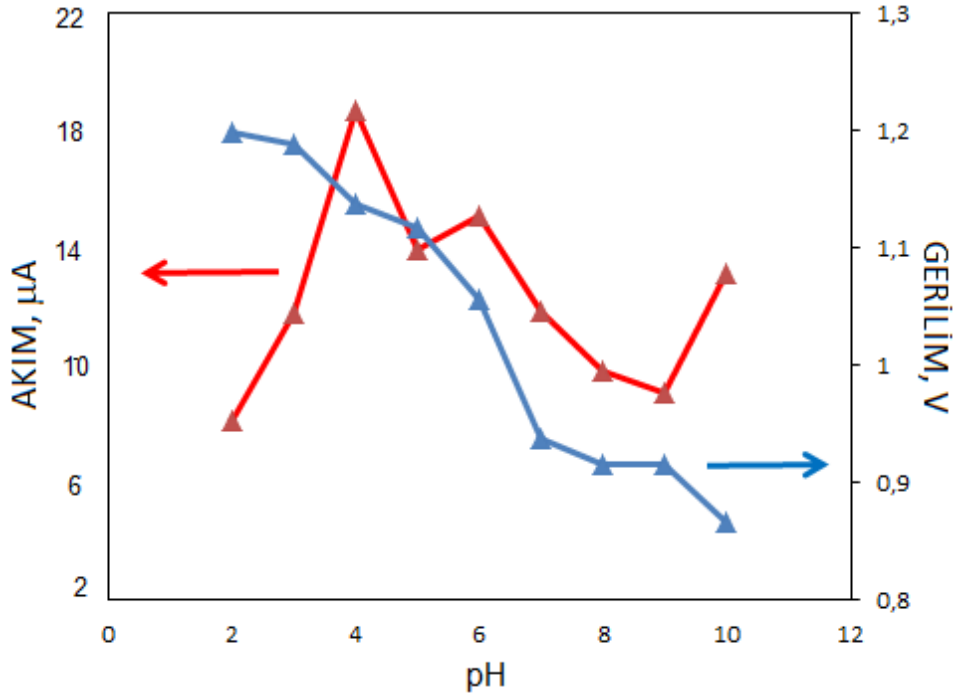
İlgili şekillerden de görüleceği üzere, pH>6.0 üzerinde gözlenen ikinci yükseltgenme basamağı, işlem görmemiş CPE üzerinde elde edilenlere kıyasla (Şekil 4.2 ve 4.6) ilk basamaktan daha iyi ayrılmış ve her iki basamağın belirginlikleri artmıştır.



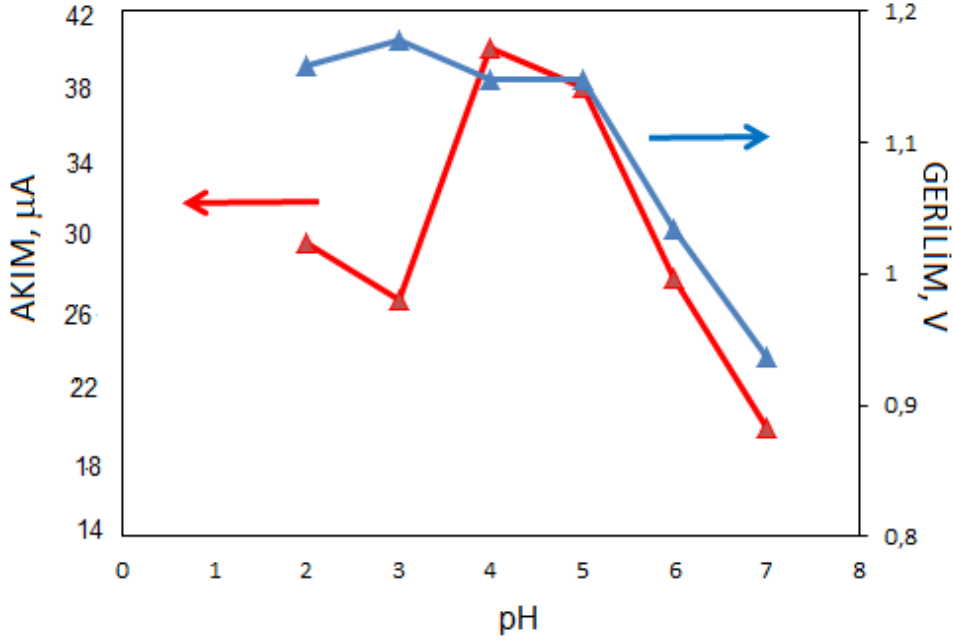
Şekil 4.17. 1×10^{-4} M kodein bileşiğinin fosfat tamponu (pH 2.0-10.0) çözeltilerinde PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.



Şekil 4.18. 1×10^{-4} M kodein bileşiğinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) çözeltilerinde PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f=50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.



Şekil 4.19. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin fosfat tamponu (pH 2.0-10.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Elektrot, PGA/CPE; yöntem, SWV. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

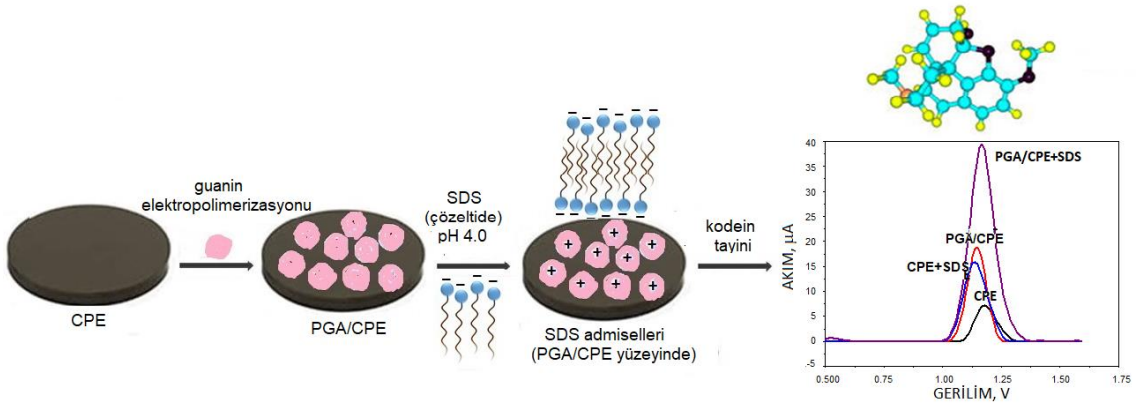


Şekil 4.20. 1×10^{-4} M kodein çözeltisinin 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 2.0-7.0) içerisinde pH- i_p ve pH- E_p grafikleri. Elektrot, PGA/CPE; yöntem, SWV. SW değişkenleri: $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV, $\Delta E_{sw} = 30$ mV.

PGA/CPE kullanılarak elde edilen bulgulardan görüldüğü üzere; en yüksek pik akımı değerine işlem görmemiş CPE bulgularında olduğu gibi fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde ulaşılmıştır. Benzer biçimde bu ortamda tek basamaklı keskin, sivri ve iyi belirlenmiş pikler elde edilmiştir.

Kodein molekülünün pK_a değerini yapıdaki tersiyeramin grubuna karşılık geldiği ve ortalama 8.2 değerinde olduğu bildirilmiştir (Meloun ve Pluharová, 2000). Bu nedenle, molekül bu araştırmada saptanan optimum pH değerinde (pH 4.0) katyonik yapıya sahiptir. Guanin molekülünün ise sulu çözeltilerdeki protonlanmış ve protonlanmamış yapısı çok derinliğine aydınlatılmamış olsa da deneysel olarak belirlenen pK_a değerlerinin, çeşitli iyonizasyon bölgelerinin ve tautomerlerin pK_a değerlerinin ağırlıklı ortalamasını temsil eden bir kompozit pK_a 'yı temsil ettiği söylenebilir. Jang ve ark., 2003 tarafından yapılan bir araştırmaya göre, guanin molekülünün üç pK_a değeri vardır ($pK_{a1} = 3.15$ (N7), $pK_{a2} = 9.44$ (N1) ve $pK_{a3} = 12.61$). Diğer taraftan, SDS molekülünün sülfat grubu hidrofilik yapı oluştururken alifatik yan zinciri ise hidrofobik özelliktedir (Şekil 2.10). Kritik misel derişimi, $CMC = 8.2 \times 10^{-3}$ M (Nakamura ve ark., 1998) altında olmak koşuluyla oldukça yüksek SDS derişimleri

çözeltiye eklendiği zaman, elektrot yüzeyinde hemimiseller (yüzey miselleri) oluşur. Yukarıda açıklandığı gibi; başlangıçta PGA/CPE yüzeyi çalışılan analitik deney koşulunda (pH 4.0), katyonik ve nötral türlerin karışımı halinde bulunur. Dolayısıyla SDS molekülleri pozitif yüklü PGA film üzerinde elektrostatik etkileşim ile hemimisel oluşturmak üzere (tek tabakalı yapı) adsorplanırlar. Daha sonra SDS moleküllerinin ilavesi ile organik kuyrukları arasındaki hidrofobik etkileşim nedeniyle ikinci bir tabaka daha oluşur (admisel oluşumu). Bu durumda, sürfaktan çözelti tarafında negatif yüklü hidrofilik film oluşturur (Vittal ve ark., 2006). Bu çift tabakalı yapıya bağlı olarak, çalışılan pH değerinde pozitif yüklü kodein molekülü ile elektrot yüzeyindeki SDS admisellerinin negatif yüklü baş grubu arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı kodein molekülünün elektrot yanıtı yani pik şiddeti artar (Şekil 4.21). Bu mekanizma gereğince; pH<4.0 değerlerinde kodein pik şiddetinin yüksek olması beklenir. Ancak yaklaşık pH 2.0 dolayında SDS moleküllerinin protonlanması gerçekleştiğinden hemimisel oluşum kapasitesi düşmektedir.

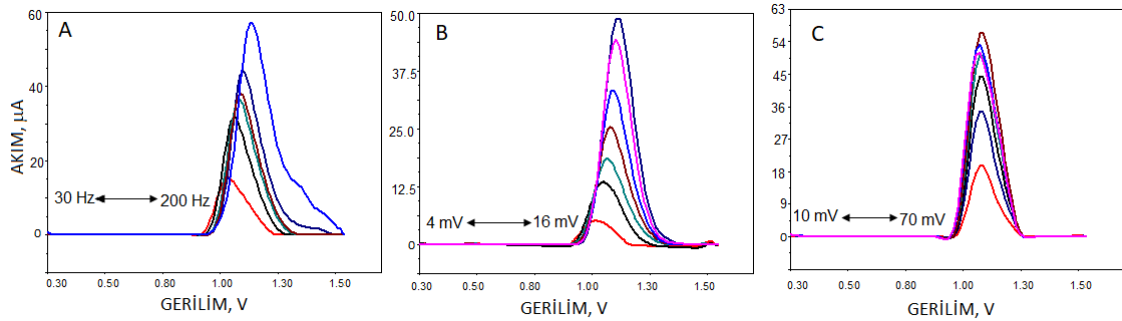


Şekil 4.21. Kodein molekülünün PGA/CPE yüzeyinde SDS ile etkileşim mekanizması.

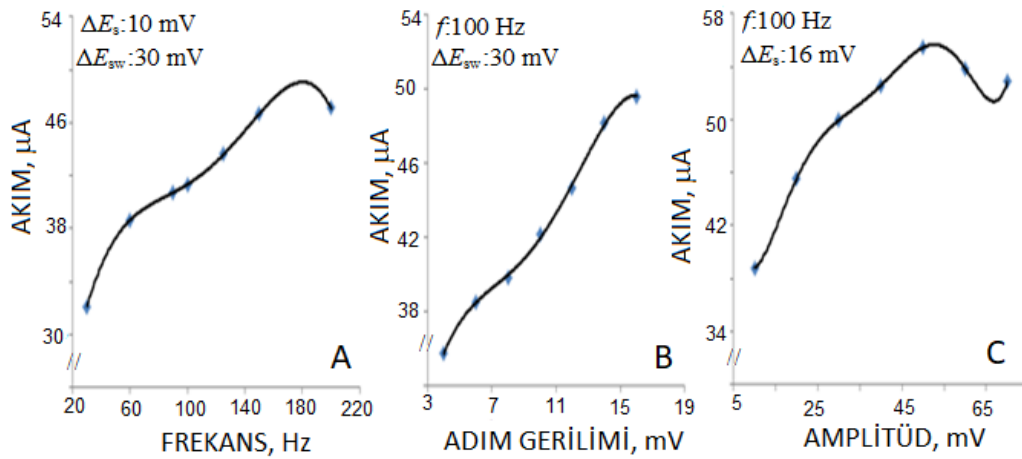
Bu araştırmada 1.0×10^{-5} M- 1.0×10^{-3} M derişim aralığında katyonik (pozitif yüklü) sürfaktan, CTAB içeren çözeltilerle deneyler tekrarlandığında, elektrostatik etkileşim zıt yönde çalıştığından, sürfaktan içermeyen çözeltilere kıyasla kodein molekülünün yanıtında azalma ve pik geriliminde daha pozitif bölgelere kayma gözlenmiştir.

4.2.3.3. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi

Çalışmanın bu bölümünde, en iyi cihaz koşullarının belirlenmesi amacıyla kodein tayini üzerinde SW değişkenlerinin (kare-dalga frekansı, $f = 30\text{-}200\text{ Hz}$; adım gerilimi, $\Delta E_s = 4\text{-}16\text{ mV}$; kare-dalga amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 10\text{-}70\text{ mV}$) etkisi araştırılmıştır. Deneyle $5 \times 10^{-4}\text{ M}$ SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her değişken için diğer iki değişkenin değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 4.22). SW voltamogramlarından elde edilen bulguların ışığında çizilen grafikler Şekil 4.23'de sunulmuştur.



Şekil 4.22. $1 \times 10^{-4}\text{ M}$ kodein çözeltisinin $5 \times 10^{-4}\text{ M}$ SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde (A) kare-dalga frekansı, f (B) adım gerilimi, ΔE_s (C) kare-dalga amplitüdü, ΔE_{sw} değişiminin incelendiği SW voltamogramları.



Şekil 4.23. $1 \times 10^{-4}\text{ M}$ kodein çözeltisinin $5 \times 10^{-4}\text{ M}$ SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde (A) kare-dalga frekansı, f (B) adım gerilimi, ΔE_s (C) kare-dalga amplitüdü, ΔE_{sw} grafikleri.

Voltamogramlar ve grafikler birlikte değerlendirildiği zaman; pik morfolojisi ve şiddeti açısından en iyi SW değişkenleri olarak; $f = 100$ Hz, $\Delta E_s = 16$ mV ve $\Delta E_{sw} = 50$ mV değerleri seçilmiştir.

4.2.4. Analitik uygulama

Kodein bileşiğinin PGA/CPE kullanarak anyonik sürfaktan içeren çözeltiler içerisinde elektrokimyasal davranışlarının ayrıntılı olarak incelenmesinden sonra tez çalışmasının bu bölümünde ilgili bileşiğin ilaç analizlerinde analitik uygulanabilirlik koşulları araştırılacaktır.

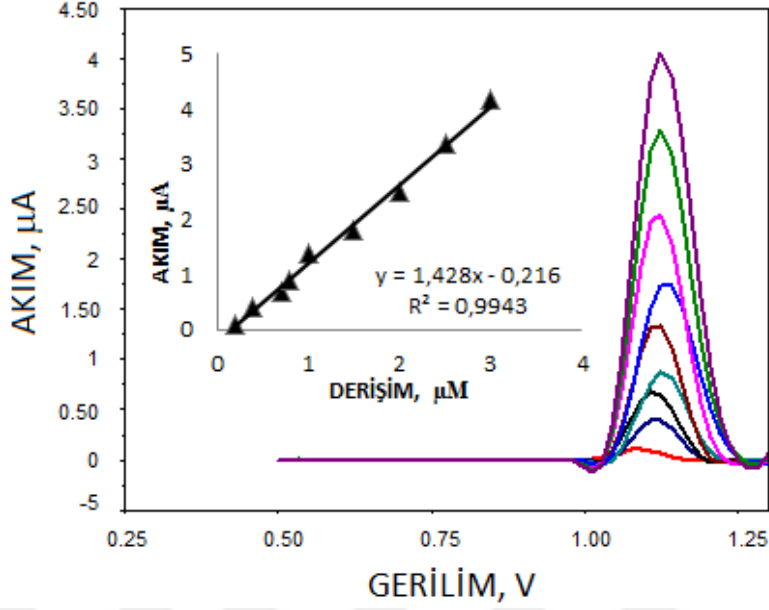
4.2.4.1. Çalışma elektrotunun analitik performans özellikleri

Yukarıda elde edilen bulguların ışığında kodein bileşiğinin miktar tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Çizelge 4.5'de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Kodein tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletseldeğişkenler

Voltametrik yöntem	SWV
Elektrot	PGA/CPE
Destek elektroliti	Fosfattamponu, pH 4.0 + 5×10^{-4} M SDS
SW değişkenleri	
a) f	100 Hz
b) ΔE_s	16 mV
c) ΔE_{sw}	50 mV

Kodein bileşiğinin bu koşullarda 2×10^{-7} M – 3×10^{-6} M derişim aralığında, her bir derişim için aynı çözelti içinde üçer tekrar yapılarak SW voltamogramları alınmıştır. İlgili voltamogramlar ve derişim (C)-pik akımı (i_p) ilişkisi Şekil 4.24'de verilmiştir. Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen analitik performans sonuçları ise Çizelge 4.6'da sunulmuştur.



Şekil.4.24. 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde farklı derişimlerdeki kodein bileşiminin PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f=100$ Hz, $\Delta E_s = 16$ mV, $\Delta E_{sw} = 50$ mV.

Çizelge 4.6. Kodein bileşiminin PGA/CPE üzerinde SWV tekniği ile elde edilen kalibrasyon grafiklerinin analitik performans verileri

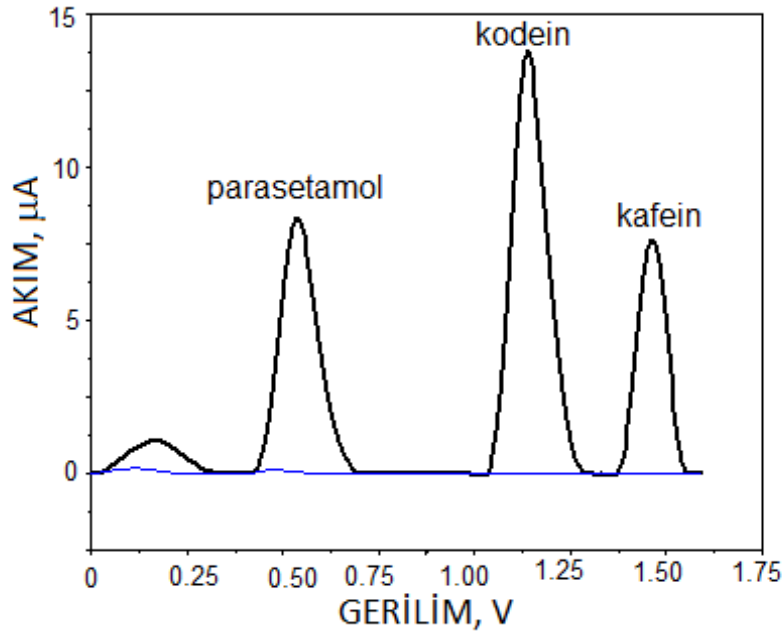
Gerilim, V	+1.13
Çalışma Aralığı, µM	0.2-3.0
Kesişim	-0.216
Eğim	1.43
Tekrarlanabilirlik (pik akımı)	5.76
(BSS,%) n: 3	
Korelasyon katsayısı (r)	0.997
LOD, µM	0.013(0.4 ng mL ⁻¹)
LOQ, µM	0.042

Kodein için geliştirilen PGA/CPE'nun tekraredilebilirlik düzeyini saptamak için 8×10^{-7} M derişiminde (doğrusal aralığın ortasına denk gelen derişim) çözeltiler, yukarıda saptanan en-iyi koşullarda hazırlanmış ve bu çözeltilerin aynı gün içerisinde SWV eğrileri kaydedilmiştir. Bu eğriler üzerinde pik akımı değerleri okunmuş ve bulunan değerler gün-içi olarak değerlendirilmiştir.

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 düşükderişime karşılık gelen pik akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasını, m ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini ifade etmektedir.

Çizelge 2.5'den görüleceği üzere, kodein tayininde genellikle modifiye elektrotlar kullanılmaktadır. Bu çalışmada PGA/CPE üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin duyarlılık açısından analitik performansı, daha önce kaynakçada kayıtlı olan diğer elektroanalitik yöntemlerinkine büyük ölçüde denklik göstermektedir.

Kodein için geliştirilen voltametrik yöntemin bu bileşiğin tablet ilaç şekline uygulanması amaçlanmıştır. Her bir tablet içinde 10 mg kodein fosfat yanısıra 500 mg parasetamol ve 30 mg kafein etken maddeleri de yer almaktadır. Bu iki etken maddenin olası girişim etkisi olup olmadığını incelemek için 1×10^{-6} M kodein, 1×10^{-4} M parasetamol ve 1×10^{-5} M kafein içeren karışım çözeltisinde en-iyi deney koşullarında SW voltamogramları alınmıştır (Şekil 4.25). Şekilden de görüldüğü gibi; her üç bileşik de birbirinden çok iyi ayrılmış pik şekilleri sunmaktadır. Bu gözlem, geliştirilen modifiye elektrotun kodein için yüksek seçiciliğe sahip olduğunu kanıtlar.



Şekil 4.25. 5×10^{-4} M SDS içeren fosfat tamponu (pH 4.0) içerisinde 1×10^{-6} M kodein, 1×10^{-4} M parasetamol ve 1×10^{-5} M kafein çözeltilerinin PGA/CPE üzerinde elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: $f=100$ Hz, $\Delta E_s = 16$ mV, $\Delta E_{sw} = 50$ mV.

4.2.5.Yöntemin farmasötik preparata uygulanması

Kodein analizi için geliştirilen yöntemin pratik uygulanabilirliği, yukarıda sözedildiği gibi bu bileşiğin Türkiye eczanelerinde satılan Gergine-K® tablet ilaç şekline uygulanmıştır. Bölüm 3.5'de anlatılan yolla hazırlanmış tablet çözeltilerinin SW voltamogramları standart madde için hazırlanan koşullarda alınmıştır. Tablet analizine ilişkin voltamogramlar ile standart kodein bileşiğine ilişkin voltamogramlar karşılaştırıldığında eğrilerin uyumlu olduğu gözlenmiştir. Voltamogramlar üzerinde okunan pik akımı değerleri ilgili kalibrasyon eğrilerinde yerine konularak tabletlerin içerdiği kodein miktarı (fosfat tuzu olarak) hesaplanmıştır. Voltametik yöntemle yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Farmakopeler genellikle kabuledilebilir sınırı %90-110 aralığında önermektedirler. Geliştirilen yöntemle bulunan sonuçlar oldukça iyi bir değere karşılık geldiği gibi katı elektrot voltametrisi için iyi bir tekraredilebilirlik elde edilmiştir.

Tabletler içinde bulunan diğer etken ve dolgu maddelerinin girişim etkisini araştırmak için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, voltametik hücredeki tablet çözeltisine standart kodein çözeltisinden eklemeler yapılmış ve ardından önerilen yöntemle analizleri gerçekleştirilmiştir. Kodein geri kazanımı, bulguların saf kodein ile elde edilen derişim değerleriyle kıyaslanmasıyla hesaplanmış (Çizelge 4.7) ve ilaç katkı maddelerinin yöntemimizi etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.7. Geliştirilen voltametik yöntemle kodein (fosfat tuzu) içeren tablet analiz sonuçları

İlaç	Etiket miktarı	Bulunan miktar ^a	BSS (%)	Geri kazanım (%) ^b	Geri kazanım BSS (%)
Gergine-K® (mg/tablet)	10	11.1	6.9	108.7	5.6

^a9 deneyin ortalaması

^b3 deneyin ortalaması



5.SONUÇ

"Genel Bilgiler" bölümünde açıklandığı üzere, kodein ve diğer opiyat grubu bileşiklerin tayinine yönelik kaynakçada kayıtlı çalışmalar büyük ölçüde farklı bileşenlerle tasarlanmış modifiye elektrotların kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Bu tez kapsamında sunulan araştırmada ise sulu/yüzey aktif madde içeren ortamda PGA/CPE üzerinde yeni ve alternatif elektroanalitik bir yöntem geliştirilmiştir. Önerilen yöntem, hiçbir organik çözücü kullanmadan, uzun zaman alan ayırma işlemlerine ya da maliyeti yüksek cihazlara gereksinim duymadan basit bir seyreltme işlemi sonrası ticari ilaç şekline uygulanmıştır.

Bu çalışmanın devamında SDS varlığında PGA/CPE'un çok daha karmaşık örnek ortamında (idrard) uygulanabilirliği araştırılacaktır. İdrarda olası girişim etkisi olabilecek biyomoleküller ürik asit, askorbik asit ve dopamindir. İdrar örneklerinde farklı elektrotlar kullanılarak elde ettiğimiz bulguların ışığında, bu üç bileşenin yükseltgenme basamaklarının genellikle kodein bileşiğine kıyasla oldukça düşük pozitif gerilim değerlerinde gözlemlendiği söylenebilir. Dolayısıyla; önerilen yöntemin yüksek duyarlılığı, farmasötik analizler kadar klinik analizler için de umut vaat etmektedir.

Bu araştırmada önerilen voltametrik yöntem, analitik uygulaması dışında farmakolojik açıdan da değerlidir. Deney sonuçlarından edinilen bilgi, biyolojik sistemlerdeki metabolik değişim mekanizmasının aydınlatılmasında gelecekteki çalışmalara ışık tutacaktır.

Diğer yandan, poli(guanin) üzerinde kaynakçada hepsi yeni tarihli olmak üzere çok sınırlı çalışma bulunmaktadır. Guanin ve diğer DNA bazlarının karmaşık olan fizikokimyasal özelliklerinin ve kaplama mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, yalnızca elektrokimyasal sensör tasarlamak açısından değil, aynı zamanda malzeme bilimi, biyoloji, çevre ve biyomedikal alanlarda yeni uygulamalar için de çok önemli olabilir. Bu önemli bilgiden yola çıkarak, PGA film-süfaktan etkileşimine dayalı bulgular, biyomedikal uygulamalardaki *in-vivo* ve *in-vitro* incelemeler için gelecek araştırmalara bilgi yollayacağı açıktır.



KAYNAKLAR

- Abdel-Hamid, R., Newair, E.F., 2013. Adsorptive stripping voltammetric determination of gallic acid using an electrochemical sensor based on polyepinephrine/glassy carbon electrode and its determination in black tea sample. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **704**: 32-37.
- Abdullah, A.A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2018. The performance of cathodically inapple juice. *Talanta*, **187**: 156-164.
- Afkhami, A., Khoshshafar, H., Bagheri, H., Madrakian, T., 2014. Facile simultaneous electrochemical determination of codeine and acetaminophen in pharmaceutical samples and biological fluids by graphene-CoFe₂O₄ nanocomposite modified carbon paste electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **203**: 909-918.
- Afkhami, A., Gomar, F., Madrakian, T., 2016. CoFe₂O₄ nanoparticles modified carbon paste electrode for simultaneous detection of oxycodone and codeine in human plasma and urine. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **233**: 263-271.
- Alahyari, E., Setareh, M., Shekari, A., Roozbehani, G., Soltaninejad, K., 2018. Analysis of opioids in postmortem urine samples by dispersive liquid-liquid microextraction and high performance liquid chromatography with photo diode array detection. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, **8(1)**: s. 13.
- Alnajjar, A., Butcher, J.A., McCord, B., 2004. Determination of multiple drugs of abuse in human urine using capillary electrophoresis with fluorescence detection. *Electrophoresis*, **25(10-11)**: 1592-1600.
- Amiria, M., Amalia, E., Nematollahzadeh, A., 2015. Poly-dopamine thin film for voltammetric sensing of atenolol, *Sensors & Actuators B-Chemical*, **216**: 551-557.
- Asturias-Arribas, L., Asunción Alonso-Lomillo, M., Domínguez-Renedo, O., Julia Arcos-Martínez, M., 2013. Screen-printed biosensor based on the inhibition of the acetylcholinesterase activity for the determination of codeine. *Talanta*, **111**: 8-12.
- Asturias-Arribas, L., Asunción Alonso-Lomillo, M., Domínguez-Renedo, O., Julia Arcos-Martínez, M., 2014. Cytochrome P450 2D6 based electrochemical sensor for the determination of codeine. *Talanta*, **129**: 315-319.
- Babaei, A., Dehdashti, A., Afrasiabi, M., Babazadeh, M., Farshbaf, M., Bamdad, F., 2012. A sensor for simultaneous determination of acetaminophen and codeine at glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes. *Sensor Letters*, **10(3-4)**: 1039-1046.
- Babaei, A., Afrasiabi, M., Shabaniyan, M., 2017. Application of multivariate optimization method in nanomolar simultaneous determination of morphine and codeine in the presence of uric acid using a glassy carbon electrode modified with a hydroxyapatite-Fe₃O₄ nanoparticle/multiwalled carbon nanotubes composite. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **14(11)**: 2305-2317.
- Badawi, N., Simonsen, K.W., Steentoft, A., Bernhoft, I.M., Linnet, K., 2009. Simultaneous screening and quantification of 29 drugs of abuse in oral fluid by solid-phase extraction and ultraperformance LC-MS/MS. *Clinical Chemistry*, **55**: 2004-2018.
- 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.
- Barnett, N.W., Hindson, B.J., Lewis, S.W. ve Purcell, S.D., 1998. Determination of codeine, 6-methoxycodone and thebaine using capillary electrophoresis with tris (2,2'-bipyridyl)ruthenium (II) chemiluminescence detection. *Analytical Communications*, **35**: 321-324.
- Barroso, M., Gallardo, E., Vieira, D.N., López-Rivadulla, M., Queiroz, J.A., 2011a. Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis*, **3(1)**: 67-79.
- Barroso, M., Gallardo, E., Vieira, D.N., Queiroz, J.A., López-Rivadulla, M., 2011b. Bioanalytical procedures and recent developments in the determination of opiates/opioids in human biological samples. *Anal. Bioanal. Chem.* **400**: 1665-1690.
- BatistaDeroco, P., Vicentini, F.C., Fatibello-Filho, O., 2015. An electrochemical sensor for the simultaneous determination of paracetamol and codeine using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon black. *Electroanalysis*, **27(9)**: 2214-2220.
- Bhandari, M., Bhandari, A., Bhandari, A., 2011. Recent updates on codeine. *Pharmaceutical Methods*, **2**: 3-8.
- Bosch, M.E., Sánchez, A.R., Rojas, F.S., Ojeda, C.B., 2007. Morphine and its metabolites: Analytical methodologies for its determination. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **43(3)**: 799-815.
- Brainina, Kh.Z., 2001. Electroanalysis: From laboratory to field versions. *Journal of Analytical Chemistry*, **56(4)**: 344-354.
- Brett, C.M.A., Oliveira-Brett, A.M., 2011. Electrochemical sensing in solution-origins, applications and future perspectives. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **15**: 1487-1494.
- Câmpean, A., Tertiș, M., Săndulescu, R., 2011. Voltammetric determination of some alkaloids and other compounds in pharmaceuticals and urine using an electrochemically activated glassy carbon electrode. *Central European Journal of Chemistry*, **9(4)**: 688-700.
- Chan, K.W. , Tan, G.H. , Wong, R.C.S., 2012. Gas chromatographic method validation for the analysis of major components in illicit heroin seized in Malaysia. *Science and Justice*, **52**: 9-16.
- Chericoni, S., Stefanelli, F., Iannella, V., Giusiani, M., 2014. Simultaneous determination of morphine, codeine and 6-acetyl morphine in human urine and blood samples using direct aqueous derivatisation: Validation and application to real cases. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **949-950**: 127-132.
- Costin, J.W., Lewis, S.W., Purcell, S.D., Waddell, L.R., Francis, P.S., Barnett, N.W., 2007. Rapid determination of Papaver somniferum alkaloids in process streams using monolithic column high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*, **597(1)**: 19-23.
- Cruces-Blanco, C., Airado-Rodríguez, D., García-Campaña, A.M., 2013. *Methods of analysis of opium alkaloids. Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*. ss. 1069-1120.

- Cruz, A.D.C., Suenaga, E.M., Abib, E., Pedrazzoli, J., 2017. On-line solid phase extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of codeine in human plasma. *Quimica Nova*, **40(1)**: 25-29.
- Cunha, R.R., Ribeiro, M.M.A.C., Muñoz, R.A.A., Richter, E.M., 2017. Fast determination of codeine, orphenadrine, promethazine, scopolamine, tramadol, and paracetamol in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis. *Journal of Separation Science*, **40(8)**: 1815-1823.
- 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.
- Durst, R.A., Baumner, A.J., Murray, R.M., Buck, R.W. and Andrieux, C.P. 1997. Chemically modified electrodes: Recommended terminology and definition. *Pure Appl. Chem.*, **69**: 1317-1323.
- Ensafi, A.A., Heydari-Bafrooei, E., Rezaei, B., 2013. Different interaction of codeine and morphine with DNA: A concept for simultaneous determination. *Biosensors and Bioelectronics*, **41(1)**: 627-633.
- Ensafi, A.A., Abarghoui, M.M., Rezaei, B., 2015a. Simultaneous determination of morphine and codeine using Pt nanoparticles supported on porous silicon flour modified ionic liquid carbon paste electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **219**:1-9.
- Ensafi, A.A., Ahmadi, N., Rezaei, B., Abarghoui, M.M., 2015b. A new electrochemical sensor for the simultaneous determination of acetaminophen and codeine based on porous silicon/palladium nanostructure. *Talanta*, **134**: 745-753
- Farghaly, O. A., Abdel Hameed, R. S., Abu-Nawwas, A. H., 2014. Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques, *Internal Journal of Electrochemical Science*, **9**: 3287-3318.
- Garazhian, E., Shishehbore, M.R., 2015. A New Sensitive Sensor for Simultaneous Differential Pulse Voltammetric Determination of Codeine and Acetaminophen Using a Hydroquinone Derivative and Multiwall Carbon Nanotubes Carbon Paste Electrode. *International Journal of Analytical Chemistry*, 783157.
- Garrido, J.M.P.J., Delerue-Matos, C., Borges, F., Macedo, T.R.A., Oliveira-Brett, A.M., 2002. Electroanalytical determination of codeine in pharmaceutical preparations. *Analytical Letters*, **35(15)**: 2487-2498.
- Garrido, J.M.P.J., Delerue-Matos, C., Borges, F., Macedo, T.R.A., Oliveira-Brett, A.M., 2004. Electrochemical Analysis of Opiates - An Overview. *Analytical Letters*, **37(5)**: 831-844.
- Gholivand, M.-B., Jalalvand, A.R., Goicoechea, H.C., Gargallo, R., Skov, T., Paimard, G., 2015. Combination of electrochemistry with chemometrics to introduce an efficient analytical method for simultaneous quantification of five opium alkaloids in complex matrices. *Talanta*, **131**: 26-37.
- Gilmartin, M.A., Hart, J.P., 1995. Sensing with chemically and biologically modified carbon electrodes. A review. *Analyst*, **120**:1029-1045.
- Gimenes, D.T., Cunha, R.R., Ribeiro, M.M.A.D.C., Pereira, P.F., Muñoz, R.A.A., Richter, E.M., Two new electrochemical methods for fast and simultaneous determination of codeine and diclofenac. *Talanta*, **116**: 1026-1032.
- Gosser, D.K., 1993. *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*. John Wiley&Sons, Inc., NewYork.

- Habibi, B., Abazari, M., Pournaghi-Azar, M.H., 2014. Simultaneous determination of codeine and caffeine using single-walled carbon nanotubes modified carbon-ceramic electrode. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **114**: 89-95.
- Hakkinen, M., Launiainen, T., Vuori, E., Ojanpera, I., 2012. Comparison of fatal poisonings by prescription opioids, *Forensic Science International*, **222**: 327-331.
- Harsanyi, G., 2000. Polymer films in sensor applications: a review of present uses and future possibilities, *Sensor Review*, **20**: 98-105.
- Hasanpour, F., Taei, M., Tahmasebi, S., 2018. Ultra-sensitive electrochemical sensing of acetaminophen and codeine in biological fluids using CuO/CuFe₂O₄ nanoparticles as a novel electrocatalyst. *Journal of Food and Drug Analysis*, **26**: 879-886.
- Heyrovsky, M., 2011. Polarography-past, present, and future. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **15**: 1799-1803.
- Hindson, B.J., Francis, P.S., Purcell, S.D., Barnett, N.W., 2007. Determination of opiate alkaloids in process liquors using capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **43(3)**: 1164-1168.
- Holzer, P., 2014. Pharmacology of opioids and their effects on gastrointestinal function. *American Journal of Gastroenterology Supplements*, **2**: 9-16.
- Hu, Z., Zou, Q., Tian, J., Sun, L., Zhang z., 2011. Simultaneous determination of codeine, ephedrine, guaifenesin and chlorpheniramine in beagle dog plasma using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection Application to bioequivalence study. *Journal of Chromatography B Analytical Technology & Biomedical Life Science*, **879(32)**: 3937-3942.
- Huang, L., Yang, X., Qi, C., Niu X., Zhao, C., Zhao, X., Shangguan, D., Yang, Y. 2013, A label-free electrochemical biosensor based on a DNA aptamer against codeine. *Analytica Chimica Acta*, **787**: 203-210.
- Huestis, M.A., Smith, M.L., 2006. Modern analytical technologies for the detection of drug abuse and doping. *Drug Discovery Today: Technologies*, **3(1)**: 49-57.
- Jang, Y.H., Goddard III, W.A., Noyes, K.T., Sowers, L.C., Hwang, S., Chung, D.S., 2003. *Journal of Physical Chemistry*, **107**: 344-357.
- Jordan, B. ve Devi, L.A., 1998. Molecular mechanism of opioid receptor signal transduction. *British Journal of Anaesthesia*, **81**: 12-19.
- Kalcher, K., 1990. Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis *Electroanalysis*, **2**: 419-433.
- Kalcher, K., Svancara, I., Buzuk, M., Vytras, K., Walcarius, W., 2009. Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. *Monatshefte für Chemie*, **140**: 861-889.
- Kartal M., 2001. LC method for the analysis of paracetamol, caffeine and codeine phosphate in pharmaceutical preparations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **26**: 857-864.
- Kayaalp, O., 2002. Opioid Analjezikler, 64. Konu. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 10. baskı. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara. ss. 916-937.
- Khairy, M., Mahmoud, B.G., Banks, C.E., 2018. Simultaneous determination of codeine and its co-formulated drugs acetaminophen and caffeine by utilising cerium oxide nanoparticles modified screen-printed electrodes. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **259**: 142-154.

- Khanmohammadi, M., Soleimani, M., Morovvat, F., Garmarudi, A. B., Khalafbeigi, M., Ghasemi, K., 2012. Simultaneous determination of paracetamol and codeine phosphate in tablets by TGA and chemometrics.. *Thermochemica Acta*, **530**: 128-132.
- Komorsky-Lovrić, Š., Vukašinović, N., Penovski, R., 2003. Voltammetric determination of microparticles of some local anesthetics and antithusics immobilized on the graphite electrode. *Electroanalysis*, **15(5-6)**: 544-547.
- Kraemer, T., Paul, L.D., 2007. Bioanalytical procedures for determination of drugs of abuse in blood. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **388**: 1415-1435.
- Kumar, D.R., Kesavan, S., Nguyen, T.T., Hwang, J., Lamiel, C., Shim, J.-J., 2017. Polydopamine@electrochemically reduced graphene oxide-modified electrode for electrochemical detection of free-chlorine. *Sensors & Actuators B-Chemical*, **240**: 818-828.
- Lad, A.N., Pandya, A., Agrawal, Y.K., 2016. Overview of nano-enabled screening of drug-facilitated crime: a promising tool in forensic investigation. *Trends in Analytical Chemistry*, **80**: 458-470.
- Lee, J.Y., Nguyen, T.Y., Park, J.H., Kim, B.-K., 2016. Electrochemical detection of hydrazine using poly(dopamine)-modified electrodes. *Sensors*, **16**: 647-657.
- 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(1)**: 190-195.
- 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.
- Li, J.-H., Lin, L.-F., 1998. Genetic toxicology of abused drugs: a brief review. *Mutagenesis*, **13(6)**: 557-565.
- Li, Y., Li, K., Song, G., Liu, J., Zhang, K., Ye, B., 2013. Electrochemical behavior of codeine and its sensitive determination on graphene-based modified electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **182**: 401-407.
- Li, H.-Y., Wang, X.-L., 2015. Simultaneous Determination of epinephrine and uric acid at poly (guanine) modified glassy carbon electrode. *Electrochemistry*, **83(6)**: 434-439.
- Li, H.-Y., Wang, X.-L., Wang, Z.-X., Jiang, W., 2017. Sensitive determination of bisphenol A based on Ag nanoparticles/polyguanine modified electrode. *Russian Journal of Electrochemistry*, **53(2)**: 132-139.
- Liu, Y.-M., Tian, W., Jia, Y.-X., Yue, H.-Y., 2009. The use of CE ECL with ionic liquid for the determination of drug alkaloids and applications in human urine. *Electrophoresis*, **30(8)**: 1406-1411.
- Lu, M., Li, Q., Lai, Y., Zhang, L., Qiu, B., Chen, G., Cai, Z., 2011. Determination of stimulants and narcotics as well as their in vitro metabolites by online CE-ESI-MS. *Electrophoresis*, **32(3-4)**: 472-478.

- Manokaran, J., Muruganatham, R., Muthukrishnaraj, A., Balasubramanian, N. 2015. Platinum-polydopamine@SiO₂ nanocomposite modified electrode for the electrochemical determination of quercetin. *Electrochimica Acta* **168**: 16-24.
- Mashadizadeh, M.H., Rasouli, F., 2014. Design of a new carbon paste electrode modified with TiO₂nanoparticles to use in an electrochemical study of codeine and simultaneous determination of codeine and acetaminophen in human plasma serum samples. *Electroanalysis*, **26(9)**: 2033-2042.
- Mashadizadeh, M.H., Abdollahi, G., Yousefi, T., 2016. SmHCF/multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode for the determination of codeine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **780**: 68-74
- Mat, A., 1994. Ekimi Yasaklanan "Anadolu Haşhaş"ını kurtarma çalışmaları. *Güncel Eczacılık*, **17**: 38-40.
- McGrath K.K., Jenkins A.J., 2009. Detection of drugs of forensic importance in postmortem bone. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **30**:40-44.
- Meloun, M., Pluharová, M., 2000. Thermodynamic dissociation constants of codeine, ethylmorphine and homatropine by regression analysis of potentiometric titration data. *Analytica Chimica Acta*, **416**: 55-68.
- 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.
- Niu, X., Huang, L., Zhao, J., Yin, M., Luo, D., Yang, Y., 2016. An ultrasensitive aptamer biosensor for the detection of codeine based on a Au nanoparticle/polyamidoamine dendrimer-modified screen-printed carbon electrode. *Analytical Methods*, **8(5)**: 1091-1095.
- Örken, C., Tavşanlı, C.E., 2014. Madde Bağımlılığının Nörolojik Etkileri. *Okmeydanı Tıp Dergisi* **30**: 110-114.
- Pascali, J.P., Bortolotti, F., Tagliaro, F., 2012. Recent advances in the application of CE to forensic sciences, an update over years 2009–2011. *Electrophoresis*, **33**: 117-126.
- Pereira, P.F., Marra, M.C., Cunha, R.R., da Silva, W.P., Munoz, R.A.A., Richter, E.M., 2014. Two simple and fast electrochemical methods for simultaneous determination of promethazine and codeine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **713**:32-38.
- Piech, R., Rumin, M., Paczosa-Bator, B., 2015. Voltammetric determination of codeine on glassy carbon electrode modified with Nafion/MWCNTs. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 626458.
- Plerce, RC., Kumaresan, V., 2006. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*. **30**, 215-238.
- Pournaghi-Azar, M.H., Saadatirad, A., 2008. Simultaneous voltammetric and amperometric determination of morphine and codeine using a chemically modified-palladized aluminum electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **624(1-2)**: 293-298.
- Pournaghi-Azar, M.H., Saadatirad, A., 2010. Simultaneous determination of paracetamol, ascorbic acid and codeine by differential pulse voltammetry on the

- aluminum electrode modified by thin layer of palladium. *Electroanalysis*, **22(14)**: 1592-1598.
- Rajesh, S., Ahuja, T., Kumar, D., 2009. Recent progress in the development of nano-structured conducting polymers/nanocomposites for sensor applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **136**: 275-286.
- Saberian, M., Asgari, D., Omid, Y., Barar, J., Hamzeiy, H., 2013. Establishment of an electrochemical RNA aptamer-based biosensor to trace nanomolar concentrations of codeine. *Turkish Journal of Chemistry*, **37(3)**: 366-373.
- Santos, A.M., Vicentini, F.C., Deroco, P.B., Rocha-Filho, R.C., Fatibello-Filho, O., 2015. Square-wave voltammetric determination of paracetamol and codeine in pharmaceutical and human body fluid samples using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **26(10)**: 2159-2168.
- Santos, A.M., Silva, T.A., Vicentini, F.C., Fatibello-Filho, O., 2017. Flow injection analysis system with electrochemical detection for the simultaneous determination of nanomolar levels of acetaminophen and codeine. *Arabian Journal of Chemistry*, baskıda.
- Shih, Y., Zen, J.-M., Yang, H.-H., 2002. Determination of codeine in urine and drug formulations using a clay-modified screen-printed carbon electrode. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **29(5)**: 827-833.
- Shokri, A., Bagheri, H., Mojtahedi, M.M., 2015. A sensitive electrochemical sensor for rapid and selective determination of codeine in biological samples using carbon paste electrode modified with carbon nanotube and nickel oxide nanoparticles. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi* **36**: 2756-2765.
- Silva, T.A., Zanin, H., Corat, E.J., Fatibello-Filho, O., 2017. Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Codeine and Caffeine on Diamond-like Carbon Porous Electrodes. *Electroanalysis*, **29(3)**: 907-916.
- Simioni, N.B., Oliveira, G.G., Vicentini, F.C., Lanza, M.R.V, Janegitz, B.C., Fatibello-Filho, O., 2017. Nanodiamonds stabilized in dihexadecyl phosphate film for electrochemical study and quantification of codeine in biological and pharmaceutical samples. *Diamond and Related Materials*, **74**: 191-196.
- Skender. L., Karacic V., Brcic I., Bagaric A., 2002. Quantitative determination of amphetamines, cocaine, and opiates in human hair by gas chromatography/mass spectrometry. *Forensic Science International* **125**: 120-126.
- Slepchenko, G.B., Gindullina, T.M., Nekhoroshev, S.V., 2017. Capabilities of the electrochemical methods in the determination of narcotic and psychotropic drugs in forensic chemistry materials. *Journal of Analytical Chemistry*, **72(7)**: 703-709.
- Sproule, B.A., Busto, U.E., Somer, G., Romach, M.K., Sellers, E.M., 1999. Characteristics of dependent and nondependent regular users of codeine. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, **19**: 367-372.
- Staub, C., 1995. Analytical procedures for determination of opiates in hair: a review. *Forensic Science International*, **70**: 11-123.
- Svancara, I., Vytras, K., Kalcher, K., Walcarius, A., Wang, J., 2009a. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: a review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. *Electroanalysis*, **21(1)**: 7-28.
- Svancara, I., Walcarius, A., Kalcher, K., Vytras, K., 2009b. Carbon paste electrodes in the new millennium. *Central European Journal of Chemistry*, **7**: 598-656.

- Svorc, L., Sochr, J., Svítková, J., Rievaj, M., Bustin, D., 2013. Rapid and sensitive electrochemical determination of codeine in pharmaceutical formulations and human urine using a boron-doped diamond film electrode. *Electrochimica Acta* **87**: 503-510.
- Taei, M., Hasanpour, F., Hajhashemi, V., Movahedi, M., Baghlani, H., 2016a. Simultaneous detection of morphine and codeine in urine samples of heroin addicts using multi-walled carbon nanotubes modified SnO₂-Zn₂SnO₄ nanocomposites paste electrode. *Applied Surface Science*, **363**: 490-498.
- Taei, M., Salavati, H., Hasanpour, F., Habibollahi, S., Baghlani, H., 2016b. Simultaneous determination of ascorbic acid, acetaminophen and codeine based on multi-walled carbon nanotubes modified with magnetic nanoparticles paste electrode. *Materials Science and Engineering C*, **69**: 1-11.
- Tagliaro, F., Bortolotti, F., 2006. Recent advances in the applications of CE to forensic sciences (2001–2004). *Electrophoresis*, **27**: 231-243.
- Talay Pınar, P., 2013. *Bazı Nörokimyasal Bileşiklerin Beyin Dokusundan Voltametri Yöntemiyle Tayini* (Doktora Tezi) YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van
- 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., 2018. 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*, baskıda.
- Thorn, C.F., Klein, T.E., Altman, R.B., 2009. Codeine and morphine pathway, *Pharmacogenetics Genomics*, **19**: 556-558.
- Toklu, H. Z., 2011. Hypnos'un haşhaşından Morfeus'un morfinine. *Türk Farmakoloji Derneği Bülteni*, **108**: 19-21.
- Trescot, A.M., Datta, S., Lee, M., Hansen, H., 2008. Opioid pharmacology. *Pain Physician*, **11**: 133-153.
- Tural, H., Gökçel, H.I., Ertaş, F.N., 2003. *Enstrümental Analiz 1 Elektroanalitik Yöntemler*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, 132-144.
- 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.
- 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**: 55-68.
- Vojta, J., Hanzlík, P., Jedlička, A., Coufal, P., 2015. Separation and determination of impurities in paracetamol, codeine and pitophenone in the presence of fentanyl in combined suppository dosage form. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **102**: 85-92.
- Vytras K., Svancara, I., Metelka, R., 2009. Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry. *Journal of the Serbian Chemical Society*, **74**: 1021-1033.

- Wang, J. 2006. *Analytical Electrochemistry: Methodology and Applications of Dynamic Techniques*. 3th ed., John Wiley & Sons., Inc., 250 p., New Jersey, USA.
- Wey, A.B., Caslavská, J., Thormann, W., 2000. Analysis of codeine, dihydrocodeine and their glucuronides in human urine by electrokinetic capillary immunoassays and capillary electrophoresis-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **895(1-2)**: 133-146.
- Wu, X., Zhang, W., Bai, Y., Guo, T., Gu, J., 2013. Simultaneous analysis of codeine and its active metabolites in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Application to a pharmacokinetic study after oral administration of codeine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **78-79**: 261-268.
- Yardıı, 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.
- Yardıı 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(3)**: 413-426.
- Yardıı, 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.
- Yiğit, A., Yardıı, Y., Selçuk Zorer, Ö., Şentürk Z., 2016. 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.
- Yu, Q., Yang, X., Chen, Y., 2016. Electrochemical detection of codeine in pharmaceutical tablets using a tungsten oxide nanoparticles and carbon nanotubes modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, **11(8)**: 6862-6872.
- Zen, J.-M., Chang, M.-R., Chung, H.-H., Shih, Y., 1998. Determination of codeine in human plasma and drug formulation using a chemically modified electrode. *Electroanalysis*, **10(8)**: 536-540.
- Zen, J.M., Kumar, A.S., Tsai, D.-M., 2003. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry. *Electroanalysis*, **15**: 1073-1087.
- Zhang, Y., Ren, W., Zhang, S., 2013. Simultaneous determination of epinephrine, dopamine, ascorbic acid and uric acid by polydopamine-nanogold composites modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, **8**: 6839-6850.
- Zhang, X., Chen, M., Cao, G., Hu, G., 2013. Determination of morphine and codeine in human urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 151934.
- Zhou, T., Yu, H., Hu, Q., Fang, Y. 2002. Determination of codeine and its metabolite in human urine by CE with amperometric detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **30(1)**: 13-19.

- Zhu, L., Feng, M., Wan, X., Lü, J., 1996. Determination of morphine, codeine and other alkaloids by high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Fenxi Huaxue*, **24(11)**: 1297.
- 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

Malatya'da 1978 yılında doğdu. İlk ve orta öğretimini Malatya'da tamamladı. Yüksek öğrenimine 1996 yılında Niğde Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazanarak başladı. 2001 yılında Kimya Bölümünden mezun oldu. 2003-2009 yılları arasında Jandarma Genel Komutanlığına bağlı değişik Asayiş Birliklerinde görev yaptı. 2009 yılında Ankara Jandarma Kriminal Daire Başkanlığı bünyesinde Kimya Laboratuvarında kimyasal inceleme uzmanı olarak göreve başladı. Halen Van Jandarma Kriminal Laboratuvar Amirliği bünyesinde kimyasal inceleme uzmanı olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk babasıdır.



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

Tarih: ...30/10/2018

Tez Başlığı / Konusu:

**OPIYAT GRUBU BAZI BİLEŞİKLERİN MODİFİYE KARBON-TEMELLİ
ELEKTROTLAR ÜZERİNDE VOLTAMETRİK TAYİNİ**

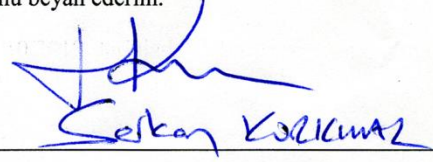
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 75 sayfalık kısmına ilişkin, 30/10/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından ~~.....~~.....intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 3 (üç) dür.

Uygulanan filtreler 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.


Serkan KORKMAZ

Adı Soyadı: Serkan KORKMAZ

Öğrenci No: 149102014

Anabilim Dalı: Kimya

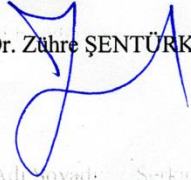
Programı: Analitik Kimya

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

**DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR**

Prof.Dr. Zühre ŞENTÜRK



**ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR**


Enstitü Müdürü

(Unvan, Ad Soyad, İmza)